



**Preparación y caracterización de una matriz termoplástica de poli-  
ε-caprolactona con quitosano para la remoción de cobre en el  
tratamiento de aguas residuales**

TESIS

Para obtener el grado de  
Maestro en Biotecnología

Presenta

I.B.I Oscar Velasco Garduño

Directora de Tesis

Dra. Concepción Keiko Shirai Matsumoto

Julio 2015

*“Nunca abandones tus sueños que son la llave hacia tu felicidad, lucha para que se cumplan y se vuelvan realidad”*

“La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNCP) del CONACYT, con la referencia 001465”.

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Biopolímeros y Planta Piloto 10 del Departamento de Biotecnología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, bajo la dirección de la Dra. Concepción Keiko Shirai Matsumoto. El trabajo experimental se llevó a cabo con financiamiento de la Secretaría de Ciencia, Innovación y Tecnología del Distrito Federal (PICSO12-152).

El H. Jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa aprobó la tesis:

**Preparación y caracterización de una matriz termoplástica de poli- $\epsilon$ -caprolactona con quitosano para la remoción de cobre en el tratamiento de aguas residuales**

Que presentó:

**I.B.I. Oscar Velasco Garduño**

**Comité tutorial:**

**Directora de tesis:**

**Dra. Concepción Keiko Shirai Matsumoto.**

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología.  
Laboratorio de Biopolímeros.

**Asesores:**

**Dr. Miquel Gimeno Seco.**

Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

**Dr. Ricardo Beristáin Cardoso**

Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Departamento de Recursos de la Tierra.

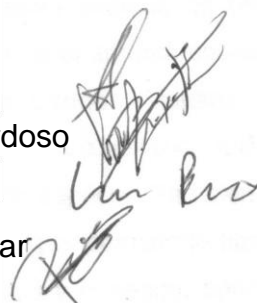
**H. Jurado:**

**Presidente:** Dr. Miquel Gimeno Seco

**Secretario:** Dr. Ricardo Beristain Cardoso

**Vocales:** Dr. Lauro Bucio Galindo

Dra. Rosario Moreno Tovar



## **Agradecimientos y Dedicatoria**

Agradezco y dedico este logro a mis padres Monica Garduño y Oscar Velasco que me han apoyado durante toda mi vida en los buenos y malos momentos, aconsejándome y guiándome para que sea una persona de buenos principios que no se detenga, ni se limite en cumplir sus sueños si no fuera por las reglas, desvelos y regaños hoy no podría ser el profesionalista que soy, también a mis hermanos Uriel y Karina que estuvieron de forma incondicional apoyándome, disfrutando la vida como hermanos que no importaba si conocían o no el tema, a ellos no les importaba cual fuera mi decisión porque siempre están para cuando se les necesite. De igual manera en estos últimos años le agradezco a Emmanuel Ivan Diaz de Leon Clara por ser un gran amigo, hermano, compañero y confidente que me ayudó a encontrar la satisfacción personal.

No obstante, agradezco también todo el apoyo brindado a mis buenos amigos y amigas Gustavo, Lizbeth, Tania, Evelyn, Xochitl, Ana Laura, Laura Ivette y Jancel Ivan que no importan los años, distancia ni todos los problemas al igual que los maravillosos momentos que he pasado con ustedes que sin su contribución no sería la persona y amigo que soy ahora partiendo desde la preparatoria, licenciatura y ahora la maestría.

Y no solo agradezco a mi familia y amigos, sino también a la Dra. Keiko Shirai por permitirme desarrollarme y crecer como investigador en el laboratorio otorgándome todos los recursos y apoyo además de brindar un espacio que considero como mi segunda casa, en el cual aprendí cosas buenas y malas junto con los nuevos amigos y compañeros Carmen, Mariana, Jesús, Raquel, Zaizy, Alex, Angélica, Andrés, Marco e Ivanna que a pesar de todo lo que ha pasado no me arrepiento de haber escogido este espacio. También les agradezco a mis asesores, primero al Dr. Miquel Gimeno por permitirme hacer parte de mi trabajo en su laboratorio, no importando la hora y el riesgo, brindando siempre nuevas ideas y puntos clave para mi proyecto y al Dr. Ricardo Beristain Cardoso que no

solo me apoyo como asesor en este proyecto sino también como un amigo que desde la licenciatura me encaminó y ayudó para definir mi pasión hacia la investigación, corrigiéndome en mis errores y tolerando mis elocuencias.

También le agradezco su apoyo y ayuda al Ing. Ricardo Rosas Cardoso por su apoyo en las determinaciones de adsorción atómica, no solo en la medición de las muestras, sino también para los ajustes y correcciones en la preparación de las muestras, para poder de este modo tener un mejor trabajo.

Y por último le agradezco al instituto de Física, al Dr. Lauro Bucio Galindo, Rosario y su equipo de trabajo por el apoyo en permitirme trabajar en su laboratorio, utilizar sus equipos para las determinaciones de pruebas mecánicas de los materiales.

## Índice

Resumen	I
Abstract	II
1. Introducción	1
1.1. Panorama Actual	1
1.2. Contaminación y tratamiento de sistemas acuáticos	2
1.3. Toxicidad por cobre	3
1.4. Biopolímeros en el tratamiento de aguas	5
2. Antecedentes	9
3. Hipótesis	12
4. Justificación	12
5. Objetivos	13
5.1. Objetivo General	13
5.2. Objetivos Particulares	13
6. Metodología	14
6.1. Obtención de quitosano	14
6.2. Síntesis enzimática de la PCL	14
6.3. Preparación de las relaciones de Ch- PCL	15
6.3.1. Extrusión de las matrices poliméricas	15
6.3.2. Neutralización de las relaciones de Ch- PCL	16
6.4. Caracterización de Ch, PCL y materiales	16
6.4.1. Determinación del peso molecular	16
6.4.1.1. Determinación del peso molecular por viscosidad	16

intrínseca (Mv)	
6.4.1.2. Determinación del peso molecular por cromatografía en permeación en gel (GPC)	16
6.4.2. Espectroscopía de adsorción en el infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)	17
6.4.3. Método de la línea base por espectroscopía FTIR para determinación de DA de quitina y quitosano	17
6.4.4. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de Protón ( <sup>1</sup> H-RMN)	18
6.4.5. Difracción de rayos X	19
6.4.6. Análisis termogravimétrico (ATG)	20
6.4.7. Propiedades mecánicas de los materiales	20
6.5. Morfología microscópica y análisis elemental	21
6.5.1. Microscopia electrónica de barrido (MEB)	21
6.5.2. Microanálisis por dispersión de energía de rayos X	21
6.6. Preparación de las aguas modelos de cobre (Cu <sup>2+</sup> )	21
6.7. Sistema de adsorción para la remoción de cobre en aguas modelo	22
6.8. Cinéticas de adsorción para los materiales neutralizados	22
6.9. Cinética de adsorción para los materiales sin neutralizar	24
6.10. Evaluación de la acidez de los materiales en el proceso de adsorción	24
7. Resultados y Discusión	25
7.1. Obtención de las quitinas desacetiladas y PCL	25
7.2. Procesamiento de las relaciones de Ch y PCL	30
7.2.1. Caracterización de una matriz de prueba de quitina y PCL	30
7.2.2. Caracterización de las relaciones de quitosano y PCL	34
7.2.3. Efecto del pH en las relaciones 1:1 y 1:5	40
7.2.4. Isoterma de adsorción y capacidad de adsorción en las relaciones	47
7.2.5. Evaluación de los modelos de Elovich y pseudo 2° orden	50



7.2.6. Evaluación de la Capacidad de Adsorción de cobre (Cu <sup>2+</sup> ) para cada relación a un TRH (Tiempo de Residencia Hidráulica) de 2 h y pérdida de peso.	53
8. Conclusiones	62
9. Bibliografía	63
10. Anexos	69

## Índice de Tablas

Tabla 1.	Aplicación del quitosano para remoción de metales pesado en aguas residuales	9
Tabla 2.	Comparación de los materiales de quitosano contra materiales comerciales	11
Tabla 3.	%DA determinado mediante la técnica de la línea base en espectros de FTIR a muestras de quitinas desacetiladas	26
Tabla 4.	%DA determinado mediante <sup>1</sup> H-RMN	27
Tabla 5.	Valores máximos de resistencia de los materiales	37
Tabla 6.	Parámetros cinéticos de adsorción obtenidos por el modelo de Pseudo 2° orden	52
Tabla 7.	Modelo pseudo 2° orden con los valores específicos para cada material	53
Tabla 8.	Capacidad de adsorción a las 2 h de tiempo de contacto	54
Tabla 9.	Tabla comparativa de remoción de cobre utilizando quitosano	60

## Resumen

En el presente trabajo se evaluó de la capacidad de adsorción de una mezcla de quitosano (Ch) y poli-*épsilon*-caprolactona (PCL) como matriz para la remoción de cobre en aguas residuales utilizando aguas modelo, para ello se caracterizaron 3 tipos de quitinas desacetiladas a tres tiempos (1, 2 y 3.5 h), mediante espectroscopia de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear de protón ( $^1\text{H}$ -RMN) para poder determinar el porcentaje de desacetilación (%DA), de lo cual el resultado de estos dos análisis fue que la quitina desacetilada a 3.5 h obtuvo un valor de %DA del 6.8% caracterizándolo como quitosano con  $M_v$  de 121.8 kDa e  $I_{CR}$  de 52.61%, la PCL sintetizada vía enzimática tuvo un  $M_n$  de 29.51 kDa con un índice de polidispersidad de 1.80 y un  $I_{CR}$  59.3%.

Se realizaron tres mezclas de Ch y PCL (2:1, 1:1 y 1:5) de las cuales se les determinó la capacidad de adsorción, la pérdida de peso y las isothermas de adsorción en un sistema continuo con un tiempo de residencia hidráulico (TRH) de 2 h. Se determinó que la mejor relación para este estudio fue el material 2:1, con una capacidad del 62.5 mg  $\text{Cu}^{2+}$ /g adsorbido (ads) con respecto a los materiales 1:1 y 1:5, con valores de 35.63 y 5.93 mg  $\text{Cu}^{2+}$ /g ads, respectivamente, se determinó que el TRH se puede reducir a 1 h., y que la capacidad de adsorción de los materiales aún se encuentra por debajo de su saturación, lo que permitiría varios ciclos de reutilización.

## Abstract

The adsorption capacity of a chitosan and poly-*epsilon*-caprolactone (PCL) blend was evaluated for removal of copper from synthetic water. Chitins from thermochemical deacetylation were characterized by infrared spectroscopy (IR), nuclear magnetic resonance spectra ( $^1\text{H-NMR}$ ) and X-ray analysis. Chitosan obtained from chitin treated with 3.5 h of deacetylation presented 6.8% of degree of acetylation (DA)  $M_v$  of 121.8 kDa and  $I_{\text{CR}}$  52.61%. The other component of the blend was enzymatically synthesized polycaprolactone, which presented a  $M_n$  of 29.51 kDa polydispersity index of 1.80 and  $I_{\text{CR}}$  59.3%.

Three blends of chitosan and PCL (2:1, 1:1 and 1:5) were prepared, and adsorption capacities, weight losses and adsorption isotherms were determined in a continuous system with a hydraulic retention time (HRT) of 2 h. The highest adsorption capacity of copper was determined with blend 2:1 of chitosan: PCL of 62.5 mg  $\text{Cu}^{2+}$ / g adsorbent (ads), followed by blend 1:1 and 1:5 with 35.63 and 5.93 mg  $\text{Cu}^{2+}$ / g ads, respectively.. It is noteworthy that with the studied blend there are advantages such as the biodegradability of the materials, the HRT can be reduced up to 1 h, the system is continuous and blends can be easily reutilized.

## **1. Introducción**

### **1.1. Panorama actual**

La palabra “polímero” significa “de muchas partes”, que proviene del griego poly-muchos y meros- partes. Los polímeros son moléculas de gran tamaño no metálicos que se fabrican enlazando químicamente moléculas pequeñas repetidas llamadas monómeros, ya sea de forma lineal o ramificada, de la cual son de gran tamaño cuyos pesos moleculares van de miles hasta millones de daltones.

Los primeros polímeros que todo el mundo conoce como el PVC, nylon y PET son materiales que poseen propiedades de durabilidad y resistencia para contrarrestar varias formas de degradación, como la fotodegradación (degradación por medio de la luz), el ataque por hongos y los agentes microbianos. Pero a partir de la década de los 80's y principios de los 90's, en muchas partes del mundo donde la acumulación de estos plásticos iba en aumento debido a la producción y la creciente demanda generada por la sociedad (ASTM D 6400-99), cuyo efecto negativo ha permitido que se busquen y desarrollen materiales biodegradables no solo para el consumo humano sino además para diversas aplicaciones, polímeros que se pueden encontrar de forma natural o como producto biológico, por ejemplo, los polisacáridos, poliésteres, proteínas, entre otros (ASTM D 6400-99).

Por lo que en las últimas décadas del siglo XX ha surgido un paradigma sobre la elaboración, manejo y aplicación de materiales biodegradables (hidrológicamente y enzimáticamente degradables) como una alternativa para estos materiales no degradables, que posean un emergente interés comercial y un gran auge en las aplicaciones biotecnológicas (Nair, Cato, 2007). Los esfuerzos de síntesis y búsqueda de nuevos polímeros biodegradables con ciertas características han permitido en la actualidad una versatilidad de estos biomateriales que por sus propiedades tengan una aplicación específica donde se busca economizar la producción dando origen a un mercado de oportunidades,

competitividad de costos y la capacidad de la sociedad para pagarlos (Kolibaba *et al.*, 2003).

Un plástico biodegradable se define como aquel material que es degradado de forma natural por acción de microorganismos, bacterias u hongos. En general se busca tener plásticos compostables, que por acción natural sus productos de degradación sean CO<sub>2</sub>, agua, compuestos inorgánicos y biomasa (ASTM D 6400-99).

Los polímeros biodegradables por sus propiedades físico-químicas se utilizan en el diseño de biomateriales aplicados en biomedicina (regeneración de tejidos, liberación controlada de fármacos e incluso en la sustitución de un hueso o cartílago). También se estudian para su aplicación en remediación ambiental, principalmente en la remoción y control de los contaminantes presentes en el aire, suelo y agua.

## **1.2. Contaminación y tratamiento de los sistemas acuáticos**

La contaminación de cuerpos de agua por metales pesados se atribuye principalmente a la descarga de aguas residuales sin tratamiento adecuado a ríos o arroyos procedentes de la industria y de la actividad minera. La contaminación del agua afecta directa e indirectamente la salud de las poblaciones, no sólo de seres humano, sino también de los ecosistemas. La exposición a niveles elevados de metales pesados, pueden alterar funciones metabólicas y causar enfermedades o incluso la muerte en humanos y los ecosistemas.

En la actualidad el uso del agua, tanto para el consumo humano, como por la industria y la agricultura ha ido en aumento, provocando que la demanda sea alta, por lo que la cantidad de agua potable disponible está en constante disminución. En consecuencia, en ocasiones se recurre al uso del agua de los ríos, generalmente contaminada para cubrir parte de la demanda. Dado el origen

de esta agua, es necesaria supervisar su calidad para evitar la contaminación del suelo y en caso de ser usada para riego la salud de la población.

La contaminación del agua ha propiciado el desarrollo de nuevos métodos y técnicas de purificación fundamentadas en procesos químicos. Estos métodos se aplican en la remoción de metales pesados y otros contaminantes que van desde la aplicación de floculantes químicos, uso de materiales absorbentes, catalizadores, resinas de intercambio iónico, carbones activados, entre otros. Estos tratamientos permiten la potabilización del agua (Lalov *et al.*, 2000; Fu y Wang, 2011), pero tienen la desventaja que los materiales empleados son desechados o confinados, por lo que, el problema es trasladado a otros sitios y solo dan una solución parcial.

Por otro lado, los metales pesados presentes en aguas contaminadas se encuentran disueltos en forma iónica divalente, el peso molecular de estos metales se encuentra entre los 63.5 y los 200.6 g/mol, a pesar de que algunos de ellos son indispensables para la vida (en cantidades traza), puede ocasionar daños irreversibles al exceder los límites máximos permisibles y provocar la muerte si la exposición es prolongada. Los metales que comúnmente se encuentran en aguas residuales son el plomo (Pb), cobalto (Co), cadmio (Cd), cobre (Cu), zinc (Zn) y níquel (Ni), estos metales afectan al sistema nervioso central, son bioacumulables principalmente en riñón e hígado (Fu y Wang, 2011).

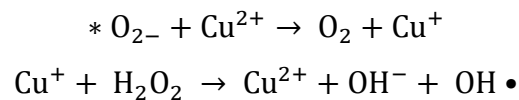
### **1.3. Toxicidad por cobre**

El cobre, al ser un cofactor enzimático de muchas enzimas en los procesos biológicos, posee doble efecto, ya que es perjudicial en concentraciones bajas o altas. El cobre puede existir en dos formas, ion cúprico ( $\text{Cu}^{2+}$ ) o ion cuproso ( $\text{Cu}^+$ ), pero la adsorción en el cuerpo depende de diversos factores, tales como la forma química y los componentes de la dieta, el consumo de este metal es de 0.6-0.9

mg/día, de la cual 50-100 µg/día se pierde con el sudor, entre 10-50 µg/día en la orina y alrededor de 2 mg/día en las heces.

Los efectos prioritarios por toxicidad de cobre se ven reflejados en el hígado, por ser el primer sitio de depósito antes de entrar a la sangre, se manifiesta típicamente como cirrosis con hemólisis y daño renal. El cobre provoca también problemas gastrointestinales y posteriormente daño al cerebro. Las consecuencias van en aumento con la exposición prolongada ya sea por consumo de alimentos o agua (Uriu-Adams y Keen, 2005).

Diversas teorías han propuesto que la toxicidad que induce el cobre en la célula, es básicamente la formación de especies reactivas de oxígeno (por sus siglas en inglés ROS). Tanto el cúprico como el cuproso son responsables de la participación en las reacciones de oxidación y reducción, al igual que la formación de radicales hidroxilos.



Este radical hidroxilo al ser muy reactivo, es capaz de arrasar los sistemas biológicos de múltiples maneras. (Gaetke y Chow, 2003).

Al igual que el hierro, el cobre también es capaz de entrar a las cadenas de ADN provocando el rompimiento y la oxidación de las bases, siendo un elemento utilizado para muchas funciones del ser humano, su participación también está implicado en la patogénesis de los desórdenes neurodegenerativos, siendo el Alzheimer una de las enfermedades en donde el cobre cumple un papel importante al igual que el hierro y el zinc.

No obstante el ser humano no es capaz de desechar los excesos de cobre o de cualquier otro metal cuando se lleva a cabo una ingesta excesiva ya que las



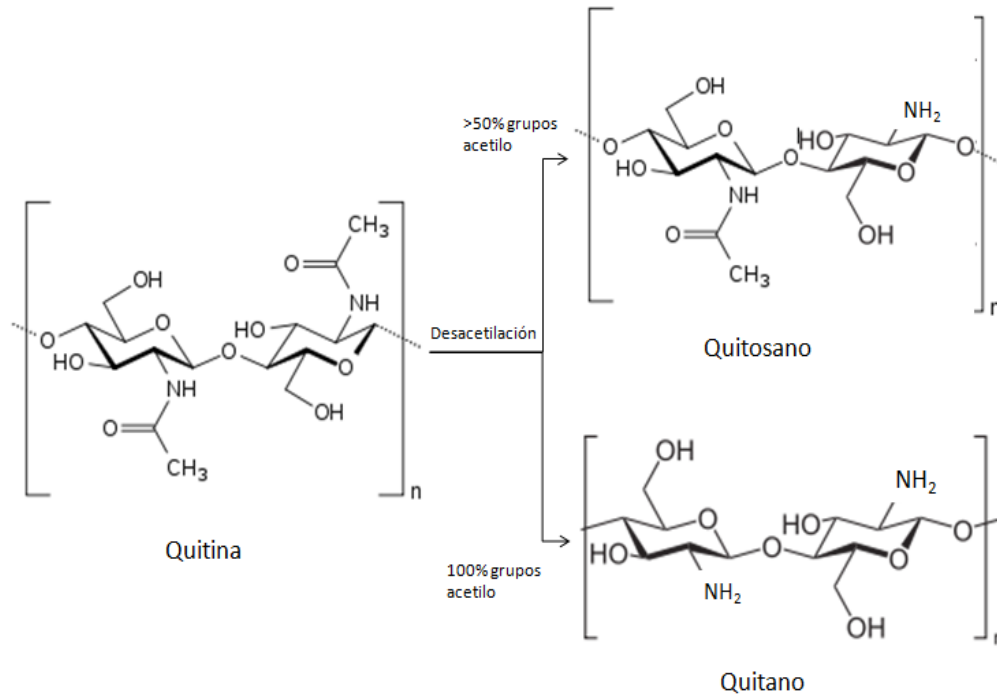
velocidades de almacenamiento superan la capacidad de desechar dichos compuestos, la forma más común de acumulación de cobre es por ingesta de vegetales regados con agua tratada que al consumirlos la población ingiere el metal ocasionando los problemas de salud antes mencionados (Sharman *et al.*, 2008).

Por tal razón, en México existen normas para el tratamiento y uso para aguas residuales, el límite máximo permisible para el cobre en la norma oficial mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 es de 6 mg/L promedio mensual en aguas tratadas para uso y descarga.

#### **1.4. Biopolímeros en el tratamiento de aguas**

Recientemente los biopolímeros son estudiados en la remoción de metales pesados presentes en aguas residuales. El Ch por ejemplo, es empleado como floculante, que comparado con compuestos químicos tradicionales tiene muchas ventajas, ya que puede ser utilizado en cantidades muy bajas, es de rápida disposición y presenta alta eficiencia en la disminución de materia orgánica, sólidos solubles (SS) y de iones metálicos (Zeng *et al.*, 2007). El quitosano (Ch), puede utilizarse en diferentes formas físicas, que incluyen fibras, películas, geles, membranas, nanopartículas y microesferas (Laus *et al.*, 2007).

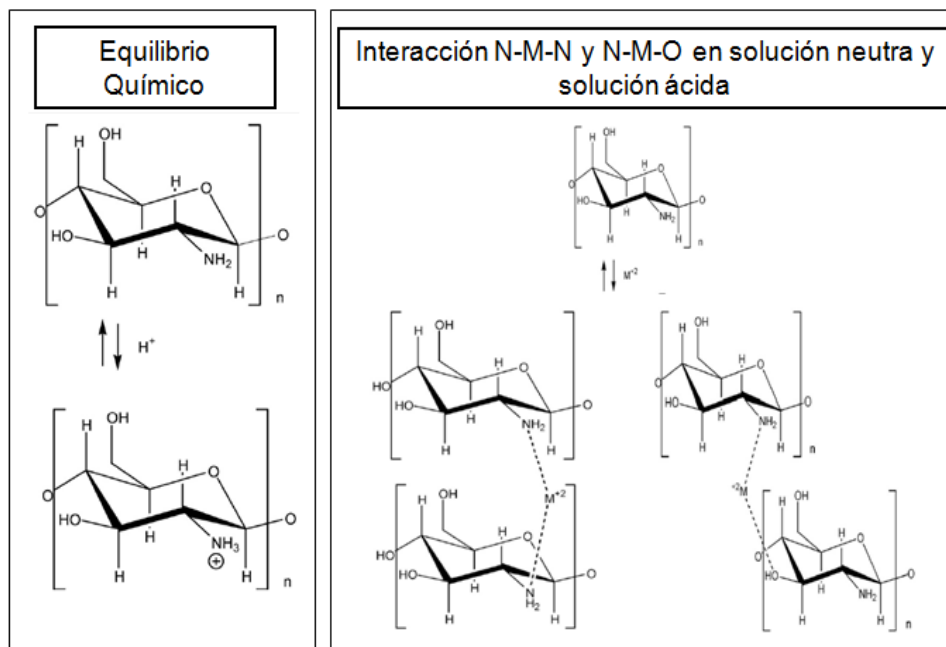
El Ch es un polisacárido hidrofílico soluble en agua a pH ácidos, generalmente se obtiene mediante la *N*-desacetilación de la quitina (Figura 1), que es uno de los biopolímeros más abundantes en la biosfera, comúnmente se encuentra en los exoesqueletos de artrópodos e insectos, crustáceos moluscos, hongos y algas. Al ser un polímero natural, presenta ciertas ventajas químicas, su estructura puede ser modificada confiriéndole diversas propiedades (Wang *et al.*, 2009).



**Figura 1.** Esquema de la desacetilación de la quitina para la obtención de Ch (con un porcentaje de desacetilación mayor al 50%) y quitano (desacetilación total de la quitina)

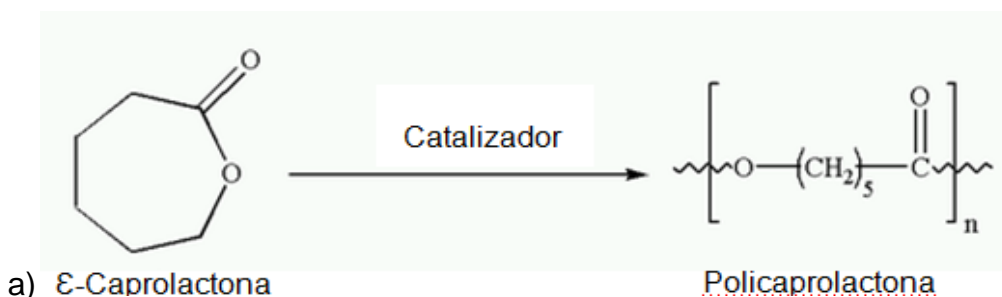
El Ch presenta actividad antimicrobiana, habilidad de adsorción, no es tóxico y es biocompatible, debido a estas propiedades se utiliza en diversas áreas de la medicina, cosmetología, agricultura, biotecnología, remediación ambiental entre otras. (Loelovich, 2014).

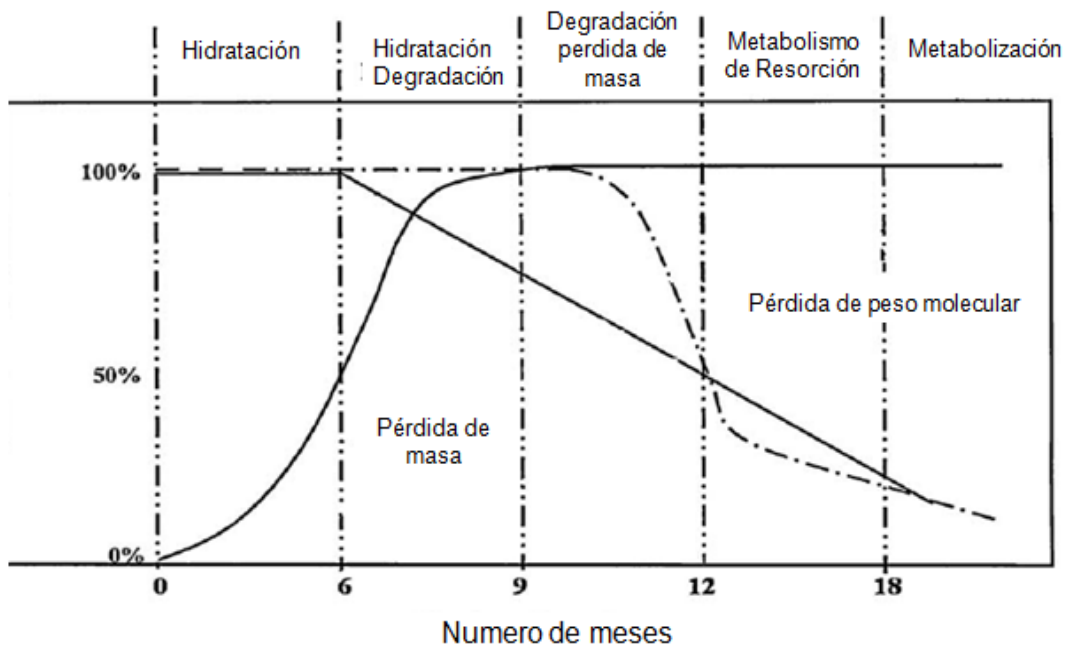
Como ya se mencionó anteriormente el Ch presenta capacidad de adsorción debido a sus propiedades estructurales. El grupo amino del C-2 posee carga parcial negativa otorgada por el par de electrones no compartidos del nitrógeno, que al estar en contacto con algún ion o molécula con carga positiva estos interactúan formando un enlace iónico en un sistema con pH ácido, pero se sabe que el grupo hidroxilo del C-3 de la unidad monomérica del Ch, por las propiedades electroquímicas del oxígeno le permite hacer interacciones iónicas en condiciones de pH neutros. (Figura 2) (Rangel-Méndez *et al.*, 2009).



**Figura 2.** Interacción química del Ch en el equilibrio e interacción iónica del Ch con los iones metálicos en solución en sistema ácido (interacción exclusivo del grupo amino) y neutro (interacción combinada del grupo hidroxilo del carbono 3 y el grupo amino) (Imagen tomada de Rangel-Méndez et al. 2009).

Por otro lado, un polímero biodegradable de excepcional biocompatibilidad utilizado en la biomedicina, y con un amplio uso comercial es la poli-  $\epsilon$ -caprolactona (PCL). La PCL fue sintetizada por primera vez en 1930 por el grupo de Carothers, es un polímero termoplástico, su punto de fusión está entre 59-64°C. El homopolímero de PCL tiene un tiempo de degradación de 2 a 4 años, dependiendo del peso molecular, su hidrólisis en el organismo es a través del ácido 6-hidroxilcaproico que es transformado en acetil-CoA e incorporado al ciclo de Krebs para su total oxidación a CO<sub>2</sub>, (Figura 3) (Werner, 2010).





b)

**Figura 3.** a) Esquema general de reacción de polimerización de la  $\epsilon$ -caprolactona para la síntesis de la PCL; b) grafico del tiempo de degradación de la PCL en peso dentro de células eucariontes con peso molecular menor a 30 000 Da. (Imagen a) tomada de García-Arrazola *et al.* 2007; imagen b) tomada de Woodruff and Hutmacher *et al.* 2010)

La PCL es un polímero hidrofóbico semicristalino lineal en donde la cristalinidad tiende a descender con el aumento del peso molecular, confiriéndole resistencia que depende del grado de cristalinidad y de ataques hidrofílicos al grupo éster. Además puede ser combinada con otros polímeros en la búsqueda de nuevas propiedades físico-químicas, y en su manipulación para su aplicación tales como ser un vehículo de liberación controlada de medicamentos, diseño de andamios celulares, simulación de hueso y cartílago. Cabe mencionar que puede ser biodegradado por microorganismos mediante degradación hidrolítica, pero puede ser modificado con la copolimerización con lactonas o glicólidos/láctidos (Woodruff *et al.*, 2010).

## 2. Antecedentes

En la Tabla 1 se muestra el estado del arte de estudios realizados con Ch descritos en la literatura con diferentes polímeros y evaluados para la remoción de metales pesados en aguas residuales y efecto del pH.

**Tabla 1.** Aplicación del Ch para remoción de metales pesado en aguas residuales

<b>Año</b>	<b>Autores</b>	<b>Aplicación</b>
2007	Laus <i>et al.</i>	Preparación y aplicación de microesferas de Ch para el incremento de pH y remoción de iones metálicos a partir de los efluentes de minas de carbón, evaluando el pH del drenaje ácido y la decantación de la piscina de la mina con valores iniciales de 2.58 y 2.34 respectivamente, con un incremento de pH arriba de 6.2 para ambos casos después del tratamiento.
2008	Zeng <i>et al.</i>	Elaboración de un material tripolimérica de Ch-cloruro de polialuminio-silicato de sodio como floculante para tratamiento de aguas residuales, para la remoción de sólidos solubles como aluminio y materia orgánica con mejores resultados que la poli (cloruro de aluminio), en la floculación de estos parámetros evaluados además de ser económico a comparación de este polímero.
2009	Rangel-Méndez <i>et al.</i>	Selectividad del Ch en un sistema batch para la remoción de cadmio (II), cobre (II) y plomo (II), obteniendo como resultado que el Ch tiene una afinidad mayor por cobre seguido por cadmio y al final por plomo
2009	Jian-Ping <i>et al.</i>	Síntesis de un floculante catiónico con base en Ch y cloruro de 2- metacrililoiloxetil trimetil amonio (DMC) para la

		disminución de materia orgánica en aguas acidificadas, obteniendo una eficiencia mayor de floculación en comparación con la poliacrilamida, evidenciando un incremento de pH hasta 7.1
2010	Sarmila <i>et al.</i>	Elaboración y caracterización de una matriz termoplástica de Ch y PCL para la liberación controlada de ofloxin, mediante entrecruzamiento químico de los materiales.
2011	Yuwei y Jianlong	Preparación de nanopartículas de Ch magnético, utilizando un centro de hierro para la remoción de cobre obteniendo una capacidad de adsorción de 35.5 mg/g obtenido por el modelo de Langmuir
2012	Monier <i>et al.</i>	Desarrollo de un Ch magnético para la remoción de cobre, cadmio y níquel a un pH óptimo de 5, a una velocidad inicial de adsorción de 2.7, 2.4 y 1.4 mg/ (g min) y una capacidad de adsorción máxima obtenida por el modelo de Langmuir de 124, 84 y 67 mg/g respectivamente.
2012	Kavianinia <i>et al.</i>	Desarrollo de un hidrogel de Ch modificado para la remoción de cobre obteniendo un incremento en la estabilidad térmica demostrando que la capacidad de adsorción depende del flujo y la concentración inicial.
2013	Prakash <i>et al.</i>	Influencia de la arcilla en la remoción de cobre y cadmio en Ch obteniendo un incremento en la velocidad de adsorción comparándolo con el Ch con nylon a pH 3 de 8 con un tiempo de 4 h.

A continuación en la Tabla 2 se presentan las ventajas que poseen algunos de estos materiales a base de Ch para la remoción de metales y materia orgánica y productos comerciales sintetizados o fabricados químicamente.

**Tabla 2.** Comparación de los materiales de Ch contra materiales comerciales

Referencia	Material	Ventaja
Zeng <i>et al.</i> 2008	Ch-cloruro de polialuminio-silicato de sodio	Disminución en los costos de producción que va desde el 7% al 34% a comparación con el del cloruro de polialuminio (PAC)
Rangel-Méndez <i>et al.</i> 2009	Ch	El Ch en sistema batch en presencia de materia orgánica se obtiene una remoción de cadmio tres veces mayor que el GAC F-400 (Carbón Activado Granular F-400) aplicado para la purificación de aguas
Jian-Ping <i>et al.</i> 2009	Ch-DMC	El Ch con DMC posee mayor eficiencia de remoción de materia orgánica, turbidez y lignina en comparación con la poliacrilamida provenientes de aguas residuales de una fábrica de papel

### **3. Hipótesis**

Al menos un material de Ch y PCL permitirá el moldeo en una forma física que facilitará su uso en un sistema continuo que adsorberá cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) en aguas.

### **4. Justificación**

En la actualidad los biomateriales son estudiados por sus aplicaciones en distintos campos de la ciencia y la tecnología, debido a sus características biodegradables y de bajo impacto al ambiente, debido a que muchos procesos industriales, mineros y de síntesis química de productos y materiales al igual que los desechos de la población han provocado residuos indeseables tales como los metales que son liberados hacia los caudales acuíferos, siendo una problemática de gran impacto ambiental. La contaminación por metales pesados tales como el plomo, cadmio, cobre y cromo es una problemática que afecta la salud humana y a los cuerpos de agua receptores afectando y destruyendo la vida que habita en esos lugares. Por lo que, es relevante un estudio de investigación detallado sobre la preparación, procesamiento y uso de biopolímeros que presenten propiedades funcionales para la depuración de aguas contaminadas con metales.



## **5. Objetivos**

### **5.1. Objetivo General**

Preparar y caracterizar una matriz termoplástica de poli- $\epsilon$ -caprolactona con quitosano para la remoción de  $\text{Cu}^{2+}$  en el tratamiento de aguas residuales.

### **5.2. Objetivos Particulares**

1. Preparar y caracterizar físico-químicamente el material de Ch obtenido después de la *N*-desacetilación de la quitina y la PCL obtenido mediante polimerización enzimática.
2. Establecer las condiciones de procesamiento de las relaciones de Ch y PCL.
3. Determinar la capacidad de las matrices de Ch y PCL para la remoción de cobre, empleando un agua modelo.

## 6. Metodología

### 6.1. Obtención de Quitosano

La fermentación ácido láctica se llevó a cabo con residuos de camarón que se mezclaron con sacarosa (10 % p/p) y un iniciador de bacterias (5 % v/p). Esta mezcla (3.5 kg) se inoculó en un reactor de columna, y se incubó durante 144 h a 35° C. El producto de fermentación se trató con soluciones diluidas de HCl y NaOH, con la finalidad de eliminar los minerales restantes y proteínas (Pacheco et al., 2011). El Ch se sintetizó mediante la *N*-desacetilación de la quitina empleando un tratamiento termoquímico a tres diferentes tiempos (1, 2 y 3.5 h) [Juárez, 2011].

### 6.2. Síntesis enzimática de la PCL

En un reactor de acero inoxidable de 400 mL equipado con un agitador magnético y manómetro se le adicionó el biocatalizador que consiste en lipasa B de *Candida antártica* inmovilizada en soporte de lewatit VP OC 1600 (6% peso proteína) con una actividad de 6,000 U por gramo de biocatalizador en una relación de 10% p/v con respecto a la  $\epsilon$ -caprolactona (CL). Los contenidos del reactor se sometieron a secado por 18 h usando una bomba de alto vacío.

Posteriormente, un volumen conocido de CL comercial (Sigma-Aldrich) previamente purificada por destilación a presión reducida sobre hidruro de sodio, se adicionó al reactor, manteniendo abierto el mínimo tiempo posible el reactor y se presurizó a la presión y temperatura de trabajo final a 2,5 MPa y 65 °C, respectivamente, con ayuda de una bomba de jeringa ISCO y un termocontrolador de temperatura adaptado a una chaqueta cerámica externa de calefacción por un periodo de 24 h. La despresurización del reactor se realizó a temperatura ambiente hasta presión atmosférica (García-Arazola *et al.*, 2007). El biocatalizador se separó mediante filtración, después de disolver los reactivos y

productos en cloroformo, y el polímero se precipitó en un volumen 10 veces mayor de una solución de metanol frío (García-Arrazola *et al.*, 2007; Kobayashi, 2010).

### 6.3. Preparación de relaciones de Ch-PCL

#### 6.3.1. Extrusión de las matrices poliméricas

El Ch y la PCL se secaron en un horno a 35°C por un lapso de 24 h, para eliminar la humedad. Posteriormente pesaron y se formularon las matrices en proporción peso/peso a tres relaciones distintas, 1:5, 1:1, 2:1 (Ch: PCL), procurando que la formación de las relaciones sean homogéneas.

El Ch se utilizó con tamaño de partícula de 173  $\mu\text{m}$  para la extrusión y la PCL en polvo con tamaño de partícula de 104  $\mu\text{m}$ , los materiales extruidos se llevaron a un pretratamiento a baño maría adicionando una solución de ácido acético/acetato de sodio al 0.2 M en relación 1:3 p/v (g de Ch por 3 ml de solución), posteriormente fue moldeado en un extrusor (Model LE-075 das) con cabezal de tubo firme a una temperatura de rotor de 75 °C y de cabezal a 85 °C para poder obtener formas cilíndricas de distintas longitudes, que van desde 0.3-0.6 mm, posteriormente fueron empacadas en columnas de volumen nominal de 6 ml (Ramírez-Arreola *et al.*, 2011). Figura 4.



**Figura 4.** Inicio de la extrusión de la relación

### **6.3.2. Neutralización de las relaciones de Ch y PCL**

Los materiales fueron neutralizados mediante lavados con una solución de hidróxido de sodio a pH 10 con agitación constante (sin dañar el material) hasta obtener un pH de la solución cercano a la neutralidad, evitando que el pH del lavado disminuya por debajo de 6.5 para evitar la solubilidad del Ch.

Posteriormente cuando el pH del material fue cercano a la neutralidad se realizaron lavados con agua desionizada hasta que el pH del agua de lavado no se modificó. Los materiales fueron secados durante 36 h a 30 °C en una estufa.

## **6.4. Caracterización de Ch, PCL y materiales**

### **6.4.1. Determinación del peso molecular**

#### **6.4.1.1. Determinación del peso molecular por viscosidad intrínseca (Mv)**

El peso molecular del Ch se determinó mediante viscosidad intrínseca de diferentes concentraciones, utilizando una solución de ácido acético glacial (2%) y acetato de sodio (0.2M), por medio de un viscosímetro de Oswald. El peso molecular viscosimétrico (Mv) se calculó con la ecuación de Mark–Houwink-Sakurada (ecuación 1), en donde los valores que se emplearon para las constantes  $k$  y  $a$  fueron de  $1.38 \times 10^{-5}$  g/L y 0.85, respectivamente (López, 2013).

$$[\eta] = kMv^a \quad (1)$$

#### **6.4.1.2. Determinación del peso molecular por Cromatografía de Permeación en Gel (GPC)**

El peso molecular de la PCL se determinó por cromatografía de permeación en gel/exclusión de tamaño (GPC/SEC). Se utilizó un equipo de cromatografía

líquida de alta resolución (HPLC) (Agilent), equipado con dos columnas en serie PL Gel 10  $\mu\text{m}$  MIXED –B-LS (Varian) en un termostato ( 35 °C ) usando cloroformo HPLC como fase móvil a un flujo de 10 ml/min. La detección se realizó mediante un detector de dispersión de luz evaporativo PLE 1000 PL-ELS 1000 (Polymer Labs). Se emplearon estándares de poliestireno para la calibración (Chen *et al.*, 2000).

#### **6.4.2. Espectroscopía de Absorción en el Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)**

Los espectros de FTIR se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Spectrum 100 con detector de reflectancia total atenuada (ATR-FTIR). Previo al análisis, las muestras se secaron durante 24 h a 30°C, posteriormente se analizaron en forma de escama en diferentes regiones de la muestra (cuatro puntos para cada muestra). Esta técnica se utilizó para determinar la pureza e identificar los grupos funcionales presentes en los materiales.

#### **6.4.3. Método de línea base por espectroscopía FTIR para determinación de DA de quitinas y quitosanos**

Para los tres tratamientos de las quitinas desacetiladas se utilizó el método de la línea base utilizando los espectros de infrarrojo para la determinación del porcentaje de acetilación (%DA) de las muestras, aplicando una relación de áreas entre las bandas de prueba correspondientes a picos característicos de la quitina y las de referencia correspondientes a los picos que no sufren modificación en las intensidades, de acuerdo a los ajustes estimados por Duarte *et al.* (2002), Shigemasa *et al.* (1996), Lu *et al.* (2004), Brugnerotto *et al.* (2001) y Miya *et al.* (1985), los cuales se presentan en las Ec. 2 y 3.

$$\%DA = \left( \frac{A_{1655}}{A_{3455}} \right) \times 115 \quad (2)$$

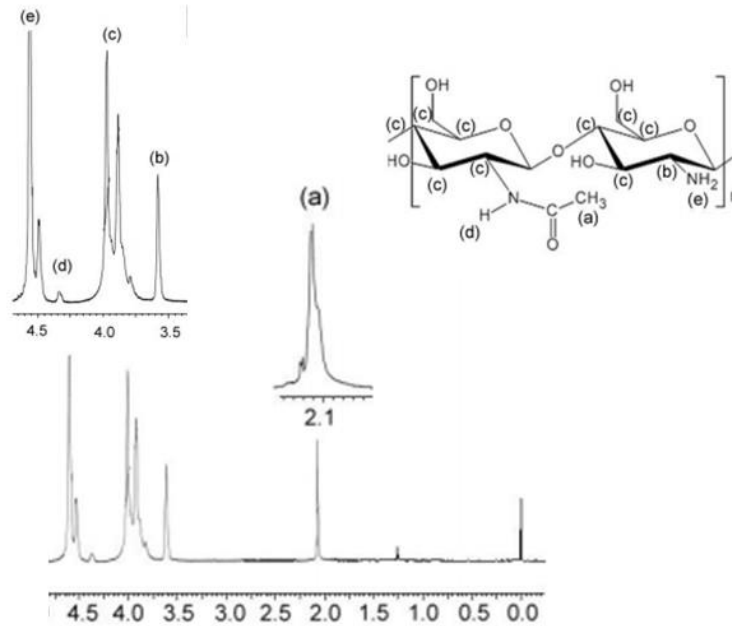
$$\%DA = \frac{\left[\left(\frac{A_{1320}}{A_{1420}}\right) - 0.3822\right]}{0.03133} \quad (3)$$

#### 6.4.4. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Protón (<sup>1</sup>H-RMN)

La espectroscopia de <sup>1</sup>H-RMN presenta la ventaja de utilizar una pequeña cantidad de muestra, estas se analizan disueltas en disolventes deuterados. Para la determinación del grado de acetilación de la quitina o Ch el método más común es la espectroscopia de <sup>1</sup>H-RMN en medio líquido, donde las muestras son disueltas en solución de D<sub>2</sub>O acidificado con HCl y el %DA se determina con la relación del protón del metilo (1-4) 2 acetomido-2-deoxi- β-D- glucano y la referencia de los protones H-2 al H-6 expresada en la Ec. 4 (Hirai *et al.* 1991).

$$\%DA = \frac{\frac{A_{CH_3}}{3}}{\frac{\text{Masivo A} + \text{Masivo B}}{6}} \quad (4)$$

Donde el metilo del grupo acetato tanto para la quitina y Ch se encuentra en el rango aproximado de 2 ppm del espectro de <sup>1</sup>H-RMN, mientras que el masivo A y masivo B representan los picos de los movimientos C-N de la amina en el rango de 3.5 ppm, el pico del enlace C-C de la estructura de la N-glucosamina en 4 ppm, el movimiento N-H del grupo amida en 4.2 y el movimiento N-H del grupo amina a los 4.5 ppm tal y como se muestra en la Figura 5.



**Figura 5.** Picos característicos de la quitina/Ch en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN, en donde cada pico corresponde a una sección del polímero; a) movimiento del grupo metilo del acetato, b) movimiento C-N de la amina, c) movimiento correspondiente a C-C, d) movimiento N-H del grupo amida y d) movimiento N-H del grupo amina (imagen tomada de Balanta et al. 2010).

#### 6.4.5. Difracción de Rayos X

Para la determinación de la cristalinidad (XRD) se utilizó un difractómetro de rayos X (D8 avanzado Bruker), a 35 kV, 25 mA y una velocidad de escaneo de  $0.3^\circ/\text{min}$  con un rango de  $5-45^\circ$ , para este análisis las muestras fueron secadas y molidas para tener homogeneidad en el tamaño de partícula y eliminación de la mayor humedad del ambiente, el índice de cristalinidad ( $I_{\text{CR}}$ ) del Ch se determinó aplicando la ecuación de Focher (ecuación 5), que maneja la relación entre las intensidades  $I_{110}$  localizada en  $2\theta=20^\circ$  y la  $I_{\text{am}}$  a  $2\theta=16^\circ$  que expresa la zona cristalina y la zona amorfa.

$$I_{\text{CR}} = \frac{I_{110} - I_{\text{am}}}{I_{110}} \times 100 \quad (5)$$

El índice de cristalinidad de la PCL se determinó mediante la relación de áreas considerando las intensidades de los picos  $I_{110}$  en  $2\theta = 21.3^\circ$  y la  $I_{200}$  en  $2\theta = 23.8^\circ$  que corresponden a la zona cristalina y la zona amorfa correspondiente al área restante del difractograma que no presenta picos aplicando la (ecuación 6).

$$I_{CR} = \left( \frac{A_{Ic}}{A_{Ic} + A_{Ia}} \right) \times 100 \quad (6)$$

Donde:

$A_{Ic}$  = Suma de las áreas de las zonas cristalinas

$A_{Ia}$  = suma de las áreas amorfas

#### **6.4.6. Análisis Térmico Gravimétrico (ATG)**

El análisis térmico gravimétrico se realizó en un equipo de DSC-TGA Instrument SDT Q600 V20.9 Build 20 con un módulo estándar en bandeja de aluminio con flujo de nitrógeno de 50 ml/min en un intervalo de 20 a 650 °C con un incremento de 5 °C/min

#### **6.4.7. Propiedades mecánicas de los materiales**

Las propiedades mecánicas de los materiales se realizaron en un equipo Shimadzu AG-100KNG. Las pruebas se realizaron con los materiales extrudidos en forma de pellets con un tamaño de 40 mm de largo y 2 mm de diámetro, los cuales fueron sujetos a las mordazas del equipo aproximadamente 10 mm X L dejando una separación de 20 mm, posteriormente se aplicó una fuerza de tensión ejercida gradualmente a una velocidad constante de 2 mm/min, las pruebas se realizaron por triplicado para cada muestra.



## **6.5. Morfología microscópica y análisis elemental**

### **6.5.1. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)**

Para el análisis morfológico de los materiales se utilizó un microscopio electrónico de barrido (SEM) (JEOL JSM-5900LV) a 15 kV a una magnificación de 100x, 500x y a 1000x. Las muestras fueron secadas y montadas en un soporte de acero pegadas con una cinta de carbono coloidal conductor y fijadas con grafito coloidal, posteriormente se dejaron secar durante 24 h y se recubrieron con oro por sublimación superficial (Dávila-Rodríguez *et al.*, 2009; Rangel-Méndez *et al.*, 2009).

### **6.5.2. Microanálisis por Dispersión de Energía de Rayos X (EDS)**

Para el análisis elemental (EDS) de las muestras se realizó posterior al tratamiento de la remoción de cobre, se analizaron dos regiones aleatorias para cada material en tres puntos por región de acuerdo a las diferencias morfológicas observadas a una magnificación de 500x utilizando energía de electrones dispersados.

## **6.6. Preparación de las aguas modelos de cobre (Cu<sup>2+</sup>)**

Se pesaron 0.915 g de nitrato de cobre 2.5 hidratado (Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>•2.5H<sub>2</sub>O), previamente secado a 24 °C en un desecador con sílice gel por 12 h, se disolvieron en 200 ml de agua desionizada, se aforó a 250 ml para tener una solución madre con una concentración de 1000 mg/L de Cu<sup>2+</sup> y se le adicionó una gota de ácido nítrico concentrado (HNO<sub>3</sub>) para evitar la hidrólisis del metal. Posteriormente se tomó una alícuota de 17.5 ml de la solución madre de cobre y se aforó a 250 mL para obtener un agua modelo con una concentración de 70 mg/L de Cu<sup>2+</sup>, el pH del agua modelo se ajustó a 6 con una solución NaOH (5% p/v).

## 6.7. Sistema de adsorción para la remoción de cobre en un agua modelo

La adsorción de cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) se llevó a cabo en un sistema continuo para cada matriz (relación 1:5, 1:1 y 2:1) a un tiempo de residencia hidráulica (TRH) de 2 h (ver anexo 1.1). Durante el procedimiento experimental se tomaron alícuotas de 4 mL del influente y del efluente en tubos de ensaye previamente lavados (ver anexo 2.1). La concentración de cobre se determinó por espectroscopia de absorción atómica de llama en un equipo Varian FS 220. Las muestras fueron diluidas 1:10 con agua desionizada y acidificadas con una gota de  $\text{HNO}_3$  concentrado para un rango de análisis de 0 a 10 ppm de la cual se determinó los mg  $\text{Cu}^{2+}$ /g Ads mediante la Ec. 7, se realizó la curva patrón con estándares de cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) para determinar las concentraciones en las muestras (ver anexo 1.2) (Popuri *et al.*, 2009).

$$q = \frac{([\text{Cu}^{2+}]_0 - [\text{Cu}^{2+}]_i) * L}{W_{ads}} \quad (7)$$

Donde:

q es la capacidad de adsorción ( $\frac{\text{Cu}^{2+} \text{ mg}}{\text{Adsorbente g}}$ )

L es el volumen

$[\text{Cu}^{2+}]_0$  es la concentración de cobre en la entrada

$[\text{Cu}^{2+}]_i$  es la concentración de cobre en la salida

$W_{ads}$  son masa de adsorbente empacado expresado en g

## 6.8. Cinéticas de adsorción para los materiales neutralizados

Se realizaron isotermas de adsorción de los materiales neutralizados (1:5, 1:1 y 2:1) y los controles de (Ch y PCL) a diferentes TRH en un intervalo de 0 a 2

h, La concentración inicial de cobre fue de 70 mg/L, a un pH de 6 todos los materiales. En el transcurso del tiempo se determinó la concentración de cobre en el efluente, y los perfiles obtenidos se ajustaron a los modelos lineales de Elovich y Pseudo 2° orden, Ec. 8 y 9, respectivamente. Ambos modelos consideran un intercambio de especies en la superficie del sólido, lo que supone diferentes procesos de intercambio, además de que estos modelos son empleados para estudiar la adsorción de metales en superficies porosas (Ho y McKay, 2004).

$$q = \left(\frac{1}{\beta}\right) \text{Ln}(\alpha\beta) + \left(\frac{1}{\beta}\right) \text{Ln}(t) \quad (8)$$

Donde:

$\alpha$  es la velocidad inicial de adsorción de cobre (mg Cu<sup>2+</sup>/g Ads \*min)

$\beta$  es la constante de desorción (g Ads/ mg Cu<sup>2+</sup>)

$$q = \frac{TRH}{\frac{1}{h} + \frac{TRH}{q_e}} \quad (9)$$

Donde:

$q_e$  es la capacidad de adsorción en el equilibrio (mg Cu<sup>2+</sup>/g Ads)

$k$  es la constante de adsorción de pseudo-2°orden (g Ads/mg Cu<sup>2+</sup>\*min)

$h$  es la velocidad inicial de adsorción (mg Cu<sup>2+</sup>/g Ads \*min)

El modelo de Elovich parte de la expresión  $\frac{dq_t}{dt} = k(q_e - q_t)$ , con las condiciones iniciales  $(q_e - q_t) = 0$  con un tiempo inicial  $t = 0$ , y el modelo pseudo 2° orden parte de la expresión  $\frac{dq_t}{dt} = k(q_e - q_t)^2$  para las condiciones  $t = 0$  para  $t = t$  y  $q_t = 0$  para  $q_t = q_t$  con el limite  $\frac{q_t}{t} \rightarrow 0$ . Los parámetros fueron estimados empleando los programas estadísticos STATISTICA y SigmaPlot.

### **6.9. Cinética de adsorción para los materiales sin neutralizar**

Se evaluó la capacidad de adsorción de los materiales sin neutralizar para las relaciones 1: 5 y 1:1 a las mismas condiciones descritas anteriormente y fueron comparados con los materiales neutralizados para ver el efecto de la acidez en la adsorción, la relación 2:1 no se consideró, debido a que la acidez del sistema es alta esto producirá una mayor pérdida del Ch.

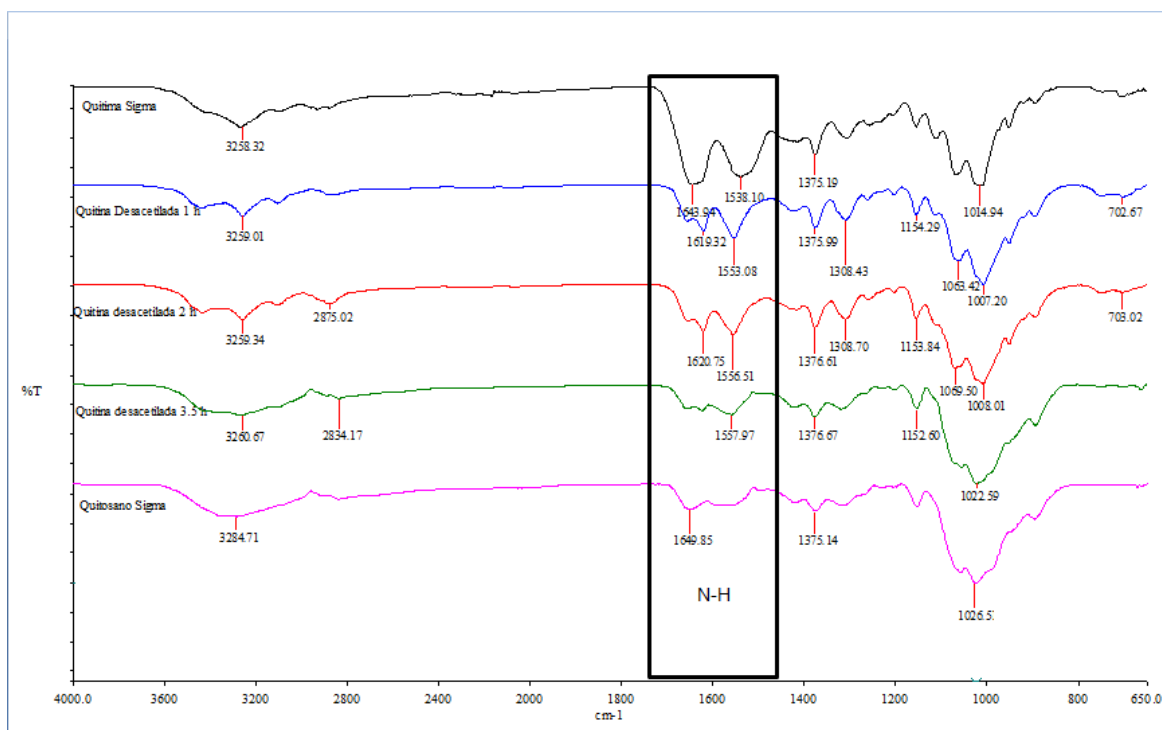
### **6.10. Evaluación de la acidez de los materiales en el proceso de adsorción**

Se determinó la acidez de los materiales de las relaciones Ch: PCL (1:1 y 1:5) durante la evaluación de las isothermas con la finalidad de conocer el comportamiento del pH durante cada TRH. Se determinó el pH de los materiales con la solución de cobre y agua desionizada para observar la estabilidad de los materiales y relacionar con pérdidas de masa durante el proceso de adsorción.

## 7. Resultados y Discusión

### 7.1. Obtención de las quitinas desacetilada y PCL

Para la elección del Ch se analizaron las tres quitinas desacetiladas obtenidas por la reacción con álcali (1, 2 y 3.5 h). Las muestras se analizaron por FTIR para determinar la pureza e identificar los grupos funcionales presentes en los materiales. Se emplearon dos estándares de quitina y quitosano comerciales (Sigma Aldrich) para comparar el efecto de la desacetilación a través del tiempo. Se identificaron las bandas características de la quitina y quitosano en las regiones  $1655$ ,  $1620$  y  $1556\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la vibración de flexión N-H del grupo amida, la intensidad de los picos depende del grado de desacetilación de las muestras, para el caso de la amida secundaria en  $1556\text{ cm}^{-1}$  la intensidad disminuye debido a la pérdida del acetato unido al nitrógeno de la molécula, de igual manera se ve un incremento en la región de  $2900$  a  $3200\text{ cm}^{-1}$ , donde se observa el movimiento vibracional de tensión de las aminas y del grupo hidroxilo (Figura 6).



**Figura 6.** Espectros de infrarrojo de las muestras de quitina desacetilada a distintos tiempos comparados con quitina y quitosano comerciales de sigma, en la cual se muestra la región entre 1500 y 1700  $\text{cm}^{-1}$ , que es la zona donde se encuentra el pico característico de la amida en la región de 1650  $\text{cm}^{-1}$ .

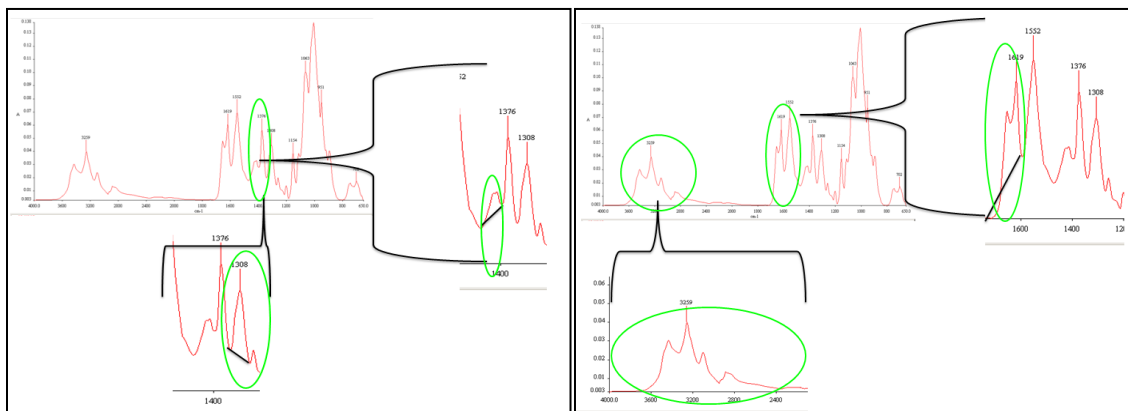
Los porcentajes de acetilación obtenidos por el método de la línea base se muestran en la Tabla 3 y Figura 7. Las muestras tratadas a 1 y 2 h de desacetilación son aún quitinas, puesto que el porcentaje de acetilación obtenido por este método se encuentran con valores superiores al 50%, mientras que la muestra desacetilada a 3.5 h se considerada quitosano debido a que presentó un %DA inferior a este parámetro.

El Ch obtenido a 3.5 h y las quitinas desacetiladas a 1 y 2 h fueron analizadas por  $^1\text{H}$ -RMN con el fin de corroborar el grado de desacetilación en la Tabla 4 y Figura 8 se muestran los resultados.

**Tabla 3.** %DA determinado mediante la técnica de la línea base en espectros de FTIR a muestras de quitinas desacetiladas

Muestra	%DA
QD1H	88.3 $\pm$ 0.1
QD2H	58.3 $\pm$ 0.3
QD3.5H	12.7 $\pm$ 0.5

QD1H= Quitina desacetilada a 1 h; QD2H= Quitina desacetilada a 2 h; QD3.5H= Quitina desacetilada a 3.5 h; estos valores son considerados un estimado ya que dependiendo del modelo empleado y el criterio de análisis los valores obtenidos no son reproducibles en su totalidad.

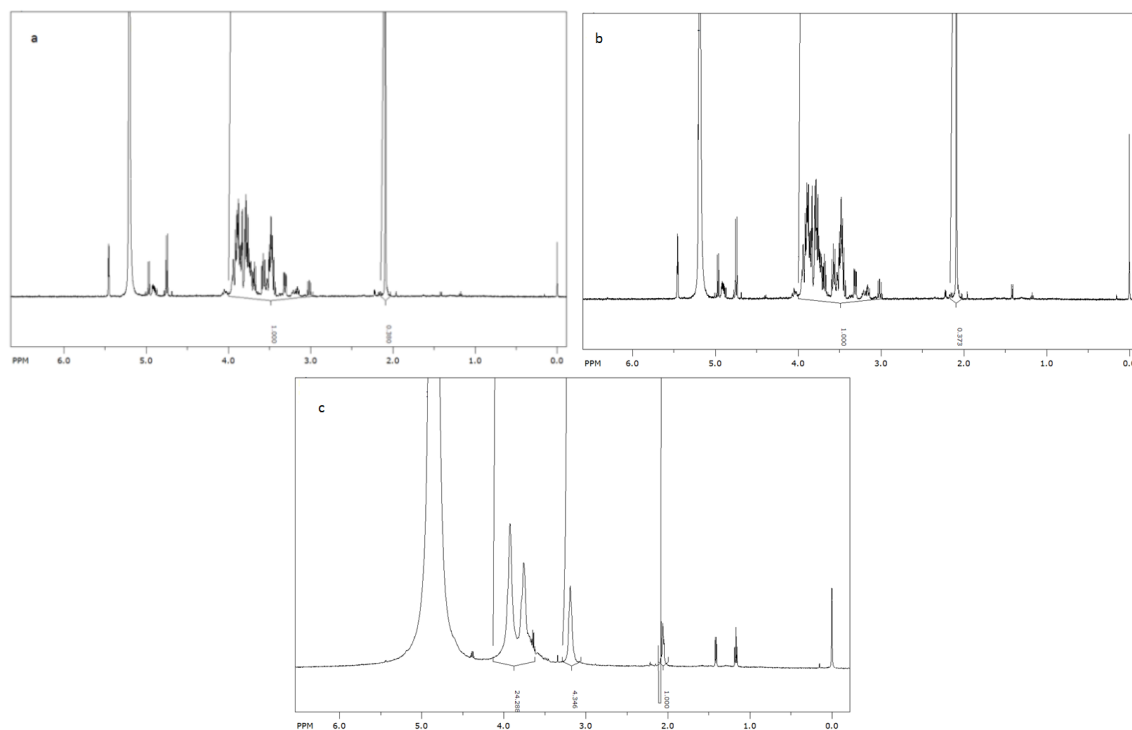


**Figura 7.** Método de la línea de base, mediante integración de los picos característicos de la quitina y quitosano aplicando las ecuaciones 1 y 2 explicadas en las metodología, integración depende del criterio de ajuste y el intervalo de los picos

**Tabla 4.** %DA determinado mediante  $^1\text{H}$ -RMN

Muestra	%DA
QD1H	75.08 $\pm$ 0.8
QD2H	71.04 $\pm$ 0.6
QD3.5H	6.80 $\pm$ 0.2

Aplicando los predictivos del método de la línea base se trataron las muestras ya sea como quitina o quitosano para determinar el %DA mediante H-RMN.



**Figura 8.** H-RMN de las quitinas desacetiladas, a) 1 h; b) 2 h; c) 3.5 h, donde se observa la diferencia en los picos de RMN de la quitina y quitosano

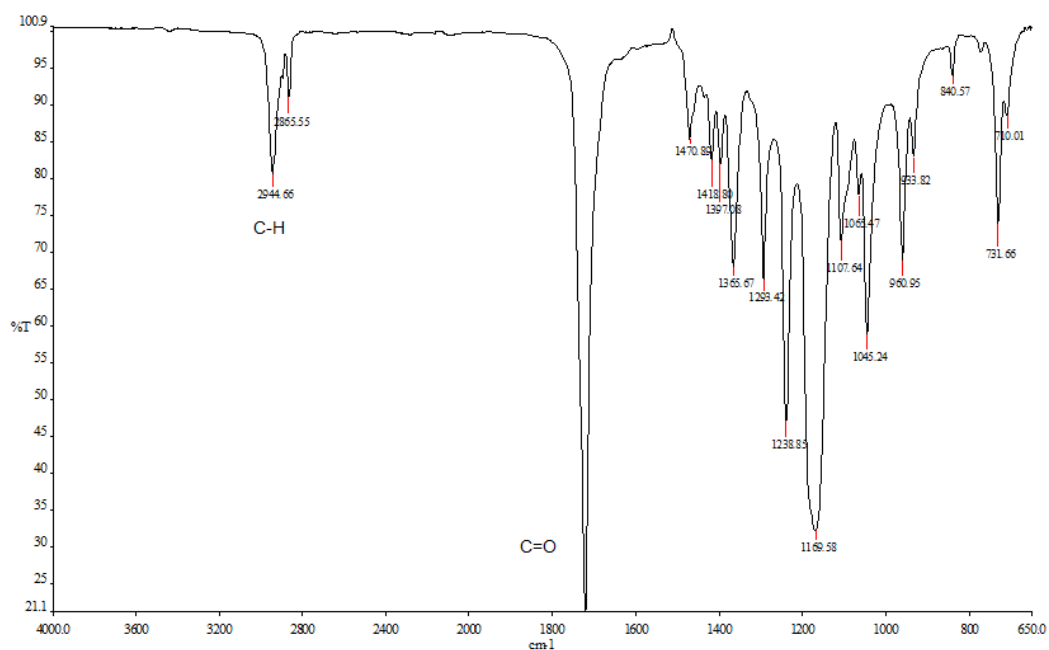
La relación de áreas de los picos característicos de las quitinas desacetiladas mediante los modelos de la línea base por espectroscopia de infrarrojo, permiten obtener un estimado del %DA de las muestras con muy poca precisión, debido a los criterios de selección de las bandas y las áreas seleccionadas, sin embargo a pesar de ser una técnica laboriosa permite identificar la naturaleza de las muestras, es decir, nos da un predictivo para decidir si las muestras son quitina o quitosano.

Por su parte la  $^1\text{H}$ -RMN proporciona un valor preciso basado en el área bajo la curva de los picos de las señales de los protones de la molécula, como se menciona en la metodología cada pico representa a un movimiento determinado de la molécula. Es un método de análisis rápido, preciso y eficaz, obteniendo con precisión el %DA.



La PCL, fue obtenida mediante una reacción enzimática de la cual se obtuvo un rendimiento  $Y_{p/s}$  de 83.85%. El poliéster obtenido fue analizado por FTIR (Figura 9), después del proceso de purificación y secado. En el espectro se observan las bandas características de la PCL bien definidas localizadas en el número de onda de  $1725\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración C=O del grupo éster y en  $2994\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración C-H de los grupos metilo, metileno, no se observaron picos de impurezas, por lo que el biopolímero se encuentra puro.

Así mismo, se determinó el peso molecular de la PCL mediante el método GPC/SEC en gel obteniéndose un peso molecular de 29.51 kDa (ver anexo 1.3).



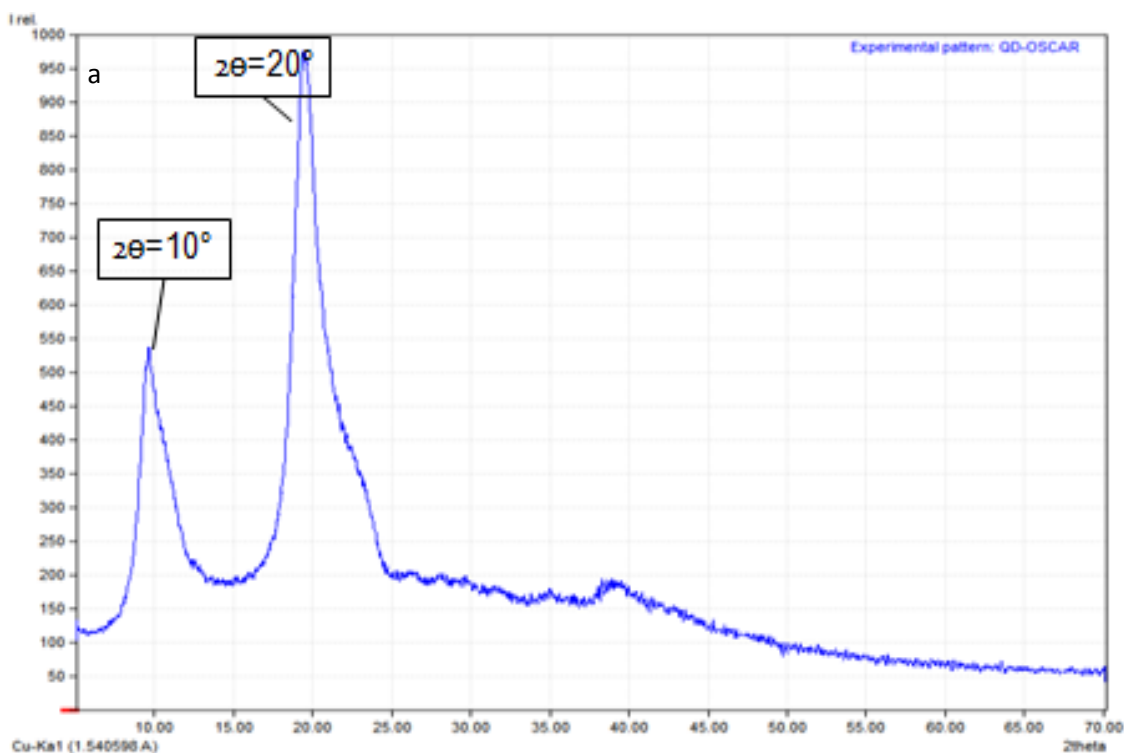
**Figura 9.** Espectro de Infrarrojo de la PCL sintetizada por vía enzimática, mostrando los picos característicos del grupo éster ( $1720\text{ cm}^{-1}$ ) y enlace C-H ( $2855\text{ a }2940\text{ cm}^{-1}$ ).

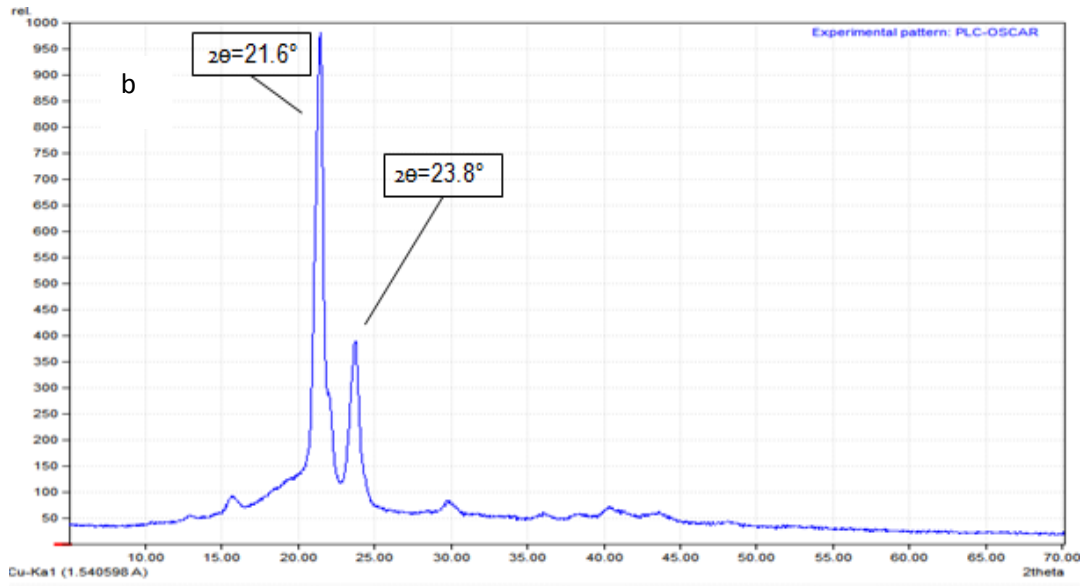
El peso molecular de la PCL obtenida enzimáticamente es considerado alto de acuerdo a lo señalado por Huang *et al.* (1998). Esto se atribuye a que a la cantidad de agua (iniciador y terminador de la reacción) que contenía el sistema era mínima, la requerida para llevar a cabo la reacción de apertura del anillo de la

$\epsilon$ -caprolactona e iniciar la polimerización y terminar la reacción para . A estas condiciones se evita la formación de polímeros con pesos moleculares bajos, la enzima y el sustrato utilizado en este trabajo se liofilizaron y mantuvieron bajo condiciones de vacío antes de empezar la síntesis.

En este trabajo, el índice de polidispersidad de la PCL obtenido fue de 1.818, esto significa que hay cierta homogeneidad de los pesos moleculares, por lo que la campana de distribución es relativamente estrecha. (Anexo 1.3)

El peso molecular del Ch se determinó mediante viscosimetría, el valor obtenido es  $M_v$  121.8 kDa, y el índice de cristalinidad ( $I_{CR}$ ) obtenido es de 52.61 calculado mediante la ecuación de Focher, y la PLC presentó una  $I_{CR}$  de 59.3 obtenida mediante relación de áreas determinando así que ambos polímeros son semicristalinos tal como se puede ver en la Figura 10.





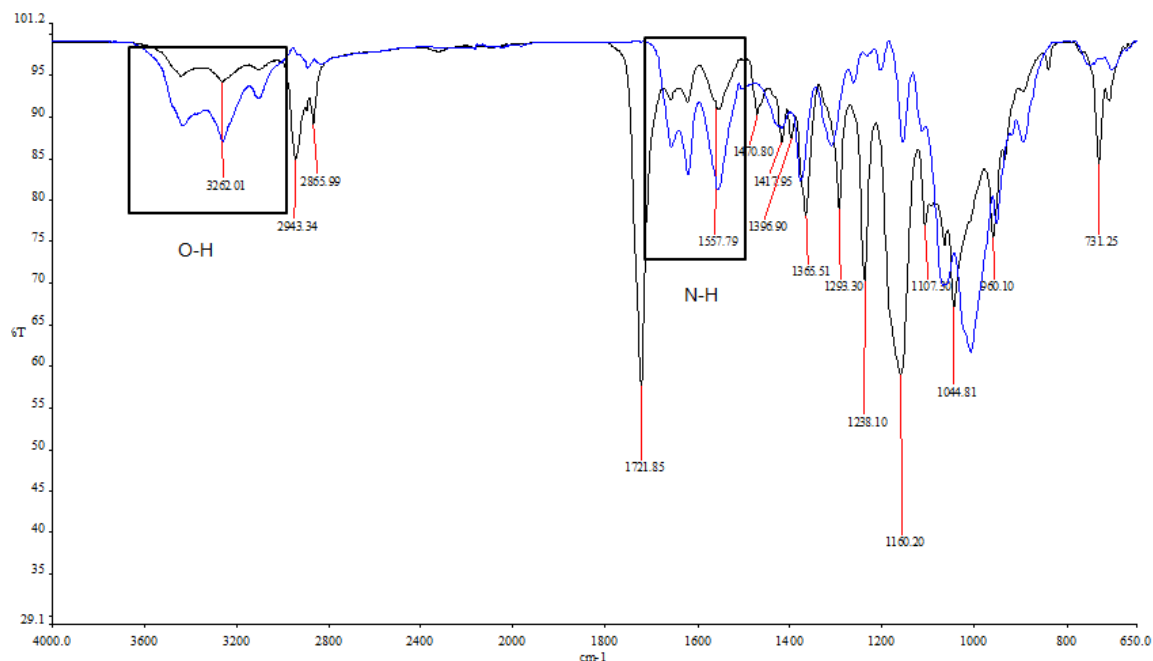
**Figura 10.** Patrones de difracción de rayos X. En la imagen (a) se muestra el difractograma del Ch con picos de difracción en  $20^\circ$  y  $10^\circ$  a  $2\theta$ . En la imagen (b) e muestra el difractograma de la PCL los picos cristalinos se observan en la región de  $22^\circ$  y  $25^\circ$  a  $2\theta$ .

## **7.2. Procesamiento de las relaciones de Ch y PCL**

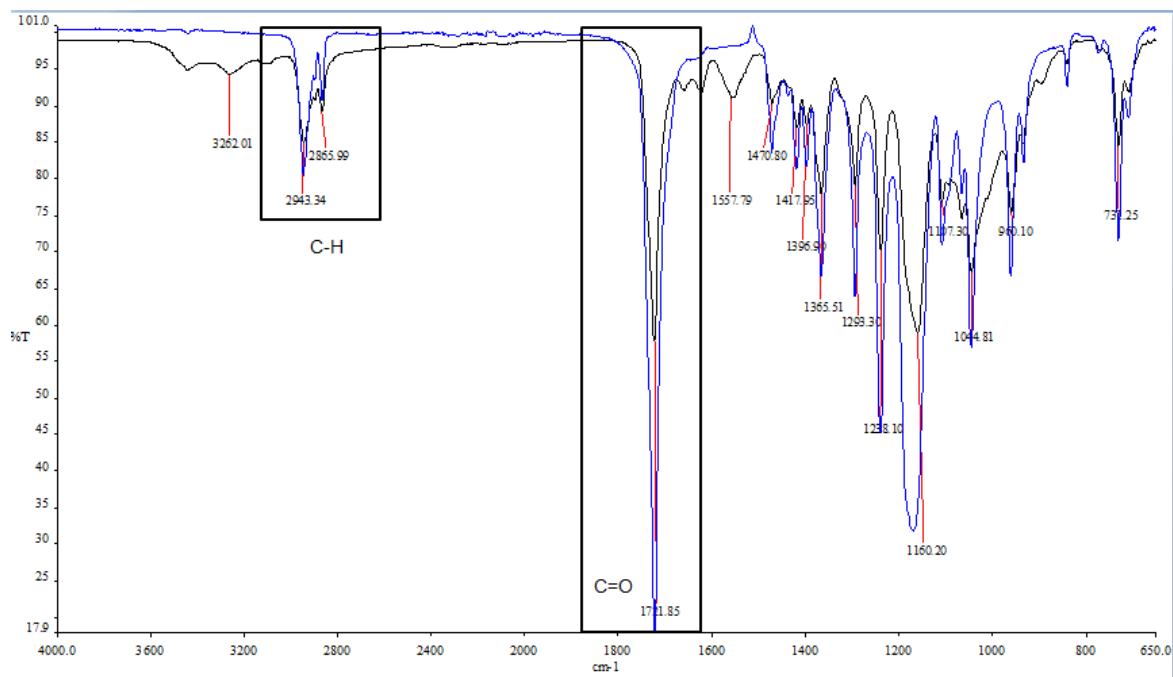
### **7.2.1. Caracterización de una matriz de prueba de quitina y PCL**

Se preparó una relación de prueba de QD2H (quitina) y PCL a una relación 1:3, respectivamente, se determinaron las condiciones de análisis a través del espectroscopia de infrarrojo y microscopía electrónica de barrido variando el voltaje en diferentes secciones del polímero termo-moldeado para la adecuada observación del material y demostrar la homogeneidad de la mezcla.

Es importante destacar que la mezcla no se contaminó durante el proceso de extrusión mostrado en los resultados del espectro de infrarrojo de la relación en donde se compararon con la quitina de 2 h de desacetilación y la PCL pura (Figuras 11 y 12), es importante mencionar que a esta relación de prueba no se le determinó su capacidad de adsorción, la finalidad de esta mezcla fue determinar que mediante el análisis de infrarrojo las bandas características del grupo amino (región importante localizado de  $1620$  al  $1550\text{ cm}^{-1}$ ) no hayan quedado traslapadas con alguna de las bandas de la PCL las bandas del grupo amino nos permite saber si se originó la interacción iónica ya en durante el estudio de adsorción, de igual forma se espera el mismo efecto de adsorción para la región del grupo hidroxilo ( $3500$  al  $2900\text{ cm}^{-1}$ ).



**Figura 11.** Espectro de la relación prueba QD2H-PCL (color negro), y la quitina desacetilada a 2 h de reacción (color azul), mostrando la región de interés correspondiente al grupo amino e hidroxilo.

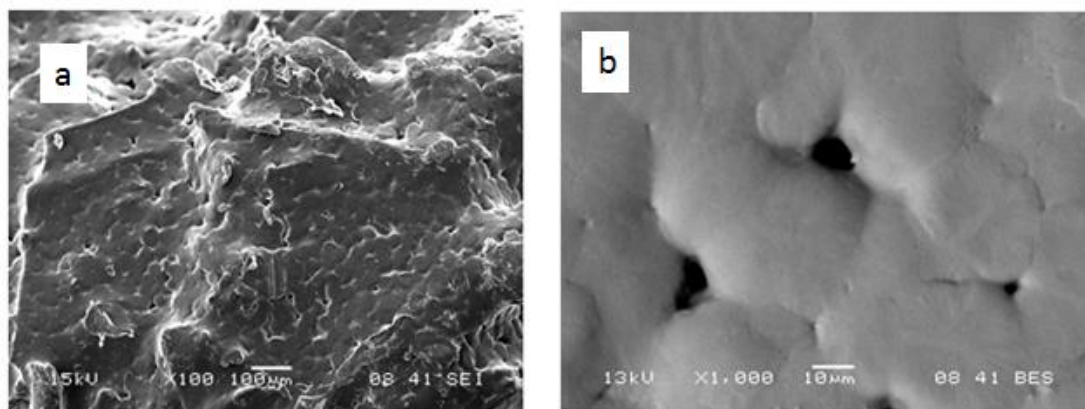


**Figura 12.** Espectro de la relación prueba QD2H-PCL (color negro) y la PCL pura (color azul) mostrando las bandas características de los enlaces de la PCL

En los espectros de IR en la región de 650 a 1400  $\text{cm}^{-1}$  se observa que la quitina quedan sobrepuestos con los picos de la PCL, sin embargo, se puede ver

que los bandas que características de la quitina se localizan en una región libre del espectro de la PCL, la intensidad de los picos depende de la proporción en que se formuló la relación.

Para corroborar la homogeneidad de la relación de prueba extrudida y porosidad del material, las muestras fueron analizadas por SEM a dos magnificaciones a 100x y 1000x (Figura 13). En las micrografías obtenidas se observan tamaños de poros de 10  $\mu\text{m}$ , y homogeneidad en la dispersión de la PCL sobre la quitina (QD2H). También se observó que a pesar de que la PCL tiene un punto de fusión de alrededor de 59  $^{\circ}\text{C}$  al estar a una temperatura de extrusión de 75 $^{\circ}\text{C}$  no presentó alteraciones evidentes, esto se puede explicar a que la quitina funcionó como amortiguador de temperatura para este termoplástico.



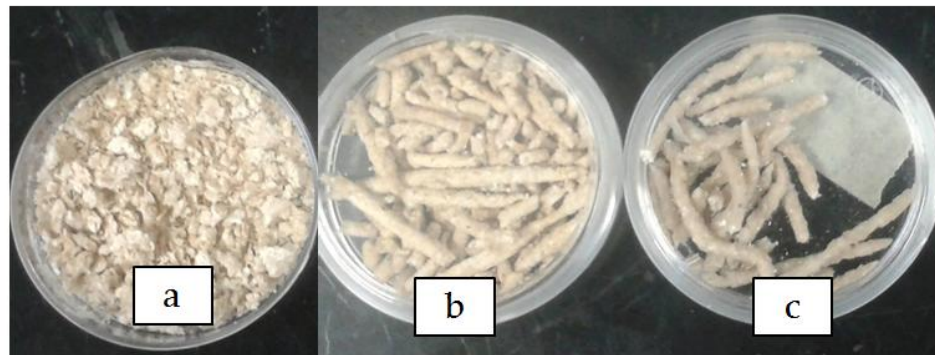
**Figura 13.** Micrografías de SEM obtenidas 100x y 1000x. En la imagen a) se muestra QD2H-PCL X100 donde se observa que la PCL cubre a la quitina de 2 h. En la imagen b) se muestra el material de prueba QD2H-PCL X1000 donde se observar la presencia de pequeños poros del termoplástico sobre la quitina de 2 h.

De acuerdo a Rangel-Méndez et al. 2009 y corroborando con las imágenes de microscopía, no existe daño estructural en la quitina desacetilada a 2 h y la PCL por la extrucción, se decidió utilizar el Ch (quitina desacetilada de 3.5 h) para los ensayos de adsorción, debido a que tiene un %DA de 6.8, esto nos permitiría

tener una cantidad mayor de grupos aminos disponibles para la interacción iónica con el metal divalente, al tener más sitios de interacción para dicho proceso.

### 7.2.2. Caracterización de las relaciones de Ch y PCL

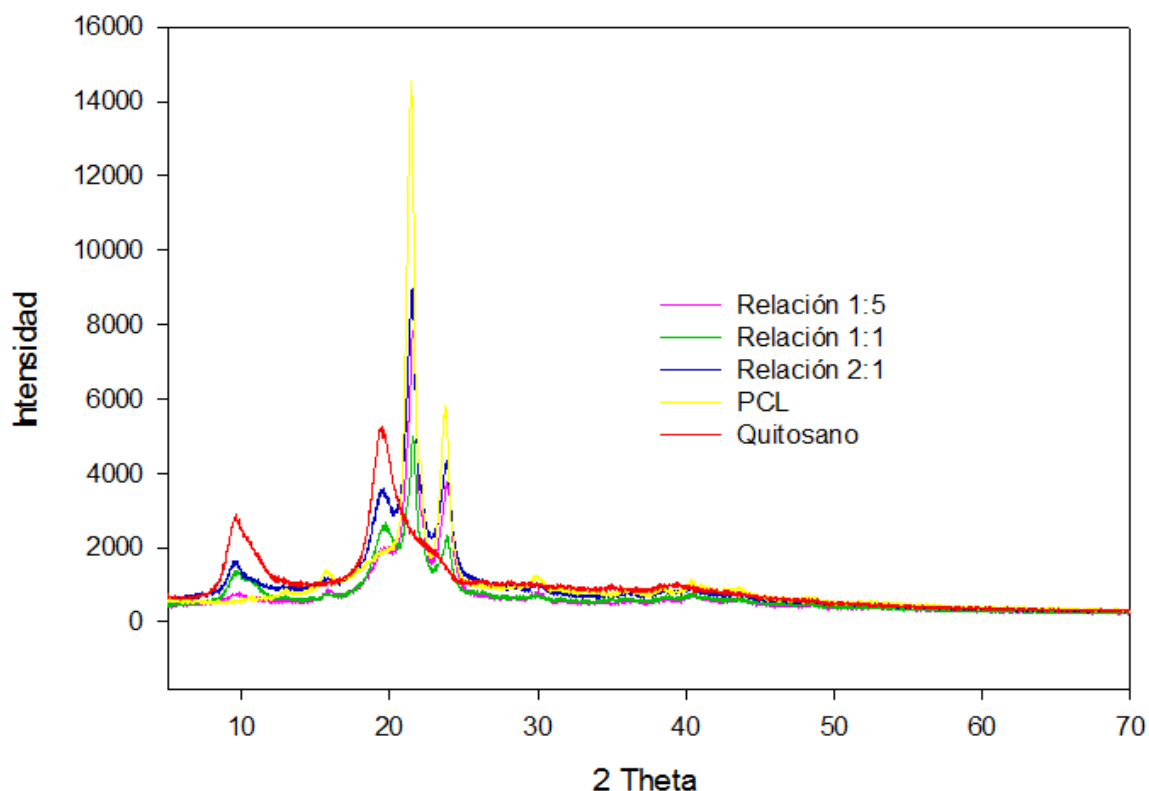
En la Figura 14 se muestran las imágenes de los materiales extrudidos de las relaciones 2:1, 1:1 y 1:5 (Ch: PCL), es importante mencionar que para la relación 2:1 no se logró la extrusión (Figura 14.a) por lo que se trabajó con las escamas aglomeradas durante el pretratamiento por la PCL, teniendo escamas de mayor tamaño. La PCL al ser polímero termoplástico que funciona como una matriz polimérica para Ch proporcionándole estabilidad física y mejores propiedades mecánicas en comparación con el Ch puro (Figura 14).



**Figura 14.** En la imagen a) se observa la relación 2:1 en forma de escamas aglomeradas unidas por la PCL; b) Extrudido de la relación 1:1 y c) relación 1:5, como se puede observar dependiendo la relación peso/peso la apariencia física cambia.

Se obtuvieron los patrones de difracción de rayos X (XRD) de las tres relaciones formuladas y fueron comparadas con los controles (Ch y PCL). En los difractogramas se observan cambios en las intensidades de los picos que reflejan la zona cristalina, originado por la proporción de los dos polímeros, cabe mencionar que no hay una modificación estructural puesto que no se llevó a cabo ninguna reacción química que manifestara modificación a la estructura tridimensional de las mezclas, se ve reflejado la predominancia de los polímeros dependiendo de las relaciones, es decir, para la relación 2:1 que en su

composición es mayoritariamente Ch la intensidad de los picos de PCL se ve disminuido en comparación con los controles, mientras que en el caso contrario para la relación 1:5, estos picos de Ch se ven atenuados predominando los picos de la PCL, siendo que en los difractogramas se observa la cristalinidad de cada uno de los materiales, además de distinguir la composición, se puede decir además que los picos para el Ch que se localizan en  $2\theta = 10^\circ$  y  $20^\circ$  y para el PCL en  $2\theta = 21.3^\circ$  y  $23.8^\circ$  no se interponen ni originan algún impedimento en las comparaciones (Figura 15).



**Figura 15.** Comparación de los difractogramas de los materiales de las relaciones 1:5, 1:1, 2:1 con respecto a los controles de los polímeros de Ch y PCL

Las pruebas mecánicas de tensión de las relaciones 1:5, 2:1 y 1:1 se realizaron por triplicado, para la relación 1:5 sólo se realizó una medición, debido a que el material no se encontraba completamente homogéneo (los diámetros variaban en un mismo pellet lo que provocó un fácil rompimiento) y no conservaban la longitud completamente lineal, para la relación 1:1 los valores fueron reproducibles con un valor de resistencia promedio de  $3.66 \pm 0.14$  en



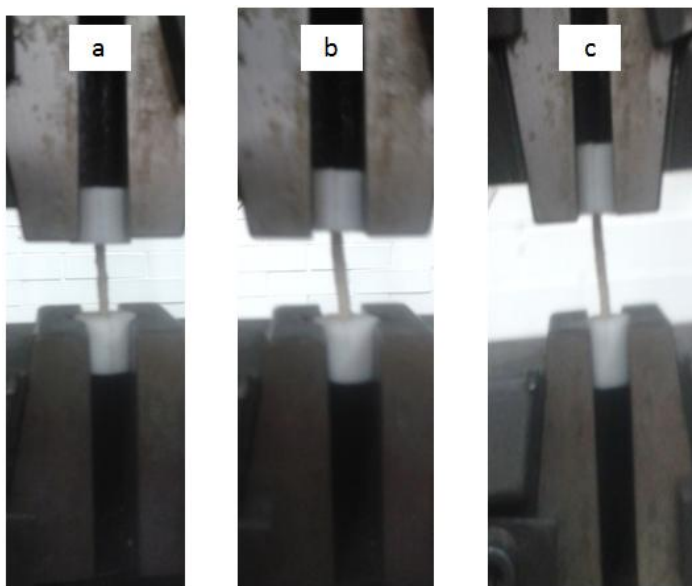
comparación con la relación 2:1 y 1:5, de igual forma se obtuvieron las mediciones para la relación 2:1 estos materiales poseen homogeneidad en la distribución de los polímeros, para cada caso se obtuvo un valor máximo de resistencia y el valor del módulo de Young fue calculado y los valores se reportan en la Tabla 5 y Figuras 16-17.

Las pruebas de tensión (preliminares) no solo nos permitió conocer la resistencia máxima de los materiales, sino también que tan homogéneo se encuentran las mezclas al momento de extrudirlos, es decir, que realizando la prueba a una cantidad mayor de muestras para cada relación se puede determinar el porcentaje de material defectuoso en la producción (irregularidad en la distribución de los polímeros), parámetro importante a considerar, debido a que esto origina un costo adicional al volver a extrudir los materiales que no cumplan con características específicas independientemente de su funcionalidad i.e. capacidad de adsorción

**Tabla 5.** Valores máximos de resistencia de los materiales

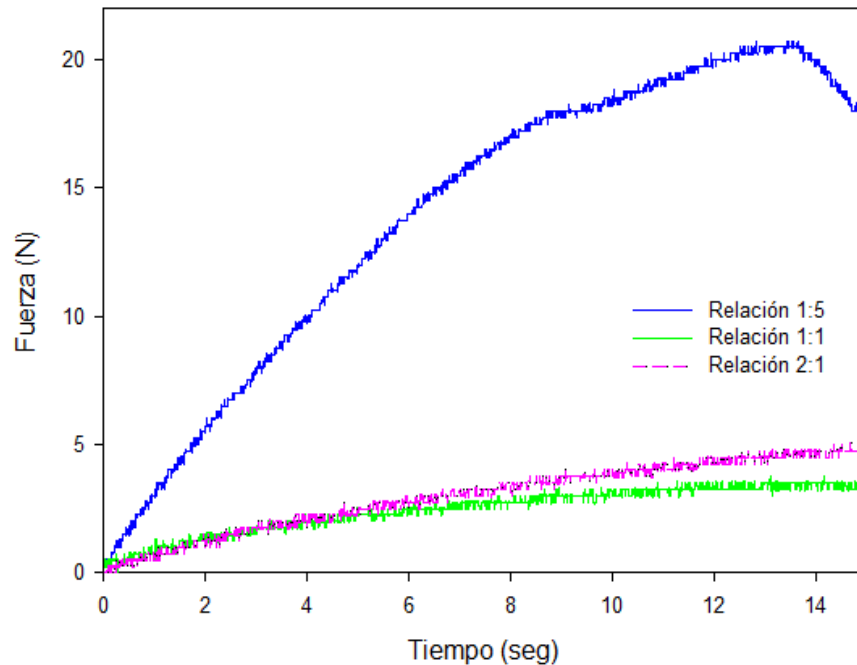
Relación	Longitud (cm)	Resistencia máxima (N)	Módulo de Young (MPa)
1:5	4	20.50	43.915
1:1	4	3.66 ± 0.14	12.845 ± 0.15
2:1	4	5.66 ± 0.38	8.8151 ± 0.36

Los valores son promedio de tres determinaciones y se presentan sus desviaciones estándar a excepción de la relación 1:5.



**Figura 16.** Imagen de las pruebas mecánicas de extensión de los materiales presenta un área de trabajo de 2 cm a) relación 1:5; b) relación 1:1; c) relación 2:1.

De acuerdo a los resultados obtenidos para esta prueba el material que presentó mayor resistencia al estiramiento fue la relación 1:5 esto se debe a que como la cantidad de PCL es mayor que la del Ch, esto le confirió una estructura más estable permitiéndole resistir el estiramiento ya que la PCL pura es un material elastómero a temperatura ambiente. En cambio para las relaciones 1:1 y 2:1, la cantidad de Ch empleado fue mayor por lo que estas formulaciones presentaron menor resistencia al estiramiento.

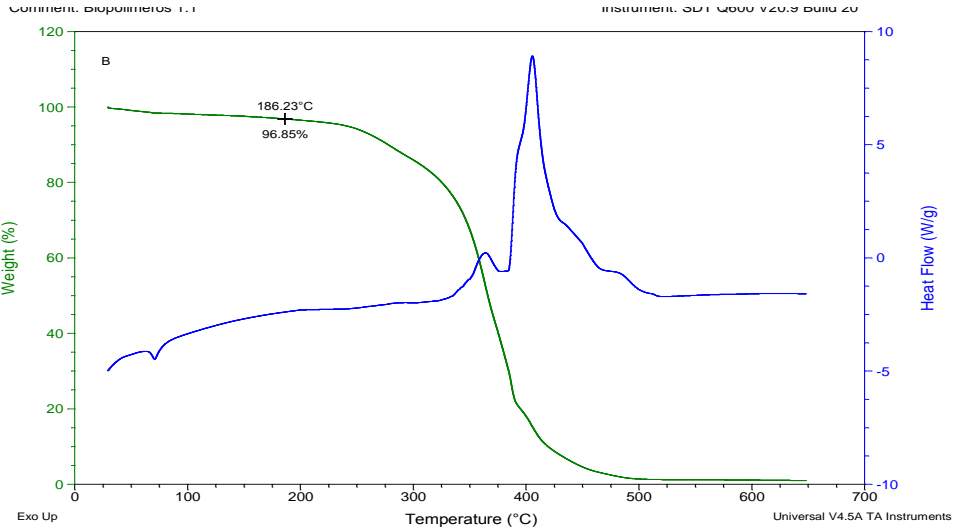
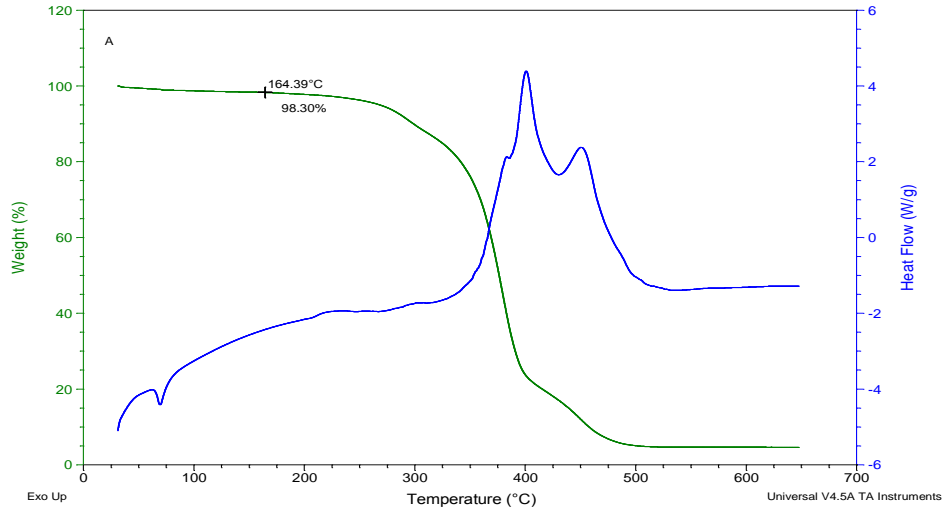


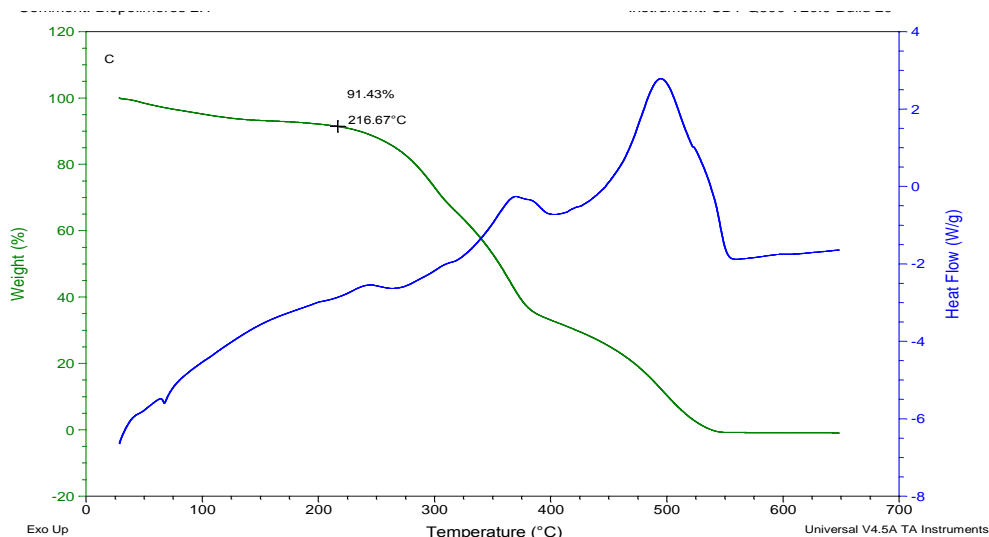
**Figura 17.** Curva de extensión de las relaciones 1:1, 1:5 y 2:1 donde se observa la máxima fuerza de resistencia de los materiales.

Se realizó el TGA y DSC de las relaciones que se presentan en la Figura 18, las temperaturas de degradación ( $T_d$ )s obtenidos para las relaciones fueron para 1:5 de 164.39 °C con una pérdida de masa de 1.7% con degradación de múltiples fases con una descomposición lenta que puede ser del Ch, para 1:1 con un valor de 186.23 °C con pérdida de masa de 3.15% con degradación de una fase y 2:1 con 216.67°C con pérdida de masa de 8.57% en varias fases, esto a causa de la proporción de los materiales, el primer polímero en descomponerse es la PCL y posterior el Ch no funde sino que se descompone a con una  $T_d$  de 300°C, además que la PCL posee una baja resistencia térmica que con el aumento de la cantidad de Ch aumenta la resistencia térmica a la degradación.

En los gráficos DSC se pueden leer que alrededor de los 70 °C para los tres materiales pequeños picos para condiciones isotérmicas que representan a la PCL, en la región que va de los 300 a los 500 °C donde se observan los picos de

fusión múltiple en el caso de la Ch picos de degradación, que son representativos para mezclas de polímeros semicristalinos,





**Figura 18.** Análisis termogravimétrico de las relaciones (línea verde) y DSC (línea azul); a) relación 1:5; b) relación 1:1; c) relación 2:1

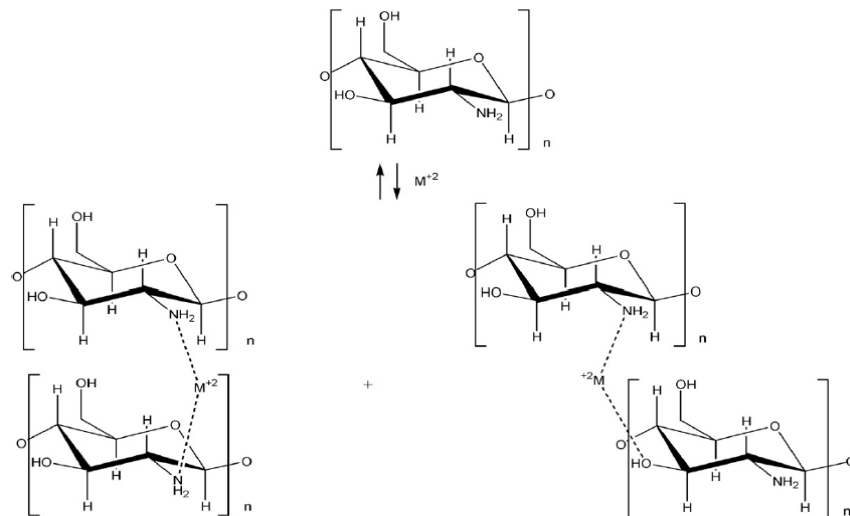
### 7.2.3. Efecto del pH en las relaciones 1:1 y 1:5

Para la concentración de la solución de cobre como agua modelo se consideró un estudio reciente de la caracterización química del río Lerma de Toluca (Estado de México), donde se determinó una concentración de cobre disuelto que osciló entre 60-80 mg/L y un intervalo de pH de 5.5- 6.5 (Barceló *et al.*, 2000; Ruiz, 2011).

Bajo este contexto, se decidió utilizar una concentración promedio de 70 mg/L de cobre, a un pH de 6. A este pH el Ch posee mayor capacidad de adsorción de iones metálicos divalentes junto con el grupo hidroxilo del C-3 que le permite formar una interacción más estable, a pesar de que el hidroxilo del C-6 del Ch que se encuentra más disponible, su participación en las interacciones dependen mucho de la conformación estructural y arreglo de las moléculas a pH cercanos a la neutralidad, a este pH no ocurre la donación de protones al grupos amino e hidroxilo del Ch como ocurriría en una solución ácida.

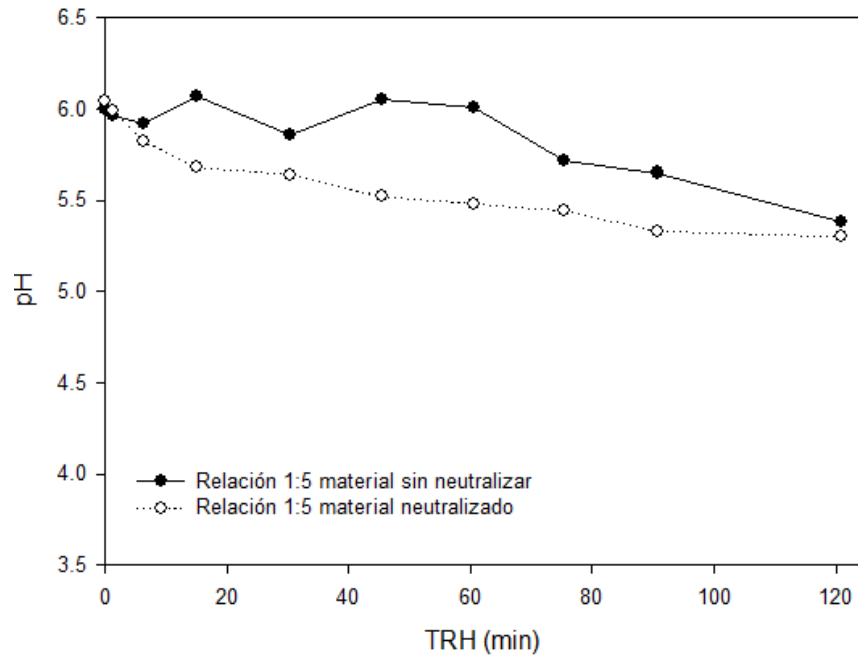
Las cargas parciales negativas originada por los par de electrones de estos grupos funcionales permiten la interacción iónica con el metal favoreciendo la

adsorción (Figura 19). No obstante, estudios realizados en sistema batch demuestran que la adsorción de los metales se mejora a pH ácidos (Laus *et al.* 2007), debido a que Ch es soluble a valores de pH menores de 3, favoreciendo la hidrólisis del polímero liberando cadenas más cortas de Ch que permiten un aumento en los sitios de interacción. (Rangel-Méndez *et al.* 2009).

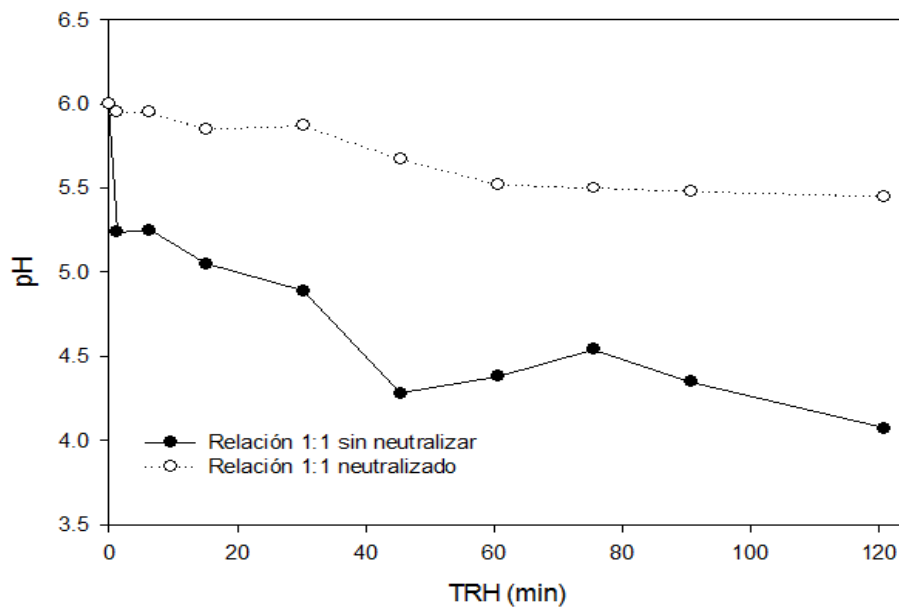


**Figura 19.** Estructura química del quitosano durante la interacción con los iones divalentes metálicos.

A continuación se presentan las isoterma de las relaciones 1:5 y 1:1 (Figuras 19 y 20), sin neutralizar posterior a la extrusión y los materiales neutralizados, cabe mencionar que no se consideró la relación 2:1, debido a que si el pH es menor de 3, el quitosano presente al estar en mayor proporción en esta relación podría solubilizarse y la pérdida de material sería mayor, efecto que no se desea para los materiales.



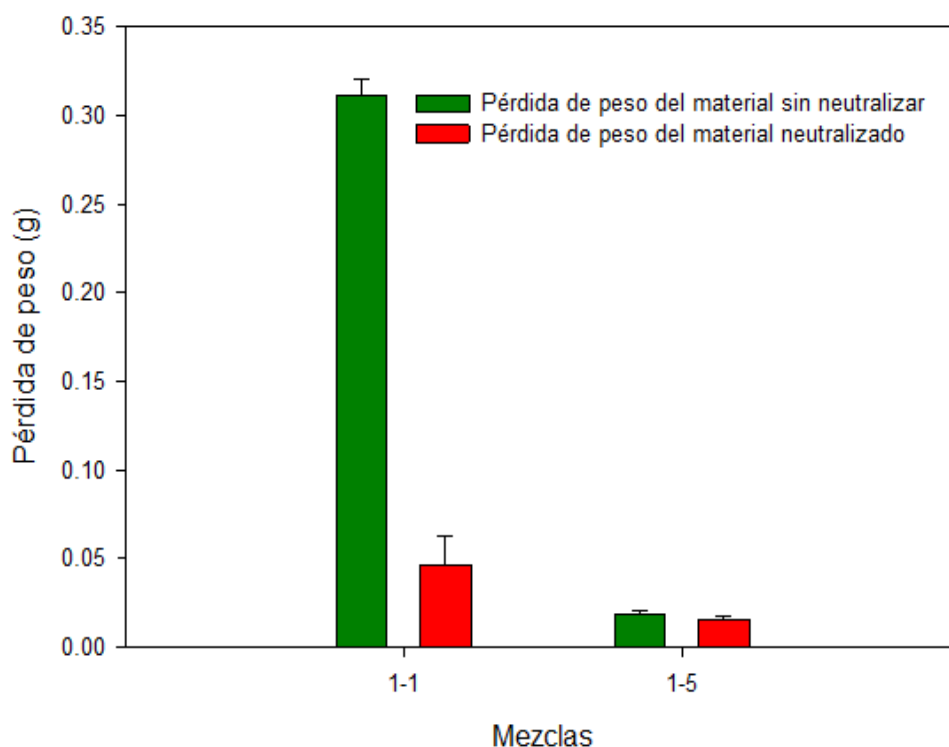
**Figura 20.** Evolución de pH en el sistema de adsorción a diferente TRH, para la relación 1:5 a temperatura de  $23 \pm 1$  °C.



**Figura 21.** Evolución de pH en el sistema de adsorción a diferente TRH, para la relación 1:1 a temperatura de  $23 \pm 1$  °C.

En la Figura 20 y 21, se observa el pH a lo largo del estudio de adsorción, en función del tiempo de residencia hidráulica y del tipo de tratamiento del material (neutralizado y no neutralizado), se puede observar que los materiales sin neutralizar, presentaron una caída drástica del pH, pero el material 1:1 presentó

una caída drástica en los primeros tiempos de evaluación, la cual se mantuvo con el incremento del TRH. Respecto al material neutralizado de esta misma relación, sólo se observó una disminución menor de media unidad. Estos resultados experimentales sugirieron que al bajar el pH, se tuvo un efecto negativo en la pérdida de peso del material, como se puede observar en la Figura 22. Sin embargo, para la relación 1:5, se presentó una disminución del pH cercana a la unidad, para ambos materiales, neutralizados y no neutralizados, pero la baja de pH no afectó la pérdida de peso del material.

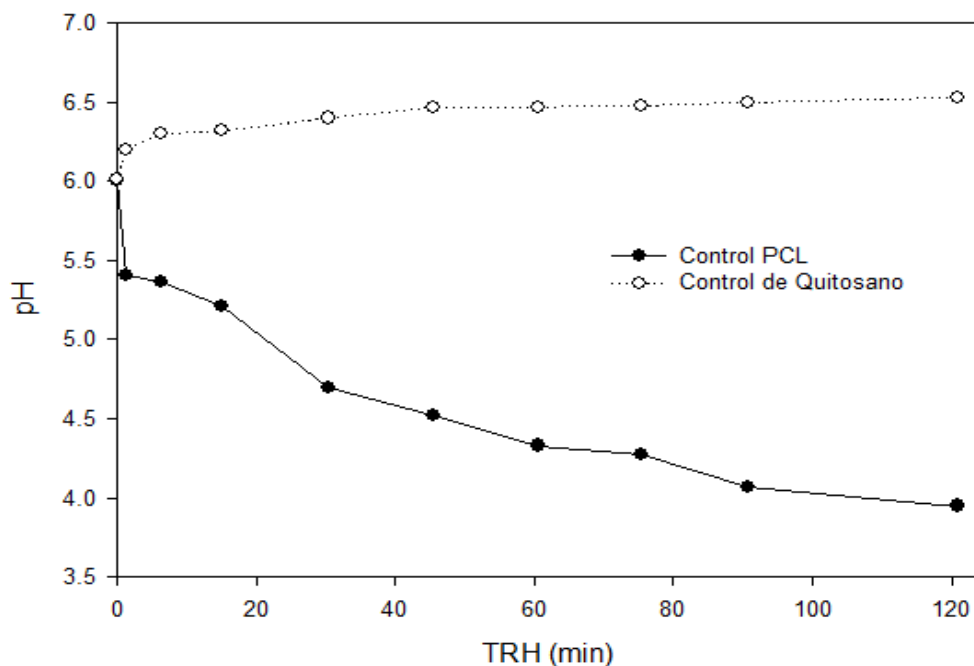


**Figura 22.** Pérdida de peso en las relaciones 1:1 y 1:5, por efecto de la acidez de los materiales evaluados después del tratamiento.

Esta disminución del pH en la relación 1:5 se debe a que la PCL es hidrófoba, pero al encontrarse en condiciones de alta humedad puede ocurrir la hidrólisis en los enlaces éster de los extremos del polímero dando origen al ácido 6-hidroxicaprico, que en el equilibrio se encuentra un pH de 3.8. Para descartar algún efecto o interacción en el pH debida a la solución de nitrato cobre se



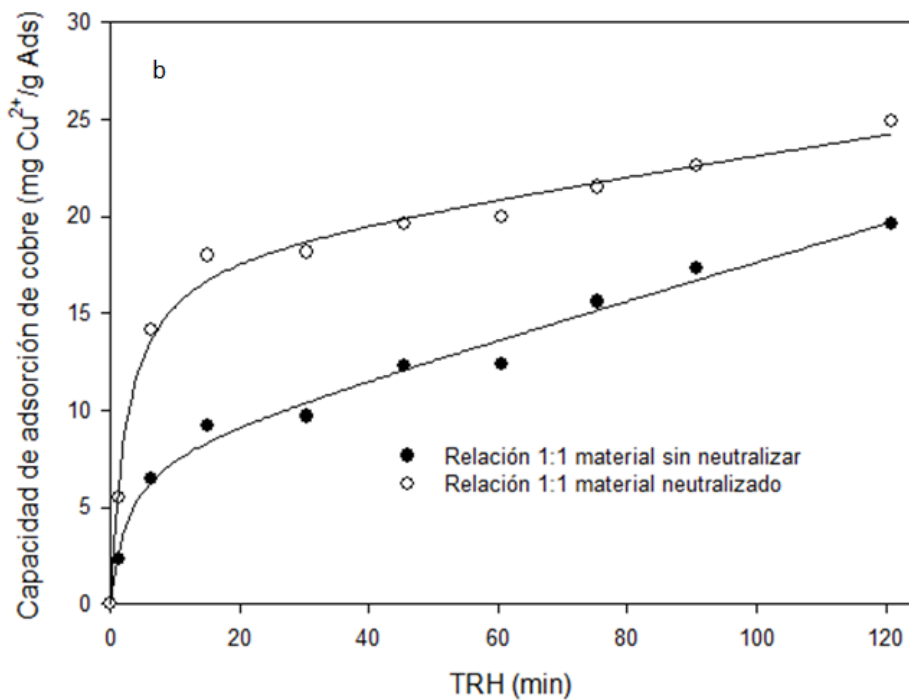
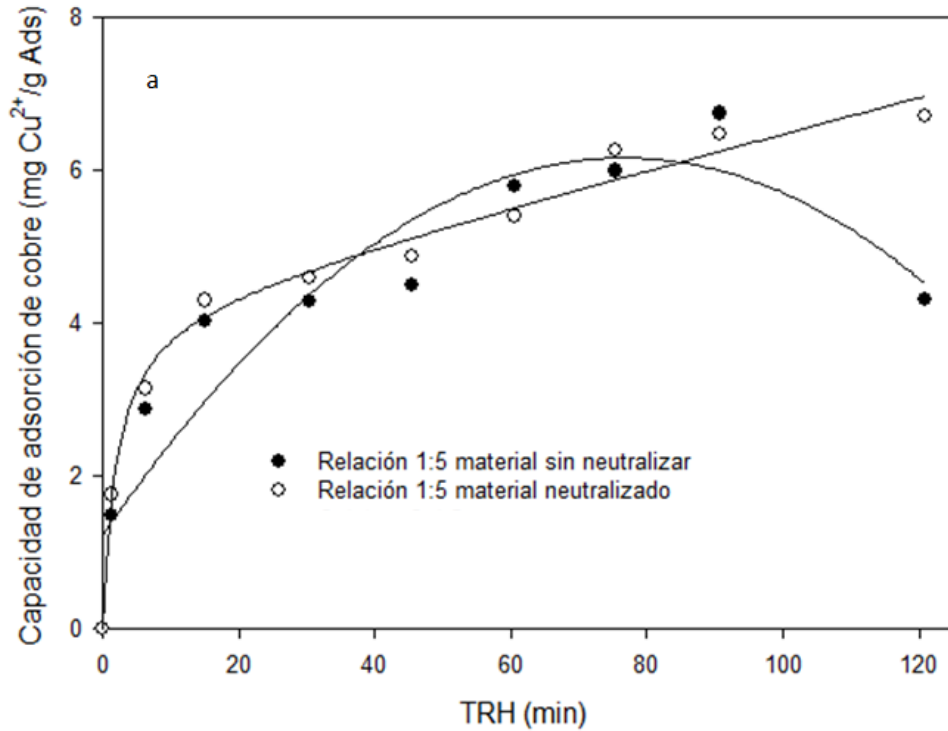
evaluaron los controles con agua desionizada (Figura 23) bajo las mismas condiciones iniciales en el mismo intervalo de tiempo.



**Figura 23.** Efecto del pH en los controles (Ch y PCL) evaluados con agua desionizada para descartar la interacción del nitrato de cobre (II) en el pH.

De forma simultánea se midió la capacidad de adsorción de los materiales en ambas condiciones (neutralizado y sin neutralizar) en donde solo la relación 1:1 presentó un efecto en la adsorción por las condiciones de pH del sistema, como ya se mencionó anteriormente el Ch posee mayor capacidad de adsorción a pH ácidos evaluado en estudios realizados en un sistema batch, cabe destacar que en condiciones ácidas se lleva a cabo un rompimiento de la cadena polimérica por acción del ácido, dando como resultado cadenas poliméricas de menor tamaño y por consiguiente mayor disponibilidad del grupo amino para interaccionar.

Para la relación 1:5 la disminución en la capacidad de adsorción del material sin neutralizar se debe a la mayor interacción de protones con el grupo amino del quitosano que se encuentra en menor cantidad en relación al termoplástico. (Figura 24).



**Figura 24.** a) Isotherma de la capacidad de adsorción de las relaciones 1:5 y b) Isotherma de la capacidad de adsorción de las relaciones 1:1; ambos en un sistema continuo.

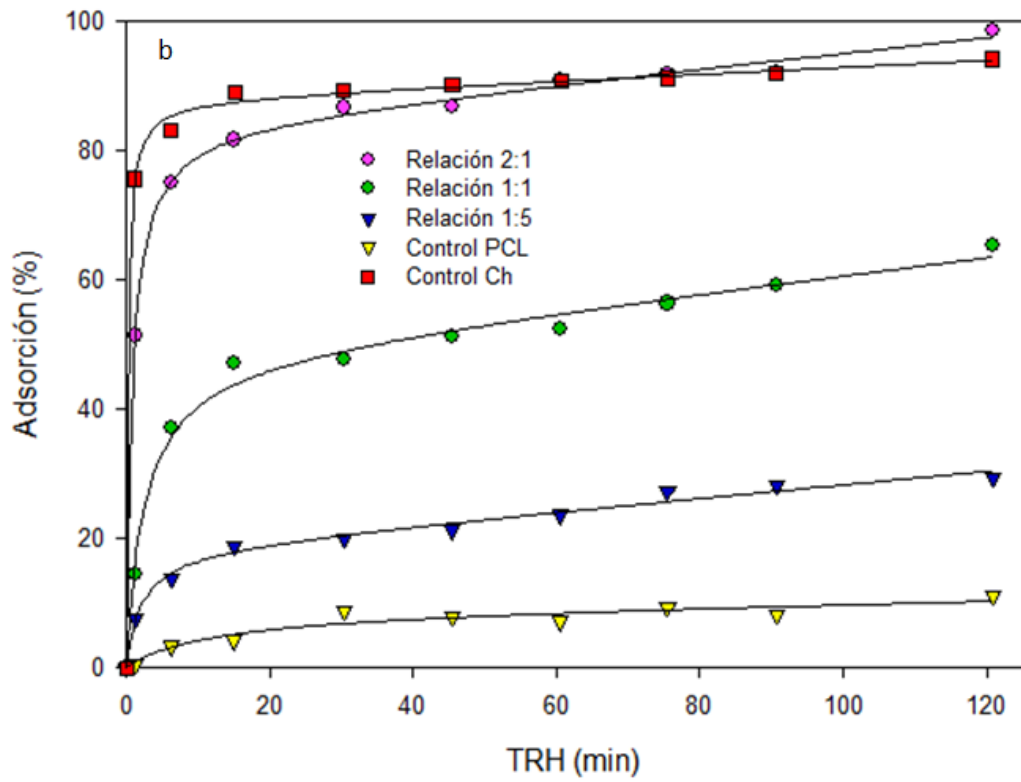
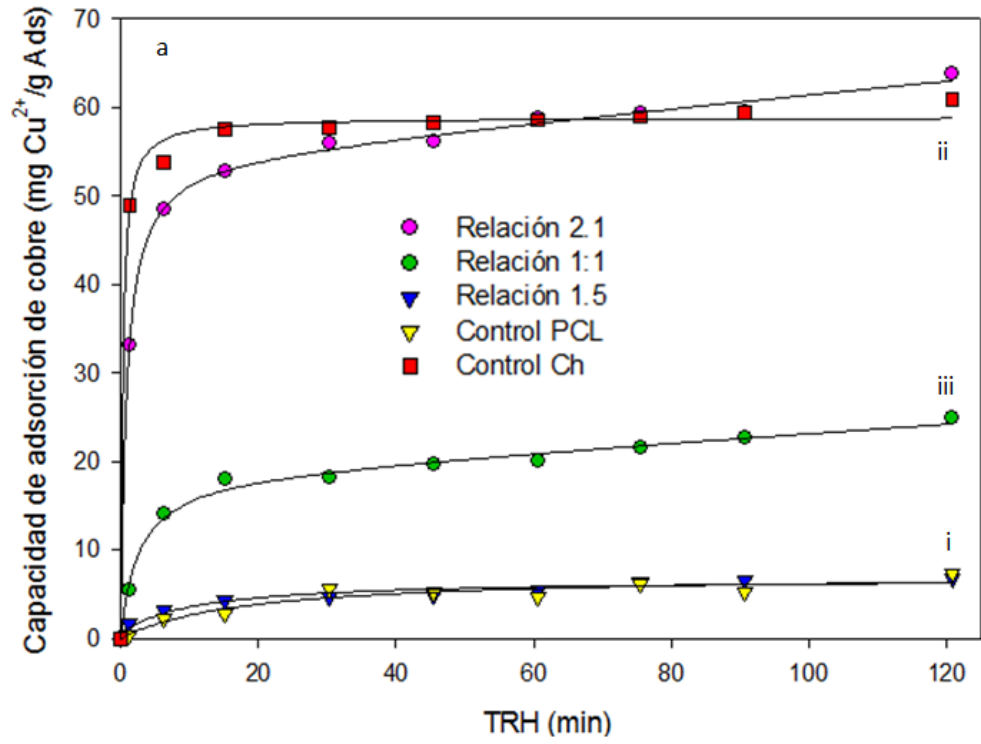
Como ya se mencionó anteriormente cuando el pH es ácido hay una cantidad de protones en el medio que compiten con los iones metálicos por la

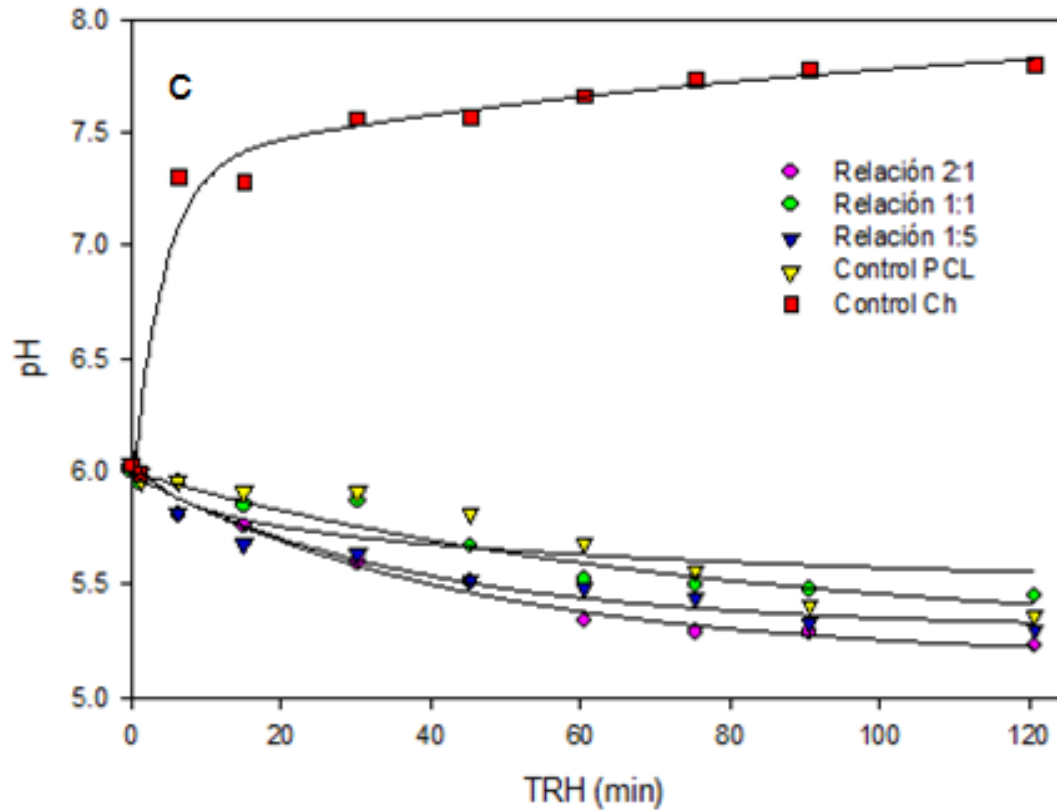
interacción con los grupos aminos, los protones al tener carga monovalente solo pueden interactuar con un grupo amino, en comparación con la carga divalente de los metales, que requieren una interacción con dos grupos aminos, teniendo como resultado una competencia no deseada para el sistema evaluado, por lo tanto, los materiales fueron neutralizados para el resto del estudio.

#### **7.2.4. Isotherma de adsorción y capacidad de adsorción en las relaciones**

Una vez neutralizados los materiales fueron utilizados para determinar las isotermas y capacidad de adsorción, los controles de quitosano y la PCL se evaluaron a las mismas condiciones (Figura 25). En la Figura 25a, se muestra la isoterma de la capacidad de adsorción promedio de  $\text{Cu}^{2+}$  de la PCL, cuyo valor máximo experimental fue de 7.24 mg  $\text{Cu}^{2+}$ /g Ads a un TRH de 2 h, realizando la respectiva comparación con los materiales Ch: PCL y Ch.

La capacidad de adsorción de la PCL se debe a que el oxígeno del grupo éster tiene pares de electrones al igual que los grupos hidroxilos de los extremos, otorgándole una carga parcial negativa que permite realizar una interacción iónica con el  $\text{Cu}^{2+}$ . Este resultado es relevante y novedoso, ya que no está reportado que la PCL contribuya positivamente en la adsorción. Esta observación se refuerza al comparar las isotermas de las relaciones 2:1 y el control de quitosano, que poseen una capacidad de adsorción semejante.





**Figura 25.** (a) Isotermas de adsorción de las diferentes relaciones; (b) Perfil de porcentajes de adsorción de las diferentes relaciones; c) perfiles de pH

Se realizó un análisis estadístico de comparación de medias con la prueba de Duncan (Ver anexo 1.4), para determinar si hay diferencias significativa entre las capacidades y el porcentaje de adsorción de cobre en los materiales, siendo representativo la agrupación de 3 grupos; i) la relación 1:5 y el control de PCL, ii) 2:1 y el control de quitosano y iii) relación 1:1 (Figura 25a). Es importante destacar que para las relaciones 1:5 y el control de PCL, sus isotermas de adsorción poseen un comportamiento semejante producido por la PCL, más que por el Ch (relación 1:5).

Por otra parte, al evaluar los tratamientos por su porcentaje de adsorción, podemos ver que el grupo de la relación 1:5 y el control de PCL se separan siendo diferentes entre ellos tal como se muestra en la Figura 25b, la relación 1:5 es

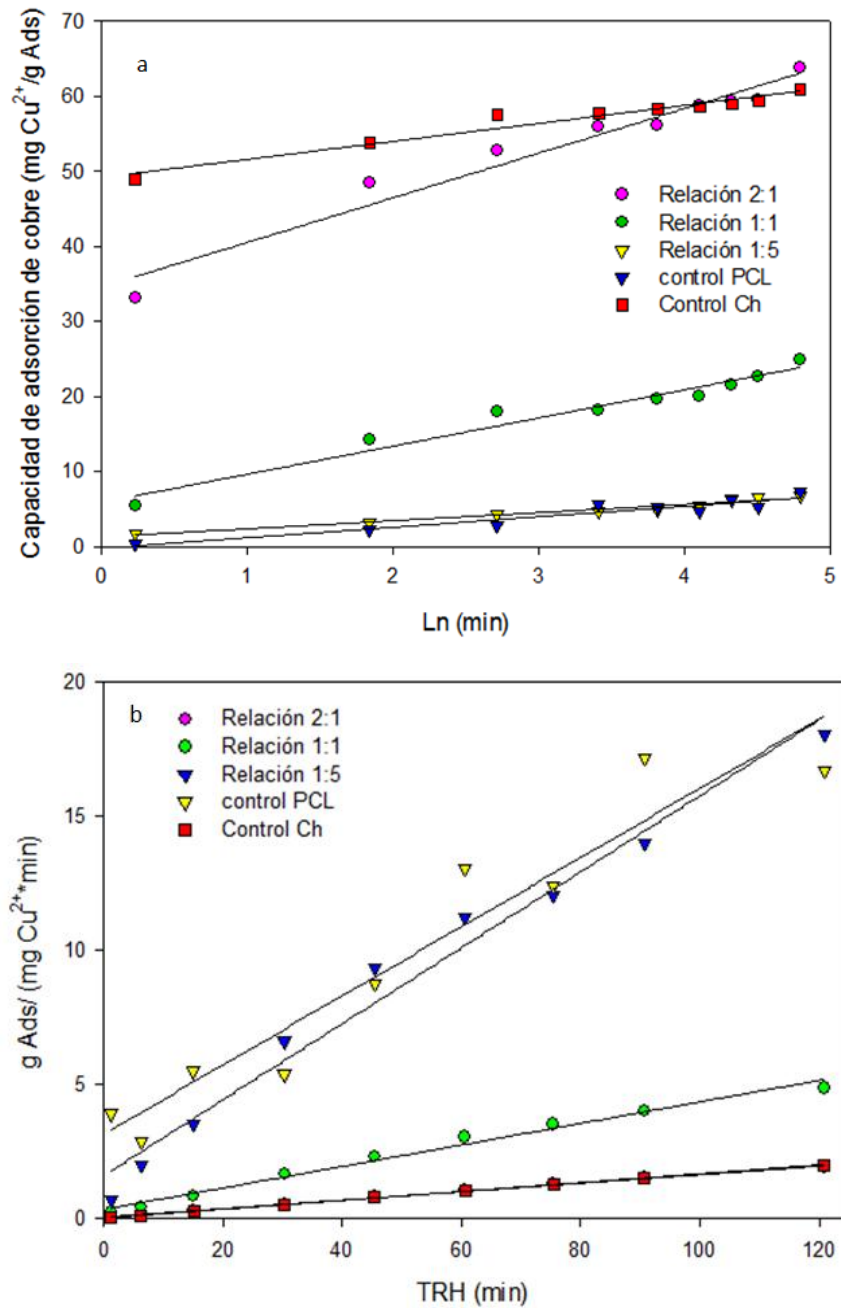
mayor al control, debido a que los pesos de las mezclas cambian para un mismo volumen de trabajo.

En la Figura 25c se observan los perfiles de pH para cada material a los diferentes TRH evaluados, como se observa en la figura no hay diferencia significativa en los materiales 2:1, 1:1 y 1:5 junto con el control de PCL a excepción del control de Ch que presenta un incremento del pH.

#### **7.2.5. Evaluación de los modelos de Elovich y pseudo 2° orden**

Los perfiles de las isothermas de adsorción se ajustaron al modelo de Elovich y al modelo de Pseudo 2° orden, con la finalidad de obtener parámetros cinéticos de adsorción. En la Figura 26, se presentan los ajustes lineales para ambos modelos, obteniéndose sus respectivos coeficientes de correlación ( $R^2$ ), para la mayoría de los tratamientos para el modelo de pseudo 2° orden el ajuste es del 0.99, esto quiere decir que el modelo explica el 99% de los datos experimentales que en cambio para el modelo de Elovich solo explica el 95% de los resultados experimentales para la mayoría de los tratamientos. Por lo que se decidió trabajar con el modelo de pseudo 2° orden.

El material que presentó la mayor capacidad de adsorción ( $q_e$ ) ajustada por el modelo de pseudo 2° orden es la relación 2:1 semejante al control de Ch. Esta relación (2:1) presentó una capacidad un ligeramente mayor al control, debido a la presencia de la PCL que como ya se menciono éste favorece la adsorción, y la ventaja de brindarle una mejor resistencia y estabilidad física que el puro Ch.



**Figura 26.** (a) Modelo Lineal de Elovich para sistemas continuos; (b) Modelo pseudo 2° orden para sistemas continuos

Como se puede observar en la Figura 26, los ajustes para el quitosano y la relación 2:1 quedan sobrepuestas, este resultado es adecuado, puesto que al tener una capacidad semejante, los costos de producción pueden disminuir ya que se podrá requerir menor quitosano y mayor resistencia, en caso opuesto para la

relación 1:5 y PCL los ajusten son muy semejantes dado que este material tiene la menor capacidad de remoción de los tres materiales evaluados.

Como se puede observar en la Tabla 6 la capacidad de adsorción ajustada para el quitosano es de 60.606 mg Cu<sup>2+</sup>/g Ads comparado con la relación 2:1 que posee un valor de 63.293 mg Cu<sup>2+</sup>/g Ads.

No obstante, la relación 2:1 presentó una mayor velocidad de adsorción (h) de 52.02 mg Cu<sup>2+</sup>/g Ads \*min con respecto a los demás tratamientos, siendo 2.7 veces más rápido, con respecto al Ch que tiene una velocidad de adsorción de 19.01 mg Cu<sup>2+</sup>/g Ads \*min

**Tabla 6.** Parámetros cinéticos de adsorción obtenidos por el modelo de Elovich y pseudo 2° orden

Material		2:1	1:1	1:5	PCL	Ch
Pseudo 2° orden	R <sup>2</sup>	0.998	0.986	0.980	0.922	0.999
	q <sub>e</sub> (mg Cu <sup>2+</sup> /g Ads)	63.291	24.937	7.062	7.758	60.606
	k (g Ads/mg Cu <sup>2+</sup> *min)	0.0047	0.0047	0.1416	0.0053	0.0139
	h (mg Cu <sup>2+</sup> /g Ads *min)	19.011	2.951	7.062	0.318	51.020
Elovich	R <sup>2</sup>	0.956	0.957	0.959	0.895	0.951
	α (mg Cu <sup>2+</sup> /g Abs *min)	2002.3	17.907	3.480	1.342	1.99 E+09
	β (g Ads/ mg Cu <sup>2+</sup> )	0.168	0.266	0.717	0.928	0.417

q<sub>e</sub> =Capacidad de Adsorción en el equilibrio

k =Constante de adsorción en el equilibrio

h =Velocidad inicial de Adsorción para el modelo de pseudo 2° orden

α= Velocidad inicial de Adsorción para el modelo de Elovich

β =Constante de desorción

1.79E+01 3.4  
1.7907E+01 3.4



En la Tabla 7 se presentan las ecuaciones con las constantes estimadas por el modelo de pseudo 2° orden para cada material obtenido que explica el 99% de los datos experimentales para cada material (las 3 matrices y los 2 controles).

**Tabla 7.** Modelo pseudo 2° orden con los valores específicos para cada material.

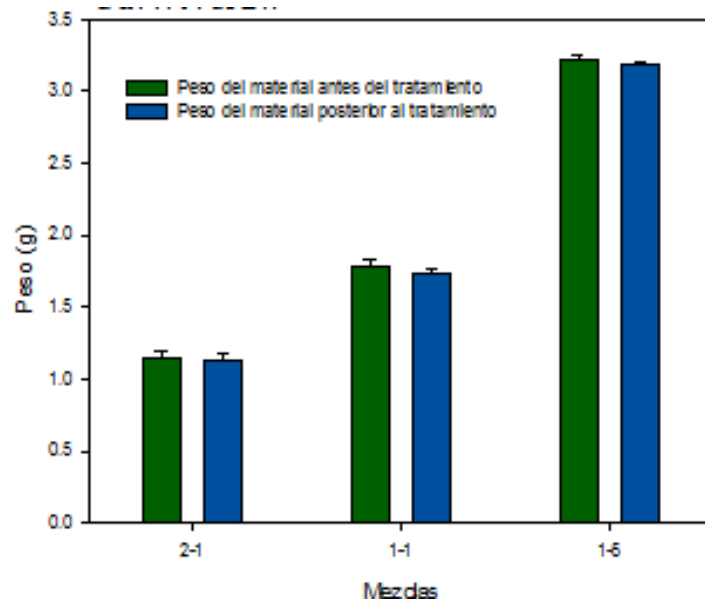
Material	Ecuación particular
2:1	$q = \frac{TRH}{0.0526 + \frac{TRH}{63.2911}}$
1:1	$q = \frac{TRH}{0.3388 + \frac{TRH}{24.9377}}$
1:5	$q = \frac{TRH}{0.1416 + \frac{TRH}{7.0621}}$
Control PCL	$q = \frac{TRH}{3.1405 + \frac{TRH}{7.7580}}$
Control Ch	$q = \frac{TRH}{0.0196 + \frac{TRH}{60.606}}$

### 7.2.6. Evaluación de la Capacidad de Adsorción de cobre (Cu<sup>2+</sup>) para cada relación a un TRH de 2 h y la pérdida de peso.

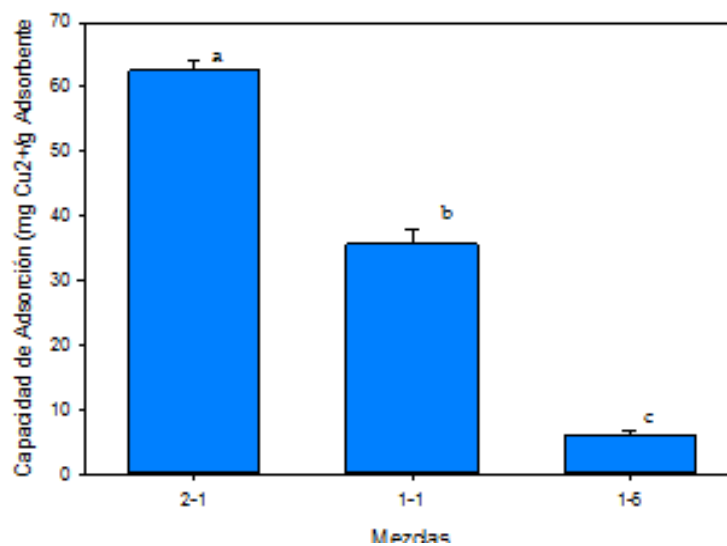
Para comparar las capacidades de adsorción de los materiales con los descritos en la literatura se tomó un TRH de 2 h, los resultados experimentales evaluados a este tiempo corroboran que la mejor relación evaluada es la 2:1, con una capacidad de adsorción promedio experimental de 62.5 ±1.6 mg Cu<sup>2+</sup>/g de ads con un porcentaje de remoción del 99.16 ±0.1%, mayor a las relaciones 1:1 y 1:5, comprobando que no hay diferencia significativa en la pérdida de peso en los materiales para cada tratamiento mostrados en la Tabla 8 y la Figura 27.

**Tabla 8.** Capacidad de adsorción a las 2 h de tiempo de contacto

Relación Ch-PCL	Eficiencia de adsorción (%)
2:1	99.16
1:1	88.01
5:1	26.44
Control Quitosano	98.62
Control PCL	11.21



a.

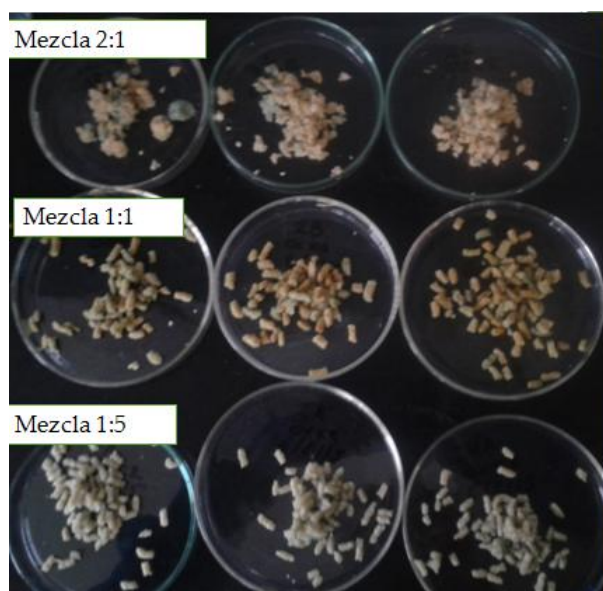


b.

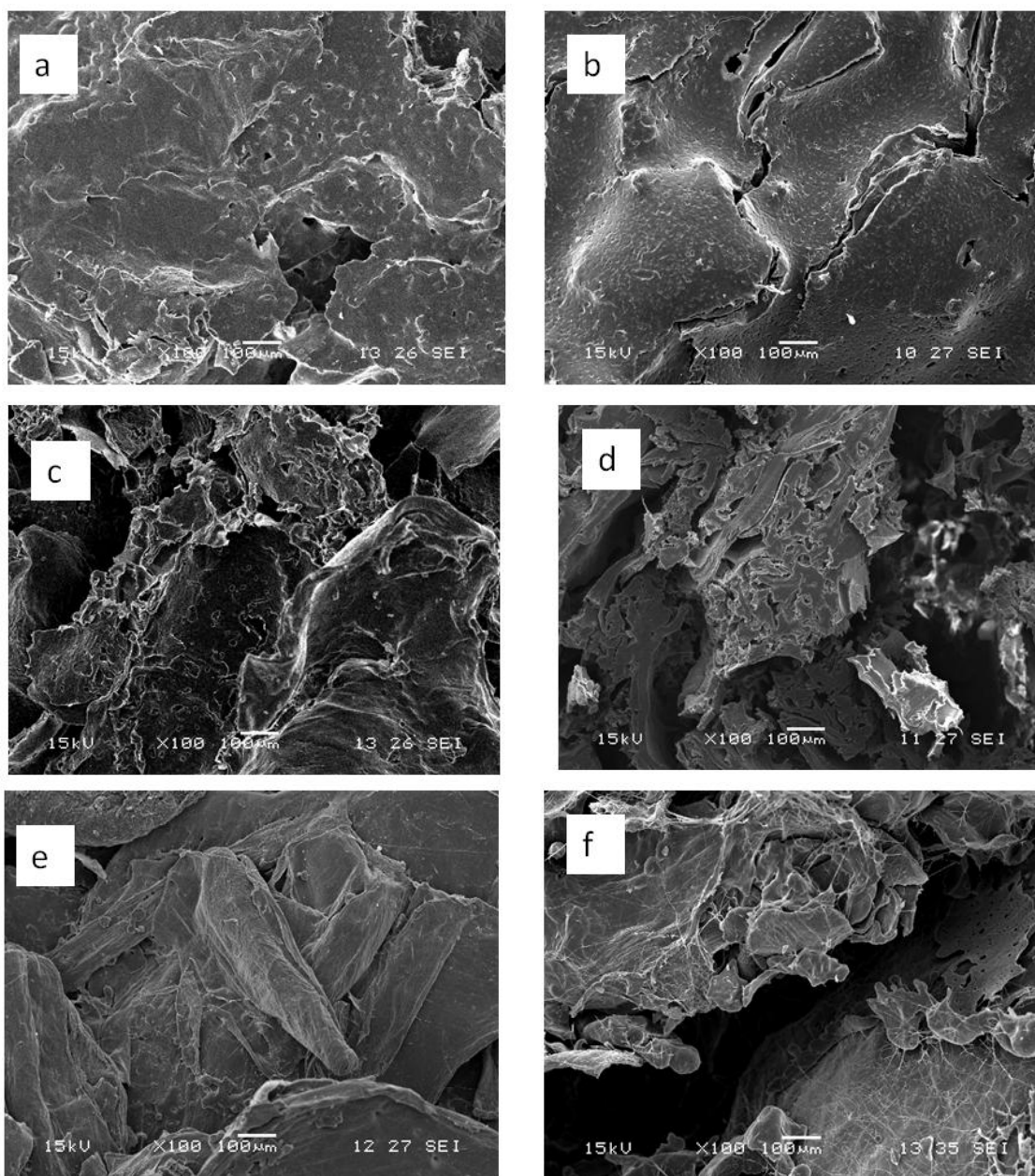
**Figura 27.** a) Pérdida de peso de los materiales antes y después del tratamiento a un TRH de 2 h; b) Capacidad de adsorción de los materiales a las 2 h de contacto

En la Figura 28 se muestran los materiales al finalizar el tiempo de contacto con la solución de cobre, se corroboró que se llevó a cabo la interacción iónica entre el cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) y el Ch, debido a que el material presentó una coloración azul, como se muestra en la Figura esta ligera coloración azul con mayor intensidad en la muestra de la relación 2:1, que en la 1:1 y 1:5 se debe a presencia del cobre.

Esta observación nos permite decir que hay una interacción entre el material y el metal, se observan secciones donde no hay coloración azul, que puede indicar de que el material no ha llegado a su capacidad de adsorción. Como se observa en las micrografías (SEM) de la relación 1:5, 1:1 y 2:1 mostrados en la Figura 29 a 100x magnificaciones antes y después del tratamiento, se puede observar que en la morfología estructural el PCL cumple la función de recubrimiento en las escamas de quitosano, que a medida de que este va en aumento le confiere una mayor estabilidad disminuyendo el área de contacto del quitosano y la porosidad del material, además de presentar un ligero deterioro posterior al contacto con la solución de cobre.



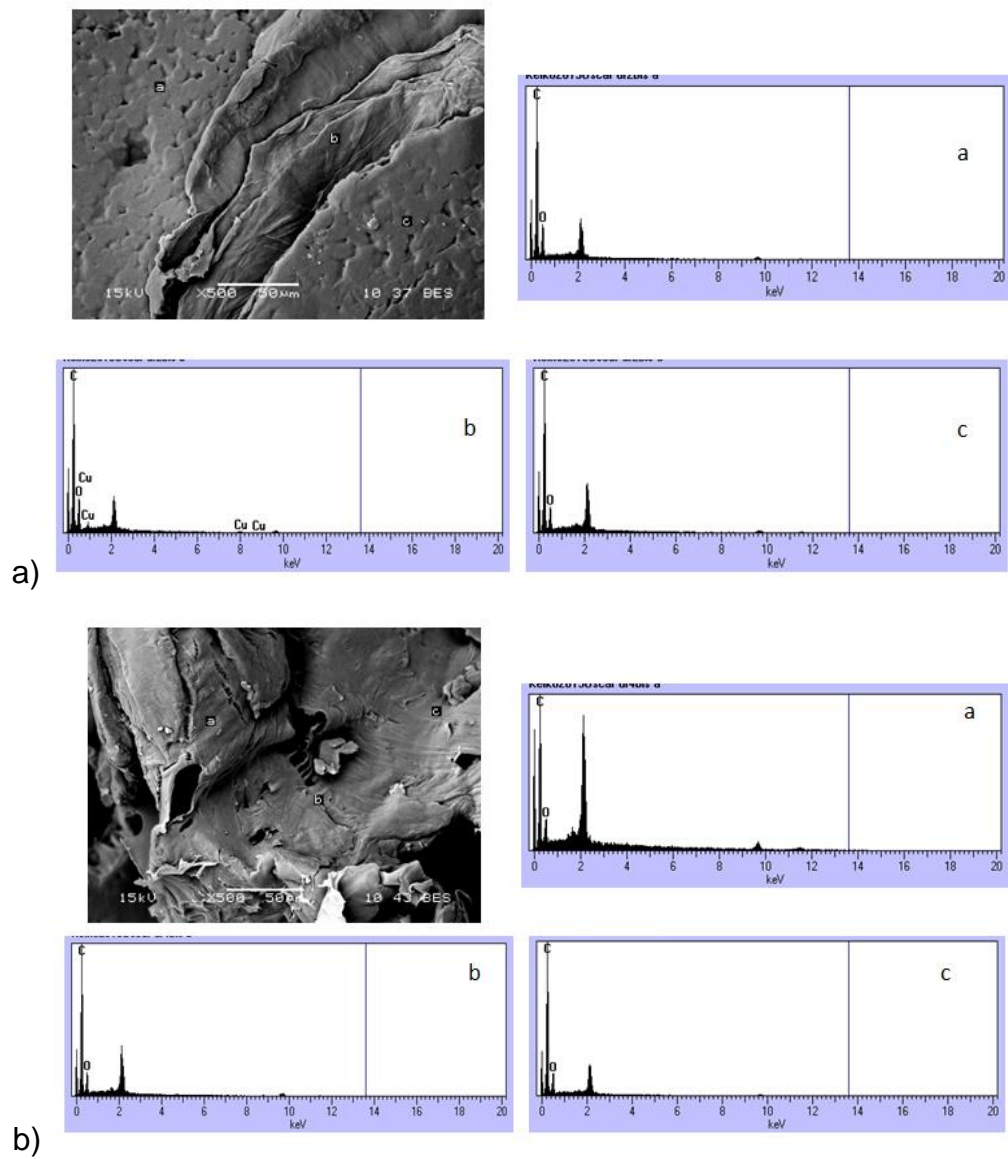
**Figura 28.** Relaciones de los polímeros después de un TRH de 2 h, en donde se observan la estructura física de los materiales.

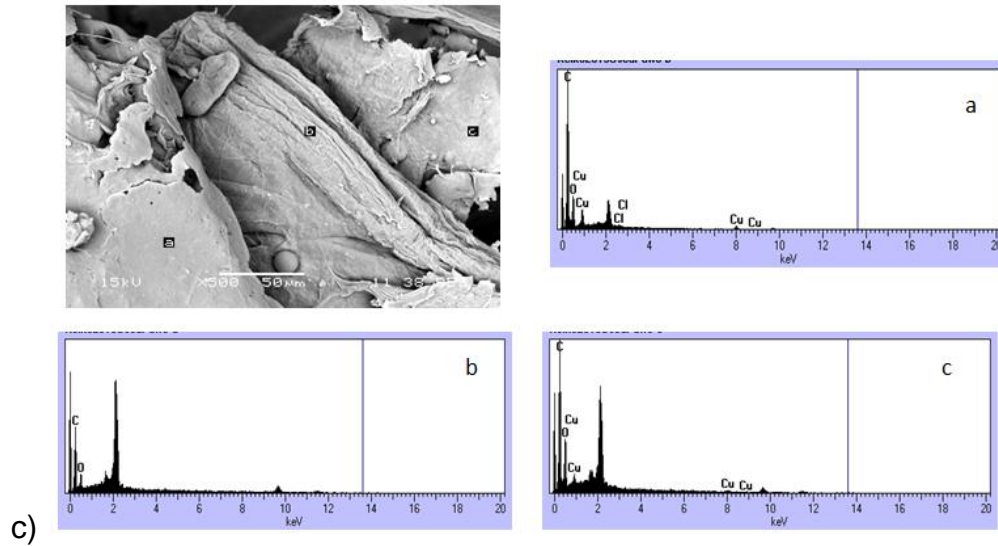


**Figura 29.** Micrografías obtenidas en SEM de los materiales. (a) Relación de 1: 5 (Ch: PCL) antes del tratamiento; (b) relación de 1: 5 (Ch: PCL) después del tratamiento a las 2h; (c) proporción de 1: 1 (Ch: PCL) antes del tratamiento; (d) relación de 1: 1 (Ch: PCL) después del tratamiento; e) Relación de 2: 1 (Ch: PCL) antes del tratamiento; f) Relación de 1: 5 (Ch: PCL) después del tratamiento.

Para corroborar la adsorción del  $\text{Cu}^{2+}$  en los materiales posterior al tratamiento se realizó el análisis elemental (EDS). El análisis se realizó en forma

aleatoria en las muestras con el que se observó que el metal se encuentra adsorbido en las zonas superficiales donde está presente el quitosano, mientras que en regiones donde se observa la PCL, no se identificó el cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ). Cabe mencionar que este análisis nos da información acerca de que aun no se llega al punto de saturación del material, al tener señales de cobre débiles que representan entre el 1 y el 3% del total de los elementos para cada material en los puntos específicos evaluados. (Figura 30).

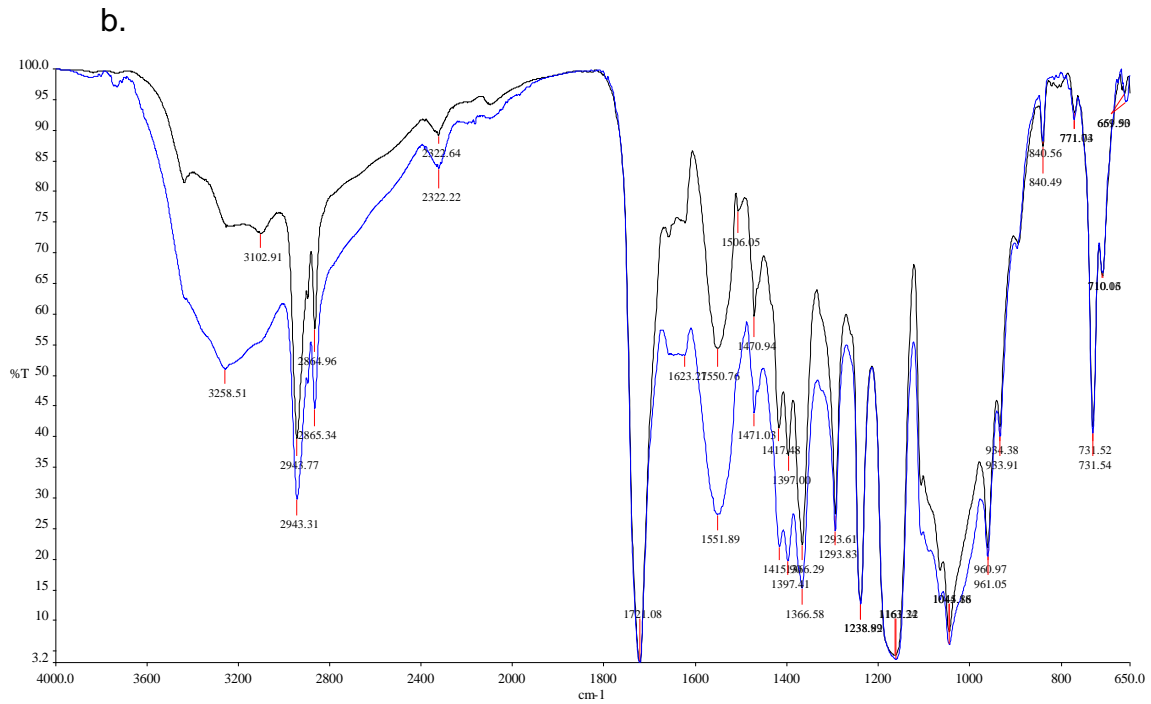
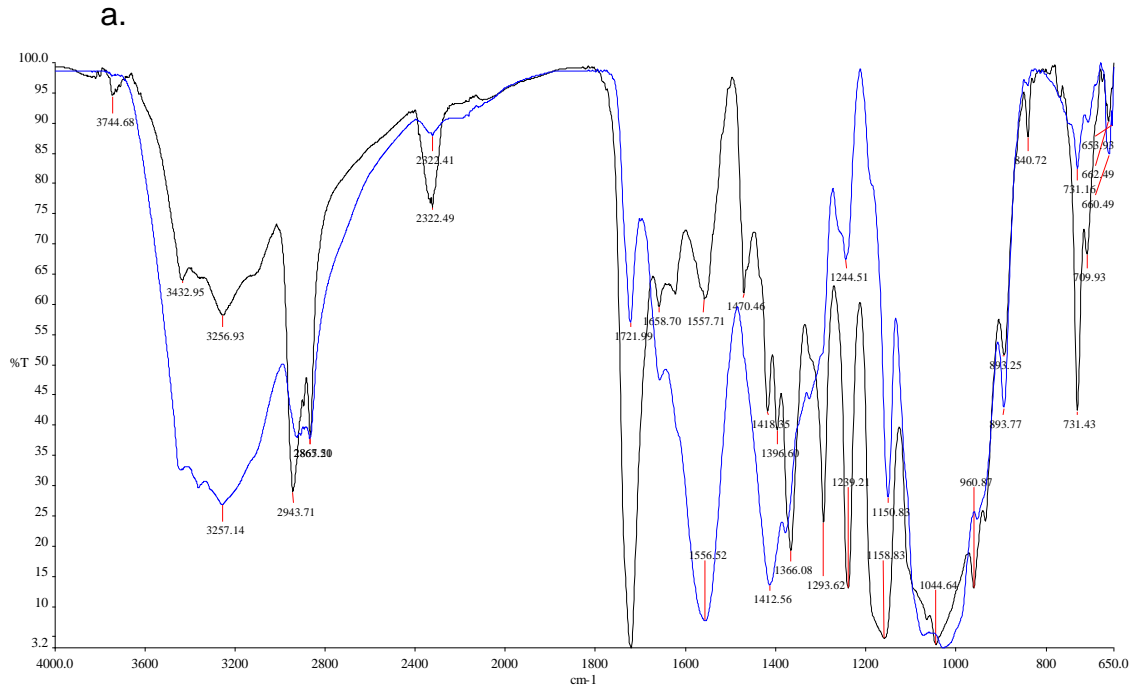


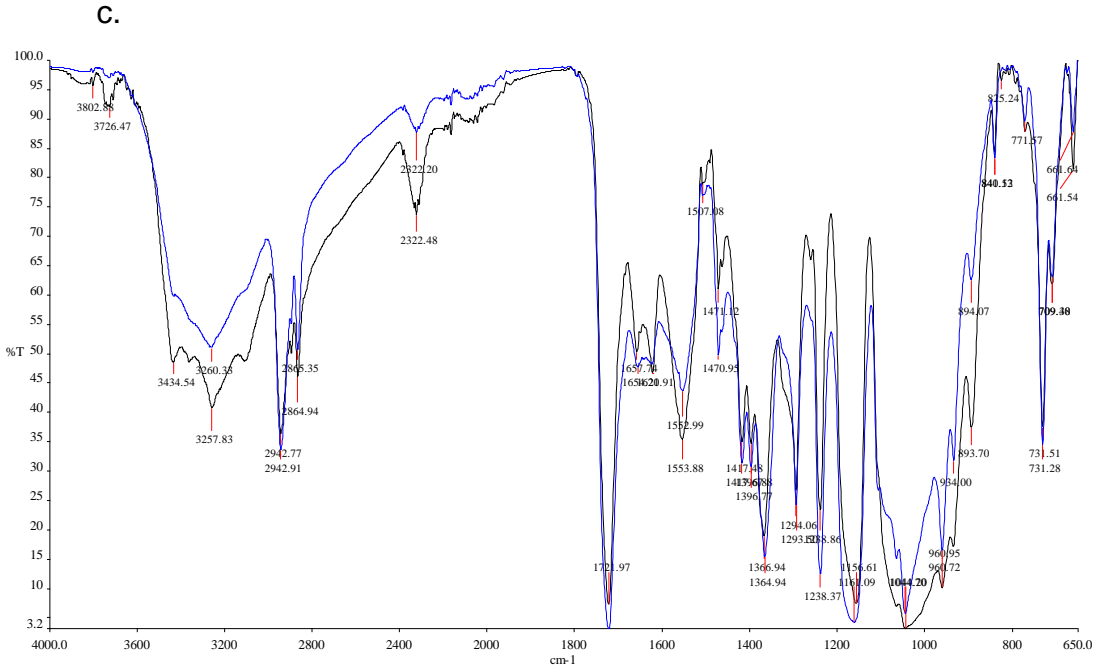


**Figura 30.** Análisis elemental EDS de los tres materiales en donde se observa que en las zonas evaluadas donde está presente la PCL no hay presencia de cobre, solo en las regiones descubiertas de quitosano, no se aprecia el cobre en el material 1:1, puesto que en análisis fue aleatorio y se encontraba en una región alta en PCL; a) Relación 1:5, b) Relación 1:1 y c) relación 2:1.

Dado la evidencia cualitativa presentada en las Figuras 28, 29 y 30, se llevó a cabo el análisis de las muestras por espectroscopia de infrarrojo para confirmar de forma cualitativa el efecto de adsorción. En la Figura 31, se observan que las bandas características del Ch en las longitudes  $1621$  y  $1553\text{ cm}^{-1}$  corresponden al grupo amino, y la región  $3200\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al grupo hidroxilo de los materiales antes y después del tratamiento.

Los resultados mostraron una disminución en estas intensidades para cada material posterior al tratamiento, esto se debe a que al haber una interacción entre el cobre con los grupos aminos o hidroxilos provoca un menor movimiento vibracional, siendo que a mayor adsorción y menos disponibilidad de grupos aminos libres la intensidad de los picos de estos grupos disminuye.





**Figura 31.** (a) espectro IR de Ch-PCL 2:1 antes del tratamiento (línea de azul) y el Ch-PCL después del contacto con el cobre en solución (línea negro); (b) Espectro de IR de la relación 1:1 (línea azul) y el Ch-PCL después del contacto con el cobre en solución (línea negro);(c) espectro IR de Ch-PCL (1:5) (línea de azul) y el Ch-PCL después del contacto con el cobre en solución (línea negro)

En la Tabla 9, se muestran algunos estudios de remoción de cobre en los cuales se usó quitosano químico solo o combinado, utilizando en sistema batch o continuo, en el presente trabajo a diferencia de autores descritos en la Tabla 9 el quitosano utilizado fue obtenido mediante un método biológico-químico y PCL fue obtenida enzimáticamente, además de ser una matriz 100% biodegradables.

**Tabla 9.** Tabla comparativa de remoción de cobre utilizando quitosano

Autor	Materiales	Relación de Materiales	Sistema	Tiempo de Contacto (h)	pH	mg Cu <sup>2+</sup> /L inicial	mg Cu <sup>2+</sup> /g Ads	% Ads.
Yoshida et al. 1995	Quitosano	-	-	-	6	-	84.0	-
Popuri et	Quitosano	1:2	continuo	2	4-5	100-	89.9	-



al. 2009	PVC					500			
Morales et al. 2011	Quitosano Bentonita	-	continuo	24	7	500	14.92	-	
Wan et al. 2011	Quitosano zeolita	-	continuo	1	3	40	19.188	47.97	
Wei et al. 2013	Quitosano Lodos	5:100	Batch	2	3-4	100-2000	18.83	-	
Presente Trabajo 2015	Quitosano PCL	1:5	continuo	2	6	70	5.93	26.44	
		1:1					35.63	88.01	
		2:1					62.50	99.16	
	Control Quitosano	-		2			6	99.93	98.62
	Control PCL	-		2			6	1.628	11.21

Existen diversos factores que afectan la adsorción del cobre tales como el tipo de quitosano, el %DA, la relación de los polímeros, concentración inicial de cobre evaluado, sistema batch o en continuo, pH, temperatura entre otros. En la Tabla 9 se resumen los estudios realizados con materiales basados en quitosano, en donde se puede comparar los materiales preparados en este estudio con otros trabajos previos. La relación 2:1 presenta un 30% menos capacidad de adsorción que lo publicado por Popuri et al. (2009), sin embargo el material preparado en este estudio es biodegradable a diferencia del preparado por esos autores. Asimismo, la mezcla de Ch: PCL posee un 70% de su capacidad de adsorción que la determinada por Wan *et al.* (2011) y Wei *et al.* (2013).

Considerando el TRH de 2 h para comprar la capacidad de adsorción de los materiales con los mejores tiempos de adsorción de los trabajos que se han publicado y evaluando las isothermas de adsorción se determinó que los materiales de Ch: PCL entran en estado estacionario a partir de un TRH de 1 h, por lo que se puede disminuir el TRH.

## 8. Conclusiones

Las mezclas de Ch biológico-químico y PCL enzimática son completamente biodegradables y de bajo impacto ambiental comparado con las resinas de intercambio iónico, carbón activado y sales de aluminio que no son biodegradables utilizados para remoción de metales y otros contaminantes del agua.

El material de Ch y PCL que presento mayor capacidad de remoción de  $\text{Cu}^{2+}$  es la relación 2:1 con un valor promedio experimental de  $62.5 \pm 1.6$  mg  $\text{Cu}^{2+}$ /g de Ads con un porcentaje de remoción del  $99.16 \pm 0.1\%$  a un TRH de 2 h con un pH inicial de 6, cumpliendo con la NOM-001- SEMARNAT-1996.

La PCL favoreció la Adsorción de cobre en las mezclas, con el efecto negativo del producto de la hidrólisis del polímero que disminuye el pH, que es amortiguado por el nitrato de la solución de cobre y del quitosano de las mezclas.

No hay diferencia significativa en la disminución del pH de las mezclas, ni la pérdida de peso del material.

## 9. Bibliografía

1. Ann Woodruff M. and Werner Hutmacher D. (2010). The return of a forgotten polymer- Polycaprolactone in the 21<sup>st</sup> century. *Progress in Polymer Science* 35, 1217-1256.
2. Barceló Quintal I. D., Bussy Beaurain A. L., Solís Correa H., Allende Abreu I., González Cortés C. (2000). Caracterización y comportamiento como secuestrante de metales del sedimento superficial de la presa Jose Antonio Alzate, México. XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental.
3. Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F.M., Argüelles-Monal W., Desbrières J. y Rinaudo M. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer* 42. 3569-3580.
4. C. K. S. Pillai, Willi P. y Chandra P. S. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science* 34, 641-678.
5. Chen D.R., Bei J.Z., Wang S.G. (2000). Polycaprolactone microparticles and their biodegradation. *Polymer Degradation and Stability* 67: 455-459.
6. Chin-San W. (2005). A comparison of the structure, thermal properties, and biodegradability of polycaprolactone/chitosan and acrylic acid grafted polycaprolactone/chitosan. *Polymer* 46: 147-155.
7. Corona I. (2011). Síntesis y caracterización de las propiedades mecánicas y antifúngicas de las películas de quitosano-co-cítrico. Tesis para la obtención de título de Química en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química.

8. Corona I. (2013). Síntesis y caracterización fisicoquímica de un andamio celular a base de quitosano biológico-químico y colágena tipo I. Tesis de maestría en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.
9. Cruz-Guzmán M., Celis R., Hermosin M.C., Cornejo J. (2002). Adsorción-Desorción de los metales pesados Pb (II), Hg (II) por modelos de partículas coloidales en suelos. La investigación de arcillas en geología, agricultura, medio ambiente y ciencia de materiales. 173-176.
10. Davila-Rodriguez J. L., Escobar-Barrios V. A., Shirai K. y Rangel-Méndez J. R. (2009). Synthesis of chitin-based biocomposite for water treatment: Optimization for Fluoride removal.
11. Duarte M.L., Ferreira M.C., Marvão M.R. y Rocha João. (2002) An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy. International Journal of Biological Macromolecules 31. 1-8.
12. Fenglian F., Qi W. (2011). Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. Journal of Environmental Management 92: 407-418.
13. Gaetke L. M. y Chow C. K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. Toxicology 189: 147-/163.
14. García-Arrazola R., Gimeno M., Bárzana E. (2007). Use of Liquid 1, 1, 1, 2-Tetrafluoroethane as Solvent Media for Enzyme-Catalyzed Ring-Opening Polymerization of Lactones. Macromolecules 40, 4119-4120.
15. García-Arrazola R., Gimeno M., Bárzana E. (2008). Effect of the initial water activity on the yields and molecular weights of the lipase-catalysed synthesis of aliphatic polyesters in low pressure liquid R-134a. e-Polymers no. 019.

16. Huang L., Allen E. y Tonelli A. (1998). Study of the inclusion compounds formed between  $\alpha$ -cyclodextrin and high molecular weight poly(ethylene oxide) and poly( $\epsilon$ - caprolactone). *Polvmer Vol*, 39 No. 20. 4857-4865
17. Jian-Ping W., Yong-Zhen C., Shi-Jie Y., Guo-Ping Sheng, Han-Qing Y. (2009). Synthesis and characterization of a novel cationic chitosan-based flocculant with a high water-solubility for pulp mill wastewater treatment. *Water research* 43: 5267-5275.
18. Juárez, C. (2011). Estudio del uso de enzimas comerciales en la preparación de quitina a partir de desperdicios de camarón. Tesis de especialidad en biotecnología. Universidad Autónoma de Metropolitana – Iztapalapa.
19. Kavianinia I., Plieger P. G., Kandile N. G., Harding D. R. K.(2012). Fixed-bed column studies on a modified chitosan hydrogel for detoxification of aqueous solutions from copper (II). *Carbohydrate Polymers* 90: 875– 886.
20. Kobayashi S. (2010). Review. Lipase-catalyzed polyester synthesis- A green polymer chemistry. *Proc. Jpn. Acad., Ser. B* 86: 338-365.
21. Kolybaba M, Tabil L.G, Panigrahi S, Crerar W. J, Powell T, Wang B (2003). Biodegradable Polymers: Past, Present, and Future. The Society for engineering in agricultural, food, and biological systems Paper Number: RRV03-0007.
22. Kumar S. and Ahmadb Z. (2000). *Candida Antartica* as catalyst of Polycaprolactone synthesis: Effect of temperature of solvents. *Proc. of the 5th International Symposium on Design, Operation and Control of Chemical Processes*: 1546-1554.

23. Laksmi S. Nair, Cato T. Laurencin (2007). Biodegradable polymers as biomaterials *Progress in Polymer Science*; 32, 762-798.
24. Lalov Ivo G., Guerginov Illia I., Krysteva Milka A. and Farstsov K. (2000). Treatment of waste water from distilleries with chitosan. *Water Research* 34 (5): 1503-1506.
25. Laus R., Geremias R., Vasconcelos H. L., Laranjeira M. C.M., Fávere Valfredo T. (2007). Reduction of acidity and removal of metal ions from coal mining effluents using chitosan microspheres. *Journal of Hazardous Materials* 149: 471–474.
26. López M. (2013). Síntesis y caracterización de materiales con base de quitosano mediante y desacetilación heterogénea de quitina extraída por un método biológico. Tesis para la obtención del título de Química en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química.
27. Lu Yi-hong, Wei Gen-shuan y Peng Jing. (2004). Radiation Degradation of Chitosan in the Presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Chinese Journal of Polymer Science* Vol. 22. No. 5. 439-444
28. Meng-Wei W., Chan-Ching W., Chien-Min C. (2013). *International Journal Environmental Science and Development*. 4, 5; 545-551.
29. Monier M., Ayad D. M., Abdel-Latif D. A. (2012). Adsorption of Cu (II), Cd (II) and Ni (II) ions by cross-linked magnetic chitosan-2-aminopyridine glyoxal Schiff's base. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 94: 250– 258
30. Pacheco N., Garnica-Gonzalez M., Gimeno M., Bárzana E. T., Stéphane, D. L., and Shirai K. (2011). Structural Characterization of Chitin and Chitosan

Obtained by Biological and Chemical Methods. *Biomacromolecules* 12: 3285-3290.

31. Ramírez-Arreola D. E., Robledo-Ortiz J. R., Moscoso F., Arellano Martín, Rodrigue Denis, González-Núñez Rubén (2011). Film Processability and Properties of Polycaprolactone/Thermoplastic Starch Blends. *Journal of Applied Polymer Science* 123, 179–190.
32. Ramírez-Ramírez J. C., Huerta S., Arias L., Prado A. and Shirai K. (2008). Utilization of Fisheries by-catch and processing wastes for lactic acid fermented silage and evaluation of degree of proteins hydrolysis and in vitro digestibility. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 7 (3): 195-204.
33. Rangel-Méndez J.R., Monroy-Zepeda R., Leyva-Ramos E., Diaz-Flores P.E. y Shirai K.. (2009). Chitosan selectivity for removing cadmium (II), copper (II), and lead (II) from aqueous phase: pH and organic matter effect.
34. Ruiz M.J (2011). Estudio de la contaminación del agua en el meadro del río Lerma en la piedad, Michoacán . Tesis para obtener el grado de licenciatura en biología. Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo.
35. Sahoo Sarmila S., Abhisek, Nanda R., Phani A.R., Nayak P.L. (2010) Synthesis of chitosan–polycaprolactone blend for control delivery of ofloxacin drug.; *Carbohydrate Polymers* 79: 106–113.
36. Sharma R. K., Agrawal M. y Marshall F. M. (2008). Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) contamination of vegetables in urban India: A case study in Varanasi. *Environmental Pollution* 154: 254-263
37. Shigemasa Y., Matsuura H., Sashiwa H. y Saimoto H. (1996). Evaluation of different absorbance ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree

of deacetylation in chitin. *International Journal of Biological Macromolecules* 18: 237-242.

38. Uriu-Adams J. Y. y Keen C. L. (2005). Review Copper, oxidative stress, and human health. *Molecular Aspects of Medicine* 26: 268–298

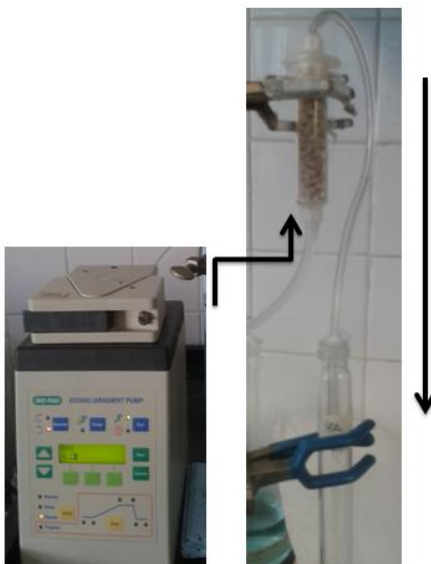
39. Yuwei C. y Jianlong W., (2011). Preparation and characterization of magnetic chitosan nanoparticles and its application for Cu(II) removal. *Chemical Engineering Journal* 168: 286–292.

40. Zeng D., Wu J., Kennedy J. (2008). Application of a chitosan flocculant to water treatment. *Carbohydrate Polymers* 71: 135–139.



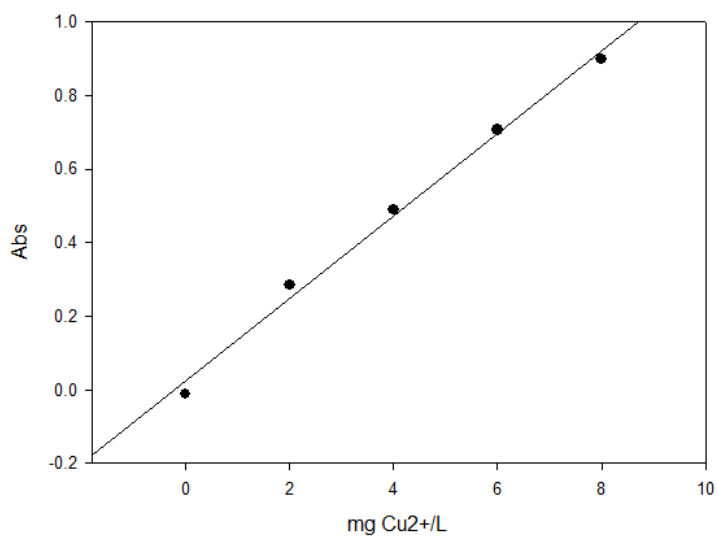
## 10. Anexo I

El esquema de operación en sistema continuo para la evaluación de los materiales se puede ver en la anexo 1.1,

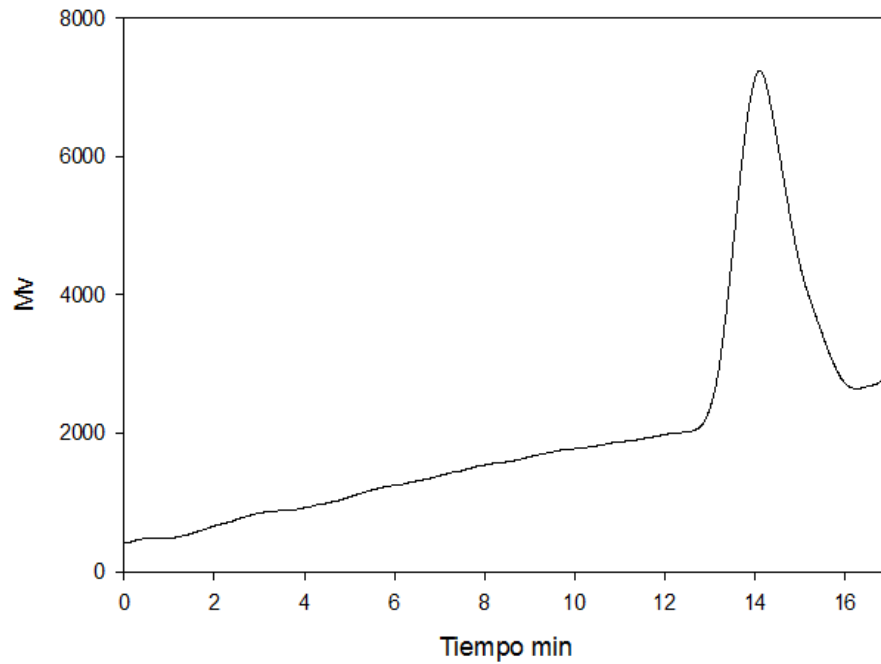


**Anexo 1.1.** Sistema continuo a contragravedad para la evaluación de la capacidad de adsorción de los materiales

A continuación en el anexo 1.2 se muestra la curva patrón utilizada en absorción atómica para la cuantificación de cobre en las soluciones de entrada y de salida.



**Anexo 1.2.** Curva Patrón de ion Cobre para Adsorción Atómica en un rango de 0 a 8 ppm



**Figura 1.3.** Cromatograma de la PCL para la determinación del peso molecular

1.4 Análisis estadístico de las isotermas de los materiales evaluado por su capacidad de adsorción.

Tabla 1. Análisis de Varianzas

Termino	DF ( $\alpha=0.05$ )	Suma de cuadrados	Media de Cuadrados	Proporción- F	Nivel de probabilidad	Poder
Tratamiento	4	22068.05	5517.014	35.52	0.0000*	1.000
Error	45	6990.209	155.338			
Total (ajustado)	49	29058.26				
Total	50					

\*Termino significante a  $\alpha=0.05$

Tabla 2. Prueba de Duncan para comparaciones múltiples

Tratamiento	Cantidad	Medias	Difiere de los tratamientos
2:1	10	48.789	1:1, 1:5 y PCL
1:1	10	43.091	2:1, 1:5, PCL y Quitosano
1:5	10	4.351	2:1, 1:1 y Quitosano
Control PCL	10	3.932	2:1, 1:1 y Quitosano
Control Quitosano	10	51.403	1:1, 1:5 y PCL

Análisis estadístico de las isotermas de los materiales evaluados por su porcentaje de adsorción

Tabla 3. Análisis de Varianzas ARREGLA LA TABLA

Termino	DF ( $\alpha=0.05$ )	Suma de cuadrados	Media de Cuadrados	Proporción- F	Nivel de probabilidad	Poder
Tratamiento	4	43168.25	10792.06	24.34	0.0000*	1.000
Error	45	19952.35	443.3855			
Total (ajustado)	49	63120.6				
Total	50					

\*Termino significante a  $\alpha=0.05$

Tabla 4. Prueba de Duncan para comparaciones múltiples

Tratamiento	Cantidad	Medias	Difiere de los tratamientos
2:1	10	75.513	1:1, 1:5 y PCL
1:1	10	43.091	2:1, 1:5, PCL y Quitosano
1:5	10	19.027	2:1, 1:1 y Quitosano
Control PCL	10	6.086	2:1, 1:1 y Quitosano
Control Quitosano	10	79.552	1:1, 1:5 y PCL

## **Anexo II**

2.1. El material de vidrio utilizado fue lavado en 3 fases, la primera consiste en un lavado con dextran y enjuagado con agua desionizada, dejó secar y posteriormente en la segunda fase el material fue sumergido en una solución de ácido clorhídrico al 5% durante 24 h, el material se escurrió y enjuago nuevamente, para la tercer fase se repito el mismo procedimiento de la fase 2, pero con ácido nítrico al 5%, cabe mencionar que en todo momento se utilizó agua desionizada, esto para garantizar que no haya contaminantes que interfieran en el análisis.