

OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DEL QUITOSANO A NIVEL LABORATORIO PARA LA DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES PROVENIENTES DE UN LABORATORIO COSMÉTICO

**Luz Ayda Taquez Bueno
Gina Fernanda Vargas Torres**

Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD
Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente
Bogotá, Colombia

2018

OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN DEL QUITOSANO A NIVEL LABORATORIO PARA LA DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES PROVENIENTES DE UN LABORATORIO COSMÉTICO

Luz Ayda Taquez Bueno
Gina Fernanda Vargas Torres

Proyecto de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

Ingeniera Ambiental

Director:

Andrea Viviana Yate Segura

Asesor:

Diana Marcela Fuquene

Línea de investigación:

Biotechnología

Semillero de investigación:

Conservemos Nuestras Fuentes Hídricas

Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD
Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiental
Bogotá, Colombia

2018

“Sólo quienes están tan locos como para pensar que pueden cambiar el mundo son capaces de cambiarlo de verdad.” Steve Jobs.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento se dirige principalmente a Dios por ser nuestro guía y permitirnos cumplir nuestras metas, por mostrarnos el camino correcto y enseñarnos de nuestros errores, por los triunfos y momentos difíciles en los que siempre nos acompaña con su infinito amor.

Agradecemos también a nuestras tutoras Andrea Yate y Diana Fuquene por su labor en la dirección y co-dirección de este proyecto investigativo, por sus conocimientos, enseñanzas, colaboración y constante apoyo que fueron fundamentales para la culminación de este trabajo.

A nuestras familias y seres queridos por su apoyo incondicional, por ser nuestra motivación para salir adelante, por darnos soporte en los momentos difíciles y compartir con alegría nuestros triunfos, por enseñarnos a ser quienes somos, a corregir nuestros errores y a luchar con optimismo para salir adelante y por brindarnos los mejores momentos de nuestras vidas.

A todos los docentes que contribuyeron a nuestra formación por los conocimientos que nos transfirieron, los cuales nos fueron muy útiles en el desarrollo de este proyecto.

Así mismo agradecemos a la Universidad Nacional Autónoma y a Distancia, por su educación académica, por brindarnos espacios extracurriculares de formación como los semilleros de investigación donde podemos fortalecer y desarrollar nuestros conocimientos y por suministrarnos los medios para el desarrollo de nuestro proyecto.

VIII Obtención y evaluación del quitosano para la depuración de aguas residuales
industriales provenientes de un laboratorio cosmético

Resumen

La presente investigación tiene por objeto ampliar los conocimientos existentes sobre el uso de los biopolímeros como coagulantes naturales en el tratamiento de aguas residuales industriales, los cuales presentan una alternativa para sustituir los polímeros sintéticos que generan impactos adversos sobre el medio ambiente y los recursos naturales. Para este caso se utilizan los residuos del procesamiento de camarones, específicamente el exoesqueleto del crustáceo, del cual se extrae la quitina que posteriormente se transforma por desacetilación en quitosano, un biopolímero con importantes propiedades coagulantes, mediante un proceso en el que se somete la materia prima a medios ácidos y básicos; el quitosano obtenido es caracterizado y su rendimiento como coagulante en el tratamiento de aguas residuales se establece mediante test de jarras.

El método químico que se empleó en este trabajo de investigación para extraer el quitosano del exoesqueleto del camarón fue exitoso con rendimiento del 56%, excelente solubilidad en ácidos orgánicos y porcentaje de desacetilación de 81%, características que indican una calidad óptima para su uso en control ambiental. El tratamiento con coagulante quitosano de una muestra de agua residual proveniente de la industria cosmética, resultó efectivo para la remoción de turbiedad y sólidos totales, y presentó menor eficiencia en la remoción de DBO₅, DQO y tensoactivos.

El uso del quitosano es sustentable, debido a que la materia prima proviene de los residuos de industrias que procesan camarones, este biopolímero es biodegradable y renovable, comparado con los insumos usados para la fabricación de polímeros derivados de petroquímicos, lo cual beneficia al medio ambiente, ya que plantea alternativas para disminuir el impacto ambiental generado por los coagulantes sintéticos usados en el tratamiento de aguas residuales; a su vez mitiga el impacto que generan los residuos de la industria camaronera por su lenta descomposición.

Palabras claves: *Quitosano, Coagulante, Biopolímeros, Tratamiento, Sostenible.*

Abstract

The present investigation aims to expand existing knowledge on the use of biopolymers as natural coagulants in the treatment of industrial wastewater, which present an alternative to replace synthetic polymers that generate adverse impacts on the environment and natural resources. For this case, shrimp processing waste is used, specifically the crustacean exoskeleton, from which chitin is extracted, which is later transformed by deacetylation into chitosan, a biopolymer with important coagulating properties, by a process in which the material is subjected to premium to acid and basic media; The chitosan obtained is characterized and its performance as a coagulant in wastewater treatment is established by jug test.

The chemical method used in this research to extract the chitosan from the shrimp exoskeleton was successful with 56% yield, excellent solubility in organic acids and deacetylation percentage of 81%, characteristics that indicate an optimum quality for its use in environmental control. The treatment with coagulant chitosan from a sample of wastewater from the cosmetic industry was effective for the removal of turbidity and total solids, and presented lower efficiency for the removal of DBO₅, DQO and surfactants.

The use of chitosan is sustainable, because the raw material comes from the waste of industries that process shrimps, this biopolymer is biodegradable and renewable, compared to the inputs used for the manufacture of polymers derived from petrochemicals, which benefits the environment , since it raises alternatives to reduce the environmental impact generated by the synthetic coagulants used in the treatment of wastewater; At the same time, it mitigates the impact generated by waste from the shrimp industry due to its slow decomposition.

Keywords: *Chitosan, Coagulant, Biopolymers, Treatment, Sustainable.*

Contenido

Introducción	17
1. Coagulantes naturales en los sistemas de tratamiento de aguas	21
1.1 Importancia de los coagulantes naturales	21
1.2 Sistemas de tratamiento de aguas residuales.....	23
1.2.1 Coagulación.....	25
1.2.2 Partículas coloidales	25
1.2.3 Mecanismos de coagulación.....	26
1.2.4 Coagulantes	27
1.2.5 Factores que influyen en la coagulación	28
1.3 Quitina y Quitosano	30
1.3.1 Definición y Estructura Química.....	30
1.3.2 Fuentes de Quitina y Quitosano.....	31
1.3.3 Obtención de Quitosano	33
1.3.4 Usos y Aplicaciones del Quitosano.....	34
1.4 Hidrogeles de Quitosano	34
2. Planteamiento del problema.....	37
2.1 Objetivos.....	38
2.1.1 General.....	38
2.1.2 Específicos	38
2.2 Metodología.....	38
• Extracción de Quitina y Quitosano.....	39
• Caracterización del Quitosano:	39
• Eficiencia del quitosano:	40
• Parámetros Físicoquímicos objetos de estudio	40
3. Procedimiento experimental.....	43

XII Obtención y evaluación del quitosano a nivel laboratorio para la depuración de aguas
residuales industriales provenientes de un laboratorio cosmético

3.1	Materiales y reactivos.....	43
3.1.1	Extracción de quitina y quitosano	45
3.1.2	Caracterización de quitosano:	48
3.1.3	Eficiencia del quitosano:.....	51
3.1.4	Análisis de parámetros fisicoquímicos:.....	54
4.	Resultados y discusión	61
5.	Conclusiones y recomendaciones	77
5.1	Conclusiones.....	77
5.2	Recomendaciones.....	78
6.	Anexos:	81
7.	Bibliografía	105

Lista de figuras

Figura 1. Esquema de Tratamiento de aguas convencional	24
Figura 2. Estructura química de la quitina.....	30
Figura 3. Estructura química del quitosano.....	30
Figura 4. Morfología externa del camarón.	32
Figura 5. Etapas de Obtención de Quitosano	33
Figura 6. Preparación de desechos de camarón y obtención de un polvo fino.	46
Figura 7. Desproteínización exoesqueletos de camarón.....	46
Figura 8. Desmineralización de exoesqueletos de camarón.....	47
Figura 10. Desacetilación de quitina para obtención de quitosano	48
Figura 11. Peso inicial de muestra de camarón y peso de quitosano obtenido.....	49
Figura 12. Prueba de Solubilidad del quitosano.....	50
Figura 13. Prueba de grado de desacetilación por valoración potenciométrica	50
Figura 14. Soluciones de quitosano disuelto en ácido acético 0,2M	52
Figura 15. Test de jarras. Proceso de mezcla en floculador	53
Figura 16. Simulación de proceso de Coagulación usando 4 Litros de muestra	54
Figura 17. Procedimiento de análisis de Turbidez	55
Figura 18. Procedimiento de análisis de Sólidos Totales en agua	56
Figura 19. Procedimiento de análisis de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO ₅) en aguas	57
Figura 20. Procedimiento de análisis de Demanda Química de Oxígeno en aguas (DQO)	58
Figura 21. Procedimiento de análisis de Tensoactivos en aguas.....	59
Figura 22. Diferencias de apariencia de la quitina y el quitosano	61
Figura 23. Resultados prueba de solubilidad del quitosano.....	63
Figura 24. Valoración potenciométrica. Relación pH vs volumen	66
Figura 25. Gráfico de primera derivada- grado de desacetilación del quitosano.....	67
Figura 26. Concentraciones y Dosis de quitosano usadas en el test de Jarras.....	69
Figura 27. Test de jarras con mejores rendimientos en remoción de Turbiedad.....	69
Figura 28. Curva de remoción de Turbiedad (TRH=21h; r=0,99).....	71
Figura 29. Curva de remoción de sólidos totales (TRH=21h; r=0,96)	72
Figura 30. Curva de remoción de DQO (TRH=21h; r=0,97).....	73

XIV Obtención y evaluación del quitosano a nivel laboratorio para la depuración de aguas residuales industriales provenientes de un laboratorio cosmético

Figura 31. Curva de remoción de DBO_5 (TRH=21h; $r=0,96$)..... 74
Figura 32. Curva de remoción de Tensoactivos (TRH=21h; $r=0,82$)..... 74

Lista de tablas

Tabla 1 Materiales y reactivos	43
Tabla 2. Resultados de solubilidad del quitosano	62
Tabla 3. Valoración Potenciométrica	64
Tabla 4. Resultados del Test de Jarras en remoción de Turbidez	70

Introducción

El alto grado de presión que se ejerce sobre el recurso hídrico a nivel mundial y su contaminación indiscriminada, producto de un desarrollo poco sostenible, han puesto bajo amenaza la disponibilidad de fuentes de agua potable, lo cual, a su vez, tiene consecuencias preocupantes sobre el medio ambiente, la salud y el desarrollo económico y social de las comunidades. Al respecto la UNICEF indica que la falta de acceso al agua potable y la escasez de saneamiento tienen repercusiones muy graves y son la causa principal de enfermedades en el mundo (UNICEF, s.f).

Es necesario entonces aplicar tratamientos elementales para potabilizar el agua y aunar esfuerzos en el desarrollo de nuevas tecnologías que permitan optimizar los resultados de los procesos. Una de las etapas fundamentales para tratar el agua es la clarificación, en donde juegan un papel importante los métodos de coagulación, que convencionalmente utilizan químicos como el Sulfato de Aluminio y Sulfato Férrico para aglomerar las partículas presentes en el agua; estos compuestos logran buenas eficiencias de remoción, sin embargo pueden ser perjudiciales para la salud y el medio ambiente (Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades, s.f).

Ramírez y Jaramillo (Ramírez & Jaramillo, 2015) afirman que los polímeros usados en los procesos convencionales de tratamiento de aguas residuales, resultan ser nocivos para la salud y los recursos naturales; por ello es necesario implementar nuevas tecnologías que permitan alcanzar buenos rendimientos, en la remoción de contaminantes del agua, sin dejar de lado el cuidado y la preservación de los recursos naturales y las condiciones de salubridad.

Una de estas alternativas amigables con el medio ambiente, es la sustitución de polímeros sintéticos por polímeros de origen natural o Biopolímeros, cuyas propiedades posibiliten

su uso como coagulante en el tratamiento de aguas residuales. De aquí la importancia de este proyecto, pues evalúa la factibilidad de usar quitosano, un biopolímero derivado de la quitina presente, entre otros, en el exoesqueleto de los camarones, como coagulante para el tratamiento de las aguas residuales de una industria cosmética, con base al rendimiento que este presenta en la remoción de contaminantes.

El uso de camarones para la extracción del quitosano, contribuye a reducir la cantidad de residuos sólidos que genera la industria de procesamiento de productos de mar, los cuales representan millones de toneladas de basura a nivel mundial (Hernandez, Aguila , Flores, Ramos , & Viveros , 2009) y deterioran el medio ambiente como consecuencia de su lenta descomposición

El uso del quitosano como coagulante puede ser considerado sustentable, pues la materia prima se toma directamente de los desechos de las industrias que procesan alimentos de mar, además es biodegradable y renovable, en contraste con los insumos usados para la fabricación de polímeros derivados de petroquímicos. De aquí las grandes ventajas de reemplazar los polímeros sintéticos por polímeros naturales, que disminuirían de forma significativa la contaminación del medio ambiente y facilitarían el desarrollo de una industria sostenible

En función de lo anterior, este trabajo pretende ampliar los conocimientos existentes sobre el uso de biopolímeros como coagulantes naturales, de tal forma que puedan ser usados en mayor medida en los procesos de tratamiento de aguas, teniendo en cuenta los múltiples beneficios que presentan frente al uso de polímeros sintéticos. La investigación incluirá la determinación de las curvas de remoción de DBO₅, DQO, turbidez, tensoactivos y sólidos totales en una muestra de agua residual industrial, con el fin de establecer las condiciones de mayor eficacia del Quitosano.

El presente proyecto aborda en primera instancia los conceptos y temas fundamentales del proceso de tratamiento de aguas residuales por coagulación, después se aplica la metodología para la extracción del quitosano del exoesqueleto del camarón, se realizan pruebas de test de jarras para determinar su eficiencia en la remoción de contaminantes de una muestra de agua residual industrial y finalmente se presentan los resultados y conclusiones más relevantes del proceso investigativo.

Este proyecto beneficia al medio ambiente, las comunidades y la sociedad en general, ya que plantea alternativas para disminuir el impacto ambiental generado por los coagulantes sintéticos usados en el tratamiento de aguas residuales, mientras se aprovechan los residuos generados por la industria de procesamiento de productos de mar que servirá como material de referencia para la producción de coagulantes naturales con diferentes materias primas en investigaciones posteriores.

1. Coagulantes naturales en los sistemas de tratamiento de aguas

1.1 Importancia de los coagulantes naturales

El agua es un compuesto esencial para la continuidad de la vida en nuestro planeta y para el desarrollo de las civilizaciones a nivel mundial; por eso una de las principales preocupaciones del hombre desde sus inicios, ha sido la consecución, almacenamiento y distribución de agua potable.

No obstante, factores como el crecimiento poblacional acelerado y las actuales tendencias de “desarrollo” que implican una explotación indiscriminada de los recursos naturales y una vasta producción de residuos, han ejercido tal presión sobre el recurso hídrico que en la actualidad nos encontramos frente a un panorama de escases de agua potable que amenaza la supervivencia de las especies (Romero Rojas, 2004).

Debido a esta problemática han surgido diversos mecanismos y procesos de tratamiento que buscan remover o reducir los contaminantes del agua y de esta forma lograr una buena calidad del recurso, determinada mediante sus características organolépticas, químicas, físicas y microbiológicas.

Uno de estos procesos es el de coagulación del agua, usada en los métodos de clarificación, el cual tiene por objeto la formación de pequeñas partículas gelatinosas y la desestabilización de suspensiones coloidales que permiten la precipitación de especies inorgánicas y posteriormente su eliminación por sedimentación o filtración (Cogollo F, 2011).

Según (Diaz Claros , 2014) el estudio de los procesos de coagulación comenzó en la segunda mitad del siglo XX, hacia el año de 1970, aunque desde mediados de siglo ya se tenía conocimiento de las propiedades eléctricas de las partículas.

Los métodos de coagulación convencionales utilizados actualmente en el tratamiento de aguas, emplean generalmente coagulantes inorgánicos como sales de Aluminio y Hierro; los coagulantes más usados son el sulfato de aluminio, el cloruro férrico, el sulfato ferroso y férrico y el cloruro- sulfato férrico (Barrenechea, 2004). Al respecto Cogollo (Cogollo F, 2011) afirma que el uso de estos coagulantes sintéticos ha sido cuestionado en las últimas décadas debido, entre otras cosas, a la dificultad técnica para estabilizar el pH óptimo de coagulación, la necesidad de gran cantidad del producto para lograr resultados adecuados y a su relación con la aparición de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y cáncer.

Por otra parte, estas sales tienen efectos ambientales adversos, para el caso del Aluminio, en altas concentraciones genera problemas de acidificación, además se bioacumula en las plantas y causa problemas en la salud de los animales que las consumen; el Hierro por su parte es un elemento persistente en el medio ambiente (Lenntech, s.f).

De aquí la necesidad de introducir cambios en los procesos de tratamiento de aguas que garanticen mejoras en su funcionamiento y en la calidad de agua tratada. Una de las mejores opciones que se ha venido estudiando es el uso de coagulantes alternativos derivados de productos orgánicos.

En las últimas décadas, se han realizado diversos estudios acerca del uso de algunas plantas y de residuos orgánicos para la elaboración de coagulantes alternativos que puedan ser usados en los sistemas de tratamiento de aguas, que sean inocuos para la salud y respetuosos con el medio ambiente.

José Nahúm Díaz, desarrolló un estudio en el cual obtuvo coagulante para el tratamiento de aguas a partir de plantas y del reciclaje de la chatarra; concluyó que es factible el uso de residuos de chatarra y de plantas como la Moringa, Caulote, Café y el almidón de papa y yuca para el uso como coagulantes en los procesos de clarificación de agua ya que son más económicos, tienen buenos rendimientos y causan menor impacto sobre la salud y los ecosistemas. Para el caso del caulote logró clarificar el agua en un 100% (Díaz Claros , 2014).

Por otra parte Ramírez y Jaramillo (Ramírez & Jaramillo, 2015) en su publicación “Agentes naturales como alternativa para el tratamiento de agua”, presentan los resultados del uso de Moringa Oleífera y diversos tipos de cactus en los procesos de coagulación de agua,

en el cual se concluye que la actividad coagulante de las semillas de Moringa es comparable con la obtenida con el uso del Sulfato de Aluminio.

Para el tratamiento fisicoquímico de aguas residuales domésticas se pueden utilizar coagulantes naturales obtenidos de los almidones de yuca y plátano siempre y cuando se trabajen como un ayudante de coagulación que permita disminuir la cantidad de químicos a utilizar en las plantas de tratamiento y disminuir la carga contaminante de los lodos generados (Másmela Rozo, Aguilar Cristancho, & Fúquene Yate, 2017).

Recientemente se ha estudiado las propiedades coagulantes del quitosano, un polímero derivado de la quitina ampliamente distribuida en la naturaleza y que se encuentra en altas concentraciones en los exoesqueletos de los crustáceos.

Estos estudios abren la puerta hacia la aplicación de nuevos métodos de coagulación en los procesos de tratamiento de aguas, en los cuales se aprovechan los residuos de diversos procesos industriales, se logran resultados similares a los de los procesos convencionales y se eliminan los impactos sobre la salud y el medio ambiente.

1.2 Sistemas de tratamiento de aguas residuales

Las aguas residuales industriales son efluentes generados por el procesamiento, manipulación y transformación de los recursos en la producción de bienes y servicios varios, que deterioran sus condiciones y características. Para poder verter nuevamente estos efluentes a los cuerpos de agua se debe realizar un tratamiento con el objetivo de remover y reducir los contaminantes e impurezas del efluente y de ésta forma cumplir la normatividad vigente (Tafur & Quevedo, 2014).

Pistonesi y colaboradores (Pistonesi, Haure, & D'Elmar, 2010) definen el tratamiento de aguas residuales como “una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen como fin eliminar los contaminantes presentes en el agua efluente de uso humano; su objetivo es producir agua limpia o reutilizable en el ambiente y un residuo sólido o fango convenientes para su disposición o reúso”. En este sentido, Según Tafur & Quevedo (Tafur & Quevedo, 2014) indican que el tratamiento convencional de las aguas residuales incluye:

- *Pretratamiento*: transporte a la planta, desbaste, desarenado y desengrase. En esta etapa se mide y controla el caudal de ingreso del agua a la planta y se remueven los sólidos flotantes de mayor tamaño.

- *Tratamiento primario:* decantación, clarificación y neutralización. En esta etapa se incluyen procesos de floculación y coagulación. Su objetivo es eliminar los sólidos en suspensión.
- *Tratamiento biológico o secundario:* microorganismos (bacterias y protozoos), su objetivo es eliminar la materia orgánica mediante un proceso biológico de oxidación efectuado por los microorganismos presentes en el agua residual.
- *Tratamiento terciario:* cloración para eliminación de microorganismos. También suprime algunos contaminantes específicos como los fosfatos.

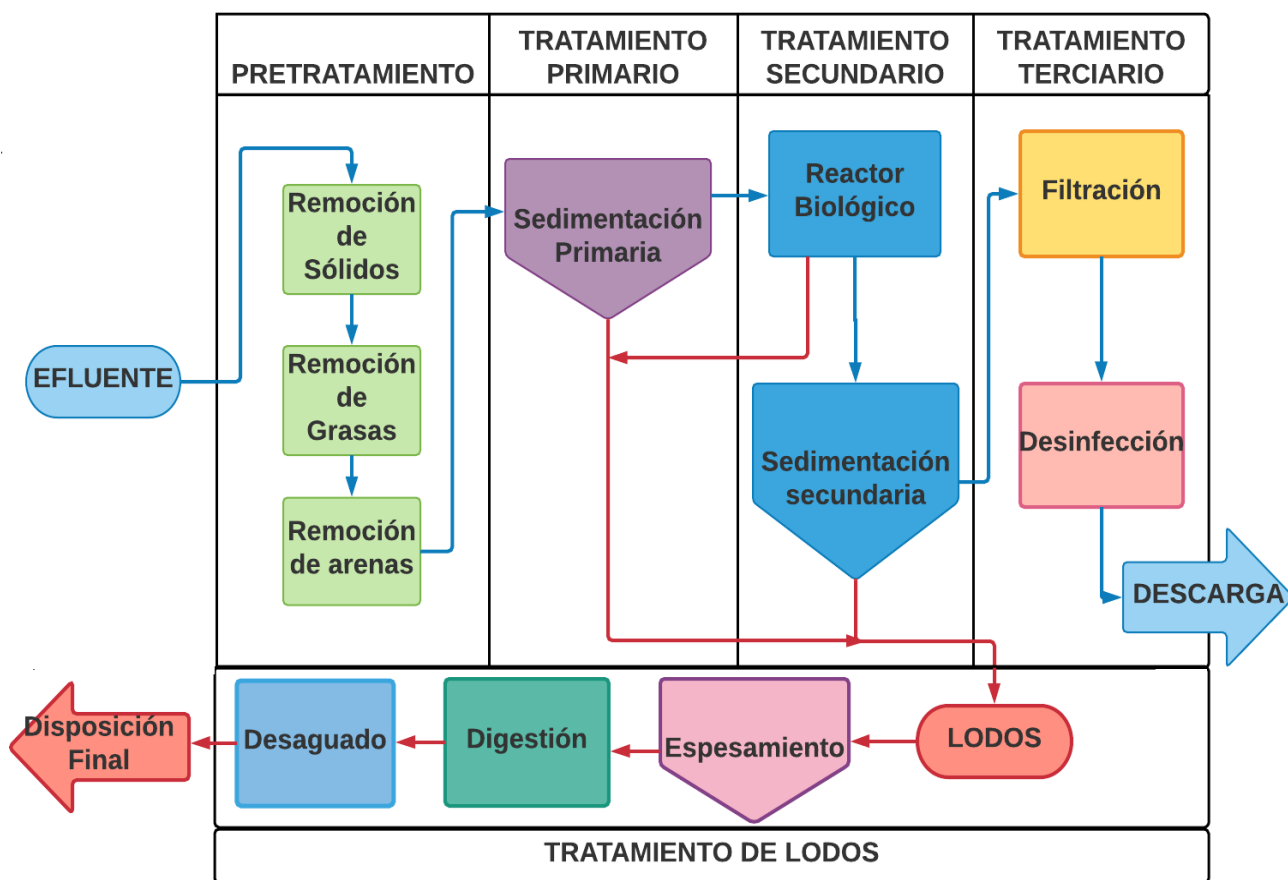


Figura 1. Esquema de Tratamiento de aguas convencional

Autor: Elaboración propia. Fuente: (Pistonesi, Haure, & D'Elmar, 2010)

La figura 1 presenta los principales procesos químicos, físicos y biológicos que se emplean en un sistema convencional de tratamiento de aguas residuales, donde se diferencian las

etapas de pretratamiento, tratamiento primario, secundario y terciario (Pistonesi, Haure, & D'Elmar, 2010).

1.2.1 Coagulación

La coagulación se define como “un proceso de desestabilización química de las partículas coloidales que se produce al neutralizar las fuerzas que las mantienen separadas, por medio de la adición de coagulantes químicos y la adición de energía de mezclado” (Andía, 2000). Es un proceso fundamental en la etapa de tratamiento primario de las aguas residuales, específicamente en la clarificación en donde se remueven la mayor parte de sólidos en suspensión.

El proceso de coagulación también se usa según Restrepo para remover la turbiedad orgánica e inorgánica, el color verdadero y aparente, algunos microorganismos patógenos y algunas sustancias productoras de olor y sabor (Restrepo H. , 2009).

El mismo autor explica que existe una fuerza de repulsión entre las partículas contaminantes del agua, debida a las cargas eléctricas que poseen, por lo cual se mantienen suspendidas en el agua y no se sedimentan; el fenómeno de desestabilización de dichas partículas o coagulación, se realiza mediante la adición de coloides de carga opuesta a la de las partículas contaminantes, que neutralizan la carga, reduciendo la repulsión de las partículas a tal punto, que chocando con cierta velocidad pueden unirse y flocular (Restrepo H. , 2009).

1.2.2 Partículas coloidales

Andía, define los coloides como suspensiones estables que no se sedimentan de forma natural y son los principales responsables de la turbiedad y el color en el agua; presentan un diámetro entre 1 y 1000 milimicrómetros. (Andía, 2000) Los coloides pueden ser hidrófobos si repelen el agua, principalmente partículas inorgánicas, o hidrófilicos si tienen afinidad con ella, por lo general materia orgánica. Los primeros son importantes en el tratamiento de aguas, ya que son inestables con respecto a la formación de cristales no coloidales; los segundos componen soluciones verdaderas y abarcan polímeros, proteínas, almidones y otras macromoléculas. En cuanto a la cinética de coagulación algunos son termoestables y otros inestables, en estos últimos la coagulación es significativa. (De Vargas, 2004).

Existen dos grandes fuerzas a las que se ven sometidas las partículas coloidales; por un lado la fuerza de atracción de Van der Waals que se produce por el movimiento continuo de las partículas y como su nombre lo indica, generan atracción entre ellas, y por el otro, las fuerzas de repulsión electrostáticas que impiden la aglomeración de las partículas, que normalmente por tener la misma carga se repelen entre ellas (Andía, 2000).

1.2.3 Mecanismos de coagulación

Barrenechea, explica que las partículas coloidales presentan carga negativa en el agua por lo cual se repelen entre ellas, por ello es necesaria la adición de agentes coagulantes para desestabilizar los coloides y generar la atracción entre ellos, a través de diferentes mecanismos fisicoquímicos, dentro de los que se destacan (Barrenechea, 2004):

- **Compresión de la doble capa:** como la superficie de las partículas coloidales es negativa atrae un cumulo de iones positivos en la región interfaz (sólido- líquido), que junto con la carga negativa forman la “doble capa”. La repulsión eléctrica de las partículas coloidales disminuye si se incrementan los iones de carga opuesta en la solución; al introducir un electrolito que no reacciona en el agua, aumenta la densidad de las cargas y disminuye la esfera de influencia de las partículas con lo cual se logra la coagulación por compresión de la doble capa, es decir que la desestabilización de un coloide por un electrolito indiferente ocurre cuando los iones de igual carga son repelidos y los de carga opuesta son atraídos por los coloides.
- **Adsorción:** se da cuando los coloides de signos contrarios se mezclan en el agua, es decir cuando los iones del coagulante con carga opuesta se adsorben por la partícula coloidal, logrando neutralizar las cargas repulsivas y facilitando la formación de precipitados. Para que la eficiencia de este mecanismo sea óptima debe haber un pH ácido y bajas concentraciones del coagulante.
- **Captura por barrido:** se adiciona coagulante en una concentración tan alta que impide que se solubilice en el agua, haciendo que se formen precipitados y se originen flocs que atrapan las partículas suspendidas y facilitan su decantación.
- **Adsorción y enlace de puente interpartícula:** es la reacción entre el coagulante y un sector de la zona superficial del coloide. Las moléculas largas del coagulante

pueden adsorber partículas en una de sus extremidades, quedando libre el resto de zona superficial para adsorber otras partículas coloidales.

1.2.4 Coagulantes

Son productos que reaccionan químicamente con los componentes de agua, especialmente con la alcalinidad formando un precipitado voluminoso y absorbente. Los coagulantes desestabilizan las partículas suspendidas presentes en el agua que tienen carga negativa por neutralización de las cargas coloidales, es decir que deben ser iones positivos, siendo los más usados las sales de Aluminio y Hierro (Diaz Claros , 2014)

Según Andía, los coagulantes más usados son Sulfato de Aluminio, Aluminato de Sodio, Cloruro de Aluminio, Cloruro Férrico, Sulfato Férrico, Sulfato Ferroso y los polielectrolitos como ayudantes de floculación (Andía, 2000). Cogollo por su parte, afirma que el uso de estos coagulantes convencionales derivados de sales de Aluminio y Hierro se ha cuestionado en las últimas décadas debido, entre otras cosas, a la dificultad técnica para estabilizar el pH óptimo de coagulación, la necesidad de altas cantidades del producto para lograr resultados adecuados y su relación con la aparición de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y cáncer; además estas sales tienen efectos adversos sobre el medio ambiente, para el caso del Aluminio, en altas concentraciones genera problemas de acidificación, además se bioacumula en las plantas y causa problemas en la salud de los animales que las consumen; el Hierro por su parte es un elemento persistente en los ecosistemas (Cogollo F, 2011).

De forma general los coagulantes se clasifican en tres tipos (Tafur & Quevedo, 2014):

- Coagulantes a base de sales metálicas: son los usados de forma convencional en los procesos de tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales. Dentro de los coagulantes de este tipo se encuentran los compuestos a base de sales de Aluminio y Hierro.
- Coagulantes a base de polímeros sintéticos: estos compuestos tienen alto peso molecular y aumentan la viscosidad de la solución; se utilizan como productos complementarios de los coagulantes a base de sales metálicas en la neutralización de partículas coloidales.

- Coagulantes de origen natural: son coagulantes alternativos, derivados de productos orgánicos que pueden presentar rendimientos iguales o superiores a los de los coagulantes convencionales, dentro de este tipo de coagulantes se encuentran los almidones y polisacáridos naturales como la celulosa y el quitosano, estos coagulantes presentan ventajas significativas con respecto a los coagulantes convencionales de las que se destacan (Servyeco, s.f):
 - ✓ Sus características de biodegradabilidad que hacen que sea una alternativa amigable con el medio ambiente
 - ✓ Su carácter orgánico que minimiza la posible modificación del pH y la conductividad en el agua ya que no consumen alcalinidad del medio.
 - ✓ La eliminación total del incremento de sales en el agua.
 - ✓ Una mayor eficiencia traducida en dosis bajas de coagulante que consiguen aumentar la velocidad de decantación, disminuir los tiempos de coagulación y mejorar la densidad del coagulo reduciendo de manera significativa la cantidad de floculante.
 - ✓ Presenta ventajas económicas relacionadas con la reducción de costes asociados al mantenimiento de las instalaciones debido a que se reduce significativamente la corrosión que producen las sales usadas convencionalmente; por su eficiencia también se reduce o elimina por completo el uso de floculantes lo cual se traduce en menores costos. Dentro de este tipo de coagulantes se encuentran los almidones y polisacáridos naturales como la celulosa y el quitosano.

1.2.5 Factores que influyen en la coagulación

Existen diferentes variables que influyen en la optimización del proceso de coagulación, dentro de las cuales se destaca:

- pH: es la variable más influyente en el proceso de coagulación, dado que si este se desarrolla fuera del rango de pH se disminuye la solubilidad del coagulante en el agua y se van a requerir concentraciones más altas del mismo, además tomará

mayor tiempo para la formación del floculo. Para que el proceso sea óptimo el pH debe ser neutro (Dominguez Amorocho, 2010).

- Dosis de Coagulante: la dosis óptima de coagulante se determina mediante test de jarras. Es de vital importancia considerando que cantidades muy pequeñas de coagulante impiden la neutralización total de la carga del coloide por lo que la formación de floculos es mínima; mientras que dosis muy altas de coagulante invierten la carga de las partículas coloidales haciendo que se formen gran cantidad de floculos pequeños que se tardan demasiado en sedimentar (Tafur & Quevedo, 2014).
- Turbiedad: la concentración de coagulante aumenta con la turbiedad del agua y para cada turbiedad hay una dosis óptima de coagulante, sin embargo, si la turbiedad es muy alta las dosis de coagulante disminuyen, pues es de esperar colisión entre los coloides, por otra parte si la turbiedad es muy baja, se requieren mayores dosis de coagulante pues hay menor probabilidad de choque entre partículas (Dominguez Amorocho, 2010).
- Agitación y mezcla: la eficiencia del proceso está determinada por la agitación de la mezcla de agua con el coagulante, que asegura que la concentración de este sea uniforme en toda la solución; la intensidad y tiempo de mezcla determinan la distribución adecuada de coagulante. (Tafur & Quevedo, 2014).
- Tamaño de las partículas: si las partículas coloidales son muy pequeñas se requiere la adición de mayor cantidad de coagulante, mientras que si las partículas son muy grandes se dificulta la formación del floc (Restrepo H. , 2009).
- Temperatura del agua: la variación de la temperatura afecta la densidad del agua, un aumento en este parámetro modifica la energía cinética de las partículas en suspensión, por lo que el proceso de coagulación es más lento en temperaturas elevadas; de igual forma bajas temperaturas ocasionan un aumento en la viscosidad del agua y por consiguiente dificulta la sedimentación del floc (Gomez Puentes, 2005).

1.3 Quitina y Quitosano

1.3.1 Definición y Estructura Química

La quitina cuyo nombre sistemático es poli (β -N-acetil-glucosamina) es un aminopolisacárido natural blanco, duro, inelástico e insoluble en la mayoría de solventes comunes y constituye una fuente importante de contaminación en zonas costeras. La Figura 2, presenta la estructura lineal de la quitina la cual está compuesta por unidades repetitivas de N-acetil-glucosamina, unidas por enlaces glicosídicos. (Lárez , 2003).

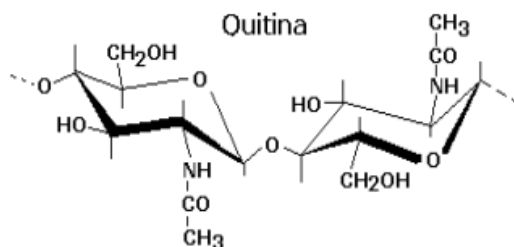


Figura 2. Estructura química de la quitina.

Fuente: (Lárez , 2003)

Mediante hidrólisis alcalina se da la desacetilación de la quitina, la cual reduce ligeramente la longitud de su cadena transformándose en quitosano, presentado en la Figura 3. Este polisacárido es un sólido blanco, sin forma definida, tiene una cadena más corta que la de la quitina, con menos glucosamina. Es soluble en soluciones ácidas o neutras, tiene facilidad para formar películas y se comporta como polieléctrolito causando interacciones electrostáticas de repulsión entre los grupos aminos ionizados en la cadena (Alas & Ventura, 2007).

El quitosano es un material con gran potencial futurista debido a sus atributos como biocompatibilidad y biodegradabilidad que lo hacen un producto amigable con el medio ambiente, además presenta baja toxicidad e inmunogenicidad, por lo que es un biomaterial con potencial en diversos campos (Cadeza Espinosa, 2014).

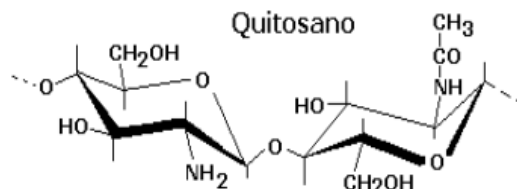


Figura 3. Estructura química del quitosano

Fuente: (Lárez , 2003)

1.3.2 Fuentes de Quitina y Quitosano

Como lo afirma Larez (Larez Velasquez, 2006), la quitina es uno de los polisacáridos de mayor abundancia en la naturaleza, se encuentra principalmente en los caparazones de los crustáceos, el exoesqueleto de artrópodos como las cucarachas o escarabajos y es parte fundamental de las paredes celulares de algunas especies de hongos y algas. La quitina industrial se obtiene del tratamiento de las conchas de crustáceos como los camarones, langostas, cangrejos, entre otros, por la facilidad de encontrar los exoesqueletos de estos artrópodos, como desperdicio de la industria alimentaria. El quitosano por su parte se encuentra en las paredes celulares de algunas clases de hongos y plantas, pero su principal fuente de obtención es la hidrólisis de la quitina en medio alcalino, la cual mediante un proceso de desacetilación química ha propiciado su producción a gran escala.

Larez (Larez Velasquez, 2006) también señala que entre las fuentes de quitina se encuentra el camarón, el cuál como todos los crustáceos se caracterizan porque carecen de columna vertebral y en general de esqueleto interno y en cambio tienen un caparazón o cutícula que los protege y se modifica a medida que el animal crece y se desarrolla; ésta cubierta está hecha de quitina, una red de moléculas con cruce entre hidratos de carbono y proteínas. Su cuerpo se divide en dos partes como se observa en la Figura 4, la delantera o cefalotórax en donde están los principales órganos y la trasera o cola que es un gran bloque carnoso de músculos que mueven el extremo posterior.

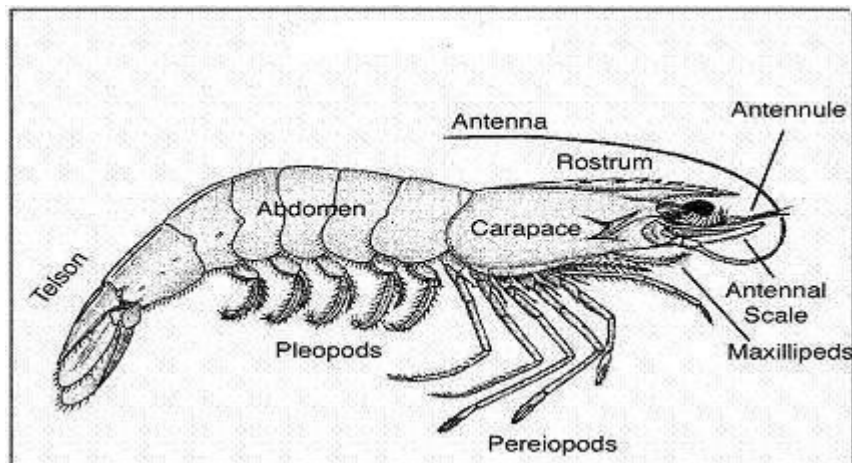


Figura 4. Morfología externa del camarón.

Fuente: El Camarón de EcuRed s.f. Recuperado de <https://www.ecured.cu/Camar%C3%B3n>

Como lo exponen Restrepo y Guarín (Restrepo & Guarín, 2004), el camarón es uno de los productos de mar más valiosos y su industria se ha extendido por diversos países del mundo; en la actividad de captura del crustáceo la mayor participación la tienen China, India, Indonesia, Estados Unidos y Canadá. Como países procesadores Tailandia lidera la actividad, seguida de India, Estados Unidos, Indonesia y Ecuador. Colombia por su parte ocupa el puesto 30 en actividad de captura de camarón y el puesto 25 en su procesamiento a nivel mundial.

La industria de procesamiento de camarón genera una cantidad importante de residuos sólidos lo cual representa un problema medioambiental y de salubridad importante, debido a la generación de malos olores, vectores, contaminación y enfermedades. En esta industria no se aprovecha totalmente el crustáceo y se desechan porcentajes considerables del producto, que tienen usos potenciales en otras industrias (Restrepo & Guarín, 2004).

Al respecto Cadeza afirma, que el 40% del crustáceo lo conforman la cabeza y el cefalotórax del animal, los cuales son considerados desechos y son de lenta descomposición. Alrededor del 50% de la producción en la industria de camarón se convierte en desperdicio orgánico; lo que representó en el año 2011 la generación de 1.438.771 kg de basura en el mundo, cuya descomposición deteriora el medio ambiente afectando los suelos, agua y aire (Cadeza Espinosa, 2014).

1.3.3 Obtención de Quitosano

El proceso de obtención de la quitina y el quitosano ha sido evaluado en las últimas décadas en trabajos como el de Escobar et.al (Escobar, Ossa, Quintana, & Ospina, 2013) que optimizaron un protocolo de extracción de estos dos polímeros a partir de caparazones de crustáceos, principalmente cangrejos, langostas y mejillones o el de Hernández et.al (Hernandez, Aguila , Flores, Ramos , & Viveros , 2009) donde se presentan los resultados de la obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón, en el cual obtuvieron quitosano de calidad aceptable, con un rendimiento del 51.94% y un porcentaje de desacetilación de 64% que lo hacen funcional para aplicarlo en el control ambiental.

La obtención de quitina y quitosano se puede realizar por método químico, en la figura 5 se observan las etapas generales que involucra el proceso (Tafur & Quevedo, 2014):

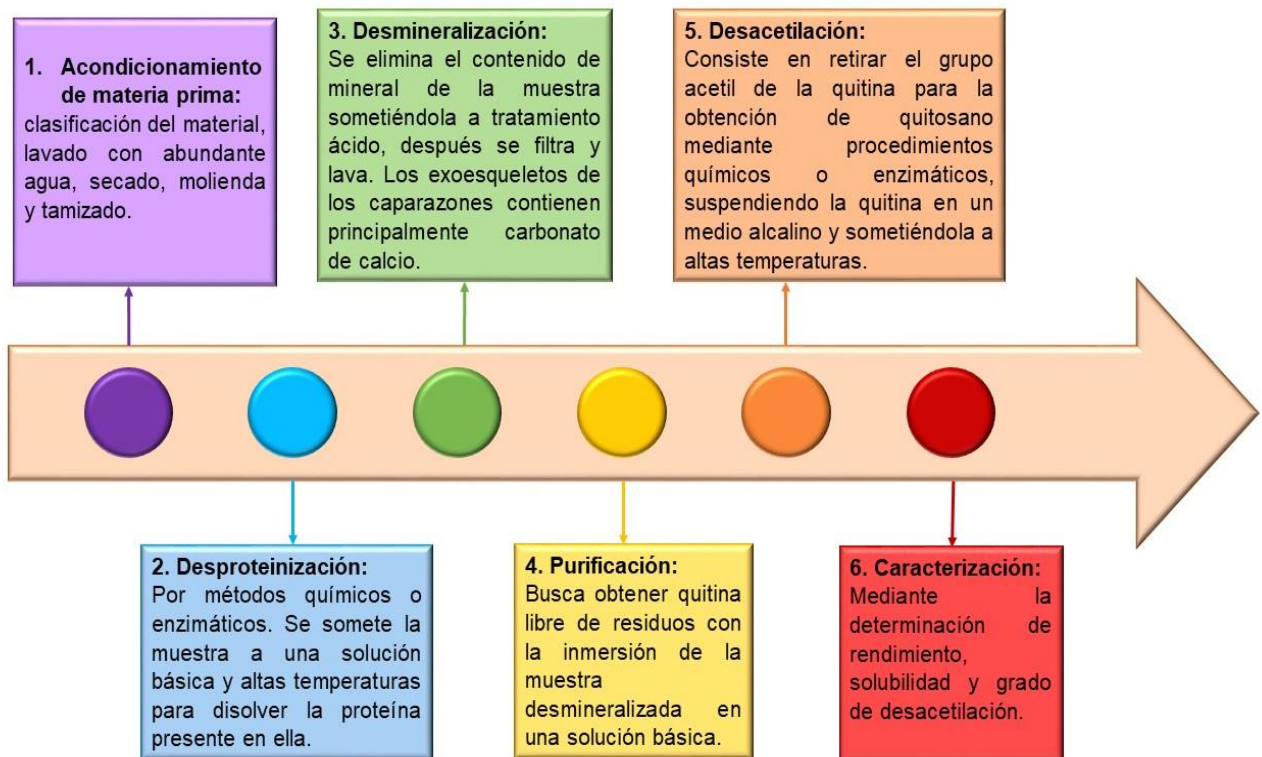


Figura 5. Etapas de Obtención de Quitosano

Fuente: Elaboración propia. Adaptación de (Tafur & Quevedo, 2014).

1.3.4 Usos y Aplicaciones del Quitosano

En los últimos años se han producido avances significativos en la producción, caracterización y aplicaciones de la quitina y el quitosano. Dentro de los usos más destacados se encuentra la industria alimentaria, en la preservación de alimentos gracias a su actividad antimicrobiana y el aprovechamiento de sus propiedades emulsificantes, gelificantes, estabilizantes y antioxidantes; en medicina se usa para promover el crecimiento de tejidos por su biocompatibilidad y biodegradabilidad y para vendajes de heridas; en la agricultura se aplica para mejorar la germinación y los rendimientos de las cosechas; en la industria cosmética se usa para la elaboración de cremas, lociones y acondicionadores para cabello ya que protege e hidrata y además reduce las líneas de expresión (Vasquez Lara, 2011).

Uno de sus usos más representativos en los últimos años ha sido el control ambiental, ya que por sus características es un efectivo agente coagulante, muy apropiado para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales y en reactores de lodo activado (Vasquez Lara, 2011).

Algunos estudios han evaluado la eficiencia del quitosano en la remoción de contaminantes específicos, como es el caso de Tafur y Quevedo (Tafur & Quevedo, 2014) que estudiaron la coagulación del quitosano en el tratamiento de aguas residuales cromadas logrando remover aproximadamente un 46% de Cr+3 en el agua, un porcentaje cercano al obtenido por el cloruro férrico de manera convencional, por lo que es una alternativa viable para el tratamiento de aguas contaminadas con Cromo. En un estudio similar realizado por Alas y Ventura (Alas & Ventura, 2007) se evaluó la remoción de Plomo en aguas no potables mediante coagulación con Quitosano, arrojando como resultado una capacidad de retención de Plomo de 98%.

1.4 Hidrogeles de Quitosano

El Quitosano es un polisacárido capaz de formar hidrogeles inteligentes debido a que su cadena polimérica está compuesta por grupos amino que le permiten realizar un hinchamiento selectivo frente al pH. Esta propiedad ha hecho que sean de enorme interés por su aplicabilidad en diversos campos como en la agricultura, medicina y en el tratamiento de aguas (Romero Peñaloza, 1988).

Como lo afirma Beltrán (Beltrán Patiño, 2010) “los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales de alto peso molecular y carácter hidrófilo, capaces de absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos”; se caracterizan por ser insolubles ya que poseen entrecruzamientos químicos o físicos que les proporcionan una estructura definida y de integridad física. Los hidrogeles tienen propiedades que los hacen muy útiles en diversos campos, dentro de las que se pueden mencionar su capacidad de absorción, permeabilidad para disolver solutos, cinética de hinchamiento, adhesividad, propiedades ópticas, biocompatibilidad y propiedades mecánicas (Beltrán Patiño, 2010).

Dichas propiedades han sido aprovechadas en los últimos años para el desarrollo de alternativas de tratamiento de aguas residuales industriales y domésticas, a través de hidrogeles preparados con quitosano, que tienen efectos coagulantes en este tipo de matrices. Los hidrogeles de quitosano se forman inicialmente mediante complejos polielectrólitos entre un poliácido acrílico y el quitosano; logran un grado de hinchamiento máximo a valores de pH ácidos.

2. Planteamiento del problema

La creciente contaminación del recurso hídrico y la escasez de fuentes de agua, se han convertido en problemáticas mundiales, que demandan nuevas y eficientes alternativas tecnológicas, tendientes a mejorar la calidad del agua, que sean inocuas para la salud y amigables con el medio ambiente. Los sistemas convencionales para el tratamiento de aguas, utilizan dentro de sus procesos algunos polímeros químicos que afectan de forma directa los recursos naturales.

Al respecto Ramírez & Jaramillo, afirman que los sistemas tradicionales de tratamiento, incluyen dentro de sus procesos de clarificación, la coagulación y floculación a partir de polímeros a base de sales de Hierro y Aluminio, los cuales contaminan el medio ambiente, son tóxicos y pueden causar enfermedades (Ramírez & Jaramillo, 2015).

El desarrollo de nuevos coagulantes naturales se puede realizar a partir de compuestos biodegradables como el Quitosano, un biopolímero que se obtiene en mayores cantidades en el exoesqueleto de los crustáceos (Escobar, Ossa, Quintana, & Ospina, 2013) en Colombia los estudios sobre el tema son limitados, lo cual dificulta su aplicación en sistemas de tratamiento de aguas residuales.

Por otra parte, como lo exponen Restrepo & Guarín, una de las industrias alimenticias con altas tasas de generación de residuos a nivel mundial y en Colombia es el procesamiento de Camarón, que produce millones de toneladas de basura, debido a que no se realiza un aprovechamiento total del producto; éstos residuos son de lenta descomposición y representan un problema medioambiental y de salubridad importante, debido a la generación de malos olores, vectores, contaminación y enfermedades (Restrepo & Guarín, 2004).

Los residuos de la industria camaronera, que básicamente los constituye el exoesqueleto de estos crustáceos, son de gran valor para la obtención de Quitosano, como coagulante

para el tratamiento fisicoquímico de aguas residuales; sin embargo, según los planteamientos de Hernández aún es escaso el conocimiento sobre los rendimientos alcanzados en la extracción de quitina y transformación a quitosano, lo que dificulta y hace poco factible su implementación (Hernandez, Aguila , Flores, Ramos , & Viveros , 2009).

De esta forma, el presente proyecto busca responder a la pregunta: ¿El Quitosano obtenido del exoesqueleto de los camarones puede ser empleado en el tratamiento fisicoquímico de las aguas residuales industriales provenientes de una industria cosmética?

2.1 Objetivos

2.1.1 General

Evaluar la capacidad coagulante a nivel de laboratorio del quitosano extraído del exoesqueleto de los camarones para el tratamiento de las aguas residuales de un laboratorio cosmético.

2.1.2 Específicos

- Obtener a nivel laboratorio el quitosano extraído del exoesqueleto de los crustáceos (camarones) apto para el proceso de coagulación.
- Identificar a nivel de laboratorio la eficiencia del quitosano como coagulante en los procesos de tratamiento de aguas residuales industriales provenientes de un laboratorio cosmético.
- Componer las curvas de remoción del coagulante quitosano para SST, Turbidez, DQO, DBO₅ y SAAM del agua residual proveniente de un laboratorio cosmético.

2.2 Metodología

Este trabajo de investigación es de tipo experimental pues se basa en aspectos prácticos y en la manipulación, medición y control de variables que permiten extraer el quitosano del exoesqueleto del camarón y determinar su rendimiento como agente coagulante natural en la remoción de contaminantes de aguas residuales provenientes de un laboratorio cosmético.

El método usado es el estudio de caso, que es una técnica que permite describir una situación específica, para analizar un contexto general; de ésta forma se hace un análisis inductivo – deductivo ya que parte de los resultados particulares sobre los rendimientos del quitosano en la remoción de contaminantes del agua residual proveniente de una industria cosmética, para llegar a conclusiones generales sobre el tema.

Los residuos de crustáceos empleados se obtuvieron de una distribuidora de productos marinos de la ciudad de Bogotá y la muestra de agua residual industrial de una industria cosmética en la misma ciudad.

- **Extracción de Quitina y Quitosano**

La metodología usada para la extracción de la quitina, precursor del quitosano es la propuesta por Escobar, que consta de 5 pasos; se obtendrá el quitosano utilizando el método químico a partir de exoesqueletos de camarón (Escobar, Ossa, Quintana, & Ospina, 2013).

Los pasos de extracción planteados en esta metodología incluyen la preparación de los desechos para remover restos orgánicos y obtener un polvo fino; la desproteínización en la que se remueven las proteínas mediante sometimiento de la muestra a una solución básica y altas temperaturas; la desmineralización para remover minerales con tratamiento ácido; la purificación mediante la cual se obtiene una quitina libre de residuos por inmersión de la muestra en una solución básica y altas temperaturas y la desacetilación por medio de la cual se transforma la quitina en quitosano.

- **Caracterización del Quitosano:**

Tal como lo plantea Vásquez (Vasquez Lara, 2011), las dimensiones y composición de las cadenas de quitosano varían dependiendo del método de obtención, por lo que es necesario caracterizar el polisacárido obtenido, evaluando los parámetros que tienen más incidencia en sus propiedades; para el caso de este proyecto de investigación, se evaluará el rendimiento, la solubilidad y el grado de desacetilación del quitosano.

Para caracterizar el quitosano entonces se emplea la metodología propuesta por Tafur y Quevedo (Tafur & Quevedo, 2014), mediante la cual se establece el rendimiento del

quitosano a través del peso de la muestra con la que se inicia el proceso y posteriormente el peso de la muestra de quitosano que se obtuvo; la solubilidad del quitosano mediante disolución en diferentes solventes y el grado de desacetilación por valoración potenciométrica, titulando la muestra con NaOH, para establecer curvas de pH vs volumen añadido de NaOH, cuya diferencia en puntos de inflexión corresponde a la cantidad de ácido que se requiere para protonar los grupos amino del quitosano.

- **Eficiencia del quitosano:**

Posteriormente, se determina la eficiencia del quitosano para reducir la carga contaminante presente en una muestra de agua residual industrial proveniente de un laboratorio cosmético, mediante test de jarras.

Como afirman Giraldo y Castrillón (Castrillon & Giraldo , 2012), el ensayo de jarras es una técnica que simula los procesos de coagulación, floculación y sedimentación, dentro de un laboratorio, con el fin de determinar la dosis óptima de coagulante para el tratamiento de aguas. En el proceso se evalúan algunos factores que influyen en el tratamiento como son pH, temperatura, concentración de coagulante, grado de agitación y tiempo de sedimentación.

De esta forma, se realizan ensayos de coagulación, floculación y sedimentación, tomando como fuente el procedimiento establecido por Fúquene y Yate (Fúquene & Yate, 2018), según la cual se deben medir los parámetros fisicoquímicos de interés en el agua cruda; posteriormente ajustar el pH de la muestra para comenzar la simulación de los procesos coagulación, floculación y sedimentación con el coagulante y floculante de interés, a diferentes dosis; una vez se obtiene el agua clarificada se analizan nuevamente dichos parámetros para determinar la capacidad de remoción del coagulante, en este caso el quitosano, en los contaminantes objeto de estudio.

- **Parámetros Fisicoquímicos objetos de estudio**

Para establecer la capacidad de remoción del quitosano se realizan análisis de DBO₅, DQO, Turbidez, Tensoactivos y sólidos totales en la muestra de agua residual industrial proveniente de un laboratorio cosmético antes y después de la aplicación del quitosano

como coagulante, con el fin de realizar un análisis detallado de los resultados obtenidos en las pruebas de tratabilidad y así poder definir la eficiencia del coagulante natural.

Para la realización de éstos análisis se emplean los métodos propuestos en el “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition (Rice, Baird , & Eaton, 2017). A continuación, se realiza una breve descripción de los mismos:

- DBO₅: (5210 B y 4500 G) consiste en llenar con dilución una muestra sembrada, a rebosar en una botella hermética y ponerla en incubación durante 5 días; el oxígeno disuelto es medido al iniciar y al finalizar la incubación, y la DBO₅ es la diferencia entre el oxígeno inicial y final.
- DQO: (SM 5220 C), la muestra es digerida en un sistema cerrado, en un medio fuertemente ácido, con un exceso de Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$). Después de la digestión, el dicromato remanente no reducido se titula con Sulfato Ferroso de Amonio (FAS) para determinar la cantidad de $K_2Cr_2O_7$ consumido y la materia oxidada se calcula en términos de oxígeno equivalente.
- Turbidez: (SM 2130 A y 2130 B) se basa en la comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra en condiciones definidas y la dispersada por una solución patrón de referencia en idénticas condiciones. Cuanto mayor es la intensidad de luz dispersada, más intensa es la turbidez de la muestra.
- Tensoactivos: (SM 5540 C) el método consta de tres extracciones sucesivas con Cloroformo, de un medio ácido que contenga azul de metileno en exceso, seguidas de lavado por contracorriente con una solución acuosa y la medición del color azul en la fase orgánica por espectrofotometría.
- Sólidos Totales: (SM 2540 B), se evapora un volumen de muestra homogenizada en una capsula de Porcelana y es secado a peso constante en un horno a 103°C, el aumento de peso con relación al de la capsula vacía representa los sólidos totales.

3. Procedimiento experimental

3.1 Materiales y reactivos

La Tabla 1, relaciona los materiales y reactivos empleados para el desarrollo de los pasos requeridos en los diferentes procedimientos establecidos en la metodología propuesta, como son: extracción de quitina y quitosano, caracterización del quitosano, test de jarras y análisis fisicoquímicos.

Tabla 1 Materiales y reactivos

PROCEDIMIENTO	PASOS	MATERIALES Y EQUIPOS	REACTIVOS
EXTRACCIÓN DE QUITINA Y QUITOSANO	Acondicionamiento de Materia Prima	Recipiente plástico, tamiz, molde de Aluminio, macerador, horno de secado, licuadora, balanza analítica	Agua destilada
	Desproteínización	Erlenmeyer 2000 ml, plancha de calentamiento y agitación, agitador magnético, tamiz, recipiente plástico, tiras indicadoras de pH	NaOH al 4%
	Desmineralización		HCl 2N
	Purificación		NaOH 3.5%
	Desacetilación		NaOH 60%
CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSANO	Rendimiento	Balanza analítica con sensibilidad de 0.001g	Quitosano 2% Etanol grado analítico Ácido acético 0.2M HCl 0.2M
	Solubilidad	Tubos de ensayo, gradilla, agitador vórtex, pipeta 5ml	Quitosano HCl 0.2M Ácido acético 0.2M Etanol grado analítico
	Grado Desacetilación	Potenciómetro, plancha de agitación, agitador magnético, bureta 50ml, Erlenmeyer 100ml	Quitosano HCl 0.3M NaOH 0.1M

PROCEDIMIENTO	PASOS	MATERIALES Y EQUIPOS	REACTIVOS
TEST DE JARRAS	NA	Pipeta de 1ml, jeringas de 1ml, beaker de 1 L, plancha de agitación magnética, potenciómetro, turbidímetro, linterna	Coagulantes Polímeros NaOH HCl
	Sólidos totales	Cápsulas de porcelana, horno de calentamiento, desecador, balanza analítica, probetas de 25ml, y 50ml, pipetas graduadas y aforadas	NaCl
ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	DBO ₅	Incubadora, oxímetro con electrodo de membrana, balanza analítica, bomba de aireación, plancha agitadora, agitador magnético, potencímetro, botellas winkler boca esmerilizada y tapa de vidrio, balones aforados, pipetas graduadas y aforadas	Fosfato diácido de potasio, fosfato ácido de sodio heptahidratado, cloruro de amonio, sulfato de magnesio heptahidratado, cloruro de calcio, cloruro de hierro hexahidratado, H ₂ SO ₄ , NaOH, sulfito de sodio, glucosa, ácido glutámico, sulfato manganeso, yoduro de sodio, ácido sódica, yoduro de potasio, tiosulfato de sodio, bioyodato de potasio, almidón, ácido salicílico
	DQO	Bloque de calentamiento a 150°C, balanza analítica, tubos de digestión de borosilicato, agitador magnético, dispensador, pipetas, vasos Erlenmeyer, espectrofotómetro UV.	Biftalato de potasio, solución de digestión de dicromato de potasio, H ₂ SO ₄ , sulfato de plata, sulfato e mercurio, ácido sulfámico.
	Turbidez	Turbidímetro, celda de medición	Formazina

PROCEDIMIENTO	PASOS	MATERIALES Y EQUIPOS	REACTIVOS
	Tensoactivos	Espectrofotómetro UV, celda de medición, embudos de separación de 500ml, embudos de filtración, balones aforados de 50ml, vasos de precipitado de 250ml, papel filtro	Fenolftaleína, NaOH, H ₂ SO ₄ , azul de metileno, cloroformo, sulfato de sodio, dodecil sulfato de sodio, H ₂ O ₂ al 30%, fosfato de sodio diácido monohidratado, etanol 96%

3.1.1 Extracción de quitina y quitosano

Para la obtención de quitina y quitosano a partir de exoesqueletos de camarón se utilizó el método químico planteado por Escobar et al. (Escobar, Ossa, Quintana, & Ospina, 2013), el cual se detalla a continuación:

1. Inicialmente se procede con la **preparación de los desechos de camarón**, que como se observa en la Figura 6, consiste en separar los caparazones y lavarlos con abundante agua, removiendo los restos orgánicos que pudieran estar presentes. Posteriormente los exoesqueletos se someten a un proceso de secado en un horno a una temperatura promedio entre 60 y 70 °C, después se maceran, trituran y tamizan, buscando obtener un polvo fino. (Hernandez, Aguila , Flores, Ramos , & Viveros , 2009). El producto del proceso se pesa en una balanza analítica con sensibilidad de 0,0001g (Se usó una Mettler Toledo MS304TS) para calcular con posterioridad el rendimiento del Quitosano obtenido.
2. **Desproteínización:** Como se muestra en la figura 7, las proteínas son removidas tratando la muestra con solución de hidróxido de sodio (NaOH, grado analítico), a una concentración de 4%, en una relación sólido – líquido 1:10, manteniendo la temperatura de una plancha de agitación magnética (se usó una Heidolph MR Hei-standard) a 95°C, bajo agitación constante durante 3 horas. Posteriormente se filtra y se neutraliza el pH con agua desionizada.

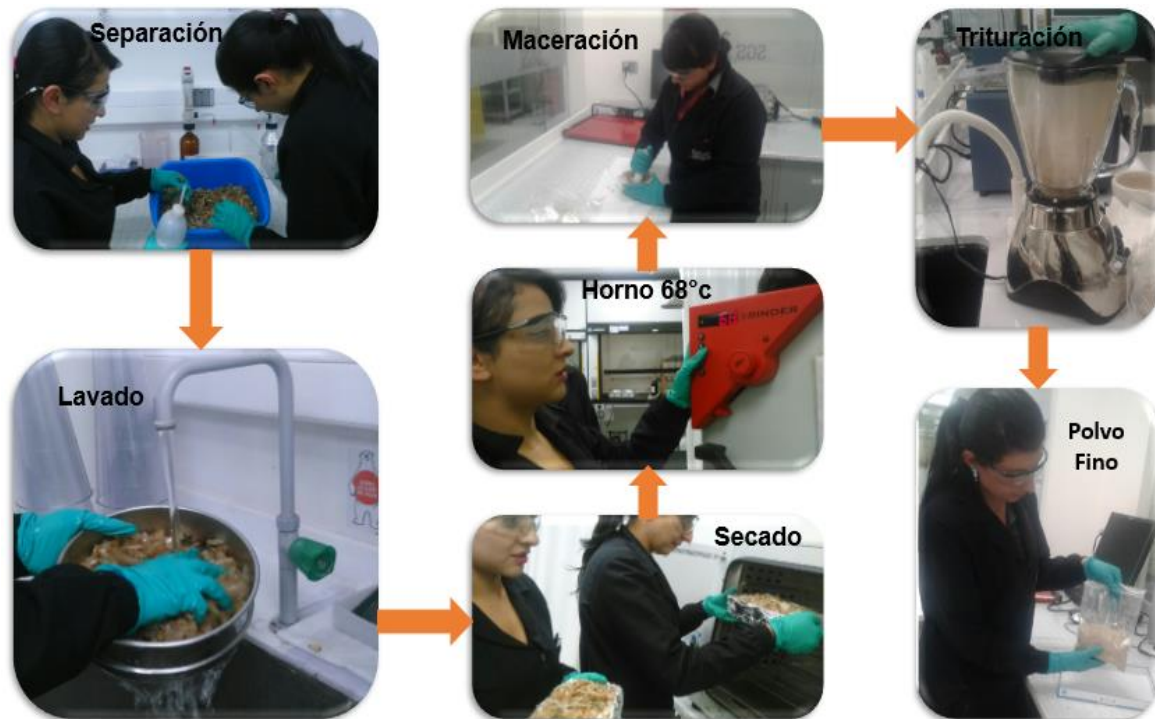


Figura 6. Preparación de desechos de camarón y obtención de un polvo fino.

Fuente: Elaboración propia



Figura 7. Desproteinización exoesqueletos de camarón

Fuente: elaboración propia

3. **Desmineralización:** La remoción de minerales de calcio se logra en solución de HCl, en concentración de 2N en una relación sólido – líquido 1:5 a temperatura ambiente, bajo agitación constante, por 2 horas. Posteriormente la muestra se filtra y se lava para neutralizar el pH. En la figura 8 se observa el proceso:

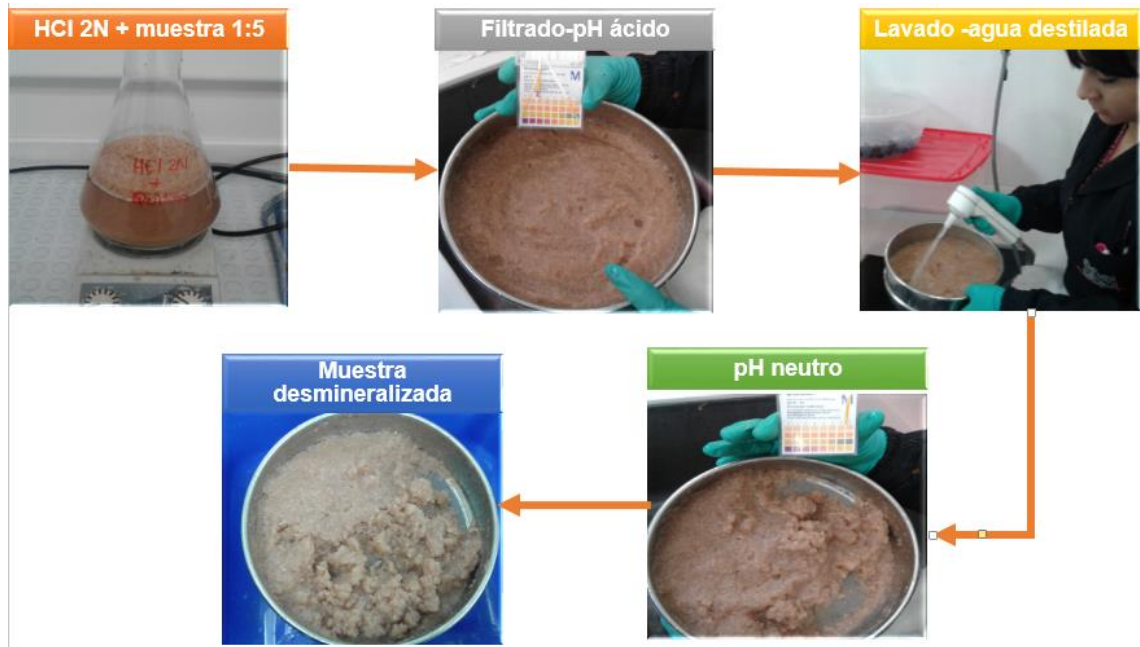


Figura 8. Desmineralización de exoesqueletos de camarón

Fuente: elaboración propia

4. **Purificación:** Con el fin de obtener una quitina libre de residuos; como se observa en la Figura 9, se somete la muestra desmineralizada a una etapa adicional que consiste en su inmersión en una solución de hidróxido de sodio (NaOH grado analítico) a concentración 3,5%, en una relación sólido – líquido 1:5, a una temperatura de 100°C por 1 hora. Seguidamente las muestras se someterán a filtrado y lavado hasta pH neutro. Terminada esta etapa se obtendrá la quitina.



5. Finalmente, como se muestra en la Figura 10, se inicia el proceso de transformación de quitina a Quitosano mediante la **desacetilación**, una vez se ha retirado el grupo acetil de la estructura. Este proceso consiste en tratar la muestra de quitina con solución de hidróxido de sodio (NaOH) a una concentración 60%, en relación sólido – líquido 1:10, a 100°C bajo agitación constante por 1 hora. Posteriormente la muestra obtenida será lavada y secada a 80°C por 30 minutos.

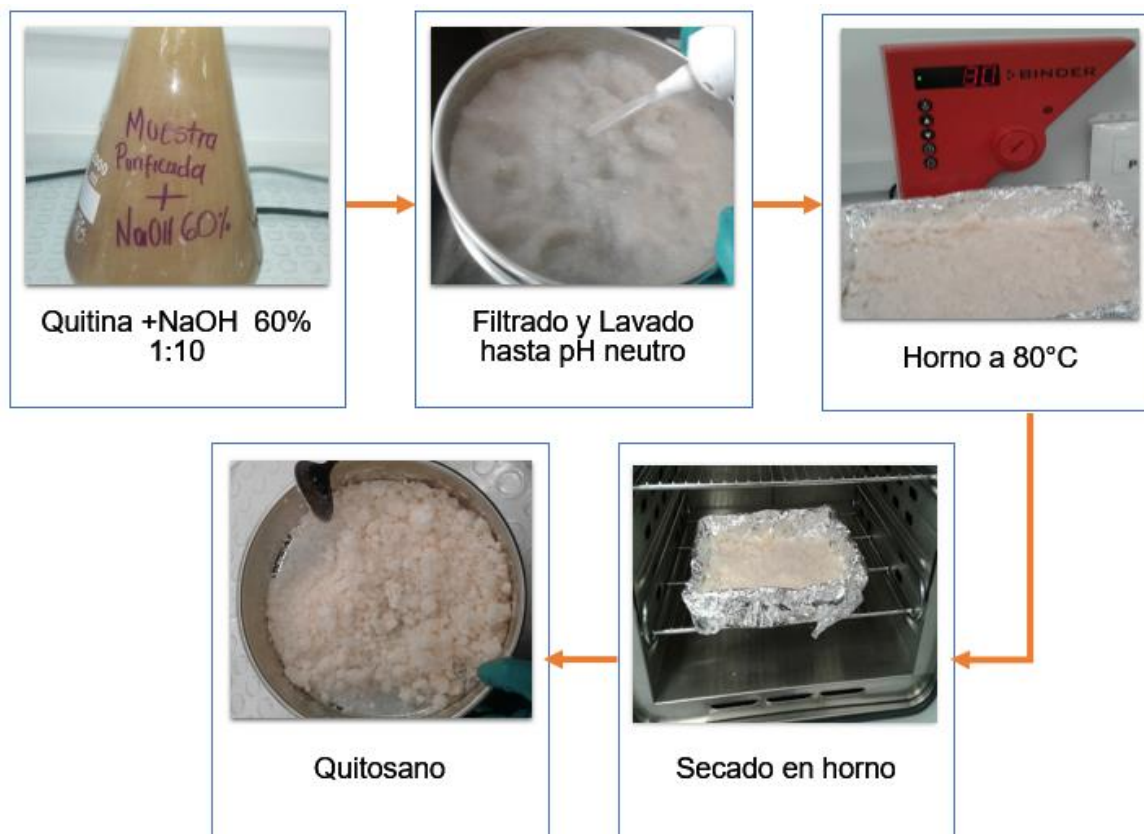


Figura 9. Desacetilación de quitina para obtención de quitosano

Fuente: elaboración propia

3.1.2 Caracterización de quitosano:

Dependiendo del método empleado para la extracción del quitosano, varían las dimensiones y composición de las cadenas del polisacárido, por lo que se hace necesario caracterizarlo, evaluando diferentes parámetros que inciden en sus propiedades (Vasquez Lara, 2011). En este trabajo de investigación se evalúa el rendimiento, la solubilidad y el

grado de desacetilación del quitosano obtenido, mediante el método propuesto por Tafur y Quevedo (Tafur & Quevedo, 2014), según el cual se establece:

- Rendimiento: mediante una balanza analítica con sensibilidad de 0,0001g se pesa la muestra con la que se inicia el proceso, después de la etapa de preparación (RT), y posteriormente la muestra de quitosano que se obtuvo (RR), tal como se presenta en la Figura 11.



Figura 10. Peso inicial de muestra de camarón y peso de quitosano obtenido

Fuente: Elaboración propia

Posteriormente se calcula el rendimiento mediante la siguiente ecuación:

$$\%R = \frac{RR}{RT} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

- Solubilidad del Quitosano: como se muestra en la Figura 12, la prueba emplea quitosano al 2%, que se obtiene introduciendo en tubos de ensayo 100 mg de muestra y disolviendo en 5 ml de agua, etanol, ácido acético 0.2 M y ácido clorhídrico 0.2 M, respectivamente. Los tubos se deben agitar y dejar en reposo durante 24 horas, para

determinar con posterioridad qué solvente presenta mayor solubilidad. Para este ensayo se empleó un agitador vórtex (Heidolph Reax Top).



Figura 11. Prueba de Solubilidad del quitosano

Fuente: Elaboración propia

- Grado de desacetilación por valoración potenciométrica: se realiza para calcular el porcentaje de grupos amino presentes en la cadena del quitosano. Como se puede ver en la Figura 13, el ensayo se realiza mediante un potenciómetro (Oakton pH 700) previamente calibrado. Se pesan 0,25 g de muestra y se disuelven en 10 ml de HCl 0,3 M. Se titula con NaOH 0,1 M, midiendo el cambio de pH que presenta la solución en cada adición de 1ml de NaOH hasta completar un volumen de 50 ml.

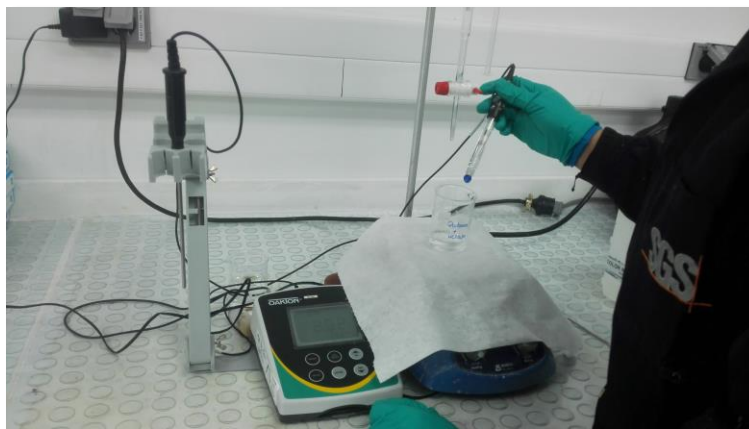


Figura 12. Prueba de grado de desacetilación por valoración potenciométrica

Fuente: Elaboración propia

Con los resultados obtenidos se construyen curvas de titulación de pH vs volumen añadido de NaOH, las cuales se muestran en el apartado de “Resultados y discusión” de este documento y presentan dos puntos de inflexión; la diferencia entre estos puntos corresponde a la cantidad de ácido que se requiere para protonar los grupos amino del quitosano. Según Beltrán (Beltrán Patiño, 2010), el grado de desacetilación del quitosano se puede determinar mediante valoración potenciométrica utilizando la siguiente ecuación:

$$\%DD = 100 - 16.1 \frac{(V_2 - V_1)}{W} * M \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde

“V₂” es el punto de inflexión mayor;

“V₁” punto de inflexión menor,

“M” molaridad de NaOH,

“W” peso en gramos de la muestra y

FC: factor constante= 16,1.

3.1.3 Eficiencia del quitosano:

Posteriormente, se determina la eficiencia del quitosano para reducir la carga contaminante presente en una muestra de agua residual industrial proveniente de un laboratorio cosmético, mediante test de jarras.

Debido a que el quitosano no es soluble en agua, se prepararon soluciones de acuerdo a la metodología de Tafur y Quevedo (Tafur & Quevedo, 2014), con concentraciones 0.5%, 1% y 1.5% (p/v) de quitosano disuelto en ácido acético 0.2M, (0.5g, 1g y 1.5g de quitosano respectivamente en 100 ml de ácido acético 0.2M), que dieron como resultado un hidrogel soluble en agua, apreciable en la Figura 14, el cual actúa como coagulante en el ensayo de test de jarras.



Figura 13. Soluciones de quitosano disuelto en ácido acético 0,2M

Fuente: elaboración propia

Para la realización del test de jarras se utilizó el procedimiento propuesto por Fuquene y Yate (Fúquene & Yate, 2018), en donde inicialmente se miden los parámetros de interés en el agua cruda, para el caso de este proyecto DQO, DBO₅, turbiedad, tensoactivos y sólidos totales. Posteriormente, se debe verificar que el pH de la muestra esté en el rango óptimo para trabajar, de lo contrario se ajusta con NaOH o HCl según corresponda. Según Fuentes y colaboradores, el quitosano se ha empleado como coagulante en el tratamiento de agua para consumo humano con rendimientos aceptables en un intervalo de pH de 5 a 9 (Fuentes, Contreras, Perozo, Mendoza, & Villegas, 2008).

Se realizaron 20 ensayos de jarras. La prueba se realiza en 6 jarras de 500 mL, en las cuales se introduce la muestra de agua residual industrial proveniente de la industria cosmética hasta completar volumen. Mediante un equipo de jarras (Floculador GAMA FH6) se programa una mezcla rápida de ± 120 rpm durante un minuto, adicionando el coagulante quitosano en el momento en que comienza la mezcla, en concentraciones de 0,5%, 1% y 1,5% y volúmenes de 0,25 mL y 0,5mL para cada concentración. Transcurrido el minuto se realiza una mezcla lenta a ± 60 rpm durante 20 minutos, adicionando el floculante en el momento en que inicia la mezcla, que para este proyecto fue carboximetil celulosa sódica-

CMC (1000ppm). Al final se deja reposar por lo menos 10 minutos sin mezcla y se observa el volumen de lodos generados.

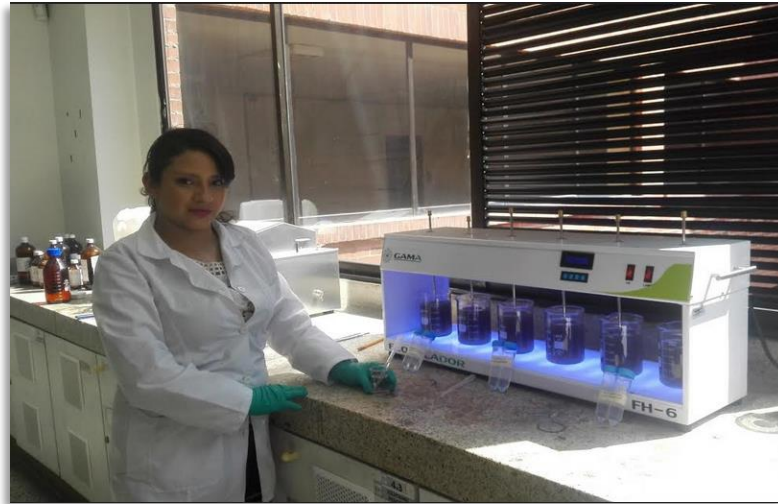


Figura 14. Test de jarras. Proceso de mezcla en floculador

Fuente: elaboración propia

Una vez finalizado el test de jarras, se evalúa la cantidad y concentración del coagulante usado en la muestra de agua clarificada de la jarra que presente mejores rendimientos, para lo cual se mide la turbidez con el fin de definir cuál de las jarras es la que presenta una mejor clarificación y remoción de sólidos en suspensión. Posterior a esto, se hace una réplica del proceso de coagulación a mayor escala adicionando los reactivos en los volúmenes por el ensayo de jarras, tal como se observa en la figura 16. En la muestra cruda se analiza la turbiedad, DQO, DBO₅, tensoactivos y sólidos totales para posteriormente compararlos con los de la muestra tratada, determinar la capacidad de remoción del quitosano como coagulante y elaborar las curvas de remoción de estos parámetros.



Figura 15. Simulación de proceso de Coagulación usando 4 Litros de muestra

Fuente: elaboración propia

Se tomaron 25 alícuotas de la muestra tratada con coagulante quitosano en diferentes momentos, de dos a tres por día durante 12 días, de las cuales se analizaron los parámetros de interés para construir las curvas de remoción y evaluar la eficiencia del proceso de coagulación con quitosano en la remoción de contaminantes específicos para diferentes tiempos de retención. Para calcular la eficiencia de remoción de carga contaminante en los parámetros de turbiedad, DQO, DBO₅, tensoactivos y sólidos totales, se toma como base la de un sistema de tratamiento de aguas residuales que utiliza la siguiente ecuación (Parra, 2006):

$$E = \frac{S_0 - S}{S_0} * 100 \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

E= Eficiencia de remoción del sistema [%],

S=Carga contaminante de salida y

S₀= Carga contaminante de entrada.

3.1.4 Análisis de parámetros fisicoquímicos:

Para evaluar la capacidad de remoción del quitosano y analizar los resultados obtenidos en las pruebas de tratabilidad se realizan ensayos de DQO, DBO₅, turbiedad, tensoactivos y sólidos totales, en una muestra de agua residual industrial proveniente de un laboratorio cosmético, antes y después del tratamiento con quitosano. Los ensayos se realizan siguiendo la metodología del “Standard Methods for the Examination of Water and

Wastewater, 23rd Edition. (Rice, Baird , & Eaton, 2017), que se presenta de forma detallada en el Anexo 1 de este documento y que se ilustra a continuación:

En la figura 17 se observa el procedimiento para el análisis de turbidez en el cual se debe calibrar y verificar el equipo (Turbidimetro HACH 2100N) con soluciones estándares de <math><0.1, 20, 200, 1000, 4000\text{ NTU}</math> (1), agitando y limpiando cada estándar e ingresándolo en la posición señalada por el turbidimetro (2), el mismo procedimiento se realiza con la muestra sirviéndola en la celda e ingresándola en el turbidimetro por 60 segundos para obtener la lectura de turbiedad (3).



Figura 16. Procedimiento de análisis de Turbidez

Autor: elaboración propia. Fuente: <https://latam.hach.com/kit-de-calibracion-de-estandares-de-turbidez-stabcal-turbidimetro-2100an-an-is-viales-sellados/product?id=16065723997>

En cuanto al análisis de sólidos totales en agua, como se observa en la figura 18 se seca en el horno (Binder serie ED) una capsula de porcelana a temperatura de 103 a 105°C por una hora (1), al cabo de este tiempo se lleva al desecador por 20 minutos (2), mediante una balanza analítica (Sartorius MSA225S) se toma el peso inicial de la capsula (3) y se adiciona un volumen elegido de muestra que permita obtener un peso de residuo de 2.5 a 200 mg (4), se repiten los pasos 1 y 2 y finalmente se toma el peso de la capsula con la muestra (5).

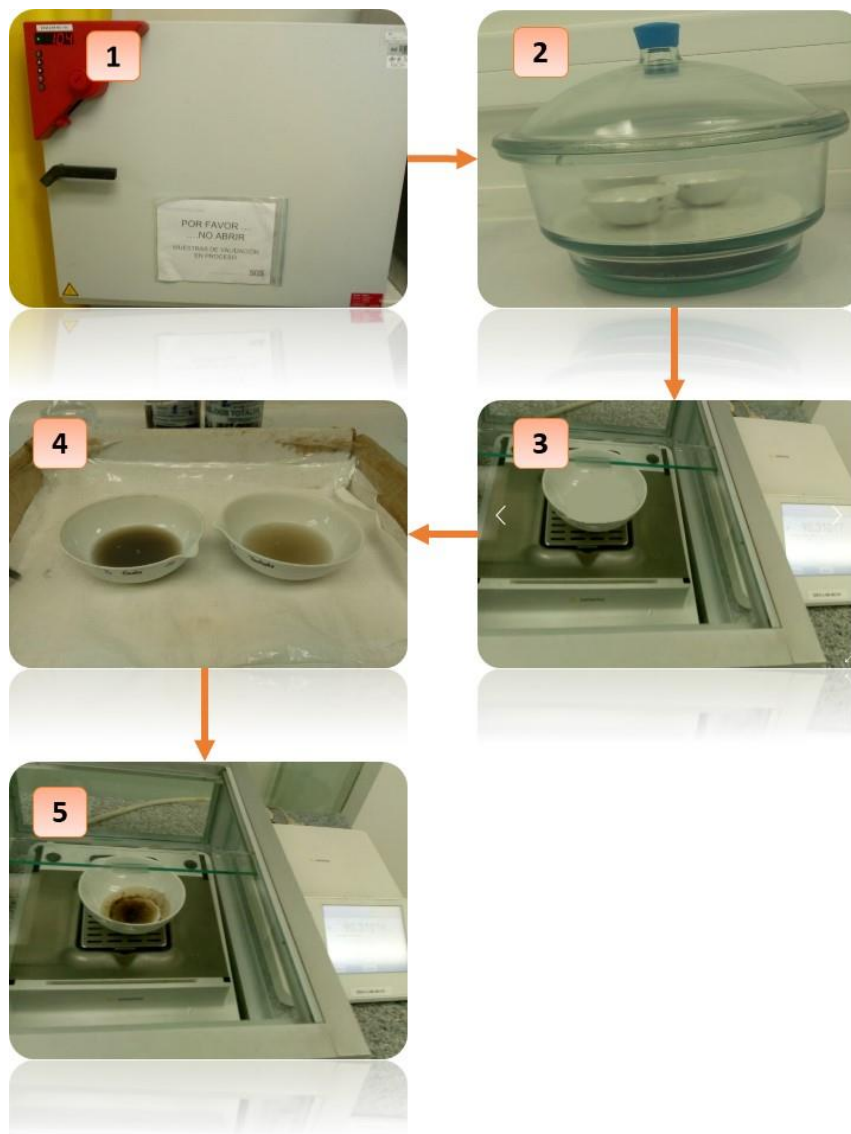


Figura 17. Procedimiento de análisis de Sólidos Totales en agua

Fuente: elaboración propia

El procedimiento de análisis de Demanda Bioquímica de Oxígeno se ilustra en la figura 19 y consiste en preparar cuatro diluciones de la muestra e introducir las en botellas Winkler (1), adicionar entre 1 y 3 ml de cepa (2) y agua de dilución (3) hasta la mitad del cuello de la botella e introducir el electrodo del oxímetro (HASH HQ40D) para leer el oxígeno inicial (4), llenar totalmente dejando el sello hidráulico (5) y forrar la parte superior con papel aluminio (6), registrar los datos e introducir en una incubadora (Binder BF00) a $20^{\circ}\pm 3^{\circ}\text{C}$ (7 y 8) por 5 días y al quinto día leer el oxígeno disuelto residual.

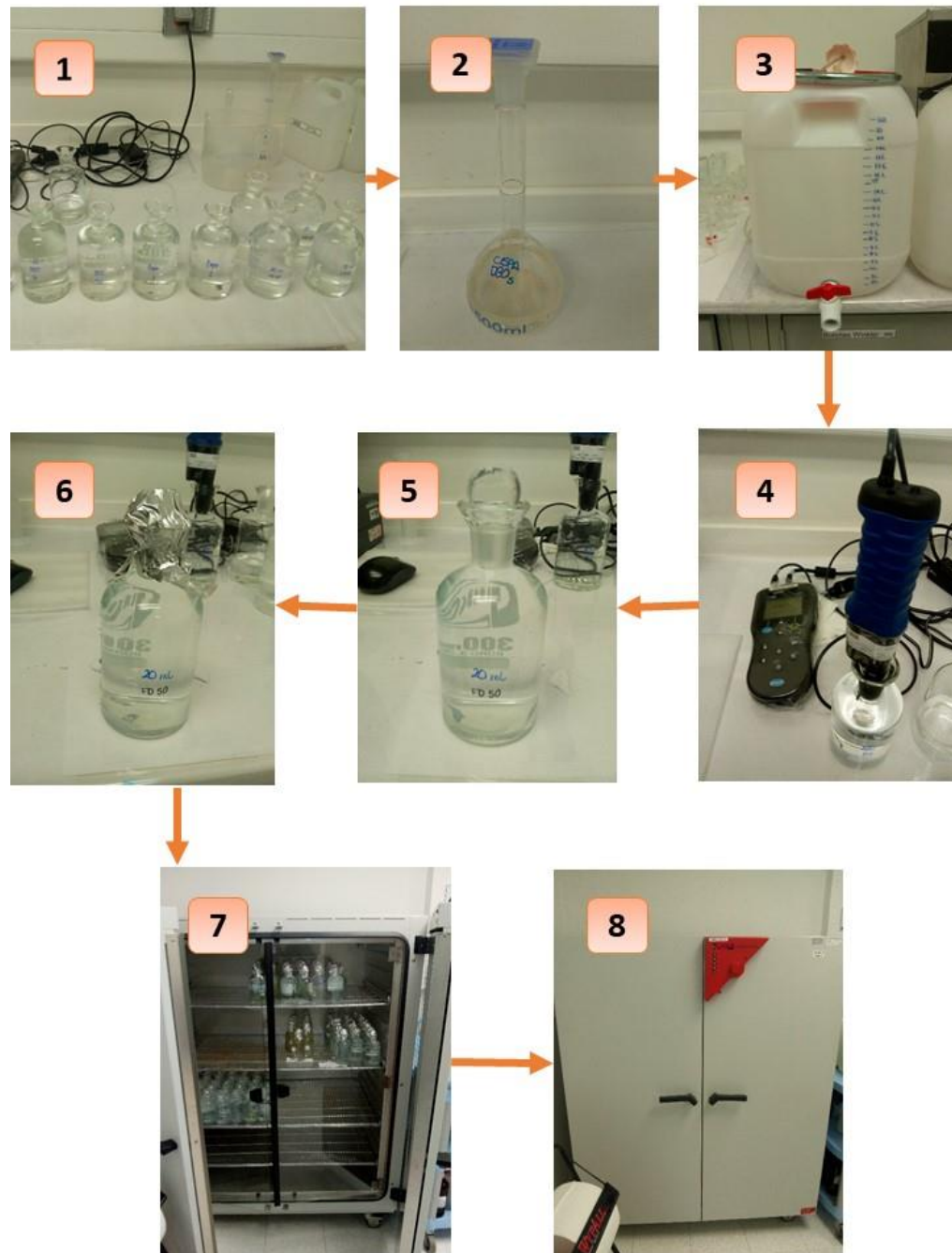


Figura 18. Procedimiento de análisis de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅) en aguas

Fuente: elaboración propia

En cuanto al procedimiento de análisis de Demanda Química de Oxígeno que se ilustra en la figura 20, se deben tomar 2,5 mL de muestra (1) e introducirlos en un tubo de ensayo, adicionar 1,5 mL de solución de digestión (2) y 3.5 mL de reactivo de ácido sulfúrico (3), tapar los tubos e invertirlos para mezclar el contenido (4),

colocarlos en el termoreactor (HACH LT200) a 150°C por 2 horas (5), aclimatar y dejar los tubos en una gradilla (6) y leer la absorbancia en un espectrofotómetro UV (Thermo Scientific Genesys 10S) a longitud de onda de 420 nm (7 y 8).

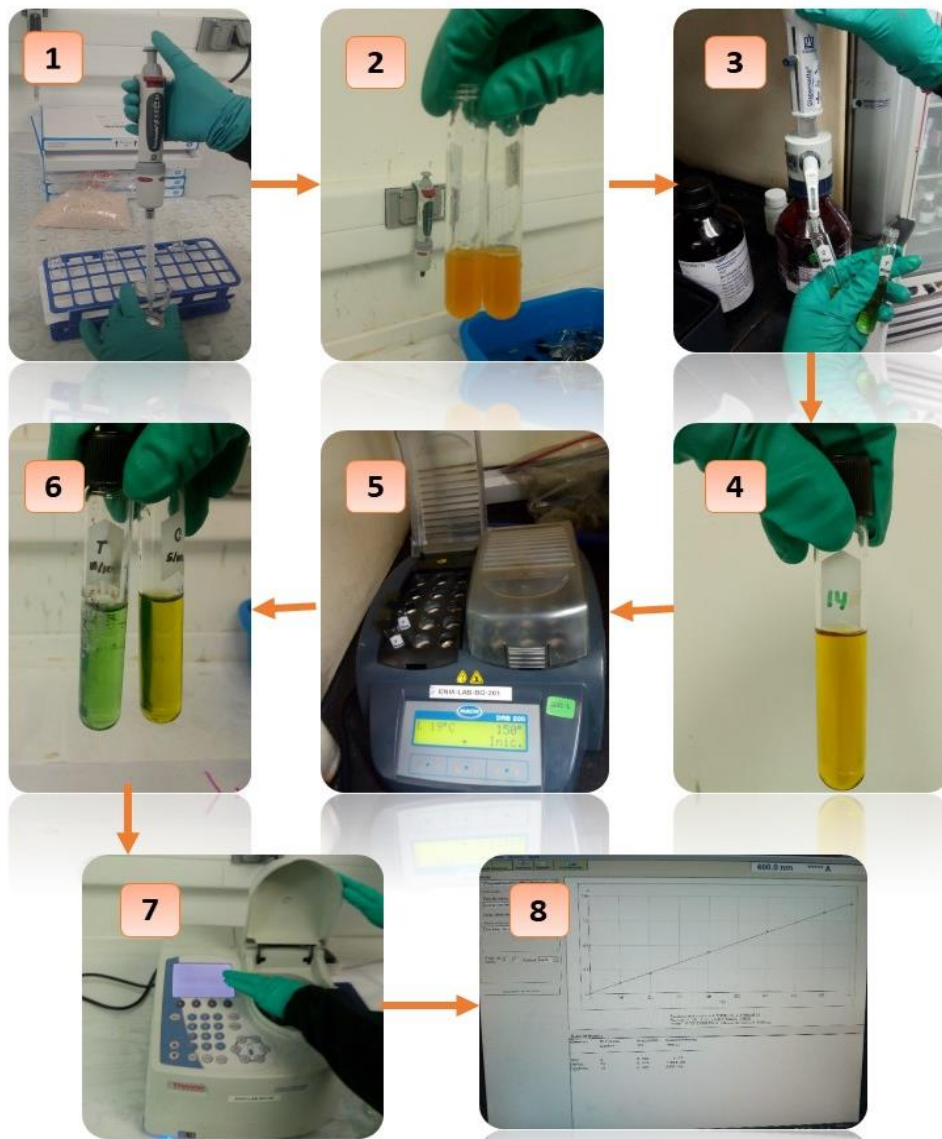


Figura 19. Procedimiento de análisis de Demanda Química de Oxígeno en aguas (DQO)

Fuente: elaboración propia

Finalmente como se muestra en la figura 21, para el análisis de Tensoactivos se debe neutralizar el pH de la muestra con NaOH y H₂SO₄ en presencia de Fenolftaleína (1), adicionar 10 mL de Cloroformo y 25 mL de reactivo azul de metileno (2), agitar y drenar la capa de Cloroformo, repetir 2 veces más la extracción con 10 mL de Cloroformo, adicionar

50 mL de solución de lavado y agitar (3), drenar el Cloroformo y filtrar con lana de vidrio (4) en un balón aforado de 100 mL, aforar con Cloroformo (5) y leer en espectrofotómetro UV a longitud de onda de 652 nm (6 y 7).

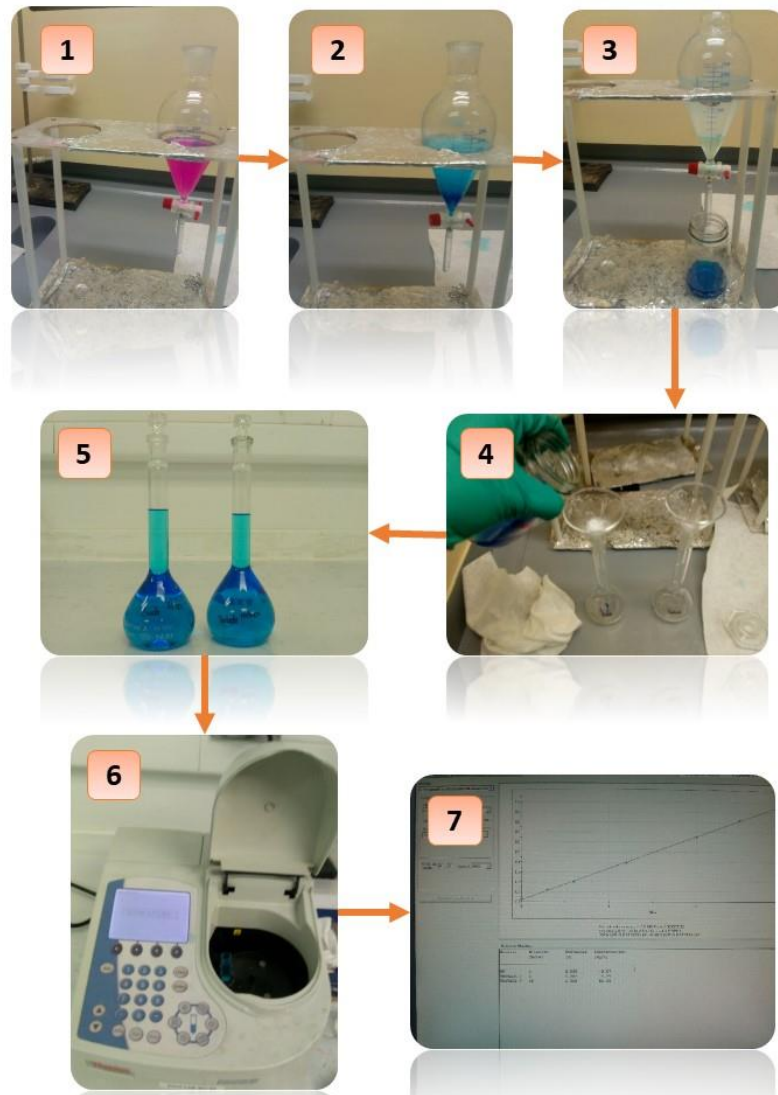


Figura 20. Procedimiento de análisis de Tensoactivos en aguas

Fuente: elaboración propia

4. Resultados y discusión

Los residuos de crustáceos empleados provienen de una distribuidora de productos marinos de la ciudad de Bogotá, ubicada en la plaza de mercado de Paloquemao; estos se congelaron y almacenaron para su preservación mientras se procesaban para la obtención de quitosano. Los desechos fueron descongelados para iniciar el proceso de preparación de los mismos, observando que dentro de los caparazones se encontraban todavía cantidades importantes de restos orgánicos cuya descomposición generaba olores ofensivos; esto evidencia el impacto generado a gran escala por los residuos de la industria camaronera sobre el medio ambiente y la salubridad.

Se encontraron diferencias significativas entre la apariencia de la quitina y el quitosano, fundamentalmente en la textura y el color; la quitina presenta color marrón y textura uniforme mientras el quitosano presenta color rosa pálido y textura granular como se puede observar en la figura 22.



Figura 21. Diferencias de apariencia de la quitina y el quitosano

Fuente: elaboración propia

Para realizar la caracterización del quitosano obtenido inicialmente se determinó su rendimiento, de acuerdo con la ecuación 1, presentada en el numeral 3.1.2. Como peso inicial de la muestra se tomó el peso del polvo fino y seco que se obtuvo tras el proceso de preparación de los residuos, el cual fue de 167,23 g y como peso final el peso del quitosano seco que corresponde a 93,34 g alcanzando un rendimiento de 55.81%. El porcentaje de rendimiento del proceso hace referencia a la cantidad de quitosano que se obtuvo a partir de cierta cantidad de muestra de caparazones triturados y secos.

Es posible afirmar que el porcentaje de rendimiento de la extracción fue alto con respecto al que se obtuvo en otros trabajos similares en los cuales también se realiza obtención de quitosano de restos de crustáceos. Por nombrar algunos ejemplos, Hernández et.al (Hernandez, Aguila , Flores, Ramos , & Viveros , 2009), obtuvieron un rendimiento global de la extracción de quitosano de 51.94%, lo que los autores catalogan como una transformación sintética eficiente. Barra et.al (Barra , Romero , & Beltramino, 2012) obtuvieron rendimiento de 20%, De la Paz et.al (De la Paz, y otros, 2012) de 57,7%, 59,5% y 54% y Castro y Vidal (Castro & Vidal, 2015) de 9,5%.

La segunda parte de la caracterización del quitosano consiste en la prueba de solubilidad, cuyos resultados se presentan en la tabla 2 y se evidencian en la Figura 23.

Tabla 2. Resultados de solubilidad del quitosano

PRUEBAS DE SOLUBILIDAD		
No	SOLVENTE	SOLUBILIDAD
1	Ácido clorhídrico 0.2M	Parcialmente soluble
2	Ácido acético 0.2M	Soluble
3	Agua	Insoluble
4	Alcohol etílico	Insoluble

Fuente: elaboración propia

Como se muestra en la Figura 23, la solubilidad del quitosano varía según el tipo de solvente con el que se mezcla; para el caso del agua (3) y el etanol (4) que tienen valores de pH neutro no presenta solubilidad, en estas sustancias el quitosano se precipita hacia el fondo del tubo de ensayo sin disolverse; en ácidos inorgánicos como el ácido clorhídrico (1) se disuelve parcialmente quedando algunas partículas suspendidas; mientras que en ácidos orgánicos como el ácido acético (2) logra disolverse completamente y formar geles.

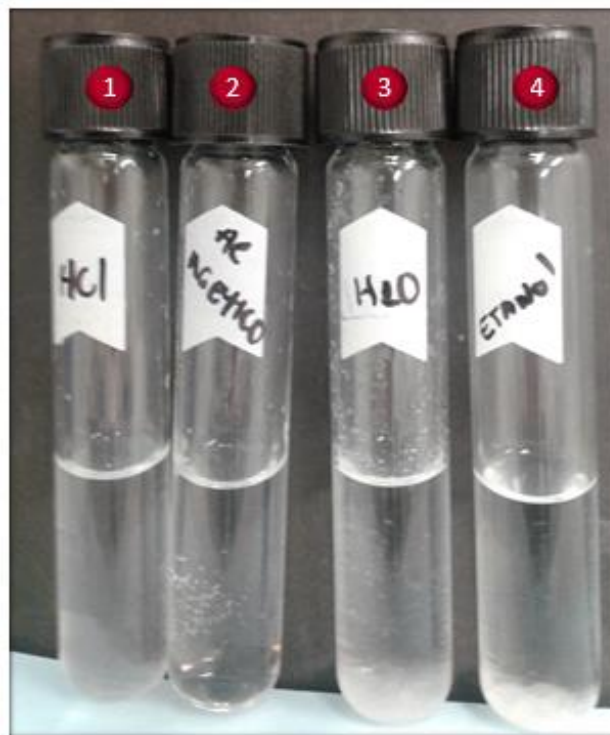


Figura 22. Resultados prueba de solubilidad del quitosano

Fuente: elaboración propia

Este comportamiento se debe como lo explica Giraldo, a que los grupos amino de las cadenas de quitosano se ionizan con los iones H_3O de las soluciones ácidas; al protonarse los grupos amino en la cadena de quitosano, este se convierte en un polieléctrolito catiónico soluble, es decir que cuando se ionizan las aminos son incapaces de formar puentes de Hidrógeno con los ácidos disminuyendo el impedimento a la rotación, incrementando la flexibilidad de la cadena polimérica y facilitando que el quitosano pase a ser un fluido (Giraldo, 2015). Otro aspecto que permite la solubilidad en ácidos es la alteración del estado de carga del quitosano, ya que este se convierte en un poli- ion positivo pasando a ser parte de los iones disueltos de la solución.

Por otra parte, como lo afirma Sánchez y colaboradores, la solubilidad del quitosano tiene que ver con la cantidad de grupos amino que se protonan en la cadena polimérica (Sánchez , Sibaja, Vega , & Madrigal , 2007), es decir, se relaciona directamente con el grado de desacetilación, entre mayor sea este mejor será la solubilidad del quitosano; como se observará más adelante el polímero que se obtuvo presentó un porcentaje de desacetilación alto, lo que explica su solubilidad en ácidos.

La prueba de solubilidad indica que realmente se obtuvo quitosano del proceso de extracción y que se logró transformar la quitina a quitosano de forma efectiva, ya que la quitina es un polisacárido insoluble en la mayoría de solventes como el agua, disolventes orgánicos, álcalis y ácidos diluidos (Gacén, 1996), a diferencia del quitosano que se disuelve bien en ácidos, tal como se presentó en la prueba de solubilidad.

La tercera parte de la caracterización del quitosano evalúa el grado de desacetilación por valoración potenciométrica; como lo explica Giraldo, el grado de desacetilación hace referencia al porcentaje de grupos amino libres en el quitosano y es un aspecto importante para determinar las características físicas (como la solubilidad y capacidad de coagulación), químicas y biológicas del quitosano, de aquí la importancia de su determinación (Giraldo, 2015).

En la tabla 3 se muestra el cambio de pH que presenta la solución de quitosano y HCl 0.3M en cada adición de 1ml de NaOH 0.1M hasta completar un volumen de 50 ml; además se calcula el volumen promedio y la variación del pH en relación con la variación del volumen añadido.

Tabla 3. Valoración Potenciométrica

VALORACIÓN POTENCIOMETRICA			
Volumen (ml)	Variación PH	Volumen Promedio NaOH 0.1M (mL)	$\Delta PH/\Delta V$
0	0.53		
1	0.59	0.5	0.06
2	0.67	1.5	0.08
3	0.73	2.5	0.06
4	0.79	3.5	0.06
5	0.83	4.5	0.04
6	0.9	5.5	0.07
7	0.92	6.5	0.02
8	0.95	7.5	0.03
9	1.02	8.5	0.07
10	1.05	9.5	0.03
11	1.08	10.5	0.03
12	1.11	11.5	0.03
13	1.15	12.5	0.04
14	1.19	13.5	0.04
15	1.23	14.5	0.04
16	1.28	15.5	0.05

VALORACIÓN POTENCIOMETRICA			
Volumen (ml)	Variación PH	Volumen Promedio NaOH 0.1M (mL)	$\Delta\text{PH}/\Delta\text{V}$
17	1.32	16.5	0.04
18	1.38	17.5	0.06
19	1.43	18.5	0.05
20	1.48	19.5	0.05
21	1.53	20.5	0.05
22	1.58	21.5	0.05
23	1.63	22.5	0.05
24	1.71	23.5	0.08
25	1.79	24.5	0.08
26	1.87	25.5	0.08
27	1.99	26.5	0.12
28	2.13	27.5	0.14
29	2.33	28.5	0.2
30	2.68	29.5	0.35
31	5.21	30.5	2.53
32	6.55	31.5	1.34
33	7.36	32.5	0.81
34	10.93	33.5	3.57
35	11.63	34.5	0.7
36	11.94	35.5	0.31
37	12.1	36.5	0.16
38	12.2	37.5	0.1
39	12.29	38.5	0.09
40	12.36	39.5	0.07
41	12.41	40.5	0.05
42	12.44	41.5	0.03
43	12.48	42.5	0.04
44	12.51	43.5	0.03
45	12.54	44.5	0.03
46	12.56	45.5	0.02
47	12.57	46.5	0.01
48	12.59	47.5	0.02
49	12.61	48.5	0.02
50	12.62	49.5	0.01

Fuente: Elaboración Propia

A partir de estos datos se elaboró la curva de titulación de pH vs volumen añadido de NaOH 0.1M, la cual presentó dos puntos de inflexión como se muestra en la Figura 24.

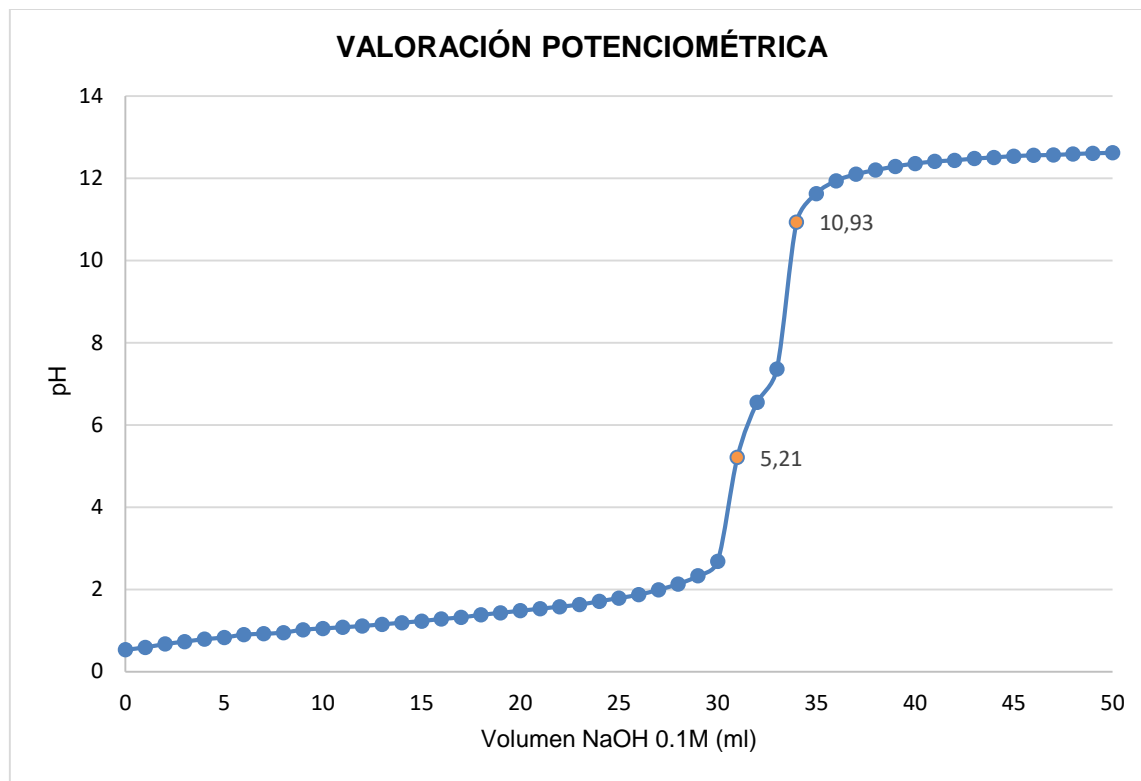


Figura 23. Valoración potenciométrica. Relación pH vs volumen

Fuente: Elaboración propia

Como lo presentan Alas y Ventura, para poder visualizar claramente los puntos de inflexión resultantes en la valoración potenciométrica se determinan los valores de los puntos según el criterio de la primera derivada, que se obtiene de la división entre la diferencia de pH y la diferencia de volumen vs el volumen promedio desplazado, tal como se presenta en la Figura 25 (Alas & Ventura, 2007).

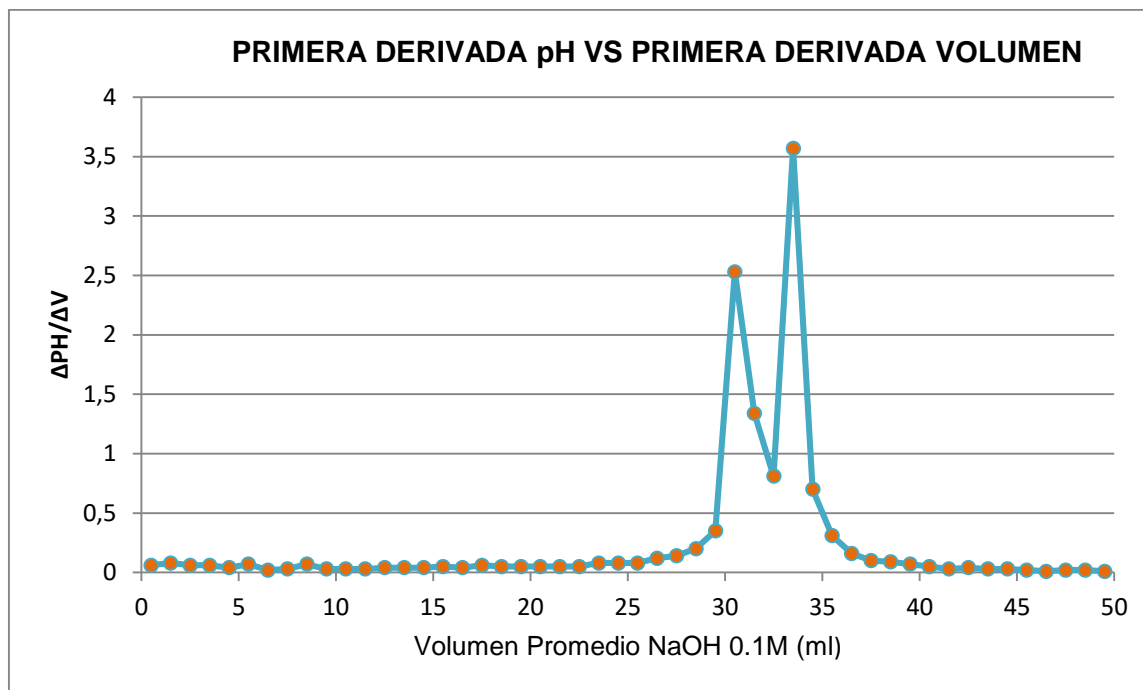


Figura 24. Gráfico de primera derivada- grado de desacetilación del quitosano

Fuente: elaboración propia.

Finalmente, como se muestra en la Figura 25, de primera derivada existen dos puntos de inflexión, el mayor en un volumen promedio de 33,5 mL y el menor en un volumen promedio de 30,5 mL. Con esta información y la ecuación 2 presentada en el numeral 3.1.2 se calculó el grado de desacetilación del quitosano el cual resultó de 80.7%.

Según la información proporcionada por Mármol et al. el porcentaje de desacetilación del quitosano varía desde un 60% hasta un 90% y el porcentaje de grupos amino presentes en el quitosano comercial es de alrededor del 70% (Mármol, y otros, 2011). Es decir, que un grado de desacetilación de 80.7% indica que el método desarrollado para la extracción del quitosano es efectivo y que se ha efectuado eficazmente y como resultado es posible obtener un producto de buena calidad.

Por otra parte, Rodríguez et al. afirma que la quitina con un grado de desacetilación superior al 60% debe ser considerada quitosano (Rodríguez, y otros, 2009); de ésta forma se confirman los resultados de la prueba de solubilidad, que indican que el producto que se obtuvo del proceso de extracción efectivamente es quitosano.

Una vez se extrajo y se caracterizó el quitosano se realizaron pruebas de test de jarras las cuales permitieron determinar la dosis y concentraciones más efectivas del coagulante a usar para lograr una mejor remoción de la carga contaminante en el agua.

Como se mencionó con anterioridad el quitosano es un polisacárido insoluble en el agua, por lo que suministrarlo de forma directa en la muestra de agua residual industrial resultaría poco efectivo para generar procesos de coagulación, pues no se disuelve. Por esta razón, se prepararon soluciones de quitosano y ácido acético 0,2M al 0,5%, 1% y 1,5% p/v, de acuerdo a la metodología de Tafur y Quevedo, aprovechando la solubilidad del quitosano en ácidos orgánicos, de esta forma se garantiza una mezcla efectiva entre la solución y la muestra de agua (Tafur & Quevedo, 2014).

Para determinar la eficiencia del quitosano se empleó una muestra de agua residual industrial de un laboratorio cosmético ubicado en la ciudad de Bogotá. Este tipo de efluentes contienen altos niveles de tensoactivos, colorantes, aceites, emulsiones y detergentes que generan cantidades considerables de espuma en el agua (Soluciones medioambientales SL, s.f).

Como se explicó anteriormente el pH es un factor muy relevante en los procesos de coagulación, por ello antes de comenzar el test de jarras se realizó la lectura de pH de la muestra que arrojó como resultado 5,70. El quitosano se ha empleado como coagulante en el tratamiento de agua para consumo humano con rendimientos aceptables en un intervalo de pH de 5 a 9 (Fuentes, Contreras, Perozo, Mendoza, & Villegas, 2008). Según los resultados de la investigación de Tafur y Quevedo, el biopolímero presenta mejor eficiencia en la desestabilización de aguas residuales contaminadas en condiciones ligeramente ácidas (pH 4 a 6), mientras que en condiciones fuertemente ácidas y alcalinas su eficiencia es baja; esto se evidenció con una prueba de jarras ajustada a pH ácido que como mencionan los autores presentó poca eficiencia de remoción; razón por la cual no se realizó ajuste del pH inicial de la muestra (Tafur & Quevedo, 2014).

Posteriormente, se efectuó el test de jarras con cantidades y concentraciones diferentes de coagulante quitosano, se realizaron 20 pruebas de jarras; las 6 jarras que presentaron mejores rendimientos en la remoción de turbiedad tenían las dosis y concentraciones que se muestran en la figura 26, cuyos resultados se evidencian en la figura 27. Una vez

finalizado el test de jarras se realizaron mediciones de turbidez para cada jarra; las cuales se presentan en la tabla 4.

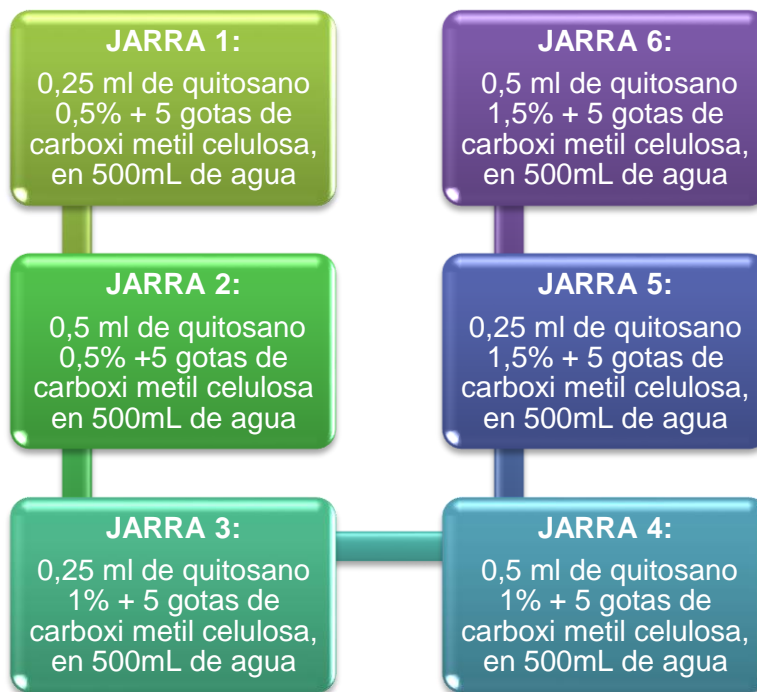


Figura 25. Concentraciones y Dosis de quitosano usadas en el test de Jarras

Fuente: elaboración propia



Figura 26. Test de jarras con mejores rendimientos en remoción de Turbiedad

Fuente: elaboración propia

Tabla 4. Resultados del Test de Jarras en remoción de Turbidez

CONCENTRACIÓN QUITOSANO % (p/v)	VOLUMEN COAGULANTE (ml)	TURBIDEZ (NTU)
0,5	0,5	1047
	1	1049
1,0	0,5	1069
	1	1084
1,5	0,5	1057
	1	1091

Fuente: Elaboración propia

Los resultados del test de jarras permiten apreciar que la mejor eficiencia de remoción de turbidez se logra con la adición de 0,5 ml de Quitosano al 0,5% a 1L de muestra, con lo cual se neutraliza la carga del coloide y se obtiene mejor remoción y que al aumentar el volumen de coagulante quitosano añadido incrementa también la turbidez del agua tratada.

De esta forma al aumentar la concentración de la solución de quitosano y el volumen añadido del mismo, disminuye la remoción de turbidez, esto se debe a que como afirman Tafur y Quevedo dosis muy altas de coagulante invierten la carga de las partículas coloidales haciendo que se formen gran cantidad de flóculos pequeños que se tardan demasiado en sedimentar (Tafur & Quevedo, 2014).

Posteriormente, se simuló el proceso de coagulación empleando el coagulante quitosano en 4 Litros de muestra cruda, con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 21 horas. Los resultados de los análisis de Turbiedad, DBO₅, DQO, Tensoactivos y Sólidos totales para la muestra cruda y la muestra tratada después del TRH se presentan en el Anexo 6.2, al igual que el pH y los porcentajes de eficiencia de remoción para los diferentes parámetros, calculados a partir de la ecuación 3 del numeral 3.1.3.

Se tomaron 25 alícuotas del sobrenadante de la muestra tratada en momentos diferentes y se analizaron los parámetros de interés para elaborar las curvas de remoción de contaminantes. Una vez efectuado el tratamiento de coagulación con quitosano se pudo evidenciar que a medida que aumenta el tiempo de retención hidráulica (TRH) aumenta también el valor de pH de la muestra, pasando de un pH inicial de 5,6 con un THR de 21 horas a un pH de 6,9 con un TRH de 284 horas. Esto se debe como explica Ramalho a la degradación de los compuestos orgánicos nitrogenados producto del tratamiento que contribuye al aumento del pH (Ramalho, 1996).

Los resultados de los análisis indican que el laboratorio cosmético del cual procede la muestra de agua residual industrial, produce efluentes con alta contaminación, asociada a compuestos surfactantes, compuestos orgánicos y sólidos que hacen que las concentraciones de los parámetros evaluados sean altas.

En la figura 28 se presenta la curva de remoción de Turbiedad, según la cual la eficiencia de remoción del contaminante en un TRH de 21 horas es de 72%; en general, se observa que el TRH es directamente proporcional al porcentaje de remoción, alcanzando los valores más altos a partir de las 262 horas hasta 267 horas en donde la remoción aumenta al 84%.

La eficiencia de remoción de turbiedad del coagulante quitosano en la muestra de ARI es satisfactoria, si se compara con la que se obtuvo en otros estudios similares de coagulación a base del polímero; por mencionar algunos de ellos Rodríguez et.al lograron remoción del 76% al 78% en turbiedad en aguas de producción de petróleo, Álaba del 98% en aguas contaminadas con hidrocarburos y Carrasquero et.al también obtuvieron remociones de hasta 98% en turbiedad en aguas residuales de una industria harinera (Rodríguez , Oñate , Gutiérrez , & Caldera , 2012) (Álaba, 2015) (Carrasquero, y otros, 2014).

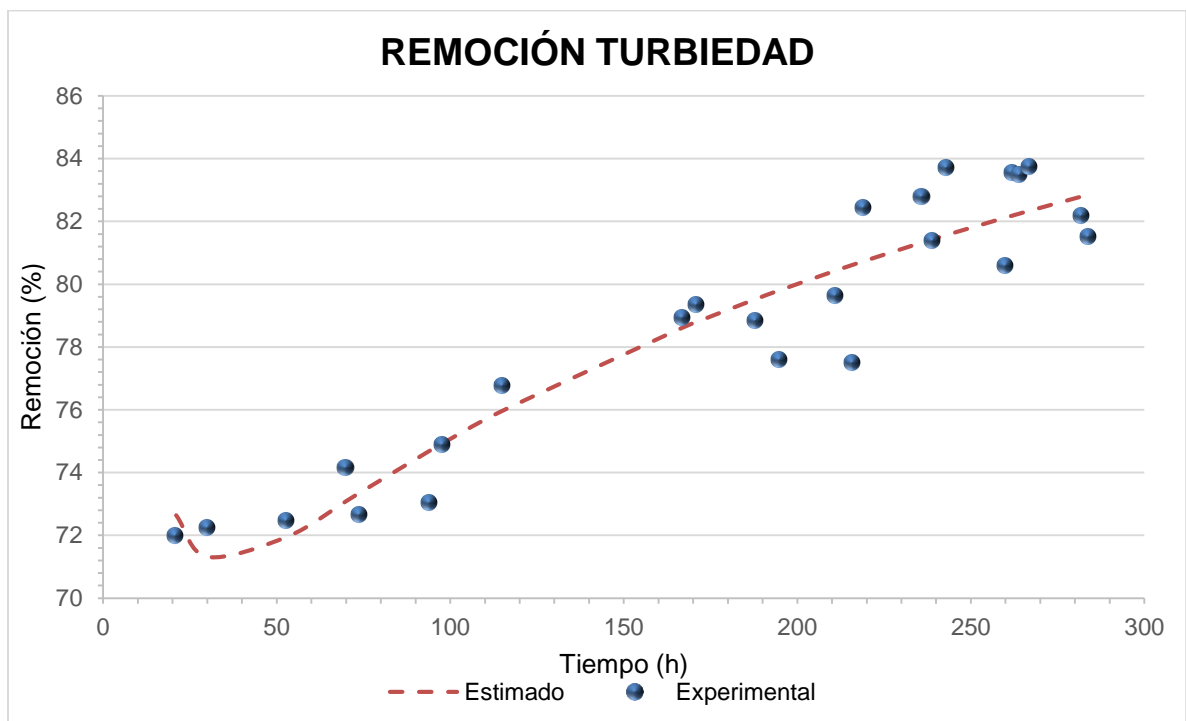


Figura 27. Curva de remoción de Turbiedad (TRH=21h; r=0,99)

Fuente: elaboración propia

En cuanto a los resultados de remoción de sólidos totales, presentados en la figura 29, es posible observar que la eficiencia de remoción es de 30% para un TRH de 21 horas; los valores tienden a aumentar a mayor TRH hasta las 98 horas, donde la remoción es de 54%, a partir de entonces la eficiencia es menor.

Comparando los resultados de remoción de sólidos totales que se obtuvieron en el tratamiento con quitosano con respecto a estudios similares que utilizan el polímero, la eficiencia de remoción fue aceptable; otros autores señalan porcentajes de remoción de 26% (Carrasquero, y otros, 2014) y 98% (Rodríguez , Oñate , Gutiérrez , & Caldera , 2012) para aguas contaminadas con hidrocarburos.

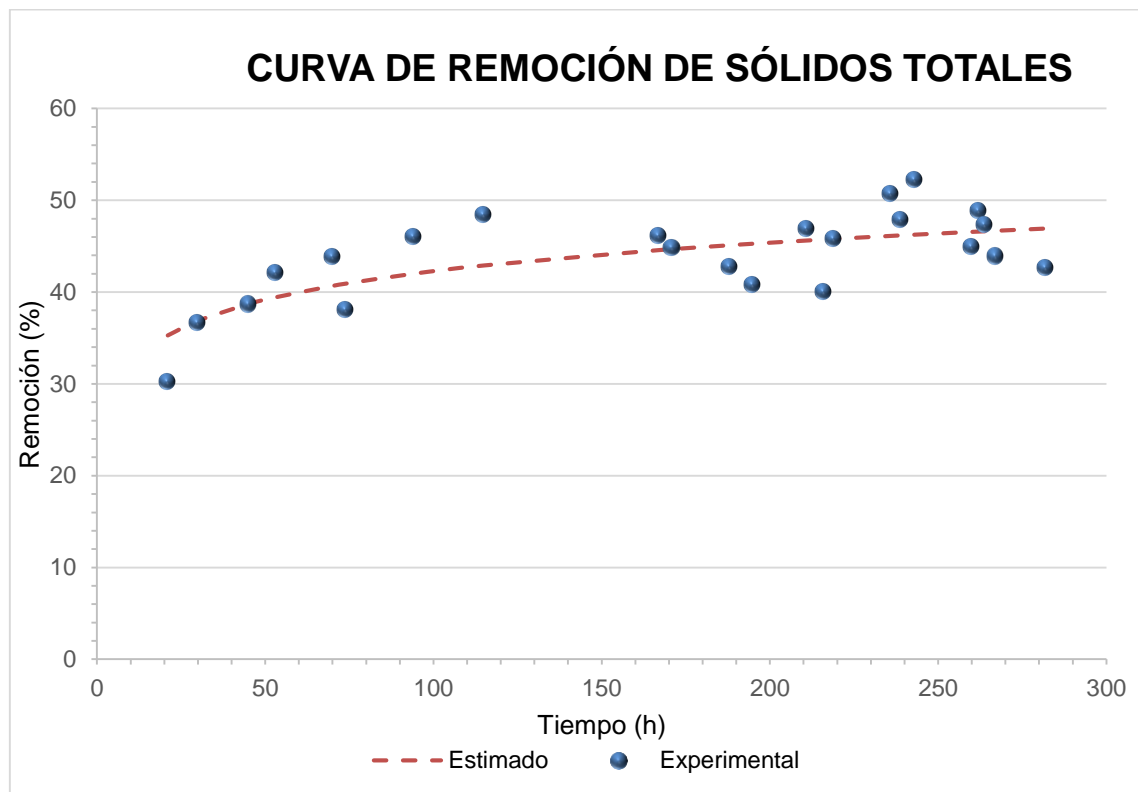


Figura 28. Curva de remoción de sólidos totales (TRH=21h; r=0,96)

Fuente: elaboración propia

La demanda química de oxígeno (DQO) por su parte, presenta porcentajes de remoción variables en el tiempo, sin embargo se puede apreciar en la figura 30 que hay un crecimiento progresivo de la eficiencia a medida que aumenta el TRH. Con un TRH de 21 horas se logra un porcentaje de remoción del contaminante de 21%, alcanzando el valor más alto de eficiencia a las 310 horas con 43% de remoción.

En contraste con otros estudios realizados del quitosano como coagulante, la eficiencia de remoción de DQO del polímero es baja; se han obtenido remociones de 80% (Carrasquero, y otros, 2014), 57% (Rodríguez , Oñate , Gutiérrez , & Caldera , 2012) y 78% (Álaba, 2015), en investigaciones similares que utilizan quitosano como coagulante. Es importante resaltar que los datos experimentales del DQO presentan igualmente alta variación con el tiempo, mientras que los datos de Turbiedad y sólidos suspendidos totales presentan una tendencia de comportamiento más definida.

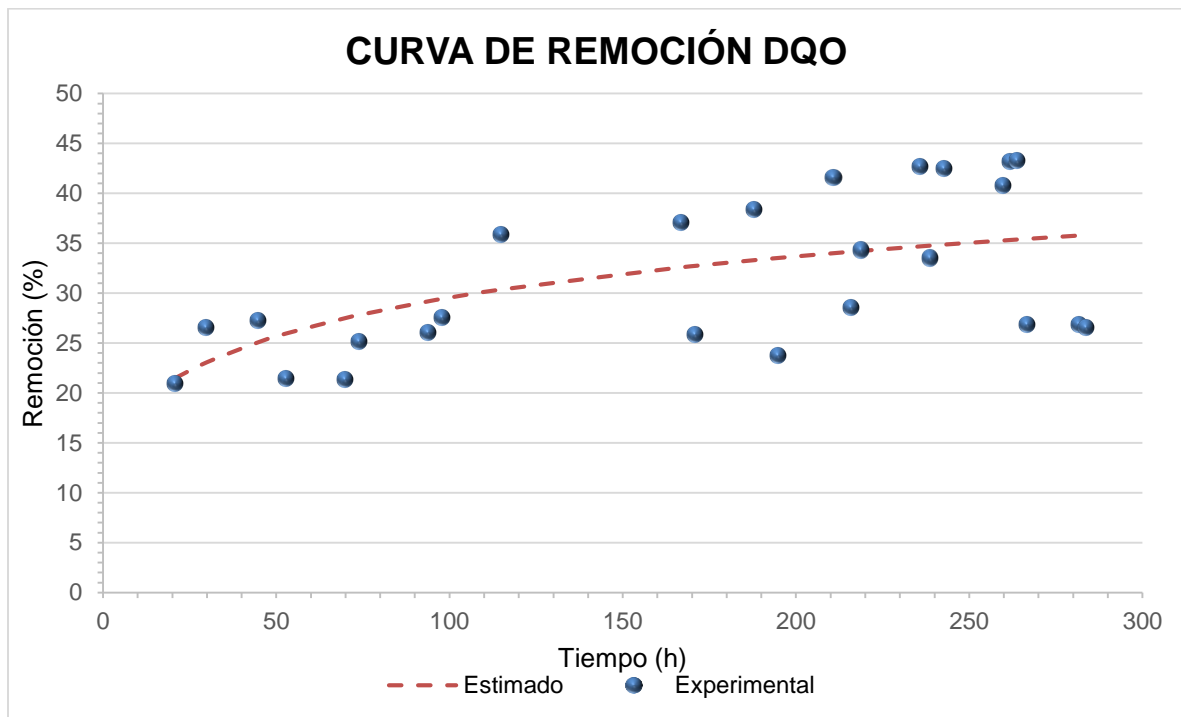


Figura 29. Curva de remoción de DQO (TRH=21h; $r=0,97$)

Fuente: elaboración propia

Como ocurre con la DQO, la remoción de DBO_5 presenta resultados variables en el tiempo, sin embargo, tiende a crecer la eficiencia de remoción con TRH más largos. Para un TRH de 21 horas se da un porcentaje de remoción de 16%, obteniendo mejores resultados a las 243 horas con 43% de remoción.

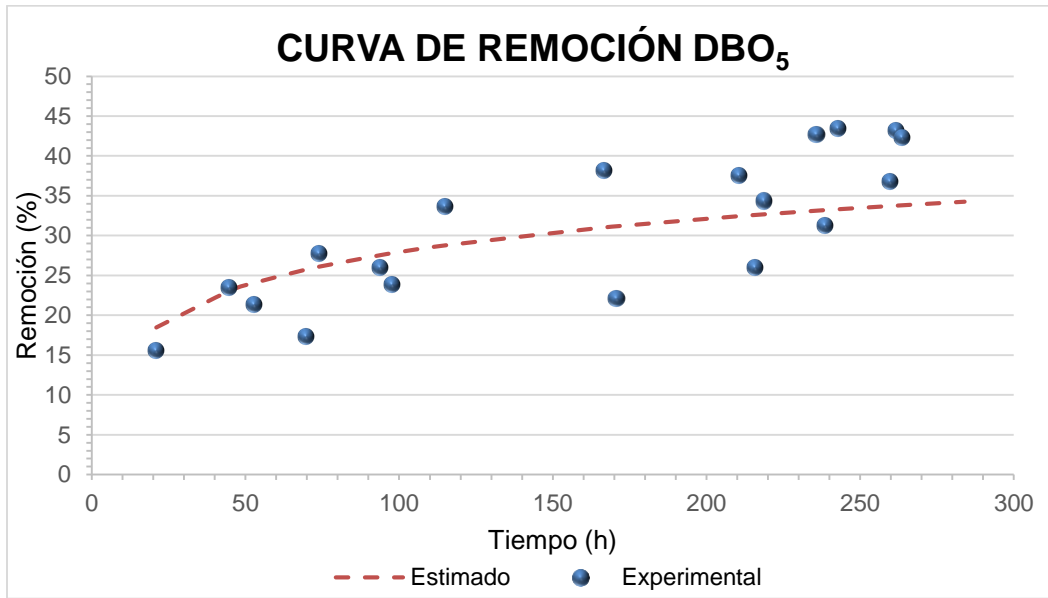


Figura 30. Curva de remoción de DBO₅ (TRH=21h; r=0,96)

Fuente: elaboración propia

En el caso de los tensoactivos el porcentaje de remoción del contaminante es bajo, en un TRH de 21 horas se logra un 13% de remoción, obteniendo la mejor eficiencia en un TRH de 70 horas con 22% de remoción; en este punto disminuye considerablemente la eficiencia del proceso a medida que aumenta el tiempo y a partir de las 115 horas aumentan las concentraciones de tensoactivos con respecto a la muestra cruda, igualándolas o superándolas.

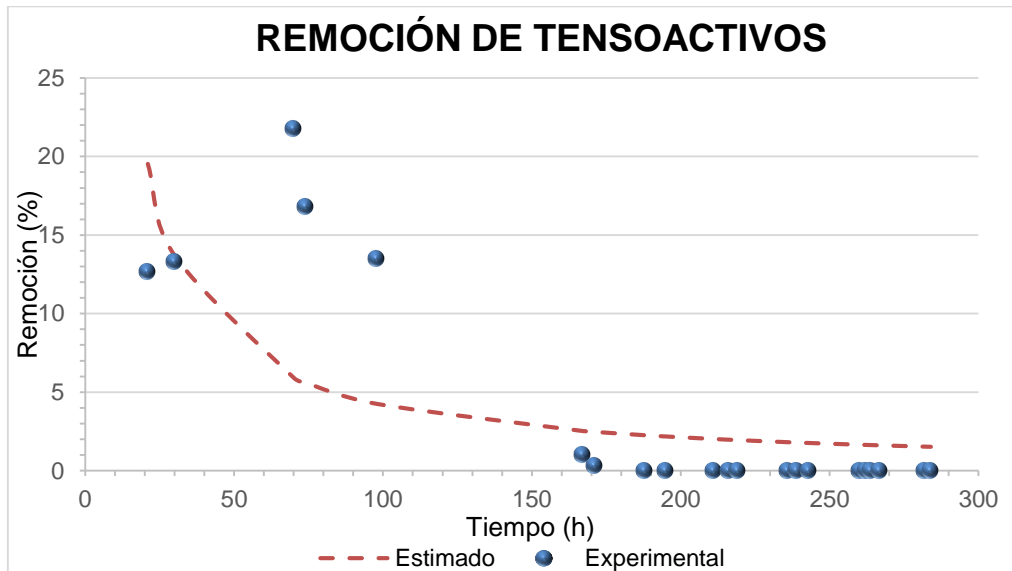


Figura 31. Curva de remoción de Tensoactivos (TRH=21h; r=0,82)

Fuente: elaboración propia

En todos los estudios mencionados anteriormente que utilizan quitosano como coagulante en procesos de depuración, las características fisicoquímicas de las muestras crudas varían notoriamente con respecto a la que se usó en este trabajo de investigación, notándose concentraciones de sólidos totales, DBO₅, DQO y Tensoactivos muy por debajo de las que tiene la muestra de ARI empleada en este proyecto, lo que puede explicar que los rendimientos sean menores a los presentados en esos trabajos.

En todos los contaminantes a excepción de los tensoactivos se observa una tendencia a crecer progresivamente la eficiencia de remoción a medida que aumenta el tiempo de retención hidráulica.

Como lo afirma Romero, mediante los procesos de coagulación o precipitación química en los tratamientos convencionales de aguas residuales se han obtenido eficiencias de remoción para sólidos totales de 70% a 90%, para DBO₅ de 50% a 85% y para DQO 40% a 70% (Romero Rojas, 2004); del mismo modo, Cogollo, obtuvo porcentajes de remoción de turbiedad de 60% a 74% en un sistema de clarificación de aguas residuales industriales usando coagulantes convencionales y polimerizados (Cogollo F, 2011). En cuanto a los tensoactivos, Crespi indica que el límite máximo de eliminación de tensoactivos por coagulación es de 80% a 85% en ARI, pero existen efluentes de la industria que por la naturaleza disuelta de sus contaminantes no logran rendimientos superiores al 15% (Crespi, 1996).

Haciendo una comparación con los rendimientos obtenidos en los sistemas de coagulación convencional para el tratamiento de aguas residuales, se infiere que el proceso de coagulación con quitosano en la depuración de agua residual industrial procedente de un laboratorio cosmético, es satisfactorio para la remoción de turbiedad, alcanzando eficiencias similares e incluso superiores a las logradas por los coagulantes químicos. Sin embargo, la remoción para sólidos totales, DBO₅, DQO y Tensoactivos presenta porcentajes por debajo de los obtenidos por sistemas de precipitación química, alcanzando la mitad o menos de la eficiencia lograda por coagulantes sintéticos.

Por otra parte, las características de los efluentes varían en gran medida y determinan a su vez la eficiencia de remoción de los procesos de tratamiento, por lo que se requeriría de los resultados de un tratamiento con coagulantes químicos en la muestra objeto de

estudio para poder contrastar con certeza la eficiencia los procesos de remoción con quitosano.

La resolución 631 de 2015 (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, 2015) establece los límites máximos permisibles en vertimientos a cuerpos de agua superficiales y sistemas de alcantarillado público en Colombia; esta ley decreta que para industrias de fabricación de productos cosméticos los valores máximos permisibles de vertimientos son para DQO= 500 mg/L, DBO₅=250 mg/L, sólidos totales=80 mg/L y SAAM= 10 mg/L, la norma no establece límites para turbidez. La muestra de agua residual industrial proveniente de un laboratorio cosmético tiene concentraciones de contaminantes muy por encima de los permitidos en la normatividad colombiana para la generación de vertimientos y el tratamiento de coagulación con quitosano no presentó la eficiencia de remoción suficiente para cumplir con la resolución. Sin embargo, es importante tener en cuenta que este proyecto de investigación simula únicamente el proceso de coagulación, que como indica Restrepo, se usa fundamentalmente para la remoción de turbiedad y color en el agua, donde el quitosano obtenida presentó resultados óptimos para la remoción de turbidez con eficiencias del 72% al 84% (Restrepo H. , 2009). Es muy posible que, aplicando el sistema de tratamiento completo, con las etapas de pretratamiento, tratamiento secundario y terciario se logre disminuir sustancialmente las concentraciones de los demás contaminantes y cumplir con la norma.

En este sentido, los resultados indican que el quitosano es apto para usarse como coagulante en los procesos de tratamiento de aguas residuales de la industria cosmética pues remueve altos porcentajes de turbidez en el agua, lo cual es el objetivo principal de los procesos de clarificación. Sin embargo, la coagulación química o con quitosano debe ir acompañada de un sistema de tratamiento completo en el que se incluyan etapas de pretratamiento, tratamiento secundario y terciario que permitan remover los demás contaminantes analizados (DBO₅, DQO, Tensoactivos y sólidos totales) ya que el biopolímero no presenta buenos rendimientos en la remoción de los mismos.

En los sistemas de tratamiento que no contemplan todas las etapas puede utilizarse como ayudante de la coagulación, para reducir significativamente las dosis de productos químicos usados en estos procesos de tratamiento y mejorar sus rendimientos.

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

La clarificación es un proceso fundamental en el tratamiento de aguas residuales industriales; en el mercado existen coagulantes convencionales que, si bien son efectivos en la desestabilización de las partículas coloidales, tienen efectos adversos en el medio ambiente y la salud, por eso alternativas convencionales como los coagulantes polimerizados a base de productos naturales son una buena alternativa para lograr mejores desempeños en los procesos de clarificación.

La industria de camarones genera una alta producción de residuos a nivel mundial, que como se evidenció en el desarrollo de este proyecto causan un gran impacto al medio ambiente por la cantidad de material orgánico que contienen, que origina vectores, olores ofensivos, lixiviados y agentes patógenos resultado de su biodegradación y que tardan demasiado en descomponerse.

Uno de los biopolímeros con propiedades coagulantes adecuadas para el tratamiento de aguas es el quitosano, que se puede extraer del caparazón de crustáceos como el camarón, siendo una alternativa viable para el uso de éste tipo de residuos. El método químico que se empleó en este trabajo de investigación para extraer el quitosano del exoesqueleto del camarón fue exitoso con rendimiento del 56%, excelente solubilidad en ácidos orgánicos y porcentaje de desacetilación de 81%, características que indican una calidad óptima para emplearlo como coagulante en el tratamiento de aguas.

La muestra residual industrial cruda presenta concentraciones muy altas de los contaminantes evaluados, y el tratamiento con coagulante quitosano no es suficiente para remover sólidos totales, DBO₅, DQO y tensoactivos a tal punto que cumpla con la

normatividad vigente sobre límites permisibles de contaminantes en los vertimientos industriales.

El tratamiento del agua residual industrial proveniente de un laboratorio cosmético mediante coagulante quitosano, arrojó como resultado eficiencias de remoción de 72% a 84% para turbiedad, 30%-54% para sólidos, 21%-43% para DQO, 16%-43% para DBO₅ y 13%-22% para tensoactivos. Los rendimientos para remoción de Turbiedad son satisfactorios con respecto a la eficiencia de procesos convencionales de precipitación química, contrario a los porcentajes de remoción de sólidos totales, DQO, DBO₅ y Tensoactivos que están muy por debajo de los que se obtienen por coagulación convencional.

El quitosano es apto para usarse como coagulante en la depuración de aguas residuales de la industria cosmética pues remueve altos porcentajes de turbiedad, siempre y cuando se utilice dentro de un sistema de tratamiento completo que cuente con las etapas de pretratamiento, tratamiento secundario y terciario, ya que no tiene buena eficiencia en la remoción de los demás contaminantes evaluados. De lo contrario puede usarse como ayudante de coagulación para reducir significativamente las dosis de productos químicos usados en estos procesos de tratamiento y mejorar sus rendimientos.

5.2 Recomendaciones

La temperatura, concentración correcta de reactivos (NaOH, HCl) y tiempo, juegan un papel fundamental en el grado de desacetilación del quitosano, así como en su peso molecular; estos factores son sumamente importantes ya que dan al quitosano las propiedades que exhibe el biopolímero.

Se recomienda a la hora de realizar la maceración para obtener el polvo fino en la preparación del quitosano, reemplazar este paso con una licuadora y hacerlo en seco, esta harina es más fina y permite una mejor solubilidad del producto.

Para realizar el procedimiento de valoración potenciométrica en la caracterización del quitosano, es necesario emplear un potenciómetro que permita tomar lecturas de pH por debajo de 2, ya que los puntos de inflexión pueden estar en el intervalo de 0 a 2 como es el caso de este proyecto.

Se recomienda ampliar los estudios del quitosano como coagulante en el tratamiento de aguas residuales, empleando concentraciones diferentes del polímero y tomando efluentes de diversas actividades productivas, pues sus propiedades hacen que sea una alternativa eficiente y sustentable para este tipo de procesos.

Se debe realizar un tratamiento de precipitación, usando coagulantes químicos sobre la muestra objeto de estudio, que permita contrastar la eficiencia del método convencional con respecto al rendimiento del tratamiento con quitosano como coagulante.

Se debe promover el uso de quitosano como coagulante o ayudante de coagulación en los procesos de tratamiento de las industrias, para disminuir el uso químicos en este tipo de procesos.

6. Anexos:

6.1. Protocolos de Análisis:

Para la realización de los análisis se procede según la metodología del “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition. (Rice, Baird , & Eaton, 2017), que se presenta a continuación:

ANÁLISIS DE TURBIEDAD EN AGUAS

1. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS:

- **Equipo Turbidímetro**
- **Celdas de medición**
- **Agua grado reactivo exenta de turbiedad:** se requiere agua de estas características con turbiedad del orden de 0,1 UNT para la dilución y preparación de soluciones estándares. Preparar a partir de agua grado reactivo para análisis filtrada a través de un filtro de 0,1 μm , enjuagando el matraz recolector al menos dos veces con la misma agua filtrada y descartando los primeros 200 mL. También es posible utilizar agua desmineralizada que presente baja turbiedad, chequear cumplimiento de la calidad requerida.
- Suspensión Estándar de turbiedad 4000 NTU comercial

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El método nefelométrico se basa en la comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra en condiciones definidas, con la intensidad de la luz dispersada por una solución patrón de referencia en idénticas condiciones. Cuanto mayor es la intensidad de la luz dispersada, más intensa es la turbiedad.

La turbiedad de las aguas se debe a la presencia de material suspendido y coloidal como arcilla, limo, materia orgánica e inorgánica finamente dividida, plancton y otros organismos microscópicos. La turbiedad es una expresión de la propiedad óptica que hace que los rayos luminosos se dispersen y se absorban, en lugar de que se transmitan sin alteración a través de una muestra.

3. TOMA Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- No se requiere la preservación química de la muestra.
- Determine la turbidez tan pronto como sea posible después de que se toma la muestra. Agitar suavemente todas las muestras antes del examen para garantizar una medición representativa.
- En caso de requerirse almacenamiento, este debe realizarse a 4°C en la oscuridad por un tiempo recomendado de 24 horas, pero en ningún caso superior a 48 horas para minimizar la descomposición microbiológica de los compuestos orgánicos.

4. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

- La turbiedad puede ser determinada para cualquier muestra de agua que esté libre de partículas y de sedimento gruesos que se sedimentan rápidamente.
- La celda sucia o la presencia de burbujas de aire dan resultados falsos. Es necesario limpiar muy bien las celdas y que manipule las celdas solamente por la parte superior para evitar ensuciarlas y dejar huellas digitales en el paso de luz
- El tiempo de reposo debe ser mínimo, ya que se puede producir sedimentación de partículas y cambios en la temperatura de la muestra, que pueden dar lugar a una medición no representativa.
- Evitar en lo posible la dilución de las muestras

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Calibración y/o Verificación del instrumento

- Verificar calibración del instrumento siempre antes de cada uso. Seguir rigurosamente las condiciones de operación proporcionadas por el fabricante del equipo.
- Reemplazar los patrones provistos por el fabricante, tan pronto como estos hayan cumplido su vida útil.

5.2 Procedimiento de Análisis

- Calibrar y verificar el equipo, siguiendo cuidadosamente las instrucciones del fabricante.
- Con los siguientes estándares de referencia: <0.1, 20, 200, 1000, 4000
- Agitar cuidadosamente los estándares y las muestras para homogeneizar y dispersar los sólidos.
- Esperar que las burbujas de aire u otros gases atrapados en la muestra desaparezcan.
- Transferir una fracción de muestra hacia la celda de medición.
- Limpiar minuciosamente la pared externa de la celda con un paño suave, hasta que no se observe ninguna huella digital o suciedad.
- Introducir la celda de lectura en el turbidímetro en la posición exacta señalada para cada instrumento y leer la turbiedad al cabo de 60 segundos.

6. CÁLCULOS

- Entregar el valor de turbidez directamente, si en el análisis se utilizó la muestra original (sin dilución).

$$NTU = NTU \text{ muestra}$$

- En caso de haber realizado previamente una dilución a la muestra, considerar el factor de dilución de la manera siguiente:

$$NTU = \frac{C * A}{M}$$

Donde:

NTU: Unidades de turbiedad nefelométricas:

C : NTU encontradas en muestra diluida

A : Volumen de aforo (mL)

M : Volumen de muestra tomada para la dilución (mL)

**DETERMINACION DE AGENTES TENSOACTIVOS SUSTANCIAS ACTIVAS AL
AZUL DE METILENO (MBAS)**

1. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS:

- Espectrofotómetro, para usar a 652 nm, provisto de luz de 1.0 cm o mayor.
- Embudos de separación, de 500 mL o 250 mL, preferiblemente con llaves de teflón inerte (PTFE).
- Volumétricas de 50 mL de capacidad.
- Solución Madre de LAS.
- Solución Patrón de LAS.
- Solución Indicadora de Fenolftaleína Alcohólica.
- Solución de Hidróxido de Sodio, NaOH, 1,0 N.
- Solución de Ácido Sulfúrico, H₂SO₄, 1 N.
- Cloroformo, CHCl₃. Calidad ACS.
- Ortofosfato Monosódico Monohidratado, Na₂PO₄.H₂O.
- Reactivo de Azul de Metileno.
- Solución de Lavado.
- Peróxido de Hidrogeno, 30%.
- Alcohol Isopropílico.

1.1. Preparación de las soluciones

- **Solución Madre de LAS:** Pesar una cantidad del material de referencia, que sea igual a 1 g de LAS en base 100 % activa. Disolver en agua de alta calidad y diluir a un litro; 1 mL = 1 mg de LAS. Almacenar en un refrigerador (6+/- 2°C) para minimizar la biodegradación.
- **Solución Patrón de LAS:** Diluir 10 mL de la solución madre de LAS a 1000 mL con agua de alta calidad; 1 mL = 10 microgramos de LAS.
- **Solución Indicadora de Fenolftaleína Alcohólica:** Disolver 5 g de fenolftaleína en 500 mL de alcohol etílico o isopropílico al 95 % y adicionar 500 mL de agua de alta calidad. Si es necesario, adicionar NaOH 0,02 N, gota a gota, hasta la aparición de una débil coloración rosa.
- Solución de Hidróxido de Sodio, NaOH, 1,0 N.
- Solución de Ácido Sulfúrico, H₂SO₄, 1,0 N.
- Cloroformo, CHCl₃.
- Ortofosfato Mono sódico Monohidratado, NaH₂PO₄.H₂O.

- Peróxido de Hidrogeno H_2O_2 al 30%
- **Reactivo de Azul de Metileno.** Disolver 100 mg de azul de metileno en 100 mL de agua de alta calidad. Transferir 30 mL a un matraz de 1000 mL y adicionar 500 mL de agua de alta calidad, 6,8 mL de ácido sulfúrico concentrado (equivalente a 41 mL de ácido sulfúrico 6 N) y 50 g de ortofosfato monosódico monohidratado. Agitar hasta completar la disolución y diluir a 1000 mL.
- **Solución de Lavado.** Adicionar 6,8 mL de ácido sulfúrico concentrado (equivalente a 41 mL de ácido sulfúrico 6 N) a 500 mL de agua de alta calidad en un matraz de 1000 mL, adicionar 50 g de ortofosfato monosódico mono hidratado, agitar hasta completa disolución y diluir a un litro.

2. DESARROLLO DEL MÉTODO

2.1. Interferencias

- Si se pretende una determinación directa de LAS (o de cualquier otra especie individual de MBAS), todas las otras especies interfieren.
- Todos los materiales catiónicos anfífilos darán interferencias negativas por competir con el azul de metileno catiónico. Algunas de las interferencias reveladas se pueden predecir sobre la base de las propiedades químicas.
- Los sulfatos orgánicos, los sulfonatos, los carboxilatos y fenoles que forman complejos con el azul de metileno así como los cianatos inorgánicos, cloruros, nitratos y tiocianatos que forman iones pares con el azul de metileno están entre las interferencias positivas.
- Los materiales orgánicos, especialmente las aminas, que compiten con el azul de metileno en la reacción pueden causar bajos resultados.
- Materiales coloridos presentes en la muestra y extractables en cloroformo interfieren al extender la absorbancia a la longitud de onda usada.

2.2. Principio del método

- Este método depende de la formación de una sal cuando el azul de metileno (colorante catiónico), reacciona con surfactantes aniónicos (incluyendo LAS, otros sulfonatos y ésteres de sulfatos), como también con otros aniones naturales o sintéticos fuertemente anfífilos.
- Debido a su carencia de especificidad, los materiales determinados son designados simplemente como: Sustancias Activas al Azul de Metileno, MBAS.

- El complejo de azul de metileno (en contraste con el de metileno en sí mismo) es extractable en cloroformo (CHCl_3), en donde la intensidad del color es proporcional a la concentración de MBAS. El color remanente en el cloroformo se mide por espectrofotometría a 652 nm.
- El método es sensible a 0.025 mg/L de MBAS (calculado como LAS) y la cantidad mínima detectable son 0,01 mg/L de MBAS (calculada como LAS).

2.3. Muestreo y preservación

- Debe evitarse condiciones espumosas o por lo menos despejar las áreas antes del muestreo.
- El recipiente de muestreo puede ser de vidrio o de plástico, pero nunca se debe utilizar detergentes para su limpieza. Esta se puede realizar con mezcla sulfocromica.
- Las muestras deben mantenerse en refrigeración ($6^\circ\text{C} \pm 2$) y el análisis debe efectuarse en un lapso no superior a 48 horas, después del muestreo.

2.4. Análisis

- Si la concentración esperada de MBAS, está por encima de 3,0 mg/L, se diluye la muestra con agua de alta calidad de modo que en 100 mL, haya entre 40 a 200 microgramos de MBAS.
- Seleccionado el volumen de muestra, tratar la muestra exactamente, como se describirá en el numeral 6.3 para los patrones.

Tratamiento con Peróxido: Si es necesario para evitar decoloración del azul de metileno por sulfuros, adicione unas pocas gotas de Peróxido de Hidrógeno al 30%.

2.5 Curva de calibración:

- a. Preparar una serie de matraces aforados con las siguientes concentraciones 0.3, 0.6, 1.2, 2, 2.5 y 3 mg/L a partir del patrón de LAS (10 mg/L), aforar con agua de alta calidad hasta un volumen total de 100 mL y adicionarlo a cada embudo de separación.
- b. Alcalinizar cada embudo por adición de hidróxido de sodio 1 N en presencia de fenolftaleína y decolorar por adición, gota a gota, de ácido sulfúrico 1 N.
- c. Adicionar 10 mL de cloroformo y 25 mL de reactivo de azul de metileno. Agitar por unos treinta segundos y dejar en reposo para que se separe en dos capas. Si se forma una emulsión, añadir un pequeño volumen (<10mL) de alcohol Isopropilico, teniendo en cuenta que se debe agregar la misma cantidad de alcohol a todos los patrones.

- d. Drenar la capa de cloroformo en un segundo embudo de separación y lavar el tubo de descarga del primer embudo de separación una pequeña cantidad de cloroformo.
- e. Repetir la extracción por dos veces más, utilizando 10 mL de cloroformo, en cada ocasión. Si el color azul de la fase acuosa se desvanece o desaparece, se debe descargar la muestra y repetir la determinación usando un volumen menor de muestra.
- f. Una vez combinados todos los extractos en el segundo embudo de separación, adicionar 50 mL de la solución de lavado y se agita vigorosamente por 30 segundos.
- g. Dejar sedimentar, agitar y drenar la capa de cloroformo a través de lana de vidrio o papel de filtro apropiado, a un matraz volumétrico de 100 mL. Se extrae la solución de lavado por dos veces con 10 mL de cloroformo en cada ocasión y se recibe cada capa de cloroformo en el mismo matraz volumétrico.
- h. Enjuagar la lana de vidrio y el embudo de separación con cloroformo, recogiendo los lavados en el matraz volumétrico. Diluir hasta la marca con cloroformo y mezclar bien.
- i. Determinar la absorbancia de cada uno de los patrones a 652 nm, contra un blanco o testigo de cloroformo.
- j. Con los valores obtenidos se traza una curva de calibración de microgramos de LAS versus absorbancia. Determinar la pendiente y el intercepto de la curva, con estos valores, teniendo en cuenta la ecuación de la línea recta, se puede calcular los microgramos en la curva. Tome como criterio de aceptación, valores de coeficientes de correlación, que oscilen entre 0,995 o mejor.

3. CÁLCULOS

Teniendo en cuenta la ecuación de la línea recta, calcule los microgramos de LAS en la curva de calibración de la siguiente manera:

$$Y = a + bX$$

$$X = \frac{Y - a}{b}$$

$$\text{ug de LAS (CURVA)} = \frac{\text{Abs} - a}{b}$$

Donde:

a = Intercepto

b = Pendiente

Y = Absorbancia de la muestra

DETERMINACION DE SÓLIDOS TOTALES EN EL AGUA

1. EQUIPOS Y MATERIALES:

- Cápsula de porcelana de 100 mL.
- Horno con temperatura de 103 °C.
- Desecador.
- Balanza analítica
- Pinzas metálicas para manejo de las cápsulas
- Probetas o pipetas

2. DESARROLLO DEL MÉTODO

El agua fuertemente mineralizada con una concentración significativa de calcio, magnesio, cloruro y/o sulfato puede ser higroscópica y requerir un secado prolongado, una desecación adecuada y un pesado rápido. Elimínense las partículas gruesas flotables o los aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos si se decide que su inclusión no es deseable en el resultado final.

2.1 Principio del método

Se evapora un volumen apropiado de la muestra en una cápsula de porcelana de peso conocido, evaporando y llevando hasta sequedad en un horno a temperatura entre 103 °C y 105 °C. El aumento de peso en la cápsula representa la cantidad de sólidos totales.

2.2 Muestreo y preservación

La muestra debe tomarse en recipiente de vidrio o de plástico y el análisis, realizarse lo más pronto posible después de la toma de muestra. Si se quiere preservar por más tiempo (7 días) almacene la muestra a una temperatura de 4°C para minimizar la descomposición microbiana de los sólidos. Antes del análisis lleva la muestra a la temperatura ambiente.

2.3 Interferencias

-La temperatura a la cual el residuo se seca, tiene un efecto importante Sobre los resultados, ya que estos pueden resultar menores (por pérdidas en el peso de la materia orgánica, desprendimiento de gases por Descomposición química o por la oxidación del residuo) o mayores por la Oclusión del agua.

- Eliminar de las muestras las partículas gruesas flotantes o los aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos.

- Los resultados de muestras ricas en grasas y aceites flotantes pueden ser cuestionables debido a la dificultad de secarlas a peso constante en un tiempo prudencial.

2.4 Análisis

- Lavar muy bien la cápsula de porcelana, marcar con un marcador de tinta indeleble y secar al horno entre (103 y 105) °C, por una hora, al cabo de este tiempo llévelas al desecador por 20 min. Mantener la capsula en un desecador hasta que se vaya a utilizar.

- Retirar la cápsula del desecador y pesar.

- Repetir el ciclo de secado, enfriado y pesado. Registrar el nuevo peso.

- Agitar, la muestra con un agitador magnético para obtener una muestra uniforme. Con la ayuda de una pipeta adicione en la cápsula un volumen elegido de muestra que permita obtener un peso de residuo de 2.5 a 200 mg, de muestra previamente mezclada. Pipetear desde el punto medio aproximado del contenedor, no en el vórtice. Si es necesario, añadir porciones de muestras sucesivas para la misma capsula después de la evaporación

- Evaporar hasta sequedad en un horno de secado o en un baño de vapor, evitando salpicaduras por espacio de una hora a una temperatura entre (103 – 105) °C. Cuando se evapora en un horno de secado, la temperatura se debe bajar aproximadamente 2 ° C por debajo de la ebullición para evitar salpicaduras.

- Cumplido el tiempo de secado, retirar la cápsula del horno y llévarlas a un desecador, por espacio de 20 min. Enfriar y registrar su peso.

- Repita el ciclo de secado y enfriamiento hasta peso constante, el cual se obtiene cuando la diferencia es menor de 4% con respecto al peso anterior, o de 0.5 mg.

- Una vez obtenida la constancia de peso, pesar la cápsula tan pronto se haya enfriado y registrar su peso.

3. CÁLCULOS

Dónde: F = mg/L de sólidos totales

$$F = \frac{(A - B) \times 1000}{C}$$

A = Peso de la cápsula más sólidos (mg)

B = Peso de la cápsula vacía (mg)

C = Volumen de la muestra utilizada.

DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO – INCUBACIÓN (5 DIAS) Y DETERMINACIÓN CON ELECTRODO DE LUMINISCENCIA

1. EQUIPOS Y MATERIALES

- Botellas de incubación tipo Winkler de 300 mL.
- Incubadora (20 ° C ± 1 °C).
- Balanza analítica.
- Oxímetros de mesa.
- Medidor de Oxígeno Disuelto, Electrodo de Luminiscencia.
- Medidor de pH.
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5, 10, 25 y 50 mL.
- Balones aforados de 500 y 1000 mL.

2. REACTIVOS

- **Agua destilada y Ultrapura.**
- **Solución tampón de fosfato:** Disuelva 8,5 g de KH₂PO₄, 21,75 g de K₂HPO₄, 33,4 g de Na₂HPO₄ · 7H₂O, y 1,7 g de NH₄Cl en aproximadamente 500 mL de agua ultrapura y diluya a 1 L. El pH del buffer preparado debe ser 7,2 sin posteriores ajuste, permitiendo un intervalo entre 7.1 – 7.3 y verificar el pH de cada preparación. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- **Solución de sulfato de magnesio:** Disuelva 22,5 g de MgSO₄ · 7H₂O en agua ultrapura y diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.

- **Solución de cloruro de calcio:** Disuelva 27,5 g de CaCl_2 en agua ultrapura y diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- **Solución de cloruro de hierro (III):** Disuelva 0,25g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua ultrapura, diluya a 1L. Si se presenta alguna señal de crecimiento biológico, descarte este reactivo.
- **Ácido Sulfúrico 1 M.** En un vaso de precipitados coloque alrededor de 300 mL de agua ultrapura y agregue muy lentamente y mientras agita, 28 mL de ácido sulfúrico concentrado; diluya a 1 L.
- **Hidróxido de Sodio 1M:** Disuelva 40 g de hidróxido de sodio en agua ultrapura y diluya a 1 L.
- **Solución Sulfito de sodio:** Disuelva 1.575 g Na_2SO_3 en 100 mL de agua grado reactivo.
- **Solución de glucosa - ácido glutámico:** Seque a 103 °C por 1 h glucosa (grado analítico) y ácido glutámico (grado analítico). Disuelva 150 mg de glucosa y 150 mg de ácido glutámico en agua ultrapura y diluya a 1 L, almacenarlo en un frasco de tapa de rosca, estéril y refrigerado.
- **Solución cepa o semilla (Polyseed-Interlab):** Poner el contenido total de la capsula polyseed en un balón de 500 mL con agua destilada, agitar durante 1 hora y dejar que repose. No filtrar la solución semilla. Mezclar bien la solución antes de sembrarla para asegurar que la misma cantidad de microorganismos sea agregada a todas las botellas.

3. DESARROLLO DEL MÉTODO

3.1 Principio

La Demanda Bioquímica de Oxígeno es una prueba en la que se utilizan procedimientos estandarizados de laboratorio para determinar los requerimientos relativos de oxígeno de las aguas residuales, efluentes y contaminadas.

La prueba tiene su aplicación más extendida en la determinación de las cargas residuales en las instalaciones de tratamiento y en la evaluación de la eficacia de extracción del D.B.O. de tales sistemas de tratamiento.

La prueba mide el oxígeno utilizado durante un período de incubación especificado, para la degradación bioquímica de materia orgánica, y el oxígeno utilizado para oxidar materia orgánica, como los sulfuros y el ion ferroso. Puede medir también el oxígeno utilizado para oxidar las formas reducidas del nitrógeno a menos que se impida la oxidación por medio de un inhibidor. Los procedimientos de siembra y dilución proporcionan una valoración del D.B.O. a un pH entre 6,5 y 7,5.

La D.B.O. se utiliza como un parámetro de evaluación de polución, puesto que sirve para medir y controlar la cantidad de materiales orgánicos biológicamente asimilables descargados a un cuerpo de agua receptor por un desecho líquido ya sea doméstico o industrial, también es utilizado en ingeniería como criterio para la construcción de plantas de tratamiento de aguas residuales.

La concentración de D.B.O. en la mayoría de las aguas residuales supera la concentración de oxígeno disuelto en una muestra saturada de aire. Por lo tanto, es necesario diluir la muestra antes de incubarla para equilibrar de forma adecuada el requerimiento y suministro de oxígeno. Ya que el crecimiento bacteriano requiere nutrientes tales como nitrógeno, fósforo y metales traza, se añaden éstos al agua de dilución, la cual es taponada para asegurar que el pH de la muestra incubada se mantiene en un intervalo de adecuado para el crecimiento bacteriano.

La prueba de la DBO_5 por el método de incubación en botellas de winkler, no es exactamente una reproducción del ambiente del agua en estudio, pues mientras las pruebas de bioensayos son sistemas estáticos a los cuales se les controla la concentración de oxígeno (medio siempre aerobio), temperatura más o menos constante $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, se realiza en la oscuridad y se le proporciona microorganismos.

El ambiente de la corriente receptora es un sistema dinámico con condiciones de temperatura, población bacteriana, luz solar y concentración de O.D. difícil de igualar en el laboratorio. Por esta razón, al interpretar los resultados de la DBO_5 se deben tener en cuenta las condiciones naturales del cuerpo de agua receptor del desecho líquido descargado.

3.2 Muestreo y preservación

Tome la muestra de tal manera que sea representativa del vertimiento o cuerpo de agua en estudio. Utilice frascos plásticos o vidrio ámbar de 2000 mL de capacidad. Refrigere la muestra a 4°C hasta el momento del análisis. Lleve las muestras a temperatura ambiente. Efectué el análisis dentro de las 24 horas siguientes a la toma de muestra.

Las muestras para determinación de la DBO₅ pueden degradarse significativamente durante el almacenamiento, entre la colección y el análisis, resultando valores bajos de DBO₅.

3.3. Preparación del agua de dilución

La garrafa donde se prepara el agua de dilución debe lavarse antes y después de su uso con agua caliente, varias veces y enjuagar varias veces con agua destilada, recoger el agua para el análisis. No aplicar jabón para el lavado.

Use agua destilada o de cualquier otra fuente, pero asegurándose que el agua esté libre de metales pesados especialmente el cobre y las sustancias tóxicas como el cloro, que pueden interferir con las mediciones de DBO₅.

El agua desionizada a menudo contiene cantidades suficientes de materia orgánica y microorganismos que pueden causar falla en la comprobación del agua de dilución.

Revise para asegurarse que la concentración de oxígeno disuelto sea superior a 6.5 mg/L, antes de usar el agua para las pruebas de DBO₅.

Si no es así agregue OD, aireando con aire filtrado libre de orgánico

Llene la garrafa con agua destilada, la necesaria para el análisis, teniendo en cuenta que el gasto aproximado es de 300 mL por botella winkler. Reserve el volumen de agua destilada desde el día anterior.

Agregue 1 mL de cada una de las siguientes soluciones, por cada litro de agua de dilución a preparar: Solución tampón de fosfatos, Solución de sulfato de magnesio, Solución de cloruro de calcio, Solución de cloruro de hierro (III). Verifique que la temperatura del agua de dilución sea de 20 +/- 3°C.

No se recomienda almacenar agua de dilución preparada durante 24 h después de agregar nutrientes, minerales y tampón.

Si la depleción de OD, en el blanco es superior a 0.20 mg/L, mejorar la calidad del agua purificándola u obteniéndola por otra fuente.

3.4 Preparación de estándares de control

En un beaker coloque alrededor de 2 g de ácido glutámico y en otro 2 g de glucosa y séquelo a 102 – 104 °C durante una hora en el horno.

Deje enfriar dentro del desecador, hasta temperatura ambiente.

En un beaker pese 0,150 g de ácido glutámico y en otro 0,150 g de glucosa.

Coloque aproximadamente 200 mL de agua ultra pura en un balón aforado de 1litro, transfiera cuantitativamente los 0,150 g de ácido glutámico, enjuague varias veces el vaso que lo contiene, agite o lleve al ultrasonido hasta disolución completa.

Transfiera cuantitativamente los 0,150 g de glucosa, enjuague varias veces el vaso que lo contiene, agite hasta disolución completa se agrega éste en el mismo balón del ácido glutámico.

Complete a volumen y homogenice invirtiendo el balón varias veces. Esta solución estándar cuando se diluye y se siembra debe estar en una concentración de 198 mg/L +/- 30.5 mg/L.

3.5. Procesamiento de muestras

3.5.1. Lectura de Blancos

Aliste tres botellas Winkler

Rotule las botellas como “Blanco” y la fecha de análisis.

Adicione agua de dilución hasta la mitad del cuello de la botella.

Lea el oxígeno inicial (con electrodo de luminiscencia) de los blancos, llene totalmente dejando el sello hidráulico (pequeña película de agua para impedir el intercambio de oxígeno entre la botella y el ambiente) y forre la parte superior de la botella con papel aluminio u otro.

Lea las otras dos botellas de blancos como muestras y registre los datos, incube a 20 +/- 1°C por cinco días +/- 6 horas. Lea con electrodo de luminiscencia.

3.5.2. Lectura de Blanco con adición de cepa

Aliste tres botellas Winkler

Rotule las botellas como “Blanco + cepa” y la fecha de análisis.

Adicione entre 1-3 mL de cepa o semilla.

Adicione agua de dilución solamente hasta la mitad del cuello de la botella., para que al introducir el electrodo no haya pérdida de muestra.

Lea el oxígeno inicial (con electrodo de luminiscencia) de los blancos con adición de cepa, llene totalmente dejando el sello hidráulico (pequeña película de agua para impedir el intercambio de oxígeno entre la botella y el ambiente) y forre la parte superior de la botella con papel aluminio u otro.

Registre los datos e incube a 20 +/- 1°C por cinco días +/- 6 horas.

Al quinto día lea (con electrodo de luminiscencia) el Oxígeno disuelto residual

3.5.3 Lectura de estándares

Aliste tres botellas Winkler

Rotule tres de las botellas como Estándar 198 mg/L y la fecha de análisis.

Adicione entre 1- 3 mL de cepa o semilla.

Adicione 6 mL del estándar correspondiente.

Adicione agua de dilución solamente hasta la mitad del cuello de la botella., para que al introducir el electrodo no haya pérdida de muestra.

Lea el oxígeno inicial de los estándares (con electrodo de luminiscencia), llene totalmente dejando el sello hidráulico (pequeña película de agua para impedir el intercambio de oxígeno entre la botella y el ambiente) y forre la parte superior de la botella con papel aluminio u otro.

Registre los datos e incube a 20 +/- 1°C por cinco días +/- 6 horas.

Al quinto día lea el Oxígeno disuelto residual (con electrodo de membrana o luminiscencia).

3.5.4 Lectura de muestras

- Preparación de diluciones: Utilizando el agua de dilución preparada como en el numeral anterior, hacer que al menos tres diluciones de muestra preparada estimados para producir una DO residual mayor 1,0 mg / L y una captación de DO de al menos 2,0 mg / L después de un 5 días incubación, producen los resultados más confiables

Después de establecer la cantidad de muestra que necesita de acuerdo a las diluciones a realizar, agite la muestra para homogenización completa y sirva en un vaso de precipitados la muestra, a todas las muestras se le debe medir el pH y si éste no se encuentra entre 6.0 y 8.0, lleve la muestra a una temperatura de 20°C +/- 3°C, luego ajuste el pH entre 7.0 y 7.2, usando solución de ácido sulfúrico (H₂SO₄) o de hidróxido de sodio de concentración tal que la cantidad de reactivo no diluya la muestra en más del 0,5 por 100.

Aliste cuatro botellas Winkler

Rotule las botellas con el código de la muestra, la dilución correspondiente y la fecha de análisis.

Para determinar la dilución aproximada siga los criterios de dilución de muestras.

Adicione a cada botella la cantidad de muestra que se ha establecido, si se requiere hacer dilución realícela en un balón aforado clase A o B agite y sirva en la botella la cantidad requerida.

Adicione entre 1- 3 mL de cepa.

Adicione agua solamente hasta la mitad del cuello de la botella, para que al introducir el electrodo no haya pérdida de muestra.

Lea el oxígeno inicial de las cuatro botellas de muestra (con electrodo de luminiscencia), llene totalmente dejando el sello hidráulico y forre la parte superior de la botella con papel aluminio u otro.

Si al medir el oxígeno disuelto inicial, ha descendido a menor de 6, preparar otra botella utilizando un volumen de muestra menor.

Registre los datos e incube a 20° +/- 3 °C por cinco días +/- 6 horas.

Al quinto día lea el Oxígeno disuelto residual (con electrodo de membrana o luminiscencia)

4. CÁLCULOS

Efectúe los cálculos por medio de la ecuación:

$$DBO_5(mgO_2/L) = \frac{(OD\ consumido - OD\ consumido\ cepa) \times V}{V_m}$$

Donde;

OD consumido: OD inicial – OD residual.

OD consumo cepa: OD inicial (agua de dilución + cepa) – OD residual (agua de dilución + cepa)

V: Volumen de la botella Winkler.

Vm: Volumen de alícuota de la muestra afectado por el factor de dilución

DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO) – REFLUJO CERRADO

1. EQUIPOS Y MATERIALES

- Tubos de Digestión: de 16 x 100 mm, con tapa rosca
- Termo reactor
- Espectrofotómetro UV-VIS
- Balanza Analítica
- Balones aforados de 25, 100, y 1000 mL
- Transferpiteta de 500-5000 µL
- Beaker de 100 y 250 ml

2. REACTIVOS

- Solución de Digestión Rango Alto (Lectura a 600 nm): A aproximadamente 500 mL de agua destilada agregar 10,216 g de $K_2Cr_2O_7$, grado estándar primario, previamente secado a 150 °C durante 2 horas, 167 mL de ácido sulfúrico concentrado y 33,3 g de $HgSO_4$. Disolver, enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1000 mL.
- Solución de Digestión Rango Bajo (Lectura a 420 nm): A aproximadamente 500 mL de agua destilada agregar 1,022 g de $K_2Cr_2O_7$, grado estándar primario (previamente secado a 150°C durante 2 horas), 167 mL de H_2SO_4 concentrado (agregar el ácido lentamente) y 33,3 g de $HgSO_4$. Disolver, enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y diluir a 1000 mL.
- Reactivo de Ácido Sulfúrico: Agregar $AgSO_4$, grado reactivo o técnico, en cristales o en polvo, a una cantidad de H_2SO_4 concentrado en proporción de 5,5 g de $AgSO_4$ /Kg de ácido (aproximadamente 545 mL de ácido). Dejar en reposo de 1 a 2 días para que se disuelva el $AgSO_4$.
- Ftalato de Potasio e Hidrogeno (KHP) Estándar: Triturar ligeramente y secar biftalato de potasio a 110 °C hasta peso constante. Disolver 425 mg en agua destilada y diluir a 1000 mL. El biftalato tiene una DQO teórica de 1,176 mg O_2 / mg y la solución tiene una DQO teórica de 500 μg O_2 / mL. La solución es estable si se conserva refrigerada pero no indefinidamente. Si es práctico, prepare y transfiera la solución bajo condiciones estériles.

3. DESARROLLO DEL MÉTODO

3.1 Principio del método

Las sustancias orgánicas e inorgánicas oxidables presentes en la muestra, se oxidan mediante reflujo cerrado en solución fuertemente acida (H_2SO_4), con un exceso conocido de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en presencia de sulfato de plata (Ag_2SO_4) que actúa como agente catalizador, y el sulfato de mercurio ($HgSO_4$) adicionado para remover la interferencia de los cloruros. Después de la digestión, el oxígeno consumido se determina mediante lectura por espectrofotometría a una longitud de onda de 600 nm contra estándares.

3.2. Limitaciones e interferencias

- La oxidación de la mayoría de los compuestos orgánicos esta entre el 95-100% del valor teórico. La piridina y compuestos relacionados resisten la oxidación. Los compuestos orgánicos volátiles reaccionaran en proporción al contacto que tengan con el oxidante. Los compuestos alifáticos de cadena lineal son oxidados más eficientemente en presencia de Sulfato de Plata. Sin embargo, este reacciona con los iones cloruros, bromuros y yoduros produciendo precipitados que son oxidados parcialmente.
- Las dificultades causadas por la presencia de los haluros pueden superarse en buena parte, aunque no completamente, por acomplejamiento antes del proceso de reflujo con Sulfato de Mercurio. Si bien se especifica 1 g de sulfato de mercurio para 50 mL de muestra, se puede usar una menor cantidad cuando la concentración de cloruros sea menor de 2000 mg/L, mientras se mantenga una relación: HgSO_4 : Cl^- 10:1
- La técnica no se debe usar para muestras que contengan más de 2000 mg de cloruros por litro; existen otros procedimientos diseñados para determinar DQO en aguas salinas.
- El nitrito (NO_2^-) tiene una DQO de 1,1 mg de O_2 /mg de NO_2^- -N, y como las concentraciones de NO_2^- en aguas rara vez son mayores de 1 o 2 mg NO_2^- -N / L, esta interferencia es considerada insignificante y usualmente se ignora.
- Para evitar una interferencia significativa debida al NO_2^- , agregar 10 mg de ácido sulfámico por cada mg de NO_2^- -N presente en el volumen de muestra usado; agregar la misma cantidad de ácido sulfámico al blanco de agua destilada.
- Las especies inorgánicas reducidas, tales como iones ferroso, sulfuro, manganeso, etc., se oxidan cuantitativamente bajos las condiciones de prueba; para concentraciones altas de estas especies, se pueden hacer las correcciones al valor de DQO obtenido, según los cálculos estequiométricos en caso de conocer su concentración inicial.

3.3 Muestreo y preservación

- Colectar las muestras en botellas de vidrio preferiblemente; el uso de envases plásticos es permisible si se asegura la ausencia de contaminantes orgánicos.
- Si la muestra tiene materia orgánica biológicamente activa, el análisis debe realizarse inmediatamente, deberá estar preservada a pH menor o igual a 2 por adición

de ácido sulfúrico concentrado (generalmente 2 mL de ácido concentrado/L de muestra) y mantenerla bajo refrigeración puede analizarse entre 7 y 28 días después.

- Las muestras que contienen sólidos sedimentables deben mezclarse con un homogenizador para obtener una muestra representativa.

3.4 Tratamiento de las muestras

- Lavar los tubos y sus tapas con H₂SO₄ al 20% antes de su primer uso, para prevenir la contaminación.
- Tomar 2.5 ml de muestra, 1.5 ml de solución de digestión y cuidadosamente 3.5 mL de reactivo de ácido sulfúrico
- Tapar herméticamente los tubos, e invertirlos varias veces para mezclar completamente el contenido.
- Colocar los tubos en el bloque de calentamiento precalentado a 150 °C ± 2°C, y dejar en reflujo durante 2 horas debajo de un escudo de protección.
- Aclimatar y luego colocar los tubos en una gradilla, aclimatar las muestras suficiente tiempo con el fin de evitar precipitados, una vez se hayan enfriado, desfogar (destapar tubo) con el fin de aliviar cualquier presión generada durante la digestión.
- Taparlo nuevamente y mezclar el contenido del tubo con el fin de combinar el agua condensada y desalojar la materia insoluble, permitir que la materia suspendida se sedimente para asegurar que el paso óptico se halle claro.

3.5 Medición de la absorbancia

Si va leer en rango bajo colocar la longitud de onda de 420 nm, si es en rango alto la longitud de onda debe ser 600 nm, usar un blanco sin digerir como solución de referencia. Analizar un blanco digerido para confirmar la calidad de los reactivos analíticos y hacer corrección de lectura.

3.6. Preparación de la curvas de calibración:

- Patrón de 900 mgO₂/L:

Se pesa 0,7652 g de biftalato de potasio 99% de pureza secado a 110 °C, se lleva a un volumen de 1000mL con agua desionizada.

- Patrón de 800 mgO₂/L:

Pesar 0.3400g de Biftalato de Potasio previamente secado a 10°C durante dos horas, transferir cuantitativamente a un balón aforado de 500ml, disolver y completar a volumen con agua desionizada.

- Patrón de 600 mgO₂/L:

Pesar y disolver 0,255g de Biftalato de Potasio previamente secado a 110°C, en agua desionizada y lleve a un volumen de 500ml.

- Patrón de 500 mgO₂/L:

Pesar 0.425g de Biftalato de Potasio previamente secado a 10°C durante dos horas, transferir cuantitativamente a un balón aforado de 1000ml, disolver y completar a volumen con agua desionizada.

De la solución de 800mg/l medir 50 mL y llevar a 100 mL con agua destilada, para obtener una concentración de 400 mg/L

De la solución de 400mg/l medir 50 mL y 10 mL y llevar a 100 mL con agua destilada, para obtener concentraciones de 200 mg/L y 40 mg/L respectivamente.

De la solución de 600mg/l medir 10 mL y llevar a 100 mL con agua destilada, para obtener una concentración de 60 mg/L.

De la solución de 500mg/l medir 20 mL, 3 mL y 10 mL y aforar a 100 mL con agua destilada para obtener concentraciones de 100 mg/L, 15 mg/L y 50 mg/L respectivamente.

Medir 20 ml de la solución de 100mg/l para obtener una concentración de 20mg/L

Preparar al menos cinco estándares de biftalato de potasio con DQO equivalente de 100 a 900 mg O₂ / L y de 15 a 60mg O₂ y llevar a volumen con agua destilada. Emplear los mismos volúmenes de reactivos, tamaños de tubos y proceso de digestión aplicados con las muestras.

Preparar todas las curvas de calibración para cada nuevo lote de tubos y reactivos, o cada seis meses como lo especifica el procedimiento de control de calidad.

4. CÁLCULOS

Teniendo en cuenta la ecuación de la línea recta, la DQO como mg O₂ /L, se calcula de la siguiente manera:

$$DQO \text{ mg/l} = \frac{(Y - a)}{b}$$

Dónde: (a) = Intercepto
 (b) = Pendiente.
 (Y) = Absorbancia de la muestra

6.2. Resultados de análisis de muestra cruda y tratada

MUESTRA	TIEMPO (Horas)	TURBIEDAD (NTU)	%REMOCIÓN TURBIEDAD	PH	DQO (mgO2/L)	%REMOCIÓN DQO	DBO (mgO2/)	%REMOCIÓN DBO	TENSOACTIVOS (mg/L)	%REMOCIÓN SAAM	SOLIDOS TOTALES	%REMOCIÓN ST
CRUDA	0	1884		5,7	11832		6862		86,97		4716	
TRATADA 1	21	528	72,0	5,59	9352	21,0	5798	15,5	75,97	12,6	3292	30,2
TRATADA 2	30	523	72,2	5,66	8694	26,5	-	-	75,42	13,3	2987	36,7
TRATADA 3	45	385	79,6	5,64	8607	27,3	5250	23,5	85,15	2,1	2892	38,7
TRATADA 4	53	519	72,5	5,66	9304	21,4	5396	21,4	82,64	5,0	2729	42,1
TRATADA 5	70	487	74,2	5,65	9306	21,3	5677	17,3	68,05	21,8	2651	43,8
TRATADA 6	74	515	72,7	5,66	8858	25,1	4960	27,7	72,34	16,8	2920	38,1
TRATADA 7	94	508	73,0	5,65	8755	26,0	5078	26,0	84,6	2,7	2547	46,0
TRATADA 8	98	473	74,9	5,66	8569	27,6	5227	23,8	75,22	13,5	2190	53,6
TRATADA 9	115	438	76,8	5,65	7587	35,9	4552	33,66	91,24	-4,9	2432	48,4
TRATADA 10	167	397	78,9	5,68	7453	37,0	4248	38,09	86,08	1,0	2538	46,2
TRATADA 11	171	389	79,4	5,88	8770	25,9	5349	22,05	86,68	0,3	2600	44,9
TRATADA 12	188	399	78,8	6,67	7295	38,3	-	-	88,02	-1,2	2700	42,7
TRATADA 13	195	422	77,6	6,75	9021	23,8	-	-	92,08	-5,9	2794	40,8
TRATADA 14	211	384	79,6	6,63	6909	41,6	4283	37,58	89,98	-3,5	2502	46,9
TRATADA 15	216	424	77,5	6,88	8461	28,5	5077	26,01	90,56	-4,1	2830	40,0
TRATADA 16	219	331	82,4	6,98	7772	34,3	4508	34,30	89,06	-2,4	2553	45,9
TRATADA 17	236	324	82,8	6,79	6780	42,7	3932	42,70	87,58	-0,7	2325	50,7
TRATADA 18	239	351	81,4	6,86	7867	33,5	4720	31,22	88,44	-1,7	2458	47,9
TRATADA 19	243	307	83,7	6,88	6809	42,5	3881	43,44	87,96	-1,1	2250	52,3
TRATADA 20	260	366	80,6	6,97	7005	40,8	4343	36,71	89,04	-2,4	2596	45,0
TRATADA 21	262	310	83,5	6,92	6720	43,2	3897	43,21	88,84	-2,2	2411	48,9
TRATADA 22	264	311	83,5	6,98	6710	43,3	3959	42,31	89,22	-2,6	2482	47,4
TRATADA 23	267	306	83,8	6,8	8652	26,9	5191	24,35	91,24	-4,9	2646	43,9
TRATADA 24	282	336	82,2	6,88	8663	26,8	5284	23,00	92,15	-6,0	2703	42,7
TRATADA 25	284	348	81,5	6,86	8688	26,6	4952	27,83	91,98	-5,8	2715	42,4

Fuente: elaboración propia

7. Bibliografía

Agencia para sustancias tóxicas y registro de enfermedades. (s.f). *Resumen de salud pública- Aluminio*. Recuperado el 31 de 08 de 2017, de https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs22.html

Álaba, J. (2015). Aplicación de quitosano como biocoagulante en aguas residuales contaminadas con hidrocarburos. *Enfoque UTE Revista*, 6(3), 52-64. Recuperado el 11 de 03 de 2018, de <http://ingenieria.ute.edu.ec/enfoqueute/index.php/revista>

Alas, A., & Ventura, D. (2007). Estudio del grado de desacetilación del quitosano y su influencia en la remoción de Plomo presente en aguas no potables. San Salvador: Universidad de El Salvador, Facultad de química y Farmacia. Recuperado el 23 de 09 de 2017, de <http://ri.ues.edu.sv/4754/>

Andía, Y. (2000). *Tratamiento de agua. Coagulación y Floculación*. (SEDAPAL, Ed.) Recuperado el 30 de 09 de 2017, de http://www.sedapal.com.pe/c/document_library/get_file?uuid=2792d3e3-59b7-4b9e-ae55-56209841d9b8&groupId=10154

Barra , A., Romero , A., & Beltramino, J. (2012). Obtencion de quitosano. Sitio Argentino de Producción Animal, 1-10.

Barrenechea, A. (2004). *Tratamiento de agua para consumo humano. Capitulo 4 Coagulación*. Recuperado el 22 de 09 de 2017, de <http://bibliotecavirtual.minam.gob.pe/biam/bitstream/id/5657/BIV00012.pdf>

Beltrán Patiño, J. A. (2010). *Extracción y caracterización de quitosano del camaron Titi y su aplicación en la liberación controlada de un farmaco*. Recuperado el 21 de 10 de

2017, de <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/4713/1/CB-0441207.pdf>

Cadeza Espinosa, M. (2014). *Estudio de factibilidad para la implementación de una red de valor del quitosano extraído de *Penaeus vannamei* opción de desarrollo económico y sustentable*. Colegio de Posgraduados, Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Montecillo, Mexico.

Carrasquero, S., Cordero, R., Mas, M., Pardo, A., Marín, J., & Vargas, L. (2014). Eficiencia del quitosano como coagulante en aguas residuales de una industria procesadora de harina. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 48(3), 206-223. Recuperado de <http://produccioncientificaluz.org/index.php/boletin/article/view/19558>

Castrillon, D., & Giraldo, M. (2012). *Determinación de la dosis óptima de coagulante sulfato de aluminio granulado en función de la turbiedad y el color para la potabilización del agua en la planta de tratamiento de Villa Santana*. Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia. Recuperado de <http://hdl.handle.net/11059/3146>

Castro, N., & Vidal, C. (2015). Obtención y caracterización de quitina y quitosano del *Emerita* Analoga a escala piloto. Recuperado el 09 de 03 de 2018, de <http://revistas.uss.edu.pe/index.php/tzh/article/viewFile/280/286>

Cogollo F, J. M. (2011). Clarificación de aguas usando coagulantes polimerizados. *Revista UNAL*, 78(165), 1-9. Recuperado el 22 de 09 de 2017, de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/25636/39133>

Crespi, M. (1996). Depuración de aguas residuales en la industria de los tensoactivos. Recuperado el 20 de 03 de 2018, de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/6419/Article05.pdf?sequence=1&isAllowe>

De la Paz, N., Fernandez, M., Orestes, D., Nogueira, A., García, C., Pérez, D., . . . Díaz, D. (2012). Optimización del proceso de obtención de quitosano derivado de la quitina de la langosta. 13(3). Recuperado el 09 de 03 de 2018, de <http://www.ehu.eus/reviberpol/pdf/JUL12/paz.pdf>

- De Vargas, L. (2004). *Tratamiento de agua para consumo humano. Plantas de filtración rápida*. Recuperado el 30 de 09 de 2017, de <http://bibliotecavirtual.minam.gob.pe/biam/bitstream/id/5657/BIV00012.pdf>
- Díaz Claros, J. (2014). Coagulantes- Floculantes orgánicos e inorgánicos elaborados de plantas y del reciclaje de la chatarra para el tratamiento de aguas contaminadas. Recuperado el 22 de 09 de 2017, <http://www.cervantesvirtual.com/nd/ark:/59851/bmch1516>
- Dominguez Amorocho, M. F. (2010). *Optimización de la coagulación- floculación en la planta de tratamiento de agua potable de la sede recreacional campo alegre-Cajasan*. Universidad Pontificia Bolivariana, Bucaramanga, Colombia.
- Duffield, J. A. (23-27 de Enero de 2011). *Global supply and demand of biofuels*. Washington.
- Escobar, D., Ossa, C., Quintana, M., & Ospina, W. (2013). *Optimización de un protocolo de extracción de quitina y quitosano desde caparazones de crustáceos*. Scientia et Technica Año XVIII, 18(1), 260-266. Recuperado de <http://revistas.utp.edu.co/index.php/revistaciencia/article/view/7555>
- FAPRI. (2011). *Food and Agricultural Policy Research Institute*. Recuperado el 12 de Junio de 2013, de World Agricultural Outlook Database: <http://www.fapri.iastate.edu/tools/outlook.aspx>
- Fedebiocombustibles. (2013). Federación Colombiana de Biocombustibles. *Cifras normativas del sector de biocombustibles: Biodiésel de palma de aceite*.
- Fuentes, L., Contreras, W., Perozo, R., Mendoza, I., & Villegas, Z. (2008). Uso del quitosano obtenido de *Litopenaeus schmitti* en el tratamiento de agua para consumo humano. 8, 281-287.
- Fúquene, D. M., & Yate, A. V. (2018). *Instructivo de Pruebas de Jarras*.
- Gacén, J. (1996). Quitina y quitosano nuevos materiales textiles. *Boletín Intexter (U.P.C)*, 67-71. Recuperado el 09 de 03 de 2018, de <https://upcommons.upc.edu/handle/2099/6421>
- Giraldo, J. D. (2015). Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano. 10.13140/RG.2.1.3350.9287

- Gomez Puentes, N. A. (2005). *Remoción de materia orgánica por coagulación- floculación*. Recuperado el 10 de 10 de 2017, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/1214/1/nestoralejandrogomezpuentes.2005.pdf>
- Hernandez, H., Aguila , E., Flores, O., Ramos , E., & Viveros , E. (2009). Obtención y caracterización de Quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superficies y Vacío*, 57-60. Recuperado el 31 de 08 de 2017
- Lalaleo, L. (2010). *Desarrollo de un método para la obtención de quitosano a partir de caparzones de camarón utilizando un agente reductor químico*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1093>
- Lárez , C. (2003). Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 4(2), 91-109.
- Larez Velasquez, C. (2006). Quitina y quitosano: material del pasado para el presente y el futuro. *Avances en Química*, 1(2), 15-21. Recuperado el 15 de 10 de 2017, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93310204>
- Lenntech. (s.f). *Aluminio*. Recuperado el 23 de 09 de 2017, de <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/al.htm>
- Mármol, Z., Páez, G., Rincón, M., Araujo , K., Aiello, C., Chantler, C., & Gutierrez, E. (2011). Quitina y quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URU*, 1, 53-58.
- Másmela Rozo, A. P., Aguilar Cristancho, N., & Fúquene Yate, D. M. (2017). *Evaluación de almidón de Manihot Esculenta (yuca) y Musa AAB Simmonds (plátano) en procesos de coagulación y floculación para el tratamiento de aguas residuales en la PTARD del parque agroindustrial de occidente - PAO*. Bogotá: Repositorio institucional UNAD.
- Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. (2015). *Resolución 631 de 2015*. Recuperado el 11 de 03 de 2018, de http://www.cortolima.gov.co/sites/default/files/images/stories/Resolucion_Vertimientos_631_2015.pdf

- Parra, L. (2006). *Operación de un filtro anaerobio de flujo ascendente (FAFA) hasta alcanzar el estado estable*. Recuperado el 10 de 03 de 2018, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/1178/1/linamarcelaparrarodriguez.2006.pdf>
- Pistonesi, C., Haure, J., & D'Elmar, R. (11 de 10 de 2010). *Energía a partir de las aguas residuales*. Recuperado el 30 de 09 de 2017, de http://www.edutecne.utn.edu.ar/energia_aguas_residuales/energia_aguas_residuales.pdf
- Ramalho, R. (1996). *Tratamiento de aguas residuales*, 91-197. Reverté S.A, Barcelona, España
- Ramirez, H., & Jaramillo, J. (2015). Agentes naturales como alternativa para el tratamiento de agua. 136-153. Recuperado el 31 de 08 de 2017, de <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/viewFile/1303/1359>
- Restrepo, A. C., & Guarín, S. (2004). *Valorización de los residuos generados en la industria del procesamiento del camarón*. Envigado . Recuperado el 16 de 10 de 2017, de <http://www.borsi.org/html/archivos/Bolsas/2/Publicacion/Publicacion%20ID147.pdf>
- Restrepo, H. (2009). *Evaluación de proceso de Coagulación- Floculación de una planta de tratamiento de agua potable*. (U. N. Colombia, Ed.) Recuperado el 30 de 09 de 2017, de http://www.bdigital.unal.edu.co/877/1/15372239_2009.pdf
- Rice, E., Baird , R., & Eaton, A. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (23 ed.).
- Rodríguez , Y., Oñate , H., Gutiérrez , E., & Caldera , Y. (2012). Eficiencia del quitosano como coagulante en el tratamiento de aguas asociadas a la producción de petróleo mediano. *Revista Tecnocientífica URU*, 7(2), 45-52.
- Rodríguez, A., Ramirez , M., Rivero , D., Bosquez , E., Barrera , L., & Bautista , S. (2009). Propiedades químico estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos. *Revista Chapingo Serie Horticuultura*, 15(3): 307-3017.

- Romero Peñaloza, E. L. (1988). *Obtención de Hidrogeles de Quitosano a partir del micelio de Aspergillus niger y su estudio en la liberación controlada de cefalexina*. Universidad del Valle, Cali , Colombia.
- Romero Rojas, J. A. (2004). *Tratamiento de aguas residuales. Teoría y principios de diseño*. Bogotá: Escuela colombiana de ingeniería. Bogotá, Colombia.
- Sánchez , A., Sibaja, M., Vega , J., & Madrigal , S. (2007). Síntesis y caracterización de hidrogeles de quitosano obtenido a partir de camaron langostino con potenciales aplicaciones biomédicas. *Revista Iberoamericana de polimeros* , 8(4), 241 - 267.
- Servyeco. (s.f). *Coagulantes: definición y tipos*. Recuperado el 07 de 10 de 2017, de <http://www.servyeco.com/coagulantes-definiciones-y-tipos-servyeco.html>
- Soluciones medioambientales SL. (s.f). *Depuración de aguas residuales industriales. Cosmética*. Recuperado el 09 de 03 de 2018, de <http://depuradorasaguasresiduales.es/depuracion-de-aguas-residuales-industriales-en-la-industria-cosmetica/>
- Tafur, L., & Quevedo, R. (2014). *Alternativa para el tratamiento de aguas residuales cromadas con quitosano extraído del exoesqueleto del camaron*. Ibagué: Universidad del Tolima. Recuperado el 06 de 03 de 2017, de <http://repository.ut.edu.co/handle/001/1250>.
- UNICEF. (s.f). *Agua, saneamiento e higiene*. Recuperado el 31 de 08 de 2017, de https://www.unicef.org/spanish/wash/index_3951.html
- Vasquez Lara, J. L. (2011). *Caracterización y alternativa de uso de una película biodegradable de quitosano a partir de la extracción de quitina de langostino para la industria de alimentos*. Universidad de El Salvador, San Salvador.