



Unidad Iztapalapa  
División de Ciencias Biológicas y de la salud  
Posgrado en Biotecnología

# **Compósito de quitina y residuos de nopal para la remoción de contaminantes en agua**

**TESIS**

Para obtener el grado de

**DOCTORA EN BIOTECNOLOGÍA**

Presenta

**M. en I. Flor Tania Escárcega Olivares**

Directora

**Dra. Concepción Keiko Shirai Matsumoto**

Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Iztapalapa, Departamento de Biotecnología  
Laboratorio de Biopolímeros y Planta Piloto de Bioprocesamiento de Subproductos  
Agroindustriales y Alimentarios

Asesores:

**Dr. Roberto Olayo Valles**

Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Iztapalapa, Departamento de Física,

**Dr. Roeb García Arrazola**

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

**JURADO**

**PRESIDENTE:** Dr. Roberto Olayo Valles

**SECRETARIO:** Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía

**VOCAL:** Dr. Roeb García Arrazola

**VOCAL:** Dra. Gretchen Lapidus Levine

Iztapalapa, Ciudad de México a 14 de febrero 2024

“El Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Sistema Nacional de Posgrados (SNP) del CONAHCyT, con la referencia 001466”

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Biopolímeros y Planta Piloto de Bioprosesamiento de Subproductos Agroindustriales y Alimentarios (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 y con financiamiento del CONAHCYT (Proyecto CBF No. 2730).



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No. 00285

Matrícula: 2193801626

COMPÓSITO DE QUITINA Y RESIDUOS DE NOPAL PARA LA REMOCIÓN DE CONTAMINANTES EN AGUA.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 14 del mes de febrero del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DR. ROBERTO OLAYO VALLES
- DRA. GRETCHEN TERRI LAPIDUS LAVINE
- DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA
- DR. ROEB GARCIA ARRAZOLA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTORA EN BIOTECNOLOGÍA

DE: FLOR TANIA ESCARCEGA OLIVARES

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:


*aprobar*

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



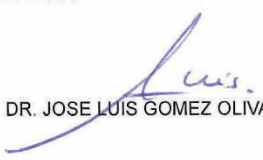

FLOR TANIA ESCARCEGA OLIVARES  
ALUMNA

REVISÓ




MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS




DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTE




DR. ROBERTO OLAYO VALLES

VOCAL



DRA. GRETCHEN TERRI LAPIDUS LAVINE

VOCAL



DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA

SECRETARIO



DR. ROEB GARCIA ARRAZOLA

México, Ciudad de México a 14 de febrero del 2024

El jurado designado por la

División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la

tesis

**Compósito de quitina y residuos de nopal para la remoción de contaminantes en agua**

que presentó

M. en I. Flor Tania Escárcega Olivares

**Comité de tutores:**

**Directora:**

Dra. Concepción Keiko Shirai Matsumoto

Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Biopolímeros y Planta Piloto de Bioprocesamiento de Subproductos Agroindustriales y Alimentarios

**Asesores:**

Dr. Roberto Olayo Valles

Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Iztapalapa, Departamento de Física,

Dr. Roeb García Arrazola

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

**Jurado:**

Presidente: Dr. Roberto Olayo Valles

\_\_\_\_\_

Secretario: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía

\_\_\_\_\_

Vocal: Dr. Roeb García Arrazola

\_\_\_\_\_

Vocal: Dra. Gretchen Terri Lapidus Lavine

\_\_\_\_\_

## AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Keiko Shirai por brindarme la oportunidad de ser parte de su grupo de trabajo donde aprendí muchas cosas y pude desarrollar mi proyecto de Tesis, por su asesoría y por la confianza otorgada al proyecto.

A mis tutores, los Doctores Roberto Olayo Valles y Roeb García Arrazola por su asesoría apoyo durante el desarrollo de mi tesis. Al Doctor Ernesto Rivera por su apoyo y asesoría en mi experimentación, al Doctor Alberto López Luna por su apoyo y guía académica, sus consejos y amistad; a la Doctora Patricia Castillo y al Mtro Simón Morales; a la Doctora Rosa Isela Ventura por enseñarme las bases del análisis de componentes principales y sus asesorías, al Doctor Humberto Vázquez por su apoyo y facilitación en el uso de equipos, así como por el tiempo otorgado a asesorías; al Doctor Marcos Esparza por su apoyo en las pruebas de fisisorción de nitrógeno; a los Doctores Elizabeth Isaacs y al Doctor René Rangel por su apoyo para las pruebas de punto de carga cero. Al Doctor Marco Antonio Carvallo por su tiempo y apoyo en lo análisis de diversidad microbiológica y por su humanidad.

A mis compañeros de la Planta Piloto 10 por su acompañamiento y momentos agradables en este camino de formación académica, esfuerzo y a veces desaliento cuando las cosas no salen: a Andy por su amistad y solidaridad, a Cristopher que es una gran persona y siempre quiere ayudar a otros, a Jesús y Mariana por su calidez y amistad cuando llegué al laboratorio, a Stephy y Mary por su amistad y momentos de risas, a Jessy por su amabilidad y detalles, a Ricardo por ser tan linda persona, a mis compañeros Manuel y Jennifer con quienes no formé una amistad pero compartí muchos momentos de trabajo.

A todos los amigos que encontré durante esta etapa que me brindaron su tiempo, apoyo, confianza y amor, a Ángeles, mi amiga y ejemplo de fortaleza y alegría ante toda la adversidad, a Benja y Betty, Max y Maggie, que me adoptaron en esta pequeña familia llamada hermandad, a Álex, Orli, Xapu, Spy, Aisha, Leandro y Ángel, mi amigo, apoyo y fuente de cariño y ternura.

A mi amigo y socio Álex, que ha creído en mí y me ha apoyado e impulsado con lealtad, amistad y siempre buen humor. A Orli y Xapu, los primeros colegas que creyeron,

confiaron y trabajaron conmigo convirtiéndose en mi segunda familia. Muchas gracias por trabajar a mi lado, me siento muy feliz de haberlos encontrado en mí camino. A Brenda, que ha sido la persona en la que me apoyo cuando requiero una dosis de realidad, tus detalles y amistad son algo que valoro mucho y llevo conmigo siempre, a Reina y Melissa, que me conocen desde siempre y aun cuando ya no tenemos el mismo andar siguen aportando cosas positivas a mi vida, las quiero mucho amigas. Al Doctor Ricardo Reyes Chilpa por ser un gran amigo y un segundo padre, muchas gracias por todos los detalles que ha tenido conmigo y por siempre querer ayudarme, disfruto mucho cada vez que platicamos y me hace ver la vida de una manera muy bonita.

## DEDICATORIAS

Quiero dedicar este trabajo a los pilares de mi vida: mis padres, que siempre han sido personas valientes y trabajadoras que me cuidan y guían a la distancia; siempre dándome todo su amor y palabras de aliento. Gracias por su cariño y por estar a mi lado en todos los momentos de mi vida, dándome una luz cuando mi vida ha sido oscura. Gracias por querer a este loco corazón y por enseñarme el amor.

A mi hermana Reny por su apoyo y cariño, por tus detalles y la forma en la que me sorprendes cada vez que hablamos, gracias por ser una gran amiga y ser una persona tan dulce, y, sobre todo, gracias por cuidar a los gatitos cada vez que no puedo estar.

A mi hermano Moisés y mi cuñada Gaby por haber estado al pendiente de mí, por su entusiasmo, apoyo y detalles, siempre llevo eso en mi corazón porque gracias a esos pequeños detalles he podido reponerme y retomar mi camino a las metas.

Sé que no son humanos, pero quiero dedicar este trabajo a mis compañeros de vida: Goliath, Belleza, Arenita y ahora Laika, que han estado conmigo desde antes de empezar este proyecto y han sufrido y disfrutado conmigo, han sido mi compañía y un motivo para esforzarme y ser más disciplinada, sus travesuras y la forma en que me dan amor han llenado de alegría y ternura mi corazón.

## CONTENIDO

<a href="#">Abstract</a>	13
<a href="#">Resumen</a>	13
1. <a href="#">Introducción</a>	15
1.1 <a href="#">Adsorbentes no convencionales</a>	15
1.2 <a href="#">Propiedades adsorbentes de la quitina</a>	15
1.3 <a href="#">Propiedades adsorbentes de lignocelulosa</a>	17
1.4 <a href="#">Preparación de adsorbentes no convencionales</a>	19
1.5 <a href="#">Remoción de colorantes por adsorción</a>	22
1.6 <a href="#">Adsorción de contaminantes emergentes: Ampicilina</a>	24
1.7 <a href="#">Adsorción de metales pesados: Mercurio</a>	25
1.8 <a href="#">Compostabilidad de matrices adsorbentes no convencionales</a>	28
2 <a href="#">Hipótesis</a>	30
3 <a href="#">Objetivos</a>	30
3.1 <a href="#">Objetivo general</a>	30
3.2 <a href="#">Objetivos particulares</a>	30
4 <a href="#">Materiales y métodos</a>	31
4.1 <a href="#">Quitina calcárea y lignocelulosa de nopal</a>	31
4.2 <a href="#">Caracterización de lignocelulosa de nopal</a>	31
4.2.1 <a href="#">Determinación del contenido de extraíbles</a>	31
4.2.2 <a href="#">Determinación del contenido de lignina</a>	32
4.2.3 <a href="#">Determinación del contenido de celulosa</a>	33
4.2.4 <a href="#">Determinación del contenido de azúcares</a>	33
4.2.5 <a href="#">Determinación del contenido humedad y cenizas</a>	34
4.2.6 <a href="#">Proteínas solubles</a>	34
4.3 <a href="#">Preparación de adsorbentes con diferentes proporciones de nanocristales de quitina y lignocelulosa coloidales</a>	35
4.4 <a href="#">Punto de carga cero y distribución de pKas de los adsorbentes</a>	35
4.5 <a href="#">Potencial Z</a>	36
4.6 <a href="#">Determinación del tamaño de partícula</a>	36
4.7 <a href="#">Espectroscopía infrarroja (FTIR)</a>	37
4.8 <a href="#">Microscopía electrónica de barrido</a>	37
4.9 <a href="#">Determinación de nanocristales de quitina por TEM</a>	37
4.10 <a href="#">Área superficial específica y porosidad aparente</a>	37
4.11 <a href="#">Perfiles de hinchamiento y erosión de los materiales</a>	39
4.12 <a href="#">Ángulo de contacto</a>	40
4.13 <a href="#">Pruebas de adsorción de contaminantes</a>	41
4.13.1 <a href="#">Adsorción de nuevo azul de metileno (NMB)</a>	41
4.13.2 <a href="#">Eficiencia de adsorción</a>	41
4.13.3 <a href="#">Efecto del pH y dosis de adsorbente en la adsorción de NMB</a>	42

4.13.4	<a href="#">Isotermas de adsorción de NMB</a>	42
4.13.5	<a href="#">Cinéticas de adsorción de NMB</a>	43
4.14	<a href="#">Adsorción de azul índigo</a>	44
4.14.1	<a href="#">Suspensiones en etanol</a>	44
4.14.2	<a href="#">Suspensiones en cloroformo</a>	44
4.14.3	<a href="#">Suspensión en medio alcalino y ditionito de sodio</a>	44
4.14.4	<a href="#">Adsorción de Azul índigo</a>	45
4.15	<a href="#">Adsorción de ampicilina</a>	46
4.16	<a href="#">Adsorción de mercurio</a>	46
4.17	<a href="#">Compostabilidad de matrices adsorbentes</a>	48
4.17.1	<a href="#">Compostabilidad en laboratorio</a>	48
4.17.2	<a href="#">Diversidad metabólica durante el compostaje</a>	50
4.17.3	<a href="#">Determinación de la diversidad metabólica por índice de Shannon</a>	52
4.17.4	<a href="#">Diversidad metabólica por análisis de componentes principales (ACP)</a>	53
5	<a href="#">Resultados y discusión</a>	55
5.1	<a href="#">Caracterización de lignocelulosa de nopal</a>	55
5.1.1	<a href="#">Contenido de extraíbles, lignina y celulosa</a>	55
5.1.2	<a href="#">Azúcares totales, reductores y acidez de las muestras</a>	55
5.1.3	<a href="#">Humedad y cenizas</a>	55
5.1.4	<a href="#">Contenido de proteínas</a>	55
5.2	<a href="#">Obtención de matrices adsorbentes de quitina y nopal</a>	56
5.2.1	<a href="#">Rendimiento de obtención y composición final</a>	56
5.2.2	<a href="#">Cristalinidad por difracción de rayos X</a>	57
5.2.3	<a href="#">Punto de carga cero y distribución de pKas de los adsorbentes</a>	58
5.2.4	<a href="#">Potencial Z</a>	60
5.2.5	<a href="#">Distribución de tamaño de partícula</a>	61
5.2.6	<a href="#">Microscopía electrónica de barrido</a>	62
5.2.7	<a href="#">Nanocristales de quitina</a>	64
5.2.8	<a href="#">Ángulo de contacto</a>	65
5.2.9	<a href="#">Área superficial específica y volumen de poros</a>	65
5.2.10	<a href="#">Espectroscopía infrarroja (FTIR)</a>	68
5.2.11	<a href="#">Perfiles de hinchamiento de los materiales</a>	70
5.3	<a href="#">Adsorción de nuevo azul de metileno</a>	72
5.3.1	<a href="#">Capacidad de adsorción de compósitos CNCh</a>	72
5.3.2	<a href="#">Efecto del pH y dosis de adsorbente en la adsorción de NMB</a>	73
5.3.3	<a href="#">Isotermas de adsorción de NMB</a>	74
5.3.4	<a href="#">Cinéticas de adsorción de NMB</a>	75
5.4	<a href="#">Adsorción de azul índigo</a>	77
5.4.1	<a href="#">Suspensiones de azul índigo</a>	77
5.4.2	<a href="#">Pruebas de adsorción de azul índigo</a>	78
5.4.3	<a href="#">Capacidad adsorbente y eficiencia de adsorción del azul índigo</a>	79

5.4.4	<a href="#">Perfiles de hinchamiento en azul índigo</a>	81
5.4.5	<a href="#">Espectros FTIR después de adsorber azul índigo</a>	81
5.5	<a href="#">Adsorción de ampicilina</a>	82
5.6	<a href="#">Adsorción de mercurio</a>	84
5.7	<a href="#">Compostabilidad de matrices adsorbentes</a>	90
5.7.1	<a href="#">Producción de CO<sub>2</sub> durante la compostabilidad de adsorbentes</a>	90
5.7.2	<a href="#">Diversidad microbiológica</a>	96
5.7.3	<a href="#">Pruebas de actividad metabólica</a>	99
5.7.4	<a href="#">Diversidad metabólica</a>	104
5.8	<a href="#">Conclusiones</a>	105
6.	<a href="#">Trabajos presentados y publicaciones</a>	108
6.1	<a href="#">Trabajos presentados</a>	108
6.2	<a href="#">Publicaciones</a>	108
	<a href="#">Referencias</a>	108
	<a href="#">Anexo 1</a>	117
	<a href="#">Anexo 2</a>	119
	<a href="#">Anexo 3</a>	119

## LISTA DE FIGURAS

<a href="#">Figura 1. Estructura química de <math>\alpha</math>-quitina</a>	16
<a href="#">Figura 2. Estructura de los polímeros que constituyen a la lignocelulosa</a>	18
<a href="#">Figura 3. Estructura química de la molécula nuevo azul de metileno</a>	22
<a href="#">Figura 4. Estructura de azul índigo</a>	23
<a href="#">Figura 5. Ciclo biogeoquímico del mercurio</a>	26
<a href="#">Figura 6. Esquema de la configuración de las columnas de compostaje</a>	49
<a href="#">Figura 7. Difractogramas de rayos X de compuestos CNCh 50, CC y CN</a>	58
<a href="#">Figura 8. Distribución de carga superficial (Q) y pKa de CNCh. a) CCh, b) CNCh 10, c) CNCh 50, y d) CN</a>	59
<a href="#">Figura 9. Potencial zeta de las fracciones CNCh 50, CCh y NC</a>	60
<a href="#">Figura 10. Distribución de tamaño de partícula de Ch y N a CCh y CN coloidales</a>	61
<a href="#">Figura 11. Micrografías SEM de los adsorbentes CNCh</a>	63
<a href="#">Figura 12. Micrografías SEM de Cristales minerales en CCh, CNCh 10; CNCh 50 y CN</a>	64
<a href="#">Figura 13. Micrografías TEM de Nanoestructuras formadas en CCh, CNCh 50 y CN</a>	64
<a href="#">Figura 14. Micrografía del contacto de CCh y CNCh 50</a>	65
<a href="#">Figura 15. Isotermas de fisorción de N<sub>2</sub> para CCh, CN y CNCh 50</a>	67
<a href="#">Figura 16. Histograma de frecuencias relativas de distribución de poros en adsorbentes CCh, CNCh 50 y CN</a>	68
<a href="#">Figura 17. Espectros ATR-FTIR de quitina calcárea y <i>O. ficus indica</i>, CCh, CN, CNCh 50</a>	69
<a href="#">Figura 18. Perfil de hinchamiento al equilibrio de las diferentes mezclas adsorbentes</a>	70
<a href="#">Figura 19. Hinchamiento al equilibrio (24 h) en NMB (1mM) variando pH y dosis de CNCh 50</a>	71
<a href="#">Figura 20. Capacidades adsorbentes y Eficiencias de adsorción de NMB por las diferentes mezclas adsorbentes CNCh</a>	73
<a href="#">Figura 21. Eficiencia y capacidad adsorbente de NMB (1 mM) por compósitos CNCh 50</a>	74
<a href="#">Figura 22. Ajuste de cinéticas a modelos de pseudosegundo orden</a>	76
<a href="#">Figura 23. Disolución de azul índigo en NaOH/Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub></a>	78
<a href="#">Figura 24. Capacidad adsorbente y eficiencia de adsorción del colorante azul índigo por todas las mezclas adsorbentes</a>	80
<a href="#">Figura 25. Perfiles de hinchamiento al equilibrio y gráfico de cajas y bigotes de la capacidad de hinchamiento de las diferentes mezclas adsorbentes</a>	81
<a href="#">Figura 26. Espectros FTIR de adsorbentes CNCh después del tratamiento de adsorción con azul índigo</a>	82
<a href="#">Figura 27. Capacidad adsorbente de ampicilina</a>	83
<a href="#">Figura 28. Capacidad adsorbente de mercurio por CNCh 50 en pH 6 y 4</a>	85
<a href="#">Figura 29. Diagramas de especiación de Hg</a>	86
<a href="#">Figura 30. Eficiencia de adsorción de Hg</a>	90
<a href="#">Figura 31. Producción de CO<sub>2</sub> de manera acumulativa hasta el día 201</a>	91

<a href="#">Figura 32. Producción de CO<sub>2</sub> acumulados predicha por el modelo logístico</a>	92
<a href="#">Figura 33. Valores experimentales y los predichos por el modelo MMF para la curva de degradación de compósitos CNCh_50</a>	93
<a href="#">Figura 34. Producción de CO<sub>2</sub> por adsorbentes CNCh con NMB, CN y CCh</a>	95
<a href="#">Figura 35. Micrografías de los compósitos CCh después de seis meses de compostabilidad</a>	98
<a href="#">Figura 36. Micrografías de compósitos CNCh_50 con NMB después de compostabilidad</a>	98
<a href="#">Figura 37. Micrografías SEM de los compósitos CN después de seis meses de compostabilidad</a>	98
<a href="#">Figura 38. Desarrollo de color en el tiempo por los materiales CNCh_50 con y sin adsorber NMB respecto a la muestra de composta y precomposta</a>	99
<a href="#">Figura 39. Evolución del desarrollo medio del color por sustrato (SAWCD) DE los compósitos CNCh_50 antes y después de adsorber NMB, pre- composta y de composta sin el material</a>	100
<a href="#">Figura 40. Mapa de calor de los sustratos con mayor actividad por muestra de composta, pre-composta y adsorbentes CNCh_50 antes y después de adsorber NMB</a>	101
<a href="#">Figura 41. Gráfico de componentes principales relacionados a la compostabilidad de adsorbente CNCh_50</a>	103

### LISTA DE TABLAS

<a href="#">Tabla 1. Estructura química de ampicilina sódica y características</a>	24
<a href="#">Tabla 2. Condiciones experimentales para la adsorción de mercurio</a>	47
<a href="#">Tabla 3. Acomodo de sustratos en Ecoplates Biolog</a>	51
<a href="#">Tabla 4. Rendimiento de obtención de compósitos CNCh</a>	57
<a href="#">Tabla 5. Ángulo de contacto de compósitos CNCh50</a>	65
<a href="#">Tabla 6. Constantes de isotermas de Langmuir y Freundlich</a>	75
<a href="#">Tabla 7. Contenido de sólidos de azul índigo</a>	78
<a href="#">Tabla 8. Coeficientes de la regresión lineal múltiple en la remoción de Hg</a>	87
<a href="#">Tabla 9. ANOVA por el modelo de regresión múltiple</a>	88
<a href="#">Tabla 10. Biodegradabilidad de compósitos CNCh</a>	94
<a href="#">Tabla 11. Varianza total explicada por los componentes del ACP</a>	103
<a href="#">Tabla 12. Estimación del Índice de Shannon</a>	104

## Abstract

Unconventional adsorbents based on biodegradable matrices are affordable and promote a circular economy. These materials can remove colorings, color-fixing compounds in the textile industry as well as medical products from water, which generate negative environmental impacts. The large volume of effluents produced and some heavy metals, such as mercury, in waters and soils represent a grave concern for the environment and human health. The present study analyzed the adsorption capacity of new methylene blue (NMB), ampicillin, and mercury employing an adsorbent based on cactus cladode wastes and chitin nanowhiskers. Based on swelling, pzc, pKa distribution, dye adsorption capacity, and removal efficiency of composites, further work was carried out with the composite cactus and chitin (3:1), CNCh\_50. This composite displayed hydrogel-like behavior (464% swelling in NMB solution (1 mM)) and polyanionic nature, producing affinity for NMB with adsorption capacities of 65–350 mg/g. The dose did not significantly affect the composites' swelling; only pH significantly influenced adsorption. The composites could remove more than 80% of the dye at neutral to alkaline conditions. The ratio of biopolymers in the composite, dose, and pH of the adsorption media were significant factors in the NMB removal. However, this adsorption efficiency was different for antibiotics removal, where charge interaction was not associated with the pharmaceuticals' removal; the same behavior was observed for indigo blue removal, nevertheless adsorption efficiency was low. For mercury removal, the composite removed up to 70% of the heavy metal the pH being the most crucial factor for adsorption because their negative surface charge interacts with these cations.

Key words: Adsorption · Chitin · Cactus · New methylene blue · Nonconventional adsorbent

## Resumen

Los adsorbentes no convencionales basados en matrices biodegradables son alternativas económicas y promueven una economía circular. Estos materiales pueden eliminar colorantes de la industria textil, así como medicamentos del agua, cuyo impacto ambiental es negativo. Los grandes volúmenes de efluentes de aguas residuales, además de metales pesados como el mercurio, en aguas y suelos, representan una afectación grave para el medio ambiente y la salud humana. El presente estudio analizó la capacidad de adsorción del nuevo

azul de metileno (NMB por sus siglas en inglés new methylene blue), el fármaco ampicilina y mercurio utilizando un compósito basado en desechos de cladodios de nopal y nanocristales de quitina. Con base en las mejores características respecto al perfil de hinchamiento, punto de carga cero, distribución de pKa, y capacidad de adsorción de NMB, se llevaron a cabo trabajos adicionales con el compósito de quitina y nopal (3:1), CNCh\_50. Este compósito se comportó como un hidrogel físico mostrando un 464% de hinchamiento en solución de NMB (1 mM) y una naturaleza poli-aniónica, produciendo afinidad por el colorante NMB con capacidades de adsorción de 65-350 mg/g. La dosis no afectó significativamente el hinchamiento de los compósitos; solo el pH influyó significativamente en la adsorción. La proporción de biopolímeros en el compósito, la dosis y el pH de los medios de adsorción fueron factores significativos en la eliminación de NMB. Sin embargo, se observó un comportamiento distinto para la eliminación de antibióticos, cuya interacción de carga no mostró asociación con la eliminación de éstos en agua. El mismo comportamiento fue observado en la remoción de azul índigo, sin embargo, la eficiencia de adsorción fue baja. En el caso de la eliminación de mercurio, el compósito demostró ser capaz de eliminarlo en más de un 70%, siendo el pH el factor significativo para la adsorción debido a que la carga superficial negativa del material interactúa con estos cationes.

*Palabras clave:* Cactus de Quitina por Adsorción Nuevo azul de metileno Adsorbente no convencional

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Adsorbentes no convencionales

La eliminación de diversos contaminantes a través de la adsorción es común en el tratamiento de aguas residuales y agua para consumo humano. Pese a existir una amplia gama de adsorbentes convencionales como carbón activado, óxido de aluminio, zeolitas, gel de sílice y arcillas, cuya eficiencia de eliminación de contaminantes es alta, su elevada demanda genera escasez, sobreexplotación y un aumento de costos de adquisición. Además, estos adsorbentes requieren un pretratamiento para aumentar su área superficial o una activación química o física como ocurre en carbones activados (Hu and Srinivasan 2001).

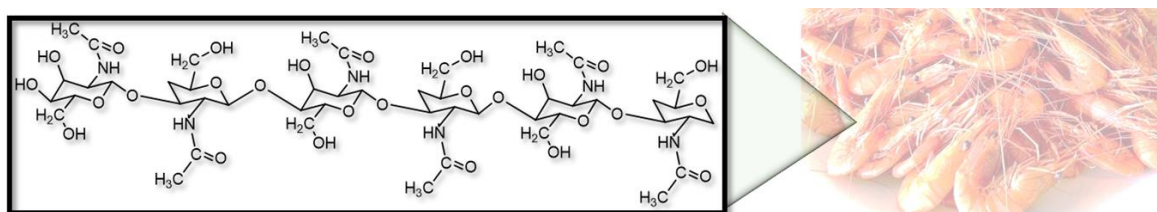
Los adsorbentes no convencionales también conocidos como adsorbentes verdes o bio-adsorbentes, han sido ampliamente estudiados y pueden producirse a partir de residuos de la agroindustrial o la industria alimentaria, lo que ayuda a mitigar efectos del cambio climático y calentamiento global al dar uso a materiales que se consideran como residuos, y se aplican en la eliminación de contaminantes. Muchos adsorbentes no convencionales están hechos de materiales lignocelulósicos que no requieren un pretratamiento para su activación y pueden reutilizarse durante varios ciclos, empleando disolventes con toxicidad baja o despreciable para la desorción (Valladares et al., 2007).

La quitina y la lignocelulosa son los polímeros más abundantes de la industria agroalimentaria (Zhou et al., 2021). Materiales compuestos o compósitos se producen a partir de mezclas de quitina y lignocelulosa para una amplia gama de aplicaciones, incluidos bioplásticos, adsorbentes y biopelículas. Entre estas aplicaciones, los adsorbentes para la eliminación de metales pesados y contaminantes emergentes son una solución ambientalmente sostenible en el tratamiento de aguas (Valladares et al., 2007). En general, los biocompósitos de residuos lignocelulósicos y quitinosos tienen buena resistencia mecánica, biodegradabilidad y eficiencia adsorbente.

### 1.2 Propiedades adsorbentes de la quitina

La quitina es el segundo polímero más abundante en la naturaleza formado por residuos de *N*-acetil glucosamina y *D*-glucosamina unidos por enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 (Figura 1), donde la presencia de grupos acetilo determinan su grado de acetilación (DA) e influye en su solubilidad, estabilidad química y funciones estructurales; siendo un polímero altamente

insoluble (Aranday-García et al., 2019). La quitina puede ser obtenida químicamente por desproteínización con álcalis, desmineralización con ácidos o EDTA, y decoloración con disolventes. Estos tratamientos son ambientalmente agresivos, por lo que la fermentación puede ser implementada permitiendo la extracción de otros productos de valor agregado como pigmentos, proteínas hidrolizadas y lípidos, además de mayores rendimientos de obtención, con peso molecular y cristalinidad altas del polímero (Pacheco et al., 2011; Zhang et al., 2014).



**Figura 1.** Estructura química de  $\alpha$ -quitina. Modificado de Zhou et al., 2021.

Propiedades como el DA, peso molecular, patrones de agregación, propiedades mecánicas y capacidad de hinchamiento afectan la capacidad adsorbente de la quitina (Da Silva et al., 2021), por lo que comúnmente se emplea quitosano, un derivado desacetilado de la quitina, como adsorbente para la remoción de metales pesados por la alta afinidad de sus grupos amino, que incrementan la atracción electrostática entre el biopolímero y los iones metálicos (Younis et al., 2019).

La remoción de contaminantes orgánicos como pesticidas y compuestos fenólicos por quitina y quitosano ha sido muy poco reportada, mostrando un mecanismo de remoción por interacciones electrostáticas entre el nitrógeno del grupo amino, donde el único par de electrones de este grupo funcional muestra una fuerte atracción por algunos iones metálicos, y puede ser protonado en condiciones ácidas promoviendo la interacción con los compuestos aniónicos presentes en algunos colorantes y compuestos halogenados (Shamshina et al., 2019). Existen diversas formas de aplicación de la quitina como adsorbente, siendo recientemente explorado el uso de quitina como formador de hidrogeles para la remoción de algunos contaminantes emergentes (Zhou et al., 2019).

La eficiencia de remoción de contaminantes empleando quitina depende fuertemente de la concentración de estos en matrices acuosas, así como la presencia de otros compuestos como nitratos y cloruros, con los que puede formar complejos en función del pH; tal es el caso de iones metálicos, como  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Pb}^{2+}$  que son atraídos por los grupos amino en condiciones ácidas (Karthikeyan et al., 2005; Salih et al., 2017, Xiang et al., 2016); mientras que la remoción de iones como  $\text{Zn}^{2+}$  a pH ácido se ve afectado negativamente por fuerzas repulsivas debido al incremento de sitios positivamente cargados en los adsorbentes de quitina y los protones del  $\text{Zn}^{2+}$  (Jaafarzadeh et al., 2014).

Adsorbentes basados en quitina o quitosano incrementan su densidad de carga cuando decrece el pH, sin embargo, para el caso de contaminantes como disruptores endócrinos catiónicos como benzoantraceno,  $\beta$ -estradiol o bisfenol-A este incremento en la densidad de cargas produce una repelencia entre adsorbato y grupos funcionales del adsorbente (Krupadam et al., 2011); por lo cual algunos investigadores han propuesto la modificación de éste tipo de matrices por diferentes tratamientos como radiación UV, o adición de algunas resinas que puedan interactuar por mecanismos electrostáticos y quimisorción con los contaminantes problema (Jaafarzadeh et al., 2014). En el caso de la remoción de algunos colorantes como azul de metileno o azul de comassie, el mecanismo de adsorción es por fisisorción debido a la interacción de adsorbentes con el colorante a través de interacciones electrostáticas (Dhananasekaran et al., 2021).

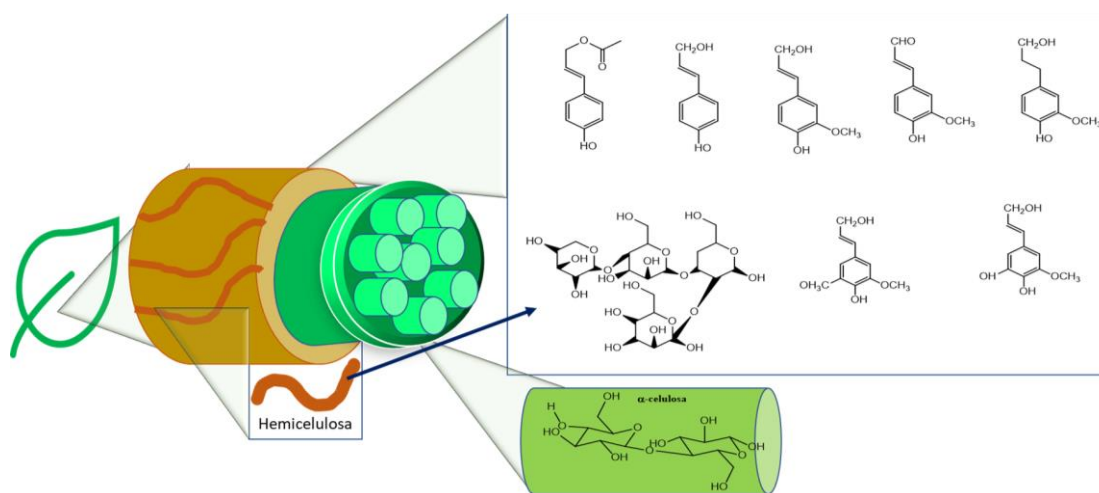
### **1.3 Propiedades adsorbentes de lignocelulosa**

Los adsorbentes basados en biomasa lignocelulósica contienen inicialmente pocas proteínas, minerales y polisacáridos como pectinas, almidón y arabinogalactano, estos compuestos forman parte de lo que se conoce como fibra soluble; mientras que las fracciones insolubles están conformadas por celulosa, hemicelulosa y lignina (Usmani et al., 2017) que interactúan formando estructuras complejas dependiendo el tipo de planta (Figura 2). En el caso de algunas cactáceas como el nopal (*Opuntia sp.*), la cantidad de fibras insolubles presentes en la planta depende de factores como la edad y área de cultivo (Hernández-Urbiola et al., 2015; Shen et al., 2019). La fracción insoluble es la más empleada en el desarrollo de adsorbentes, sin embargo, algunos reportes han trabajado con almidones modificados (Xiang et al., 2016).

La celulosa es un polímero lineal constituido por 7000-15000 monómeros de glucosa unidos por enlaces  $\beta$ -1,4 glucosídicos y es producida por plantas y algunas bacterias. El grado de polimerización de la celulosa puede encontrarse entre 1500 y 5500, es un polímero insoluble en disolventes comunes debido a los puentes de hidrógeno formados entre las cadenas del polímero, siendo semi- cristalino y con una variedad de aloformas que determinan su función como adsorbente. Las cadenas de celulosa suelen enrollarse formando microfibras por fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno (Liu et al., 2014, Sehaqui et al., 2011).

La hemicelulosa es un polímero ramificado heterogéneamente amorfo de longitudes de entre 500 a 3000 monómeros de hexosas y pentosas como D-galactosa, D-xilosa, D-manosa y L-arabinosa, unidos por enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 y  $\beta$ -1,3 que se encuentra entrecruzado con la celulosa y lignina. La estructura de la hemicelulosa varía en función de su origen, siendo las fuentes maderables las más ricas en hemicelulosa constituida principalmente por O-acetil-1-4-O-metilglucoroxilano, mientras que fuentes lignocelulósicas no maderables tienen hemicelulosa mayormente constituida por galactoglucomanano (Elgueta et al., 2016).

Por su parte, la lignina es un polímero formado por anillos aromáticos en su cadena, siendo una molécula macro fenólica que consiste en cuatro unidades monoméricas (fenil propanol, alcohol coniferílico, alcohol p-hidroxifenólico y alcohol isoamílico). La abundancia de los diferentes grupos carbonilo, metoxi, hidroxilo y carboxílicos interfieren en su polaridad y solubilidad en agua, ácidos y otros disolventes (Supanchaiyamat et al., 2019).



**Figura 2.** Estructura de los polímeros que constituyen a la lignocelulosa incluyendo los alcoholes que conforman a la lignina. Modificado de Usmani et al., (2017).

El uso de lignina Kraft se ha reportado en la remoción de disruptores endócrinos siendo también propuesto este polímero para la elaboración de carbones por procesos de pirólisis rompiendo enlaces  $\beta$ -1,4 y generando la formación de radicales libres que pueden interactuar con contaminantes por interacciones electrostáticas (Cantrell et al., 2012; Supanchaiyamat et al., 2019).

Además del uso de lignocelulosa en la obtención de carbones activados, se han propuesto nuevos métodos para la obtención hidrogeles adsorbentes preparados con líquidos iónicos capaces de remover eficientemente metales pesados como  $Pb^{2+}$  y  $Cu^{2+}$  (Shen et al., 2019). En el caso de la adsorción de colorantes en agua, se ha reportado que el uso de biomasa lignocelulósica en forma de carbones activos es más eficiente que el uso de la biomasa solo tratada térmicamente; mientras que la funcionalización de la celulosa en forma de metil celulosa, obtenida por un tratamiento con glicil-metacrilato, ha mostrado un alto desempeño adsorbente en la remoción de colorantes como cristal violeta (Zhou et al., 2014).

#### **1.4 Preparación de adsorbentes no convencionales**

La quitina y lignocelulosa son altamente compatibles, por lo que ya existen reportes de la preparación de adsorbentes basados en su mezcla donde la quitina/quitosano es el elemento de refuerzo y mejoramiento de propiedades adsorbentes de metales pesados, contaminantes emergentes (CE) y otros contaminantes orgánicos (Usmani et al., 2017). Los grupos funcionales de adsorbentes no convencionales basados en lignocelulosa y quitina interactúan física y químicamente con diversos contaminantes, evitando la formación de lodos de manejo especial y la transferencia de contaminantes de una matriz a otra.

La estructura porosa producida en estos materiales depende del método de preparación y es un factor importante en la eficiencia adsorbente porque favorece fenómenos de difusión y transferencia de masa que se explican por modelos de formación de unicapas por algunos CE de acuerdo con lo reportado por Krupadam et al., (2011). Tanto la quitina como algunas fracciones lignocelulósicas son predominantemente hidrofóbicas, por lo que nuevos métodos de preparación permiten la obtención de matrices funcionales de carácter hidrofílico que incrementan su área superficial al promover el hinchamiento de estos materiales y favorecer más sitios de interacción con contaminantes de interés (Da Silva Alves et al., 2021).

Estos métodos implican el uso de disolventes que permiten la suspensión y mezcla de polímeros, así como sistemas mecánicos de molienda y mezcla, con la ventaja de generar matrices biodegradables, menor producción de CO<sub>2</sub> y buenas propiedades mecánicas (elevados módulos de resistencia), y estabilidades térmicas elevadas por el punto de transición vítrea estos materiales, que ronda entre los 100-170°C para celulosa y de 300-370°C para quitina (Szcześniak et al., 2008, Yang et al., 2019).

La suspensión de quitina y lignocelulosa implica la formación de sistemas coloidales que pueden ser acuosos, no acuosos, líquidos iónicos y disolventes eutécticos profundos, siendo los líquidos iónicos uno de los sistemas más empleados en investigación, pero son más costosos (Usmani et al., 2017). Los líquidos iónicos son sales líquidas en temperatura ambiente o baja, están compuestos por sustancias orgánicas o inorgánicas, mientras que los disolventes eutécticos profundos se componen de dos o tres sustancias capaces de auto-ensamblarse para formar puentes de hidrógeno por calentamiento, teniendo propiedades físico-químicas similares a los líquidos iónicos, pero no contienen solo especies iónicas como son el cianuro de calcio, bromuro de calcio, y nitrato de calcio, siendo más económicos (Feng et al., 2020).

Además de los sistemas anteriormente mencionados, es posible suspender quitina y celulosa en medios ácidos, favoreciendo la expansión de estos polímeros y formación de nanocristales por la conglomeración de los polímeros como consecuencia de la acción de fuerzas netas positivas en medio ácido mediante la protonación de quitina, la cual se ve ayudada por la masa de estos polímeros (Wijesena et al., 2020). La formación de nanocristales para la obtención de compósitos se ha reportado por Espadín et al., (2018) y Morin y Dufresne (2002), quienes mencionan una mejora en las propiedades mecánicas de materiales compuestos y una elevada estabilidad térmica, siendo posible obtener también nanofibrillas (Mushi et al., 2019).

Los disolventes ácidos más empleados para formar nanocristales son ácido clorhídrico y ácido acético, sin embargo, algunas diferencias en los métodos de preparación han sido reportadas por algunos autores, en donde se propone como un método de hidrólisis en donde la quitina se lleva a ebullición (Morin y Dufresne, 2002), mientras que otros autores evitan la desacetilación preparando suspensiones en baños de hielo a temperaturas de 4°C (Espadín

et al., 2018); este proceso puede ayudarse de otros mecanismos como la dispersión mecánica (Mushi et al., 2019).

Otra manera de obtener nanocristales tanto de quitina como de celulosa es a través de soluciones álcali mezcladas con urea, como son NaOH/urea o KOH/urea acopladas a procesos de congelamiento-descongelamiento que promueven el rompimiento de puentes de hidrógeno de las cadenas poliméricas y la formación de nuevas uniones; se piensa que la urea puede funcionar debido a que penetra las cadenas tanto de quitina como de celulosa (Chang et al., 2011), reportando que el uso de NaOH permite obtener suspensiones estables en condiciones de pH mayores a 7 (Wijesena et al., 2019); sin embargo, el uso de NaOH en la obtención de matrices adsorbentes ha mostrado ser un factor que limita su desempeño (Manna et al., 2017).

Muchos de los materiales obtenidos por los métodos de preparación mencionados anteriormente, generan matrices en forma de geles, que puede llevarse a aerogeles cuando se sublima el agua presente en hidrogeles, obteniendo materiales altamente porosos de un área superficial conocida (Zhang et al., 2019), o pueden simplemente ser hidrogeles químicos o físicos, que incrementan su área superficial en función de su grado de hidratación.

Los hidrogeles se caracterizan por forman redes tridimensionales por entrecruzamiento a partir de puentes de hidrógeno, fuerzas iónicas, interacciones de Van der Waals, fuerzas hidrofóbicas o complejación de polielectrolitos, dando origen a hidrogeles físicos; o a uniones más fuertes como son enlaces covalentes entre las cadenas de polímeros, produciendo hidrogeles químicos.

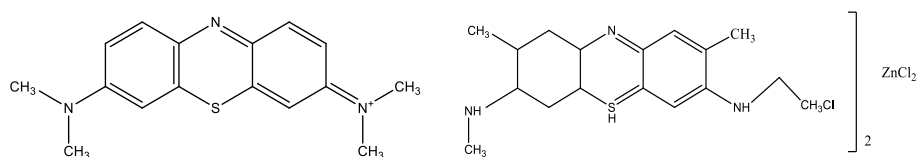
Los hidrogeles físicos son reversibles ante cambios ambientales ya que sus uniones son desordenadas, y generan transiciones sol-gel ante estímulos externos como pH, temperatura, y campo eléctrico, por lo que los materiales son frágiles, mecánicamente débiles y pueden disolverse en solventes orgánicos y al calentarse (Bashir et al., 2020). A pesar de su alta respuesta a factores externos, estos no generan residuos de agentes de entrecruzamiento que contaminen durante su obtención, por lo que su elaboración está más enfocado al área médica, aunque algunos autores han propuesto su uso en la remoción de colorantes como azul metileno (Chang et al., 2020, Chung et al., 2009).

Es importante mencionar que aunque formalmente se defina a un sistema sol-gel como aquel en el que se mezclan polímeros inorgánicos o cerámicos por una transformación de

precursores líquidos a través de hidrólisis y condensación de metales precursores de alcóxidos; estos sistemas también involucran suspensiones coloidales en donde moléculas y partículas poli-moleculares son dispersas en un medio y tienen al menos en una dirección una dimensión de 1nm a 1µm, siendo considerados hidrogeles naturales el almidón, pectina e incluso celulosa y quitina (Danks et al., 2016, Bashir et al., 2020).

### 1.5 Remoción de colorantes por adsorción

Algunos colorantes y compuestos fijadores de color de la industria textil pueden ser removidos por adsorción. El azul de metileno (MB por sus siglas en inglés, methylene blue) es un colorante catiónico que pertenece al grupo azina (tiazina), caracterizado por anillos heterocíclicos nitrogenados conjugados en su estructura que se ha utilizado como compuesto modelo de contaminante orgánico y se emplea en la tinción de fibras, papel, y capsulas para fármacos, así como tratamiento de algunas enfermedades neuronales (Cao et al., 2018). En la actualidad se emplea MB en forma de sal doble de zinc que se conoce como nuevo azul de metileno (NMB) (Figura 3) (Karaçetin 2014).



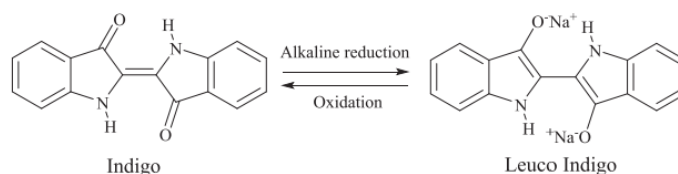
**Figura 3.** Estructura química de la molécula MB (izquierda) y NMB (derecha). Modificado de chempub.org

El NMB, no precipita tan fácilmente como el colorante convencional MB, haciendo más eficiente la pigmentación de textiles y su uso en el área médica por la tinción de reticulocitos de manera más profunda (Brigs y Bain, 2017). Al momento no existen estudios previos de su remoción empleando adsorbentes no convencionales, siendo el área superficial polar topológica del colorante una característica que permite determinar el área del propio material que lo remueve, así como su afinidad por un adsorbente. Esta área corresponde a 63.7 Å<sup>2</sup> (Hähnke and Bolto 2018).

El azul índigo es un colorante textil obtenido de las hojas y semillas de las plantas *Indigofera tinctoria*, *Ingiforera sumatra* e *Isatis tinctoria*, cultivadas principalmente en África, India y Sureste de Asia que se emplea en la tinción de la mezclilla, (Saikhao et al., 2018; Marcano 2018). El azul índigo es el dímero indoxilo derivado de la hidrólisis enzimática del glucósido indicano y se clasifica dentro de los colorantes VAT, caracterizados por presentar un sistema conjugado tipo indólico que los hace no solubles en agua (Figura 4); requiriendo de una reducción a su forma leuconada en medio alcalino y anóxico para suspenderlos, seguido de una oxidación en aire para su retorno a la forma keto insoluble, que es la que se adhiere a las fibras de algodón, proporcionando el color azul de las mezclillas (Slama et al., 2021).

El ditionito de sodio es el agente reductor de índigo más usado en la industria textil, haciendo que el colorante vire a un tono amarillo en ausencia de oxígeno y se oxide en aire tornando a color azul. El ditionito de sodio es un agente ambientalmente nocivo por la producción de sulfitos y sulfatos en el proceso de tinción, que causa severos problemas por su descarga en aguas residuales junto con surfactantes y estabilizantes empleados en la tinción de textiles (Saikhao et al., 2018).

Efluentes de la industria textil suelen venir cargados de colorantes, elevadas cargas orgánicas, y contaminantes orgánicos e inorgánicos como compuestos clorados, metales pesados, sulfuros, nitratos, naftol, detergentes, compuestos de cromo, formaldehído, bencidina, y agentes secuestrantes entre otros (Slama et al., 2021).



**Figura 4.** Estructura de azul índigo: forma leuconada a la derecha y a la izquierda forma oxidada (Modificado de Saikhao et al., 2018).

La remoción por adsorción de azul índigo es baja aún en carbones activados enriquecidos con nanopartículas de Fe y Cu (20.74 mg/g), biosorbentes naturales como la vermicomposta (40.39 mg/g), e incluso por materiales basados en mezclas de carboximetil-celulosa y quitina (27 mg/g) (Trujillo-Reyes et al., 2010; Ribeiro et al., 2021; Zhu et al., 2016). Hoy día, la

mayor remoción de este colorante está dada por procesos unitarios físico-químicos como la coagulación-floculación, logrando remociones del 99% del colorante con concentraciones iniciales de hasta 2,000 mg/L (Manu et al., 2007), así como degradación biológica, catálisis enzimática y procesos avanzados de oxidación como electrocoagulación, catálisis, fotocátalisis y ozonación, procesos que permiten eliminar parcialmente al colorante (Kishor, et al., 2021).

### **1.6 Adsorción de contaminantes emergentes: Ampicilina**

El uso de fármacos en la población global es un problema ambiental, siendo los antibióticos y analgésicos los de mayor uso (Cysewski et al., 2022; Li et al., 2022). La ampicilina es un antibiótico del tipo  $\beta$ -lactámico (que incluye a ampicilina, amoxicilina, mezlocilina, floxacilina y piperacilina) y representa más del 65% de antibióticos en el mercado global (Shen et al., 2010). Durante la pandemia COVID-19, su consumo incrementó a niveles exorbitantes, habiendo reportes de su presencia en aguas residuales domésticas de hasta  $1050.54 \pm 761.43 \mu\text{g/L}$  en ciudades como Isfahan en Irán (Samandari et al., 2022).

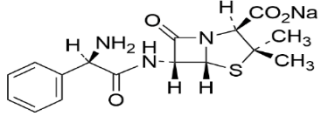
A pesar de que hoy día existen diversos reportes de la remoción de fármacos en aguas residuales por adsorbentes convencionales; éstos presentan limitaciones por la naturaleza de cargas de éstos, así como características químicas y estructurales de los adsorbatos que influyen en su adsorción selectiva en distintos pH (Mansouri et al., 2021). La presencia de más de un compuesto en el agua limita la remoción de fármacos por las interacciones que pueden existir entre ellos y otros compuestos, incluidos sus conjugados después de haber sido metabolizados en el cuerpo humano e incluso por su interacción con microplásticos (Gewurtz et al., 2022; Shin et al., 2021).

Los fármacos  $\beta$ -lactámicos son de naturaleza anfóterica, es decir que diferentes grupos en su estructura pueden ionizarse de manera positiva o negativa en función del pH (Li et al., 2023). La Tabla 1 muestra las características y estructura química de la ampicilina sódica, uno de los fármacos con mayor consumo alrededor del mundo, que es considerado como contaminante emergente (Mansouri et al., 2021; Hassan et al., 2012; Basheer 2018, Stan et al., 2017).

La ampicilina tiene grupos amino y carboxilo que influyen en su capacidad de disociación en función del pH. En condiciones ácidas estos grupos están protonados y se comportan como

cationes, mientras que en condiciones alcalinas se comportan como aniones. A pesar de ser una molécula anfiprótica, es decir, que tiene grupos funcionales que pueden cargarse positiva o negativamente, su punto isoeléctrico es 4.9-5 lo que implica que, por arriba de este pH, la molécula se encontrará cargada negativamente (Hou et al., 1969).

**Tabla 1.** Características estructurales y químicas de fármacos empleados para adsorción

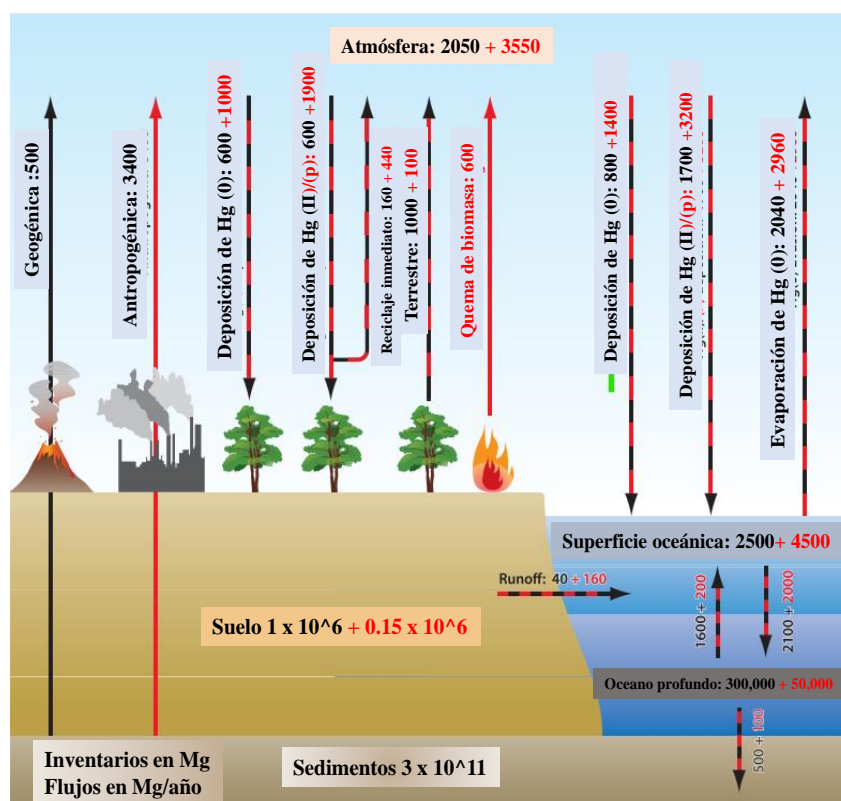
Fármaco	Estructura	Forma iónica	pH óptimo	Máxima absorbancia	Referencia
Ampicilina sódica	 <p>Muy soluble en agua y en soluciones isotónicas de glucosa y cloruro de sodio; ligeramente soluble en etanol; casi insoluble en éter dietílico</p>	pKa: 2.65, 7.3	2.55- 2.65	254-257	Pubchem.org

El uso de quitina o quitosano no es muy empleado por su baja interacción con fármacos debido a su naturaleza catiónica. Pese a que la quitina tiene limitaciones en la adsorción de contaminantes orgánicos, es capaz de tener interacciones químicas que produce la floculación de algunos fármacos como el ciprofloxacino, cuya naturaleza química es aprótica (Zhao et al., 2022).

### 1.7 Adsorción de metales pesados: Mercurio

Los metales pesados representan problemáticas ambientales asociadas a su bioacumulación en suelos y plantas, así como arrastre a cuerpos de agua, llevando a problemas de salud y ecotoxicidad (Uddin y Miah 2016). Un estudio realizado por Zhou et al., (2020) mostró que las concentraciones de metales pesados en Asia, África, Europa, Norteamérica y Sudamérica tuvieron incrementos drásticos tanto en aguas como en suelos para Pb, Cr, Hg, Zn, Fe, Mn y Al entre los años 1972 y 2017 debido al incremento de actividades industriales relacionadas

a la minería, la producción y el uso de fertilizantes y pesticidas, así como la erosión y las descargas de aguas residuales que contenían diversos metales en productos de diversa naturaleza, siendo la mayor concentración de metales a nivel mundial entre 1980 y 1990. En México el mercurio es uno de los metales pesados de mayor toxicidad presente en sedimentos, aguas y atmósfera que puede volatilizar y presenta un ciclo biogeoquímico (Figura 5). El incremento en su concentración se ha asociado al inicio de la era industrial, generando impactos en la salud poblacional y ambiental (Ruelas -Inzununa et al., 2013). En el Golfo de México, la presencia de mercurio en forma de metilmercurio que se acumula en aguas de mar, peces, ríos y sedimentos es elevada (Harris et al., 2012).



**Figura 5.** Ciclo biogeoquímico del mercurio e incremento en concentración terrestre estimada. Mg= megagramos, unidad equivalente a un millón de gramos, los valores en rojo representan el aporte antropogénico a la concentración de mercurio al ambiente.

Modificado de Selin (2009).

La principal fuente de contaminación por mercurio puede ser natural, industrial, de aguas residuales, agrícola, por productos médicos, sedimentos, plantas de cemento y cenizas volantes. El mercurio es un metal altamente venenoso con efectos tóxicos en glándulas tiroideas, tracto gastrointestinal, daños neuronales, en la reproducción y en algún momento que puede conducir a la muerte (Rice et al., 2014).

Se ha propuesto el uso de algunos desperdicios lignocelulósicos para adsorber  $Hg^{2+}$ , como residuos de dátiles sometidos a tratamientos de activación diferentes, obteniendo capacidades adsorbentes de 120 a 282 mg/g en función del tratamiento (Al-Ghouti et al., 2019). El uso de carbones activados funcionalizados con  $Na_2S$  ha reportado capacidades adsorbentes de 85.6 mg/g a partir de soluciones con concentraciones iniciales de 200 mg/L (Salcedo et al., 2021). El uso de quitosano dopado con magnetita ha sido reportado por Rahbar et al. (2014) obteniendo la máxima remoción a los 250 minutos con capacidades adsorbentes de 4.44 mg/g. Tang et al., (2011) empleó membranas de quitina y celulosa con capacidades de adsorción de 2.33 mmol/g, mientras que Barriada et al., (2008) menciona hasta un 75% de eliminación de  $Hg^{2+}$  después de 1800 minutos de adsorción con partículas de quitina, observando una dependencia del pH en la remoción de este metal.

El uso de adsorbentes basados en quitosano ha mostrado tener buenas remociones de metales, por la presencia de grupos amino e hidroxilo que interactúan con ellos, mientras que el uso de quitina ha sido probado con mayor éxito cuando esta se encuentra enriquecida con minerales como carbonato de calcio, siendo la remoción atribuida a la presencia de este mineral y a una mayor área superficial específica capaz de interactuar con metales (Anastopoulos et al., 2017).

Por su parte, el uso de lignocelulosa de *Opuntia ficus indica* ha removido exitosamente metales pesados como  $Cr^{6+}$  y  $Pb^{2+}$  empleando un polielectrolito obtenido del mucílago de nopal junto con sulfato de aluminio para formar un coagulante (Gomes et al., 2016). Las remociones de metales pesados por biomasa lignocelulosa ha sido principalmente atribuida a la interacción entre los metales y grupos funcionales carboxilo, fenólicos, carbonilo e hidroxilo presentes en la estructura de lignina, celulosa y polímeros como arabinogalactano (Barka et al., 2013).

## **1.8 Compostabilidad de matrices adsorbentes no convencionales**

Uno de los problemas más significativos que existe con el uso de matrices adsorbentes, es que una vez removidos los contaminantes de interés, no deberían transferirse a otras matrices o convertirse en sólidos de manejo especial. El uso de adsorbentes no convencionales basados en lignocelulosa y quitina tiene la ventaja de que ambas matrices son naturalmente biodegradables y también compostables una vez removidos los metales y/o contaminantes inorgánicos adsorbidos; sin embargo, su grado de degradabilidad y compostabilidad está dado por múltiples factores como son la humedad, el pH del medio, la presencia de oxígeno y la concentración y diversidad de organismos como bacterias, hongos y algas (Muniasamy et al., 2013).

La degradabilidad y la compostabilidad de un material son diferentes; la degradabilidad de un material se define por la ASTM D6400–12 (2012) y la ISO 14851–1 (2005) como un proceso irreversible que lleva a un cambio significativo en la estructura de un material, típicamente caracterizado por la pérdida de propiedades como integridad, peso molecular, estructura o resistencia mecánica; mientras que la compostabilidad de un material implica su degradabilidad mediante la acción de enzimas secretadas por organismos como bacterias, hongos y algas; e incluye una fase inicial (degradación primaria, en donde ocurren los cambios más importantes como pérdida de peso molecular, cambio estructural, fragmentación y conversión de polímeros a compuestos solubles en agua), y una fase secundaria (en donde los compuestos de bajo peso molecular son convertidos en CO<sub>2</sub>, agua y biomasa celular). Un material compostable es aquel que sufre degradación biológica durante el compostaje, llevando a la producción de CO<sub>2</sub>, agua, compuestos inorgánicos y biomasa a una velocidad consistente con otros materiales compostables y lleva a residuos no tóxicos.

Los procesos de compostabilidad constan de una fase mesofílica en donde se alcanzan los 45°C y bacterias mesofílicas y hongos se encargan de las primeras reacciones de degradación exotérmica, decreciendo el pH hasta valores de entre 5.5 a 5; en la etapa termofílica, se alcanzan temperaturas de hasta 60-70°C y la diversidad microbiana permite la degradación de diversos compuestos capaces de romper proteínas, grasas y carbohidratos tales como celulosa, hemicelulosa, quitina y otros compuestos estructuralmente complejos, esta fase puede durar incluso meses antes de llegar a la etapa de enfriamiento y maduración, en donde

los organismos mesófilos se reactivan al bajar la temperatura y la actividad biológica decrece (Muniyasamy et al., 2013).

Tanto la quitina como la lignocelulosa son degradables por procesos hidrolíticos, la quitina es un homólogo estructural de la celulosa y ambos polímeros poseen grupos hidrolizables; la lignocelulosa puede también ser degradada por oxidación debido a la presencia de grupos como los alcoholes y poliolefinas oxidables en la lignina (Muniyasamy et al., 2013, Beier et al., 2013).

Se sabe que la quitina, al contener grupos amino y acetamida, es transformada por procesos quitinoclásticos y de desacetilación. Un proceso es quitinoclástico cuando la quitina es degradada por hidrólisis enzimática de las uniones glucosídicas  $\beta$ -1,4, en un proceso quitinolítico, mientras que la desacetilación ocurre por la ruptura de grupos amino de la acetamida de la quitina (Beier et al., 2013; Cambel L. y Williams O. 1951).

La degradación de matrices lignocelulósicas depende en gran medida de su composición; si existe una elevada concentración de lignina, la velocidad de degradación será limitada (Muniyasamy et al., 2013).

La diversidad de especies asociada a la degradación de quitina y lignocelulosa en un ambiente natural o en una pila de composta puede ser difícil de determinar, sin embargo, se puede llegar a conocer el género o grupo de microorganismos asociados a procesos de degradación de éstos polímeros conociendo los perfiles metabólicos presentes en muestras biodegradadas, para lo cual ya existen pruebas bioquímicas que permiten conocer los perfiles metabólicos por su riqueza y uniformidad en el tiempo (Grzadziel et. al. 2019).

Este tipo de análisis es un método análogo de los análisis de riqueza de especies por área, en donde a través de pruebas bioquímicas se puede conocer la respuesta por oxidación de ciertos sustratos asociados a ciertas rutas metabólicas de cierto tipo de microorganismo, dividiendo a la diversidad por tipo de sustrato evaluando el desarrollo de color en diferentes tiempos (Bynum 2022, Grzadziel et al., 2019).

## 2. HIPÓTESIS

Los compuestos lignocelulósicos de *Opuntia ficus indica* y quitina calcárea son compatibles en la obtención de compósitos adsorbentes biodegradables con elevada porosidad y capacidad de hinchamiento que les permitan tener un mejor desempeño adsorbente de colorantes como el azul de metileno y otros contaminantes como ampicilina, azul índigo y mercurio.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Preparar y caracterizar compósitos compostables de quitina-nopal, evaluando su capacidad de adsorción de contaminantes, tales como colorantes nuevo azul de metileno y azul índigo, ampicilina y mercurio.

### 3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Estudiar las características fisicoquímicas y estructurales de compósitos obtenidos con diferentes proporciones de quitina y nopal.
- Evaluar la composición biopolimérica, pH, y dosis de adsorbato y adsorbente en la remoción de NMB como contaminante orgánico modelo de compuesto catiónico. Determinar la capacidad y eficiencia de adsorción de contaminantes con distinta naturaleza química (colorantes, antibióticos y metales base), cada uno ejemplificado por azul índigo, ampicilina y mercurio, por compósitos de quitina y nopal por el compósito de mayor remoción de la molécula modelo NMB.
- Estudiar la compostabilidad del compósito con mayor capacidad adsorbente de NMB

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Quitina calcárea y lignocelulosa de nopal

Se empleó quitina calcárea previamente obtenida de residuos de cefalotórax de camarón mediante una fermentación en dos etapas; en la primera se adicionó el lactobacilo *Lactobacillus brevis* seguido del hongo *Rhizopus oligosporus* en una concentración de  $10^7$  esporas/mL y 20% en volumen de inóculo del lactobacilo durante 192 horas. Esta quitina ya se encontraba caracterizada al momento de ser empleada y tenía un peso molecular de 1371 kDa, un grado de desproteínización del 96.91%, un módulo de Young de 5000 MPa, una cristalinidad del 89.7% y un contenido de minerales residuales del 0.86% (Aranday et al., 2019).

La lignocelulosa de nopal fue obtenida de una muestra de nopales de madurez intermedia (30 días) del género *Opuntia*, colectados en los meses de agosto y septiembre del 2020. Se eliminaron las espinas de los ejemplares y se sometieron a un tratamiento de lavado con una solución de 4.5 mg/L de NaClO durante 30 minutos seguido de ocho enjuagues con agua potable. Los ejemplares empleados en la obtención de los biocompósitos adsorbentes fueron cortados en láminas de 2 mm de grosor y secados al sol durante 24 horas. Algunas muestras de cladodios fueron analizadas en fresco congelándolos a  $-4^{\circ}\text{C}$  para la determinación de acidez y contenido de azúcares y proteínas. Tanto los cladodios como la quitina secos fueron triturados y tamizados en malla N° 100 (pasando por 0.149 mm) antes de su uso en la elaboración de biocompósitos.

### 4.2 Caracterización de lignocelulosa de nopal

#### 4.2.1 Determinación del contenido de extraíbles

La biomasa lignocelulósica puede contener compuestos solubles en disolventes neutros que generalmente no se consideran como parte de los polímeros lignocelulósicos como son aceites, resinas, taninos, azúcares, gomas, colorantes y almidones, y se conocen como extraíbles. La separación de extraíbles facilita la separación de celulosa y lignina (ASTM D1105-56).

La determinación de extraíbles se realizó de acuerdo con lo establecido en el método estándar D1105-56 (2010), empleando un equipo Soxhlet a partir de 9 gramos de muestra seca de lignocelulosa, a la cual se le adicionaron 200 mL de solvente formado por etanol: tolueno en una proporción 1:2 v/v durante 6 horas. Después de la extracción se realizó un lavado con etanol seguido de una segunda extracción con etanol al 95% durante 4 horas. La muestra se lavó con 500 mL de agua destilada y fue secada al aire a 25°C.

El contenido de extraíbles se determinó de acuerdo con la ecuación 1

$$\text{Extraíbles (\%)} = A \times 100 / W \quad (1)$$

Donde:

A= masa de extraíbles obtenido después del tratamiento en g

W= masa anhidra de la muestra

#### **4.2.2 Determinación del contenido de lignina**

Las muestras libres de extraíbles fueron procesadas para separar la lignina de la celulosa, a la cual se encuentra entrecruzada, por la adición de un ácido fuerte en altas concentraciones de acuerdo con la norma TAPPI T-222 os-74 (2006). Se colocaron 2 g de muestra anhidra en un vaso de precipitados de 100 mL y se adicionaron 15 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 72% macerando el material con una varilla de vidrio. El macerado fue transferido a un matraz de bola y se adicionaron 400 mL de H<sub>2</sub>O, agitando suavemente, hasta diluir la solución a una concentración de ácido al 3% equivalente a un volumen de 575 mL. La mezcla se hirvió a reflujo durante 4 horas manteniendo un volumen constante de agua y se decantó manteniendo el matraz inclinado hasta separar el material. El material se pasó por un filtro Gooch de porosidad fina y se lavó con agua caliente para posteriormente secar a 105°C hasta alcanzar un peso constante.

El contenido de lignina se determinó como se muestra en la ecuación 2:

$$\%Lignina = \frac{A \cdot 100}{W} \quad (2)$$

Donde:

A= Peso de Lignina obtenida después del tratamiento en g

W= Peso anhidro de la muestra

### **4.2.3 Determinación del contenido de celulosa**

La celulosa se encuentra unida a lignina en muestras vegetales por lo que debe ser separada de ésta ya que la lignina atrapa a la celulosa. Para aislar la celulosa debe disolverse a la lignina en una solución nitro-alcohólica que transforma a la lignina en productos nitro-fenólicos solubles en alcohol e insolubles en agua, protegiendo a la celulosa del ácido nítrico. Para esta determinación es necesario conocer el contenido de cenizas de la muestra. Se empleó una modificación del método estándar TAPPI T 203 os-74. Se colocaron 5 g de muestra en un matraz bola de 250 mL y se adicionaron 25 mL de ácido nítrico y 100 mL de alcohol. La mezcla se llevó a ebullición suave en baño María por una hora en reflujo de agua fría (Equipo Soxhlet). El líquido sobrenadante se decantó y se vertieron 125 mL de la muestra en un crisol que estaba a peso constante. Se puso nuevamente la muestra en ebullición y se filtró dos veces más. El residuo fue lavado con agua desionizada y se secó en la estufa a 103°C.

La diferencia de peso entre la muestra de la primera y la última ebullición permite conocer el contenido de celulosa de la muestra como se muestra en la ecuación 3

$$Celulosa (\%) = \frac{M_{cel} - M_{cen}}{M_a} \times 100 \quad (3)$$

Donde

$M_{cel}$  = masa bruta de celulosa

$M_{cen}$  = masa de las cenizas

$M_a$  = masa anhidra de la muestra.

### **4.2.4 Determinación del contenido de azúcares**

La determinación del contenido de azúcares totales se realizó por el ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). El procedimiento se basa en una reacción entre el DNS y los azúcares reductores presentes en la muestra. Su ventaja respecto a otros métodos es su alta sensibilidad y productividad (Bello et al., 2006). Este método permite conocer el consumo de azúcares en cinéticas de crecimiento celular y muestras; donde la cuantificación se realiza en comparación de una curva patrón de glucosa. Se utilizaron 0.5 g de muestra y 0.5 mL de reactivo DNS en tubos con tapa de rosca y éstos se colocaron en un baño de agua a 100°C por 7 minutos. Posteriormente se pusieron en hielo para enfriar y se agregaron 4 mL de agua

destilada seguido de una agitación vigorosa. Se determinó la absorbencia a 575 nm en un espectrofotómetro (Thermo spectronic Genesis 6) y se analizaron triplicados de cada muestra.

#### 4.2.5 Determinación del contenido humedad y cenizas

El porcentaje de humedad y cenizas se determinó por gravimetría. La determinación del contenido de humedad se realizó conforme al método 934.01 y se pesaron 5 g de muestra de nopal para colocarlos en un crisol previamente puesto a peso constante dejando secar por 24 horas a 110°C en la estufa. La ecuación 4 fue empleada para determinar el contenido de humedad:

$$\text{Humedad}(\%) = \frac{\text{Peso muestra} - \text{Peso crisol} \frac{c}{\text{muestra}}}{\text{Peso seco de la muestra}} \times 100 \quad (4)$$

La determinación de cenizas se hizo calcinando la muestra sólida en crisoles a peso constante durante 6 horas a 650°C, y su determinación se calculó de manera similar a la de la humedad como se muestra en la ecuación 5.

$$\text{Cenizas}(\%) = \frac{\text{Peso seco crisol con cenizas} - \text{peso seco crisol}}{\text{Peso seco de la muestra}} \times 100 \quad (5)$$

#### 4.2.6 Proteínas solubles

La concentración de proteínas solubles presentes en los cladodios de nopal se determinó por el método Lowry mediante una reacción redox de los enlaces peptídicos y con los aminoácidos Tyr, Trp y Cys. Este ensayo presenta interferencias en presencia de EDTA y sulfato de amonio. Se centrifugó la muestra a analizar a 8,000 rpm durante 5 minutos y se tomó 1 mL del sobrenadante. Previamente se preparó la solución de Fenol-Folin Ciocalteu con agua desionizada en una proporción 1:1 (Reactivo B). 1mL de la solución de Lowry (Reactivo A) fue adicionada a la muestra y se dejó incubar durante 10 minutos después de mezclar a 25°C. Se adicionaron 0.5 mL de reactivo B, se agitó e incubó la muestra por 30 minutos a 25°C y se determinó la absorbencia a 750 nm. Los resultados obtenidos se interpolaron con los obtenidos de una curva de calibración a partir del valor del pendiente obtenido de la ecuación de la recta. (Peterson 1977).

#### **4.3 Preparación de adsorbentes con diferentes proporciones de nanocrisales de quitina y lignocelulosa coloidales**

La elaboración de biocompósitos adsorbentes se realizó empleando diferentes proporciones de quitina (Ch) y lignocelulosa de nopal (CN). La elaboración de nanocrisales de quitina (Ch) y Nopal (CN) se llevó a cabo de acuerdo con lo reportado por Espadín et al., (2018) empleando HCl al 37% de pureza como solución de suspensión y NaOH al 50% grado industrial en el proceso de neutralización (Hycel, México).

Ch y N en polvo se suspendieron por separado en HCl concentrado a 0.067 g Ch/mL HCl y de 0.05 g N/mL HCl, bajo agitación constante en baño de hielo. Las suspensiones coloidales se mezclaron en frío con agua helada (10 volúmenes de agua por volumen de ácido agregado) y se dejaron sedimentar. Se decantó la fracción líquida y la fracción sedimentada se centrifugó a 10,000 rpm por 20 minutos en una centrifugadora Sorvall Legend XTR Centrifuge (Thermo Scientific, SL - C/ Luis I, 9 MADRID). Para neutralizarse las mezclas se adicionó agua desionizada y NaOH al 50% en agitación constante. Las mezclas neutralizadas se centrifugaron nuevamente a 10,000 rpm por 20 minutos y los pellets fueron secados al aire a 50°C por 24 horas.

#### **4.4 Punto de carga cero y distribución de pKas de los adsorbentes**

El punto de carga cero (pzc) puede ser expresado como la carga neta total de un adsorbente, o el valor de pH al cual su carga neta (interna y externa) es cero y se diferencia del punto isoeléctrico, en que el segundo es el valor correspondiente a las cargas superficiales externas de un material (Mahmood et al., 2011). El pzc depende de los grupos funcionales superficiales característicos de cada material, definiendo la carga del adsorbente en función del pH del medio. Si el valor de pH en el medio es menor que el pzc, el material tenderá a cargarse positivamente, mientras que, si el valor de pH en el medio es mayor al pzc, entonces éste tenderá a cargarse negativamente (Juela et al., 2020). El pzc es uno de los parámetros más importantes en un material y nos permite conocer la afinidad de un adsorbente por determinados adsorbatos, siendo este valor complementario con el pKa de un compuesto al momento de determinar la afinidad adsorbente- adsorbato en distintas condiciones de pH. En otras palabras, podemos predecir que, si el valor de pH en el medio es menor al valor de pKa

de un compuesto, éste estará predominantemente neutro, mientras que si el valor de  $pK_a < pH$ , la forma protonada estará predominante.

El punto de carga cero (pzc) de los adsorbentes CNCh, NC y CCh se determinó mediante titulación automática (Mettler Toledo PL 70 USA, Polaris Parkway, Columbus, OH USA). Los datos obtenidos fueron procesados en el programa de software SAEIUS-pK-dist© 1994 Jacek Jagiello para obtener las distribuciones de  $pK_a$  (Fosso-Kankeu et al., 2017).

#### **4.5 Potencial Z**

Si se considera que una partícula en suspensión tiene una carga neta, es porque se encuentra rodeada de una capa de iones de carga opuesta fuertemente unida a su superficie, conocida como capa Stern. Seguido a esta capa, una segunda capa de iones difusos se encuentra en la parte más externa y ambas capas de iones se conocen en conjunto como la doble capa, en donde el movimiento de partículas genera una diferencia de cargas entre ambas capas. El potencial zeta es el potencial electrostático en el límite de este plano, asociándose con la carga superficial de una partícula (Clogston y Patri 2011).

El potencial zeta se determinó en los coloides CCh, CN y CNCh utilizando un equipo de nano dimensionamiento zeta (Malvern modelo ZS90, Worcestershire, Reino Unido). Las muestras de quitina se obtuvieron de las suspensiones coloidales que se almacenaron en agua fría, obteniendo una fase sedimentada (Fr<sub>x1</sub>), una fracción de partículas suspensión (Fr<sub>x2</sub>) y una fase superficial (Fr<sub>x3</sub>). Las muestras de nopal mostraron solo una fracción suspendida (Fr<sub>x1</sub>) y una sedimentada (Fr<sub>x2</sub>). Cada fracción fue neutralizada, centrifugada, y una alícuota de 10 mg/mL de cada fracción fue suspendida en agua destilada y sonicada durante 15 minutos. Se tomaron 100  $\mu$ L de cada alícuota y se suspendieron en 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>d</sub> ajustando muestras a pH 2, 3, 7, 8 y 9 con HCl (1 N) o NaOH (1 N). Las muestras se volvieron a sonicar durante 15 minutos antes del análisis.

#### **4.6 Determinación del tamaño de partícula**

Se tomó una cantidad de 100  $\mu$ L/mL de cada alícuota (10 mg/mL) descrita en la sección anterior y se añadió a una solución de etanol/cloroformo (70:30 v/v); se agitó durante 10 minutos, se dejó sedimentar a 8°C durante 12 horas y se sonicó durante 6 minutos, seguido de precipitaciones durante 6 horas en un baño de hielo. A continuación, se tomó una alícuota

de la fracción suspendida, se volvió a suspender en 1 mL de etanol y se sonicó durante 10 minutos para analizarla en un equipo de nano dimensionamiento zeta (modelo Malvern ZS90, Worcestershire, Reino Unido).

#### **4.7 Espectroscopía infrarroja (FTIR)**

Los adsorbentes CNCh, CCh y CN, junto con las materias primas de cactus y quitina en polvo, se caracterizaron por espectrofotometría ATR-FTIR (Spectrum 100 FTIR Perkin-Elmer, Shelton, EE.UU.), recogiendo 16 espectros por muestra en un rango de 4,000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ . La caracterización se realizó antes y después de los experimentos de adsorción de NMB en diferentes concentraciones y condiciones de pH.

#### **4.8 Microscopía electrónica de barrido**

Las estructuras formadas en los adsorbentes CCh, N y las mezclas CNCh se observaron por SEM, así como la distribución del tamaño de los poros formados en los compuestos en un microscopio electrónico de barrido (Jeol JSM7600-F, Japón) con una fuente de emisión de campo de 30 KV y un sistema de alto vacío con un generador de escaneo de 5120 X 3840 píxeles. La distribución del tamaño de los poros se calculó utilizando micrografías de la sección transversal a 75.000X, y el área vacía se determinó utilizando el software Image J (versión 1.41o, NIH, Bethesda, MD, USA) (Gallardo-Rivera et al., 2018).

#### **4.9 Determinación de nanocristales de quitina por TEM**

Complementariamente al análisis de tamaño de partícula, se realizaron análisis por microscopía electrónica de transmitancia para corroborar la formación de estructuras tipo nanocristales en muestras de quitina y celulosa coloidal. Para ello se tomó una alícuota de 15 mg/mL y suspendió de manera manual en  $\text{H}_2\text{O}_d$  hasta eliminar partículas grandes, y se sonicó por 5 minutos y se centrifugó a 2,500 rpm para separar el sobrenadante y la fracción sedimentada. Del sobrenadante se tomó un volumen de 100  $\mu\text{L}$  de muestra y se resuspendió en 1mL de  $\text{H}_2\text{O}_d$ , las muestras fueron analizadas en un microscopio JEOL-JEM 2010–200 kV (USA).

#### **4.10 Área superficial específica y porosidad aparente**

El área superficial específica de los materiales NC, CCh y CNCh\_50 fue determinada por el método BET basado en la adsorción de N<sub>2</sub> a 77 K, y adsorción de NMB. Ambos métodos fueron contrastados y se compararon los resultados con los obtenidos de la determinación de tamaño de poro obtenidos por microscopía electrónica de barrido.

Para los análisis de adsorción-desorción de N<sub>2</sub>, las muestras CCh, CN y CNCh.50 se desgasificaron 12 h, previo al análisis, a una temperatura de 100 °C. Las mediciones se llevaron a cabo utilizando un analizador de adsorción volumétrica 3P micro 200 fabricado por 3P INSTRUMENTS (GmbH & Co. KG. Odelzhausen, Alemania).

Se calculó la superficie específica de las muestras (como) por Ec. (6) (Gregg et al., 1982) del capacidad de la monocapa,  $V_m^a$ , expresado en cm<sup>3</sup> (STP) /g unidades.

$$a_s = V_m^a L \sigma_m / 2.24 \times 10^{22} \quad (6)$$

Donde:

$L$ : es el número de Avogadro ( $6.23 \times 10^{23}$ )

$\sigma_m$  es el área molecular ocupada por una molécula de N<sub>2</sub> completa adsorbida en la monocapa que comúnmente tiene un valor de 0,162 nm<sup>2</sup>.

La capacidad monocapa  $V_m^a$  y el parámetro energético  $C$  se determinaron mediante la linealización de la ecuación de Brunauer-Emmett-Teller (BET) (Gregg et al., 1982):

$$\frac{\frac{P}{P_0}}{V \left(1 - \frac{P}{P_0}\right)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{C-1}{V_m C} \left(\frac{P}{P_0}\right) \quad (7)$$

Donde:

$V$  es la cantidad específica de N<sub>2</sub> adsorbida a la presión relativa ( $P/P_0$ ) para un gramo de adsorbente.

La determinación del área superficial específica en el compósito con mejor desempeño adsorbente empleando el método de azul de metileno, preparando soluciones 1mM de NMB y variando las dosis de adsorbente. Se emplearon los datos obtenidos de las isotermas de adsorción ajustadas al modelo de Langmuir, llevando los experimentos de adsorción al equilibrio a temperatura ambiente (25°C) y en agitación a 120 rpm. La adsorción del colorante fue determinada a 664 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (JASCO V-730 modelo SSE-704).

El área superficial específica se calculó como se muestra en la ecuación 8 (Vilar et al., 2007):

$$S_{MB} = \frac{q_{max} a_{NMB} N}{M_{NMB}} \quad (8)$$

Donde:

$S_{MB}$ : es el área superficial específica ( $m^2/g$ )

$q_{max}$ : es la masa de NMB adsorbida en la monocapa ( $g_{NMB}/g$ )

$a_{NMB}$ : es el área ocupada por una molécula de NMB ( $m^2/molécula$ )

$N$ : es el número de Avogadro ( $6.02 \times 10^{23}$  moléculas/mol)

$M$ : es la masa molar del colorante

De acuerdo con lo reportado por (Vilar et al., 2007), para el caso de la molécula de azul de metileno, ésta tiene una forma en paralelepípedo (polihedro de seis caras paralelas a iguales dos a dos), de aproximadamente  $17 \text{ \AA} \times 7.6 \text{ \AA} \times 3.25 \text{ \AA}$ ; sin embargo, su área sorbente puede cambiar en función de las diferentes orientaciones de unión entre al colorante y la superficie de la monocapa. Si la molécula se encuentra adsorbida en su cara más grande con la superficie del adsorbente, se ha reportado un área estimada de  $130 \text{ \AA}^2$  por molécula; si la molécula está inclinada entre  $65-70^\circ$  con respecto a la superficie del adsorbente, el área cubierta es cercana a  $66 \text{ \AA}^2$  (Hähner et al., 1996), pero si el eje mayor está orientado perpendicularmente a la superficie, el área cubierta es de aproximadamente  $24.7 \text{ \AA}^2$ . Debido a esta incertidumbre respecto al área de colorante que entra en contacto con la superficie de un adsorbente formando una monocapa, la mayor parte de autores reporta un área superficial molecular de  $130 \text{ \AA}^2$  (Vilar et al., 2007). En el caso de la molécula de NMB, se ha reportado un área de superficie polar topológica de  $63.7 \text{ \AA}^2$  (pubchem.org), esta área corresponde a la suma de áreas de todos los átomos o moléculas polares como oxígeno, nitrógeno, y sus uniones con hidrógenos (Prasanna y Doerksen 2009); y es similar a la reportada por Hähner et al., (1996) cuando la molécula tiene un ángulo de inclinación. Considerando que la molécula de NMB tiene dos carbonos más que la molécula convencional azul de metileno, se consideró un área superficial molecular de  $130 \text{ \AA}^2$ .

#### **4.11 Perfiles de hinchamiento de los materiales**

Las pruebas de hinchamiento de las mezclas adsorbentes CNCh fueron realizadas sumergiendo 10 mg de compósitos en frascos con 10 mL de solución de NMB 0.25 mM,

cerrando herméticamente, y determinando su peso cada 24 horas. Las muestras fueron almacenadas a 25°C en condiciones estáticas, y los compósitos húmedos fueron colocados en un papel Whatman para adsorber el exceso de humedad antes de medir su peso. El perfil de hinchamiento volvió a determinarse en la mezcla adsorbente con mejor desempeño, empleando soluciones de NMB 1mM, variando las condiciones de pH a 3, 5, 7, 9 y 12.

El perfil de hinchamiento (% H<sub>t</sub>) se calculó de acuerdo con la ecuación 9:

$$H_t(\%) = \frac{W_h - W_0}{W_0} \times 100 \quad (9)$$

Donde:

W<sub>h</sub> es el peso húmedo del compuesto y

W<sub>0</sub> es el peso del compuesto seco

#### 4.12 Ángulo de contacto

El ángulo de contacto se refiere al ángulo que forma la superficie de un líquido al entrar en contacto con un sólido. La medición del ángulo de contacto permite conocer el grado de hidrofobicidad de una sustancia o material de acuerdo con el ángulo formado por una gota en aire. Si el ángulo está entre 0° y 90°, la superficie es hidrofílica. Si está entre 90° y 180° es hidrofóbica. Si el ángulo se aproxima a 180°, es una superficie ultra hidrofóbica (Atria Innovation, 2016). La medición del ángulo de contacto se realizó utilizando suspensiones coloidales de los compósitos CNCh, CN y CCh neutralizados por la caída de una gota de 1μL de agua en una superficie de cristal cubierta por las mezclas coloidales formando una película secada a 45° por 24 horas (Gopi et al., 2017).

Se montó el sistema de microscopio Intel y se ajustó el objetivo a 10 X. Frente a la lente se colocó un portaobjetos con el pellet. Se dejó caer una gota de agua sobre este, al mismo tiempo se tomó una foto capturando el momento en que la gota toca la superficie. Por último, se seleccionaron las mejores fotos para medir el ángulo de contacto con el software Image J. La determinación del ángulo de contacto se llevó a cabo por la siguiente ecuación 10:

$$\theta = 2 \tan^{-1} \left( \frac{2h}{b} \right) \quad (10)$$

Donde

h: es la altura

b: es la base de la gota en la superficie con las mezclas coloidales

### **4.13 Pruebas de adsorción de contaminantes**

#### **4.13.1 Adsorción de nuevo azul de metileno (NMB)**

Se llevaron a cabo pruebas de adsorción de NMB a 0.25 mM y 1 mM empleando las distintas mezclas adsorbentes. La capacidad adsorbente en cada tiempo ( $q_t$ ) se obtuvo por inmersión de los hidrogeles CNCh en soluciones de NMB (1 mM) durante 24 horas, tomando una muestra para identificar la formulación con mayor adsorción de acuerdo con la ecuación 11. La absorbancia del colorante se determinó en un espectrofotómetro UV-Vis (JASCO V-730 modelo SSE-704) a una longitud de onda de 664 nm para las soluciones NMB. Se empleó una curva de calibración de NMB de 0.1 a 1 Mm y la capacidad adsorbente ( $q_t$ ) fue determinada como se muestra en la ecuación 11.

$$qt = (C_0 - C_e) \frac{V}{m} \quad (11)$$

Donde:

$C_0$  es la concentración inicial del colorante en solución

$C_e$  es la concentración de colorante en el efluente,

$V$  es el volumen experimental y

$m$  es la masa de adsorbente utilizado

#### **4.13.2 Eficiencia de adsorción**

La eficiencia de adsorción ( $E$ ) fue determinado mediante la ecuación 12 variando pH y dosis de adsorbente, así como en diferentes concentraciones de colorante.

$$E (\%) = \frac{(C_i - C_e)}{C_i} \times 100 \quad (12)$$

Donde

$C_i$  es la concentración del colorante al tiempo cero y

$C_e$  es la concentración de colorante en el efluente

#### **4.13.3 Efecto del pH y dosis de adsorbente en la adsorción de NMB**

Se determinó la capacidad de adsorción en diferentes tiempos ( $qt$ ) por inmersión de la mejor mezcla adsorbente CNCh en soluciones NMB (1 mM) a pH 3, 5, 7 y 9; determinando la concentración del colorante a 664nm durante 24 horas en recipientes de vidrio herméticamente cerrados a 25 °C a una presión de 0.767 atm.

Se determinó la eficiencia de adsorción ( $E$  (%)) para cada pH, empleando distintas dosis de adsorbente (1, 2, 3 y 4 g/L).

#### **4.13.4 Isotermas de adsorción de NMB**

A partir de la mejor composición CNCh adsorbente de NMB (considerando el rendimiento, hinchamiento, capacidad y eficiencia de adsorción) se realizaron isotermas de adsorción empleando la mejor dosis y pH de adsorción ajustando los datos a los modelos Freundlich y Langmuir en un análisis de regresión lineal (Microsoft Corporation. (2010). Microsoft Excel. Retrieved from <https://office.microsoft.com/Excel>).

El modelo de Langmuir asume un proceso de adsorción por la formación de monocapas, considera que la energía de sorción es la misma para cada molécula independientemente de la superficie del material, lo que significa que un número finito de sitios existe y no hay interacción entre las especies adsorbidas (Tan et al., 2020). La ecuación (15) muestra el modelo linearizado.

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{max}b} + \frac{1}{b} \quad (15)$$

Donde:

$C_e$  es la concentración en el equilibrio adsorbente en la fase líquida,

$q_e$  es la concentración en el adsorbido en equilibrio en el adsorbente,

$q_{max}$  es la capacidad máxima de adsorción,

$b$  es la constante relacionada con la energía o entalpía neta de adsorción.

El modelo de Freundlich, por otro lado, asume energías de adsorción heterogéneas en la superficie del adsorbente; es decir, la energía de adsorción no es la misma en los diferentes sitios de adsorción (Trujillo-Reyes et al., 2010). Su forma linealizada puede expresarse como se muestra en la ecuación 16.

$$\log q_e = \log k_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (16)$$

donde:

$q_e$  es la capacidad de adsorción en un equilibrio,

$k_F$  es la constante de afinidad,

$n$  representa la heterogeneidad del sistema,

$C_e$  es la concentración en el equilibrio del adsorbido en la fase líquida.

#### 4.13.5 Cinéticas de adsorción de NMB

Se realizaron cinéticas de adsorción para todas las condiciones de pH empleadas en la sección anterior, tomando muestras cada 10 minutos durante los primeros 100 minutos, a los 120 minutos y cada 2 horas hasta las 12 horas de adsorción y a las 24 horas. Todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

El modelo de pseudo-primer orden de Lagergren (ecuación 13) relaciona la capacidad de adsorción en estado sólido a la tasa de adsorción constantes en función de la transferencia de masa. La tasa de cambio en el consumo de soluto se supone que es directamente proporcional a la diferencia en la concentración de saturación y la cantidad consumida por el sólido

$$\ln(q_i - q_t) = \ln q_{e1} - k_1 t \quad (13)$$

Donde

$q_i$  es la cantidad de colorante en el tiempo cero (mg/g)

$q_e$  es la cantidad de colorante al equilibrio (mg/g)

$q_t$  es la cantidad de NMB adsorbida al tiempo t (mg/g)

$k_1$  es la constante de velocidad de adsorción de pseudo-primer orden

El modelo de pseudo-segundo orden (ecuación 14) asume que capacidad de adsorción es proporcional al número de activos ocupados en el adsorbente a cada tiempo t, es decir, es el paso límite en la velocidad de adsorción es la quimisorción

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2} + \frac{1}{q_e} t \quad (14)$$

Donde:

$K$ , es la constante de adsorción (g/mg x min)

$q_t$  es la cantidad de adsorbato en la superficie del adsorbente al tiempo  $t$  y

$q_e$  es la cantidad de adsorbato al equilibrio (Ho and McKay, 1999)

#### **4.14 Adsorción de azul índigo (AI)**

Debido a que el azul índigo es un compuesto insoluble en agua, se pusieron a prueba tres métodos de suspensión del colorante (Martínez López 2023; Buscio et al., 2014; Manu 2006; Saikhao et al., 2018, Saura y Galindo 2015; Buscio et al., 2007)

##### **4.14.1 Suspensiones en etanol**

Se prepararon soluciones de azul índigo 0.25 mM empleando como disolvente etanol, la concentración se eligió tomando en cuenta que las pruebas exploratorias de adsorción de NMB fueron en esa concentración. El colorante se suspendió en una solución de etanol: agua 20/80 dejando en agitación constante durante  $12 \pm 4$  horas.

##### **4.14.2 Suspensiones en cloroformo**

Se ha reportado la suspensión del colorante azul índigo en cloroformo (Buscio et al., 2014), donde la concentración del colorante puede medirse espectrofotométricamente a 604 nm con una buena linealidad. El método consiste en suspender el polvo del colorante en cloroformo en la concentración deseada y se coloca en un baño ultrasónico por 10 minutos para lograr la disolución completa.

##### **4.14.3 Suspensión en medio alcalino y ditionito de sodio**

Este es el método más usado a nivel laboratorio e industrial, y consiste en la suspensión del colorante en un medio alcalino junto con la adición de un agente reductor que permita llevar al colorante a su forma leuconada para posteriormente oxidarlo completamente (Manu 2006;

Saikhao et al., 2018, Saura y Galindo 2015; Buscio et al., 2007). Muchos autores reportan el uso de mezclas NaOH: Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> con discrepancias respecto a las proporciones de los reactivos, por lo que en el presente estudio se pusieron a prueba los métodos reportados por Manu, 2015 y Saikhao et al., 2018.

Método 1 (Manu 2006): Se preparó una solución de azul índigo 0.15 mM agregando 1 gramo de ditionito de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) por cada 0.85 g del colorante. Ambos reactivos se suspendieron en una solución con NaOH al 50% que fue agregado en una proporción de 0.815 mL de NaOH/g de AI. La solución se llevó a calentamiento hasta alcanzar 80°C y se dejó en calentamiento durante 2 horas en un matraz Erlenmeyer perfectamente tapado para llevar a cabo la reducción completa del colorante. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se saturó con aire comprimido para llevar a cabo el proceso de oxidación del colorante, tornándose la solución de amarilla a azul.

Método 2 (Saikhao et al., 2018): Se preparó una suspensión de colorante adicionando 5 g/L a una solución de NaOH 0.3 M y 10 g/L de ditionito de sodio. La solución se agitó y se dejó en calentamiento a 70°C durante 10 minutos en un matraz Erlenmeyer perfectamente cerrado seguido de su enfriamiento a 30°C para su posterior oxidación con aire a presión durante 2 minutos.

Todas las suspensiones fueron filtradas en una membrana de fibra de vidrio previamente puesta a peso contante para determinar el porcentaje de solubles y sólidos en suspensión. A partir de la elección del método más eficiente para la suspensión del colorante AI se hicieron barridos espectrofotométricos para determinar la máxima absorbencia a la cual puede ser detectada la molécula para continuar con la elaboración de una curva patrón y su cuantificación antes y después del proceso de adsorción.

#### **4.14.4. Adsorción de azul índigo**

Se llevaron a cabo pruebas de adsorción con el mejor sistema solvente en matraces de 50 mL con 25 mL de las suspensiones de azul índigo en una concentración C<sub>0</sub>=100 mg/L, sellados con Parafilm®. Los experimentos se llevaron a cabo por 24 h a 25°C con una agitación de 120 rpm. La determinación de la capacidad adsorbente y eficiencia de adsorción se realizó de la misma forma que con el colorante NMB (Sección 4.13.1 y 4.13.2). La cuantificación de la remoción se llevó a cabo a partir de una curva de calibración de las soluciones de azul

índigo filtradas en una membrana de celulosa de 0.45  $\mu\text{m}$  y las muestras adsorbidas también fueron filtradas previo a su análisis espectrofotométrico en un espectrofotómetro UV-Vis (JASCO V-730 modelo SSE-704) una longitud de onda de 667 nm y 438nm.

#### **4.15 Adsorción de contaminantes emergentes: Ampicilina**

Se realizaron pruebas exploratorias para determinar la capacidad adsorbente de un antibiótico por el composito con mayor adsorción de NMB, eligiendo a la ampicilina sódica a una concentración referida bibliográficamente empleando el pH de la solución (pH= 5.79), y analizando únicamente la adsorción del medicamento respecto al tiempo.

Empleando el área bajo la curva obtenida cromatográficamente para cada concentración, se construyó una curva de calibración de ampicilina de 0.008 a 1.5 mg/mL (Anexo 3); y se despejó el valor de la pendiente obtenido de la ecuación de la recta para conocer la concentración del fármaco en cada tiempo de adsorción analizado.

Se pesó una cantidad de la muestra equivalente a 500 mg de ampicilina sódica y se transfirió a un matraz volumétrico de 50 mL, disolviéndola con agua desionizada; a partir de esta solución se preparó otra con una concentración inicial de 32.52 mg/L, tomando en cuenta lo reportado por Kulkarni et al., (2017), quien reporta concentraciones de este fármaco en aguas residuales de 2.31 a 42.1 ng/mL. Las suspensiones obtenidas fueron sonicada durante 10 minutos y filtradas en una membrana de 0.45 $\mu\text{m}$  previo a su análisis por HPLC.

Todas las soluciones stock y sus disoluciones se realizaron el día de su análisis tomando en cuenta las recomendaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). Las pruebas de detección del analito se realizaron por HPLC en una columna Agilent (4.6 mm x 150 mm) C18, 5 $\mu\text{m}$ . Se realizaron algunas pruebas de detección del analito con diferentes concentraciones de ácido fórmico al 1% y MeOH como fase móvil hasta llegar a la mejor condición que fue una proporción 84:16 ácido fórmico: MeOH, empleando un flujo de 1 mL/min y una temperatura de análisis de 35°C; cada corrida fue de 8 minutos.

Después de todos los análisis la columna fue lavada con una solución de MeOH al 50 % incrementando el flujo de 0.1 a 1, esperando a que la columna se estabilizara en cada gradiente

#### **4.16 Adsorción de mercurio**

Se realizaron experimentos preliminares a una dosis de 10g/L de CNCh\_50 para determinar la eficiencia de adsorción de  $Hg^{2+}$  por el compósito. Se prepararon soluciones de  $HgCl_2$  a una concentración de 350 mg/L de  $Hg^{2+}$  y el pH de las soluciones se ajustó a 6 y 4. A partir de los resultados obtenidos se propuso evaluar tres diferentes dosis de adsorbente (5, 10 y 15 g/L de CNCh\_50) en condiciones de pH 3 que corresponden a las condiciones de pH en donde el cloruro de mercurio se encuentra totalmente disuelto; y pH 6, donde el cloruro de mercurio comienza a precipitar, y se determinaron los factores de mayor influencia en la remoción de mercurio por una regresión lineal múltiple (sección 5.6).

Las condiciones evaluadas se muestran en la tabla 2, donde la concentración de mercurio también cambió.

**Tabla 2.** Condiciones experimentales para para la adsorción de  $Hg^{2+}$  en agua por el compósito CNCh50

N° de experimento/ Factor	valor experimental		
	[Hg](mg/L)	Dosis CNCh_50	pH
1	150	5	6
2	350	5	6
3	150	15	6
4	350	15	6
5	250	5	3
6	250	15	3
7	150	10	3
8	350	10	3
9	250	10	6

Las pruebas de adsorción se llevaron a cabo a una velocidad de agitación de 120 rpm y temperatura ambiente (25°C) en matraces de 100 mL tratados previamente con ácido nítrico al 10% para evitar impurezas; se emplearon volúmenes experimentales de 50 mL. Se tomaron muestras de 2 mL cada 15 minutos en 12 tiempos diferentes con ayuda de una micropipeta; se agregaron dos gotas de  $HNO_3$  concentrado para preservar las muestras previas a su análisis. Los experimentos se llevaron a cabo por duplicado para cada metal.

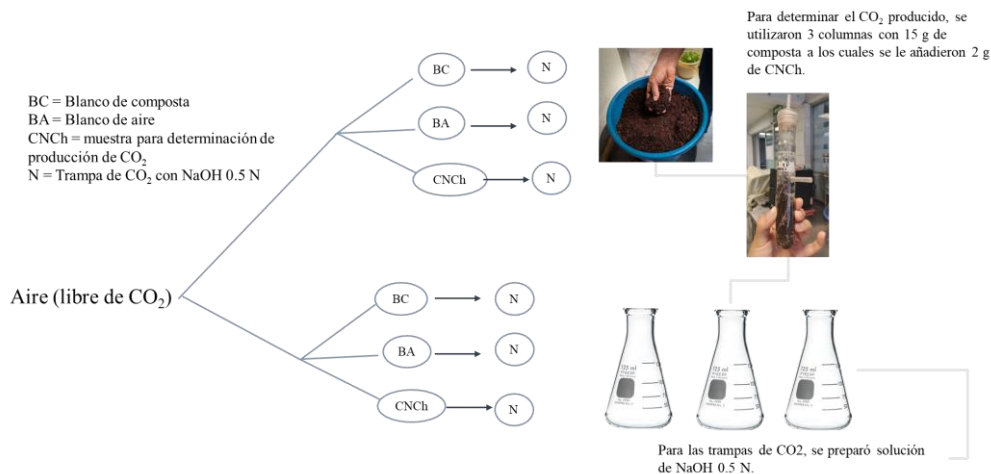
Las muestras tratadas por adsorción fueron analizadas en un espectrómetro de absorción atómica SpectrAA 220FS, se empleó una mezcla aire: etileno para la determinación de las

muestras y soluciones patrón de 100, 200 y 300 ppm se utilizaron antes de cada análisis para establecer una curva patrón. La regresión lineal múltiple se realizó en el Software NCSS.

#### **4.17 Compostabilidad de matrices adsorbentes**

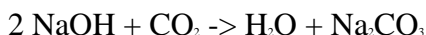
##### **4.17.1 Compostabilidad en laboratorio**

La compostabilidad de las matrices adsorbentes CN, CCh y la mejor mezcla adsorbente CNCh se realizó midiendo la biodegradación aeróbica en columnas de una muestra de pre-composta proveniente de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB) Unidad Zacatenco. De acuerdo con la norma NMX-E-273-NYCE-2019 y la ASTM D5338 -15. La composta debe tener de 2 a 4 meses de antigüedad y venir de la fracción orgánica de desechos municipales sólidos tamizados en una malla de 10 mm, eliminando interferentes como ramas gruesas y piedras. Esta metodología determina el grado y velocidad de degradación aeróbica de un material en exposición a un ambiente de compostaje controlado bajo condiciones de laboratorio en el que se monitorean la temperatura, la aireación y la humedad (ASTM, 2015). El método está diseñado para obtener el porcentaje de conversión del carbono presente en las muestras a CO<sub>2</sub>, midiendo la concentración de gas que reacciona con NaOH colocado en trampas de aire que se conectan a las columnas de compostaje aireadas mediante una manguera (Figura 6).

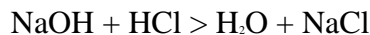


**Figura 6.** Esquema de la configuración de las columnas de compostaje

El NaOH reacciona de la siguiente manera cuando entra en contacto con el CO<sub>2</sub>:



Se determina la cantidad de NaOH titulando con HCl 0.5 N, reaccionando así:



De estas ecuaciones, observa que el número de mmol de CO<sub>2</sub> producidos es:

$$\text{mmoles de CO}_2 = \text{mmoles de NaOH al inicio} - \text{mmoles de HCl}$$

Para calcular el porcentaje de biodegradabilidad, se utiliza la ecuación 17:

$$\text{Biodegradabilidad (\%)} = \frac{(\text{CO}_2)_T - (\text{CO}_2)_B}{\text{ThCO}_2} \quad (17)$$

En donde

(CO<sub>2</sub>)<sub>T</sub> es la producción acumulada de CO<sub>2</sub> en la columna con muestra,

(CO<sub>2</sub>)<sub>B</sub> es la producción acumulada de CO<sub>2</sub> en la columna del blanco de aire y

ThCO<sub>2</sub> es la cantidad teórica de CO<sub>2</sub> que puede producir la muestra.

Para calcular ThCO<sub>2</sub> se utiliza la ecuación 18:

$$\text{ThCO}_2 = \frac{44 \times Y}{12} \quad (18)$$

En donde:

Y es la cantidad de carbono en la muestra, la cual se calcula multiplicando la masa de CNCh<sub>50</sub> cargada en la columna por la fracción másica de carbono en CNCh<sub>50</sub> que se obtuvo del análisis elemental del compuesto.

Para la determinación de CO<sub>2</sub>, se utilizaron 3 columnas con 15 g de composta a los cuales se le añadieron 2 g de los compósitos CNCh\_50, CN y CCh. También se utilizaron 4 columnas de control: 2 para el blanco con composta y 2 para el blanco de aire. La captura de CO<sub>2</sub> se realizó en trampas de aire que consistieron en matraces con 100 ml de NaOH 0.5 N y conectadas por una manguera a las columnas de composta.

El sistema fue colocado en la estufa a una temperatura controlada de 45°. Todas las columnas utilizadas se conectaron a un sistema de aire presurizado para proveer aire libre de CO<sub>2</sub> y saturado de H<sub>2</sub>O de acuerdo con la norma ASTM (2015). Cada 72 horas se realizó la titulación del NaOH contenido en las trampas con una solución de HCl 0.5 N. También las columnas fueron humedecidas regularmente.

De manera paralela se realizaron pruebas compostabilidad en campo. Al final de los experimentos de compostaje se tomó el peso final de las muestras compostadas en laboratorio y en campo.

#### **4.17.2 Diversidad metabólica durante el compostaje**

El perfil metabólico y fisiológico de comunidades microbianas en compósitos de quitina y lignocelulosa se realizó empleando Ecoplates Biolog<sup>TM</sup> para el adsorbente CNCh con mayor eficiencia de adsorción de NMB, CN, CCh y el mejor material CNCh impregnado con el colorante.

El arreglo de microplacas Biolog está diseñado para proveer información acerca de cambios microbiológicos en un sustrato a partir de metabolitos producidos por comunidades microbianas y su reacción con los sustratos de la microplacas. En este ensayo, se puede ver la estabilidad de una población normal para detectar y evaluar los cambios en una variable ambiental tras el inicio de la incubación de una muestra con microorganismos. El ensayo consta de 31 fuentes de carbón, seis de las cuales no se encuentran presentes en la placa y son primordialmente aminoácidos (n=6), 10 diferentes carbohidratos y 7 ácidos carboxílicos con 3 réplicas de cada uno. En este ensayo, hay un triplicado que no contiene ninguna fuente de carbono que sirve como blanco, de esa forma, cualquier coloración indica presumiblemente el uso de una fuente de carbono.

Para los análisis estadísticos se empleó el software Origin Pro versión 8.6, NCSS e Infostat versión para estudiantes. En la Tabla 3 se muestra el acomodo de sustratos en las placas.

**Tabla 3.** Acomodo de sustratos en Ecoplates Biolog<sup>TM</sup> para el análisis de comunidades microbianas

1 Agua	2 b-Metil-D-glucósido	3 Ácido D-galactónico -Lactona	4 L-Arginina	5 Agua	6 b-Metil-D-glucósido	7 Acid D-Galactonico g-Lactona	8 L-Arginina	9 Agua	10 b-Metil-D-glucósido	11 Acido D-Galactonico g-Lactona	12 L-Arginina
1 Éster metílico del ácido pirúvico	2 D-Xilosa	3 ÁcidoD-Galacturónico	4 L-Asparagina	5 Éster metílico del ácido pirúvico	6 D-xilosa	7 ÁcidoD-Galacturónico	8 L-Asparagina	9 Éster metílico del ácido pirúvico	10 D-Xilosa	11 ÁcidoD-Galacturónico	12 L-Asparagina
1 Tween 40	2 i-Eritritol	3 Ácido 2-hidroxi benzoico	4 L- fenilalanina	5 Tween 40	6 i-Eritritol	7 Ácido 2-hidroxi benzoico	8 L- Fenilalanina	9 Tween 40	10 i-Eritritol	11 Ácido 2-hidroxi benzoico	12 L- Fenilalanina
1 Tween 80	2 D-Manitol	3 Ácido 4-hidroxi benzoico	4 L-Serina	5 Tween 80	6 D-Manitol	7 Ácido 4-hidroxi benzoico	8 L-Serina	9 Tween 80	10 D-Manitol	11 Ácido 4-hidroxi benzoico	12 L-Serina
1 a-Cyclodextrina	2 N-Acetil-D-Glucosamina	3 Ácido g-amino butírico	4 L-Treonina	5 a-Cyclodextrina	6 N-acetil-D-glucosamina	7 Acido g-Amino Butírico	8 L-treonina	9 a-Ciclodextrina	10 N-acetil-D-glucosamina	11 Acido g-Amino Butírico	12 L-treonina
1 Glicogeno	2 D- Ácido Glucosamínico	3 Ácido Itaconico	4 Ácido glicílico-L-glutámico	5 Glicogeno	6 D- Ácido Glucosamina	7 Ácido itacónico	8 Ácido glicólico-L-glutámico	9 Glucógeno	10 Acido D-Glucosamínico	11 Ácido Itacónico	12 Ácido glicílico-L-glutámico
1 D-celobiosa	2 Glucosa-1-Fosfato	3 Acido a-Ceto Butírico	4 Feniletilamina	5 D-Celobiosa	6 Glucosa-1-Fosfato	7 Acido a-Ceto Butírico	8 Feniletilamina	9 D-Celobiosa	10 Glucosa-1-Fosfato	11 Ácido a-Ceto Butírico	12 Feniletilamina
1 a-D-Lactosa	2 D,L-a- Glicerol Fosfato	3 D-Malic Acid	4 Putrescina	5 a-D-Lactosa	6 D,L-a- Glicerol Fosfato	7 Acid D-Malico	8 Putrescina	9 a-D-Lactosa	10 D,L-a- Glicerol Fosfato	11 ácido D-málico	12 Putrescina

A partir de los resultados obtenidos por los cambios de la densidad óptica (OD) en los pozos a lo largo de una incubación de 5 días se puede determinar la diversidad metabólica mediante diferentes indicadores, uno de ellos es el índice de Shannon.

#### **4.17.3 Determinación de la diversidad metabólica por índice de Shannon**

El índice de Shannon permite describir la diversidad en un ecosistema, en el caso del ensayo bioquímico en Ecoplates Biolog; este índice nos da un referente de la diversidad metabólica presente en una muestra de suelos, pudiendo hacer un acercamiento al tipo de microorganismos predominantes en los procesos de degradación por la oxidación de ciertos tipos de sustratos (Grzadziel et. al. 2019). A partir de los datos obtenidos de las placas Ecoplates Biolog se puede estimar la diversidad metabólica a partir del promedio de los datos de densidad óptica (OD), como desarrollo de color por (ecuación 19)

$$H' = \sum pi(\ln pi) \quad (19)$$

Donde:

Pi= es la actividad de cada sustrato (OD<sub>i</sub>) entre la suma de las actividades de todos los sustratos ( $\sum_{\text{Dosis}}$ ), el índice de Shannon se obtiene por la sumatoria de la actividad de cada sustrato por el logaritmo natural de la actividad en cada sustrato.

Si el valor del índice de Shannon es  $H' > 3$ , la diversidad metabólica es elevada, mientras que si  $H' < 3$ , significa que no hay diversidad de comunidades (Wang et al., 2020; Grzadziel et al., 2019). La actividad metabólica se estima mediante la sumatoria de los sustratos agrupados en 6 grupos, de acuerdo con la fuente de carbono probada y expresada en porcentaje de actividad. El índice de uniformidad de Shannon ( $E'$ ) nos permite conocer la uniformidad metabólica a través del índice de Shannon y se calcula como en la ecuación 20 (Grzadziel et al., 2019)

$$E' = \frac{H'}{\ln S} \quad (20)$$

En donde:

S es el número de pozos con buen desarrollo de color o riqueza de utilización de sustrato

Siendo S determinada como el número de sustratos con OD > 0.25

#### 4.17.4 Diversidad metabólica por Análisis de Componentes Principales (ACP)

Una de las limitantes del índice de Shannon es que solo permite determinar si existe o no diversidad metabólica, pero no es indicativo del perfil microbiológico asociado a los procesos de degradación. Existen diversas formas de interpretar los resultados obtenidos del ensayo Ecoplates Biolog, uno de ellos es a través del desarrollo medio de color de pozo AWCD, (por sus siglas en inglés average well color development), parámetro que sirve para medir la diversidad metabólica asociada a ciertos sustratos a lo largo de un tiempo de incubación en la placa. Este análisis se obtiene realizando el cociente de la sumatoria de la OD corregida obtenida en cada pozo menos la OD obtenida en los pozos blanco), entre el número de sustratos en cada placa (en este caso son 31). Este valor puede obtenerse como se muestra en la ecuación 21 que fue propuesta por Garland et al., (1991) (Németh et al.,2021; Grządziel et. al. 2018; Floch et al., 2011):

$$AWCD = \frac{\sum_{i=1}^N OD_i}{N} \quad (21)$$

Donde:

$OD_i$  es el valor de densidad óptica en cada pozo menos la OD obtenida en los pozos blanco  
N es el número de sustratos.

Las AWCDs se puede graficar con respecto al tiempo en cada muestra para determinar de manera general el desarrollo de color en cada tiempo de incubación (Grządziel et al.,2019). El AWCD es un parámetro que se puede utilizar para realizar un análisis de componentes principales (ACP) a un tiempo determinado; pero este análisis puede también llevarse a cabo por tipo de sustrato (SAWCD por sus siglas en inglés substrate average well color development) determinando los sustratos con mayor oxidación; o mediante un ACP de toda la cinética de desarrollo de color por tipo de sustrato, en ambos casos se toma el valor corregido de OD al restarle la actividad promedio de los pozos control al tiempo t (Németh et al., 2021)

$$SAWCD = \frac{\sum_{i=1}^N OD_i}{N} \quad (22)$$

Donde:

$OD_i$  es el valoro corregido de OD dentro de la categoría de sustratos

N es el número de sustratos en cada categoría

El ACP permite reducir datos y hacer análisis exploratorios, transformando mediante un análisis multivariado un conjunto de variables correlacionadas en un nuevo conjunto de variables no correlacionadas, permitiendo clasificar sistemas independientes de carácter correlacionado a partir del establecimiento de patrones (Szymanska-Chargot y Zdunek 2013).

El ACP es una herramienta muy útil en la determinación de diversidad metabólica a lo largo del tiempo de incubación de las microplacas Ecoplates; para ello, los datos deben ser primero transformados haciendo el cociente de los datos de desarrollo de color en el pozo para cada sustrato, la diferencia en la densidad óptica al tiempo t (generalmente es a las 120 h), respecto al pozo control, por el ACWD de cada pozo al tiempo t, como se muestra en la ecuación 23

$$\textit{Actividad metabólica} = \frac{(C-R)}{AWCD} \quad (23)$$

Donde

C= es la producción de color en cada pozo (densidad óptica OD)

R= es el valor de la absorbencia en el pozo control

AWCD= es el desarrollo de color media por sustrato

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Caracterización de lignocelulosa de nopal

#### 5.1.1 Contenido de extraíbles, lignina y celulosa

El contenido de celulosa en los cladodios de nopal fue de  $40.87 \pm 0.60\%$ , mientras que de lignina fue  $13.53 \pm 3.15\%$ , y  $26.03 \pm 2.37\%$  de extraíbles. Estos contenidos están en el rango de lo reportado en estudios previos como el de Rodríguez-García et al. (2007), quienes reportan que en estado de maduración de 64 días incrementa el contenido de fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa y lignina).

#### 5.1.2 Azúcares totales, reductores y acidez de las muestras

El pH de las muestras frescas de cactus fue de 4.81 y el contenido de azúcares totales fue de  $13.61 \pm 0.75$  mg/mL, mientras que los azúcares reductores en muestras de cladodios frescos fueron de  $4.97 \pm 0.37$  mg/L y de 19.62 mg/L en muestras secas. Este último valor obtenido en muestras secas coincide con lo reportado por Retamal et al (1987) para cladodios maduros colectados en septiembre, ya que el autor menciona que la composición y contenido de azúcares en cladodios de *O. ficus indica* varía estacionalmente.

#### 5.1.3 Humedad y cenizas

Los cladodios frescos de *O. ficus indica* mostraron una humedad de  $95.50 \pm 1.26\%$  y en muestras secas de  $17.36 \pm 46\%$ , así como un porcentaje de cenizas de  $1.48 \pm 0.54\%$ . Estos datos coinciden con lo reportado por Ventura-Aguilar et al. (2017).

#### 5.1.4 Contenido de proteínas

El contenido de proteínas solubles se determinó en la fracción líquida de los cladodios frescos por el método Lowry, obteniendo una concentración de  $8.78 \pm 0.04$  mg/g de muestra. Otras referencias mencionan que cladodios maduros pueden presentar un contenido de 70.7 y 89 mg/g por método Kjeldhal (Hernández-Urbiola, et al., 2015).

De acuerdo con Tran et al., (2015), una mayor composición de fibras insolubles genera matrices resistentes, la composición de los adsorbentes lignocelulósicos, como la madera, cáscara, conchas, hojas y tallos, contiene celulosa (7-73%), lignina (2-33%) y cenizas (1-17%). Teniendo en cuenta la composición química de los cladodios de cactus de este estudio, son buenos candidatos como adsorbentes. Además, el cactus crece más rápido que la madera como fuente de lignocelulosa.

## **5.2 Obtención de matrices adsorbentes de quitina y nopal**

### **5.2.1 Rendimiento de obtención y composición final**

Durante la preparación de adsorbentes se observó una pérdida de los componentes iniciales durante la neutralización, por lo que se hizo un análisis del rendimiento en peso seco al final de su elaboración. Estos resultados se contrastaron con los obtenidos de un análisis elemental, en donde las concentraciones de nitrógeno y carbono fueron los principales indicadores de la abundancia de quitina (Ch) o biomasa de nopal (N) por una menor concentración de nitrógeno correspondiente a los grupos amino y amida de la quitina. Debido a que las mezclas se suspendieron hasta obtener coloides, las matrices elaboradas a partir de quitina fueron denominadas como CCh (quitina coloidal), las de solo nopal como CN (nopal coloidal) y la mezcla en diferentes proporciones de quitina y nopal coloidal fue denominada con el prefijo CNCh\_ (quitina y nopal coloidales).

Los adsorbentes CCh mostraron el mayor rendimiento de obtención ( $59\pm 12.3\%$ ) en contraste con los CN, que obtuvieron un rendimiento de  $18.4\pm 2.33\%$ . Se puede atribuir el bajo rendimiento de CN al alto contenido de compuestos solubles en agua perdidos durante neutralización. Esto afectó el contenido de N en las mezclas CNCh, por lo que el contenido de cactus al final del proceso para la mezcla con composición inicial de Ch: N 3:1, Ch: N 1:1, y Ch: N 1:3 fueron 10%, 25%, y 50%, respectivamente.

El análisis elemental es una técnica que permite la estimación de los precursores de quitina/lignina en la mezcla al final que permite asociar la composición con el rendimiento (Zdarta et al., 2015). El contenido de nitrógeno presente en los compósitos se muestra en la

Tabla 4. Como se puede observar, el biocompositos CN presentó una baja concentración de nitrógeno (0.34%), mientras que la CCh fue del 4.12%.

Los resultados del análisis elemental son consistentes con la relación de desechos de quitina y cactus; por lo tanto, adsorbentes con mayores proporciones de quitina presentaron un contenido de nitrógeno más elevado y mayores rendimientos respecto a los que tenían mayor contenido de lignocelulosa.

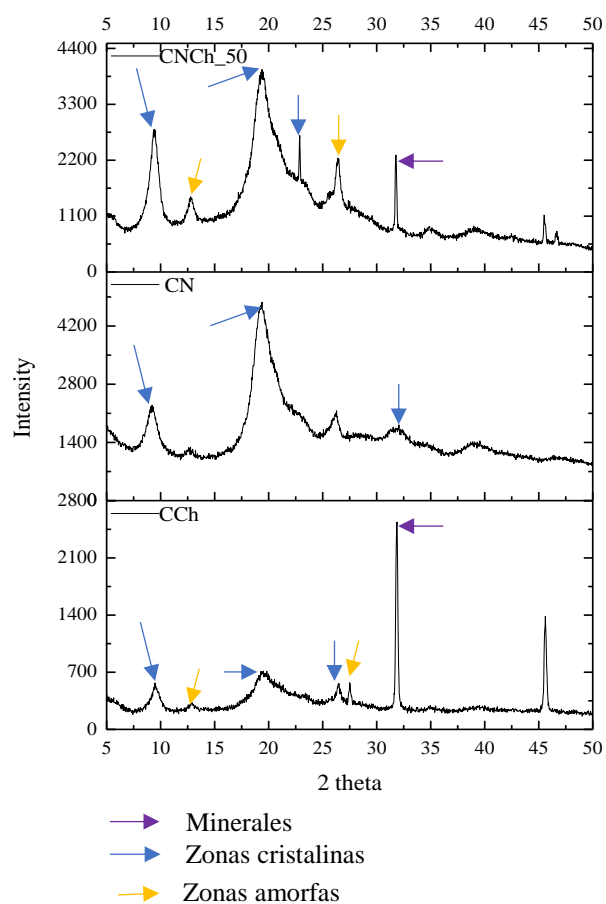
**Tabla 4.** Rendimientos y análisis elemental de adsorbentes

Muestra	CCh	CNCh_10	CNCh_25	CNCh_50	CN
Y (%)	62.28± 10.08 <sub>a</sub>	51± 3.59 <sub>a,b</sub>	34.8± 3.52 <sub>b,c</sub>	32.61± 0.87 <sub>c</sub>	18.4± 2.33 <sub>d</sub>
N (%)	4.12	3.76	3.20	2.28	0.34
C (%)	33.15	38.55	42.40	33.32	29.95
H (%)	5.09	5.80	6.48	4.98	4.64
S (%)	0.20	0	0	0	0

\*Y: Rendimiento de obtención de adsorbentes. Las letras en cada valor de rendimiento corresponden a grupos significativamente diferentes ( $\alpha \leq 0.05$ ) según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ( $\alpha \leq 0.05$ )

### 5.2.2 Cristalinidad por difracción de rayos X

El patrón de difracción de rayos X de CCh (Figura 7) mostró reflexiones cristalinas a 9. 4°, 19. 5°, 23. 1° y 26. 5° y amorfas a 12. 1°, patrones que coinciden con lo reportado por Aranday-García et al., (2019). En este difractograma también se observó la presencia de minerales en  $2\theta = 31.8^\circ$  (Espíndola-Cortés et al., 2017). Las estructuras cristalinas de lignocelulosa en de CN mostraron la presencia de celulosa tipo I a 9.2°, 19.4° y 21.4° y tipo II a 34° (Rosa et al., 2010; Liu et al., 2014). Estas difracciones también estuvieron presentes en CNCh\_50; el porcentaje de cristalinidad (C %) resultó en 63% y 34% para CN y CCh, respectivamente, mientras que el compósito CNCh\_50 mostró un porcentaje de cristalinidad del 68.1%. La baja cristalinidad determinada en CCh puede estar relacionada con la baja pureza de la quitina calcárea y el tratamiento ácido de coloidización, mientras que el ligero aumento en la cristalinidad de CNCh\_50 puede atribuirse a las nanopartículas cristalinas del nopal en contribución de quitina.



**Figura 7.** Difractogramas de rayos X de compuestos CNCh<sub>50</sub>, CC y CN

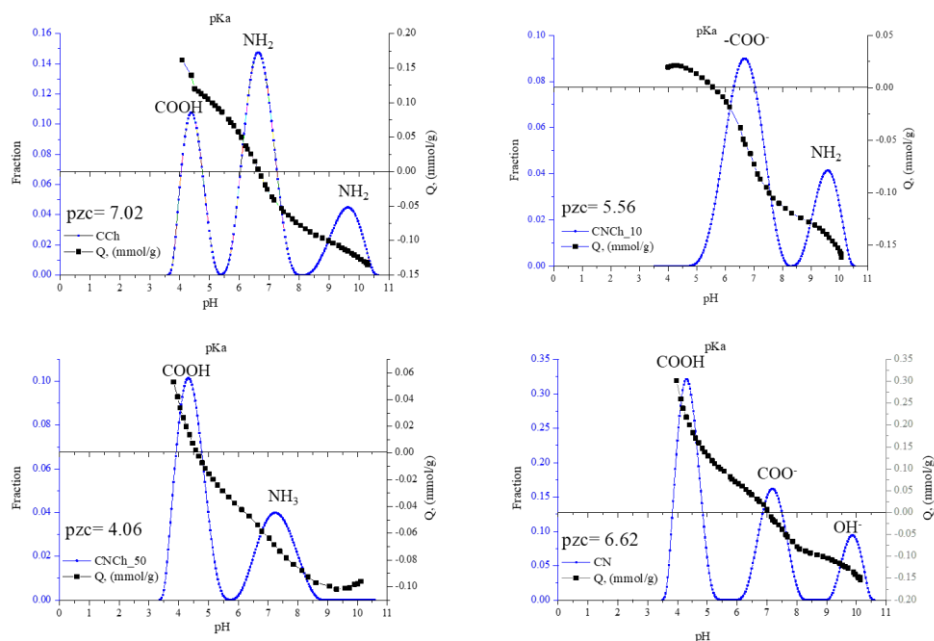
### 5.2.3 Punto de carga cero y distribución de pKas de los adsorbentes

El pzc de CNCh<sub>50</sub>, CNCh<sub>10</sub>, y CN fue 4.6, 5.56, y 7.02, respectivamente (Figura 8); mientras que el valor pzc de quitina fue de 6.62, el cual ya ha sido reportado anteriormente (Jaafarzadeh et al., 2014). Los pzc de materiales derivados de fracciones lignocelulósicas se encuentran en el rango de pzc de 4.2 a 6.8 dependiendo del tipo de tratamiento de activación (químico o térmico). La determinación de pzc proporciona una comprensión de la relación adsorbato-adsorbente en diversas condiciones de pH. El compuesto adsorbente se carga positivamente cuando el valor del pH es inferior a su pzc y viceversa. La selectividad del adsorbente depende principalmente de la carga superficial del adsorbato; en este caso, el NMB es un colorante catiónico con un pKa de 3.8 que puede ser afín al adsorbente, cuya

superficie se cargará negativamente por arriba de su pzc; por lo tanto, sus grupos protonados disminuyen cuando el  $\text{pH} > \text{pKa}$  (Salazar-Rabago et al., 2017).

Los materiales CN mostraron especies ácidas capaces de desprotonarse en condiciones de  $\text{pH} \geq 7$  como grupos aniónicos de la oxidación parcial de carboxilatos y acetilos, polialcoholes de lignina y grupos carbonilo e hidroxilo (Liu et al., 2014; Melo et al., 2018). Por otro lado, los adsorbentes de CCh mostraron un predominio de especies no protonadas en condiciones de pH neutro y especies débilmente protonadas en  $\text{pH} < 9.5$  con grupos amino e hidroxilo de quitina. La presencia de grupos carbonilo y acetilo en la cadena quitina pueden conferir una carga débilmente negativa (Aranday-García et al., 2019).

CNCh\_50 fue más aniónico que CNCh\_10 debido a los grupos funcionales que se protonan en condiciones de  $\text{pH} < 4.6$  (Figura 6). Las bajas presencias de especies sin carga y sin grupos funcionales son capaces de protonarse en el rango de pH alcalino, dándole una naturaleza polianiónica. Además, el material de CCh no fue cargado a un pH de aprox. 6.6 y débilmente aniónico a un pH superior a 4.6, debido a la baja proporción de grupos protonables (por ejemplo,  $\text{NH}_2$ ) a un pH inferior a 9.

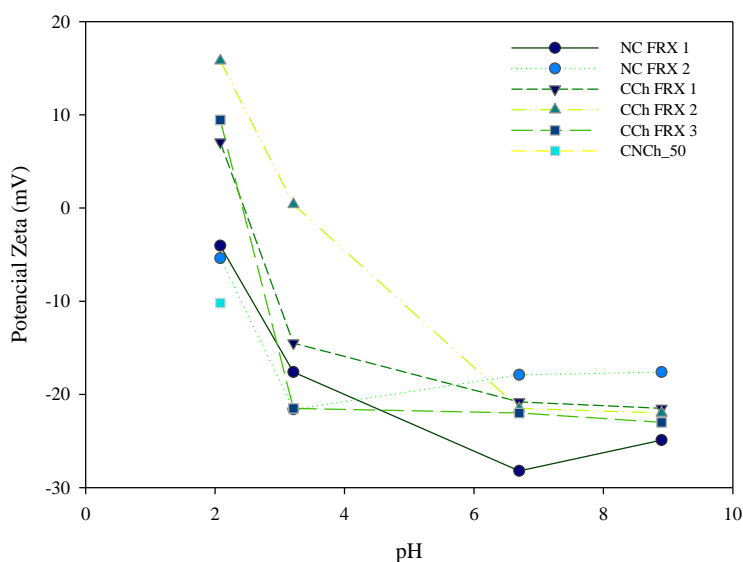


9

**Figura 8.** Distribución de carga superficial (Q) y pKa de CNCh. a) CCh, b) CNCh\_10, c) CNCh\_50, y d) CN

### 5.2.4 Potencial Z

Las determinaciones del potencial de Zeta se llevaron a cabo en un rango de pH de 2 a 9 para las mezclas coloidales CCh y CN, CNCh\_50, Ch y N en sus fracciones sedimentables y suspendidas (Figura 9). A pH 2, las fracciones Frx1, Frx2 y Frx3 de CCh tenían una naturaleza débilmente catiónica de 7.07 mV, 15.8 mV y 9.45 mV, respectivamente debido a la presencia de grupos amino, hidroxilo y carboxilo que se encuentran protonadas; mientras que las fracciones Frx1 y Frx2 de CN fueron aniónicas (-4.05 mV y -5.39 mV, respectivamente). Bajo condiciones de pH neutro, CCh mostró una naturaleza aniónica ( $-26.21 \pm 4.37$  mV), que puede ser explicada por la presencia de grupos de acetamida en su cadena (Liu et al., 2014); mientras que CN mostró un potencial Z de -35.3mV. Los valores potencial de zeta obtenidos en este estudio para la quitina son consistentes con los reportados por Wijesena et al., (2020) para nano fibrillas de -22.5 mV en condiciones de pH superior a 7, mientras que a pH 2, el potencial Z era débilmente catiónico (5.2mV), y se volvió aniónico a  $\text{pH} > 4$ , mostrando que el carácter aniónico o catiónico de las nanofibrillas de quitina se define por la presencia de cargas débiles y superficiales.



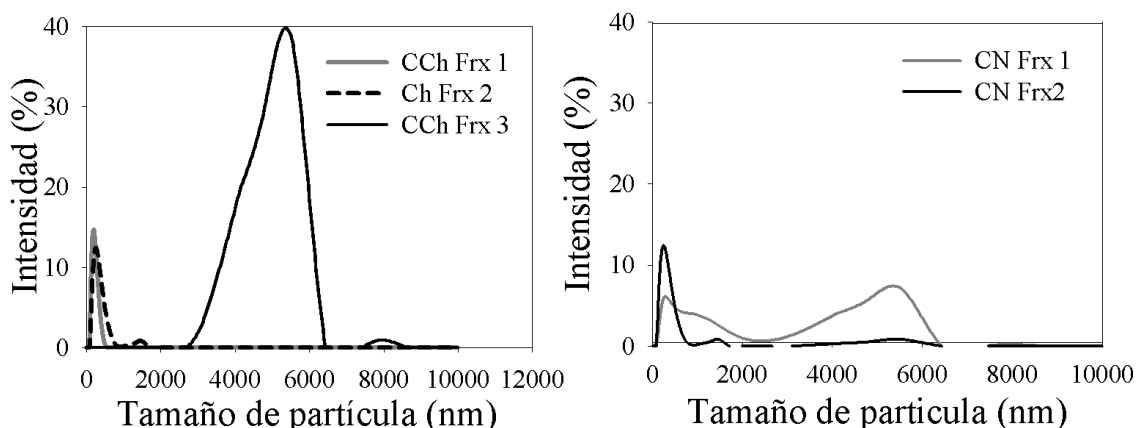
**Figura 9.** Potencial zeta de las fracciones CNCh\_50, CCh y NC

A pesar de la naturaleza catiónica de CCh en pH ácido, el compuesto CNCh\_50 permaneció con un potencial zeta negativo (-10.2 mV); posteriormente, cuando el pH fue de 6-7, CNCh\_50 alcanzó la estabilidad coloidal como un complejo aniónico (-39.4 mV). De

acuerdo con Domínguez-Martínez et al., (2017) y Clogston y Patri (2011), las partículas se consideran catiónicas si el potencial zeta  $>30\text{mV}$ , y aniónicas si el potencial Zeta  $<-30\text{mV}$ . La prevalencia de la naturaleza aniónica en el compuesto CNCh\_50 se explica por la presencia de grupos de polialcoholes, carboxilo e hidroxilo de lignocelulosa que proporcionan una carga superficial negativa (Zhong et al., 2012).

### 5.2.5 Distribución de tamaño de partícula

Los tamaños de partícula obtenidos en las fracciones de CN y CCh se muestran en la Figura 10. La mayor distribución de tamaño de partícula en CCh fue de 100 y 1000 nm con tamaños máximos de 5000 nm en la Frx 3; que era la fracción sedimentada; Frx 2 mostró la mayor frecuencia de tamaño en 250 nm, mientras que Frx1 tuvo una frecuencia máxima de tamaño de partícula de 290 nm. La Frx 1 y 2 de CN mostraron la frecuencia de partícula más alta a 295 nm y 255 nm, respectivamente. Los resultados de tamaño de partícula están en el rango de los reportados por Rosa et al., (2010) para la caracterización de nanocristales de celulosa, mientras que tamaños de partícula reportados por fracciones 1 y 3 de CCh son similares a la reportado por Li et al., (2020), quien reporta tamaños de partícula de 200 y 450 nm. Las Frx1 de CN\_ y Frx3 de CCh\_50 presentaron los índices más altos de polidispersidad debido a la agregación, ya que eran fracciones sedimentadas. El montaje en los compuestos podría ser debido a su carga superficial. CCh es débilmente catiónico, mientras que el CN es débilmente aniónico a pH ácido.



**Figura 10.** Distribución de partícula de las fracciones obtenidas durante el tratamiento ácido de Ch y N a CCh y CN coloidales

Debido a la naturaleza más aniónica, rendimiento de obtención y pruebas preliminares de remoción de colorante NMB, el compuesto CNCh\_50 fue el material elegido como el de mejor desempeño adsorbente y con él se realizaron las demás pruebas de caracterización y adsorción de contaminantes.

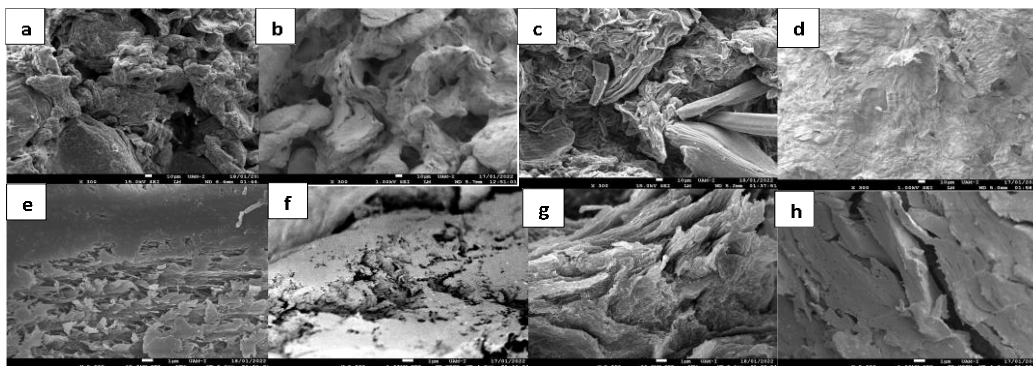
### **5.2.6 Microscopía electrónica de barrido**

La estructura de las secciones superficiales y transversales de los compósitos CN, CCh y CNCh se muestra en la Fig. 11, donde puede observarse que los adsorbentes de CN tienen una morfología más lisa que CCh, el cual presentó irregularidades superficiales y una estructura porosa heterogénea (Figuras 11.a y d). Los adsorbentes CNCh\_10 mostraron menos irregularidades que CCh, mientras que CNCh\_50 mostró fibras de quitina en su estructura (Figura 11.c).

Las micrografías de la sección transversal de CCh (Figura. 11.e) mostraron la disposición de escamas de quitina; mientras que la Figura 11.h muestra la disposición de estructuras lignocelulósicas formando láminas. En la micrografía de la sección transversal de CNCh\_10 (Figura 11.f), se observa disposición de lignocelulosa sobre láminas de quitina, mientras que en CNCh\_50, que fue el material elegido como mejor adsorbente, mostró arreglos de fibras de cactus forman láminas sobre capas en el material.

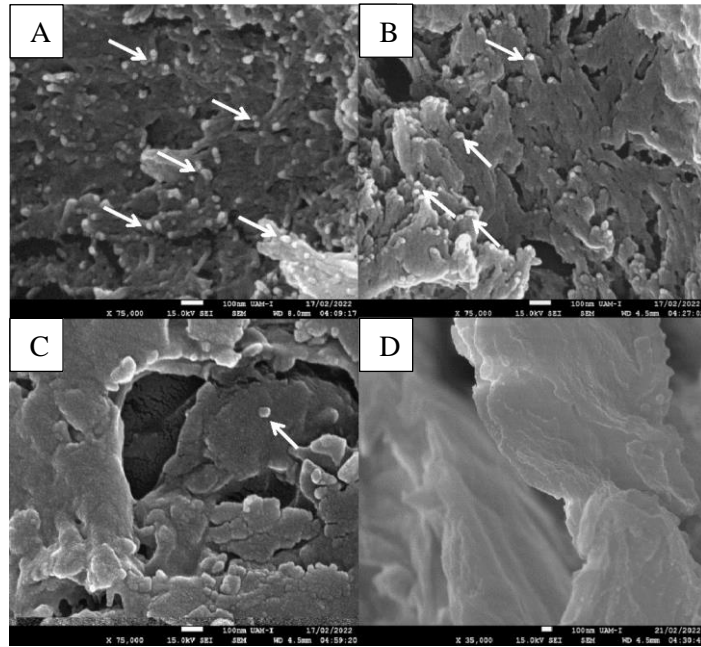
Las estructuras lignocelulósicas de CNCh\_50 son similares a las reportadas por Manna et al., (2017), quien compara lignocelulosa cruda con lignocelulosa fenólica modificada con una resina, y lignocelulosa tratadas con álcalis; obteniendo estructuras con macroporos.

Las micrografías de CCh muestran fracciones minerales de quitina calcárea como aglomerados que se conservan en la CNCh\_10 y CNCh\_50 (Fig. 11), pero no en CN.



**Figura 11.** Micrografías SEM de los adsorbentes CNCh a 300X y 1000 X. Vista superficial de: a) CCh, b) CNCh\_10, c) CNCh\_50, d) NC. Vista transversal: e) CCh, f) CNCh\_10, g) CNCh\_50, h) CN

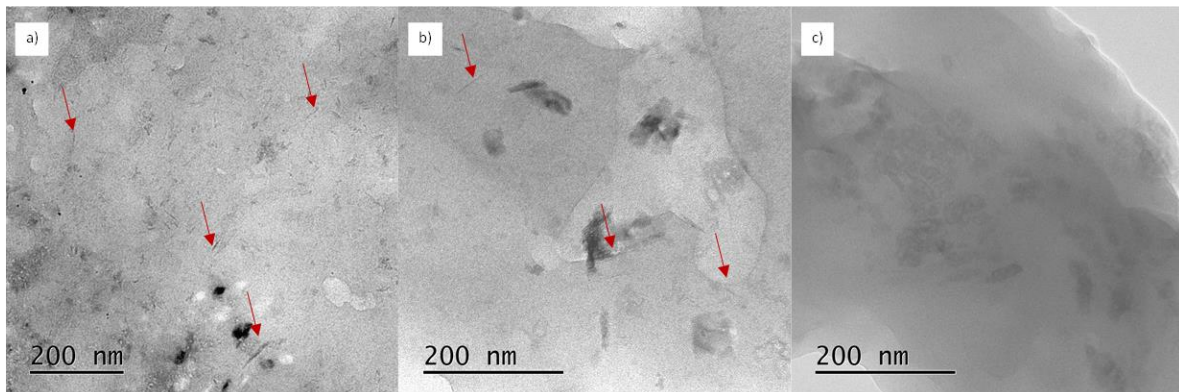
Las estructuras de fracciones minerales en CCh se muestran en las micrografías de la Figura 12. La presencia de fracciones minerales se asocia a estructuras de carbonato de calcio que coinciden con los difractogramas de la Figura 7, en donde se observa una señal muy intensa asociada a minerales, que en las micrografías SEM se observan como aglomerados cuya frecuencia es menor en los materiales con menor proporción de quitina (Figura 12.a, 12b y 12c), y no son visualmente presentes en CN (Figura 12.d). La presencia de minerales en la quitina se ha reportado como variantes alomorfos de carbonato de calcio (Espíndola-Cortés et al., 2017), mientras que en estructuras lignocelulósicas corresponden a cristales de oxalato de calcio (Ventura-Aguilar 2017).



**Figura 12.** Micrografías SEM de los compósitos: **A.** CCh, **B.** CNCh\_10; **C.** CNCh\_50 y **D.** CN. Las flechas muestran posibles minerales.

### 5.2.7 Nanocrisales de quitina

La presencia de nanocrisales fue evidente para las muestras de quitina coloidal pero no para las muestras de lignocelulosa debido al bajo rendimiento de obtención de los materiales y la baja concentración de celulosa suspendida en los coloides. La Figura 13 muestra las estructuras de nanocrisales suspendidas en agua que fueron obtenidas de las suspensiones coloidales antes de ser secados para su uso como adsorbentes.



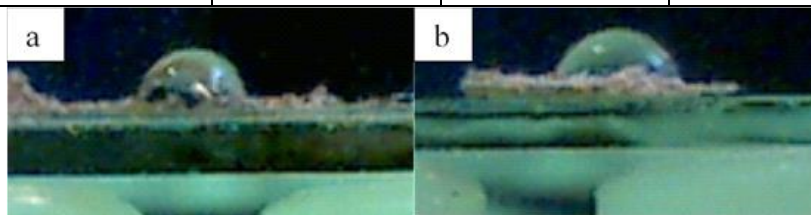
**Figura 13.** Nanoestructuras formadas en a) CCh, b) CNCh\_50 y c) CN

### 5.2.8 Ángulo de contacto

Los resultados obtenidos de la determinación de ángulo de contacto muestran que el compuesto CCh tuvo una naturaleza hidrófoba con un valor promedio de  $92.13^{\circ} \pm 3.27^{\circ}$  mientras que los compósitos CN y CNCh\_50 mostraron ser de carácter menos hidrófobo con ángulos  $\theta$  de  $84.16 \pm 2.83^{\circ}$  y  $88.55 \pm 1.17^{\circ}$ , respectivamente. Estos resultados son coherentes con un mayor porcentaje de hinchamiento, es decir mayor absorción al agua (Tabla 5, Figura 14).

**Tabla 5.** Ángulo de contacto de los compósitos ChN\_50, NC y CCh

$\Delta\theta$			
	CCh	CNCh_50	NC
PROMEDIO	$92.13 \pm 3.27$	$88.55 \pm 1.17$	$84.16 \pm 2.83$



**Figura 14.** Micrografía de la determinación del ángulo de contacto de a) CCh y b) CNCh\_50

### 5.2.9 Área superficial específica y volumen de poros

El método BET de fisisorción de nitrógeno para determinar el área superficial específica se utilizó en los adsorbentes CCh, CN y el compuesto CNCh\_50 con intervalos de análisis a una presión relativa de 0.5 a 0.6 para los compósitos s CCh y NC y de 0.25 a 0.65 para la CNCh\_50, mostrando áreas de  $0.7 \text{ m}^2/\text{g}$ ,  $0.5 \text{ m}^2/\text{g}$  y  $1 \text{ m}^2/\text{g}$  para CCh, CN y CNCh\_50 respectivamente. Este método se ha reportado en quitina y lignina Kraft tratadas con peróxido de hidrógeno, reportando superficies específicas de  $2.7 \text{ m}^2/\text{g}$  y  $0.1 \text{ m}^2/\text{g}$ , respectivamente; mostrando un valor  $V_p$  para quitina significativamente mayor que en lignina, ( $0.0018 \text{ cm}^3/\text{g}$  y  $0.001 \text{ cm}^3/\text{g}$ , respectivamente) (Klapiszewski et al., 2013).

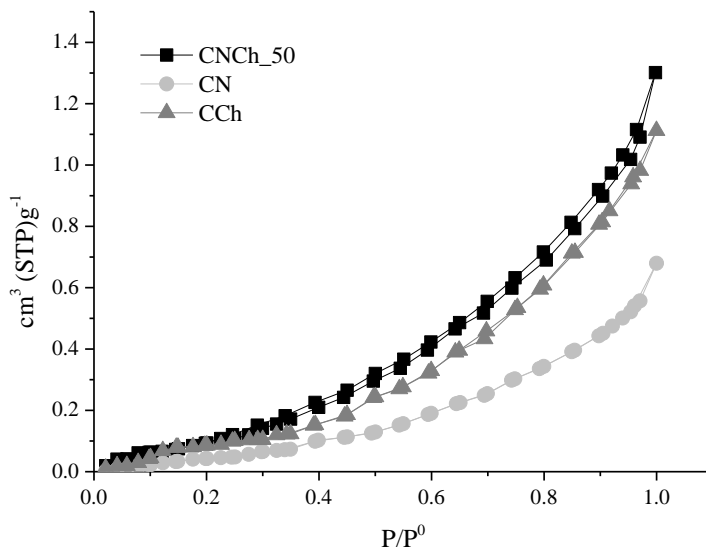
La determinación de área superficial específica por fisisorción de nitrógeno, se basa en la unión de moléculas de gas a una superficie porosa por fuerzas de van der Waals para la potencial formación de multicapas de acuerdo con la teoría BET, sin embargo, en la aplicación, el cálculo considera el área formada por una monocapa de gas adsorbido sobre la superficie de un adsorbente (Vilar et al.,2007).

Vilar et al., (2007) comparó el área superficial de adsorbentes basados en biomasa algal por el método BET de fisisorción de nitrógeno y por el método de adsorción de azul de metileno, obteniendo áreas significativamente mayores por la adsorción del colorante que por la adsorción del gas. En el estudio de Skripkina et al., (2020), se compararon las áreas superficiales BET y las obtenidas por la adsorción de azul de metileno en materiales derivados de biomasa lignocelulósica ( $\alpha$ -celulosa, celulosa Sigmacel, goma kojac,  $\beta$ -glucano y almidón de papa) obteniendo áreas superficiales mayores por el método de adsorción de azul de metileno.

El método de determinación de área superficial específica por azul de metileno involucra elevadas energías de unión por fuerzas iónicas Columbianas debido a una quimisorción y se limitan generalmente a la formación de una monocapa, y ha sido eficiente en la determinación de áreas superficiales específicas de materiales basados en lignocelulosa y sus fracciones debido a que este tipo de materiales tienden a hincharse de manera natural (Skripkina et al., 2022). Tomando en cuenta que la molécula de azul de metileno puede adsorberse en dos distintas caras de su forma paralelepípeda, se determinaron las áreas superficiales por el método de adsorción del colorante empleando dos tamaños de molécula: 130Å y 63.7Å (la segunda área corresponde al área de superficie polar topológica del colorante), obteniendo áreas superficiales específicas de 719.87 m<sup>2</sup>/g y 352.72 m<sup>2</sup>/g respectivamente para el adsorbente CNCh\_50. El método de adsorción de azul de metileno permite estimar el área superficial de adsorbentes, pero no el tamaño de poros, el cual si puede ser observado por fisisorción de nitrógeno cuando se forman histéresis en los ciclos de adsorción y desorción del gas.

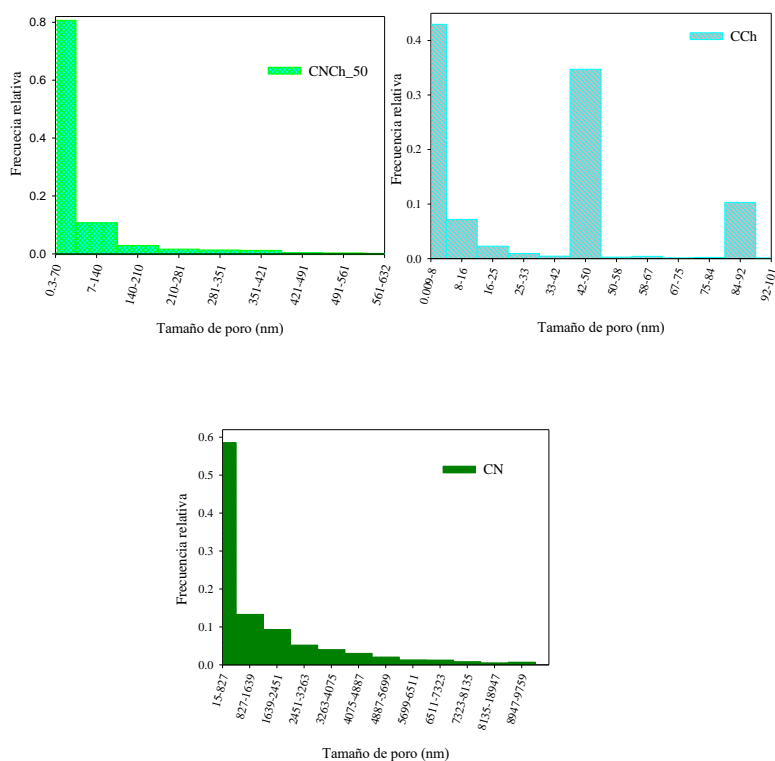
El volumen de poros,  $V_p$ , para cada compósito se calculó a partir del vapor adsorbido a presión relativa cercana a la unidad (ej.  $p/p^0 = 0.97$ ); siendo 0.0017 cm<sup>3</sup>/g, 0.0009 cm<sup>3</sup>/g y 0.0015 cm<sup>3</sup>/g para la CCh, la NC, y CNCh\_50, respectivamente.

Las isothermas de fisisorción no mostraron histéresis que demostrara la presencia de poros nanométricos, y los espacios de vacíos no fueron evidentes en los materiales de acuerdo con la clasificación IUPAC (Figura 15). Tanto en el estudio de Vilar et al., (2007) como en el de Skripkina et al., (2020) se reporta la presencia de macroporos por pruebas de fisisorción de nitrógeno, estos mismos resultados fueron obtenidos en el presente estudio.



**Figura 15.** Isothermas de  $\text{N}_2$  fisisorción para CCh, CN y CNCh\_50 a una presión relativa ( $P/P_0$ ) para un gramo de adsorbente.

A pesar de que la fisisorción de nitrógeno no mostró la histéresis de los materiales con tamaños de poro pequeños, la porosidad aparente de los materiales fue determinada por la frecuencia relativa de tamaño de poros obtenida por el procesamiento en el software Image-J de las micrografías SEM como se muestra en la Figura 16, donde CNCh\_50 presentó la más alta porosidad aparente con tamaños de hasta 70 nm, seguido de 140 nm de poros. Además, CCh mostró el tamaño más frecuente de 8 nm y menos, mientras que CN presentó el poro más grande con un tamaño frecuente de hasta 827 nm.



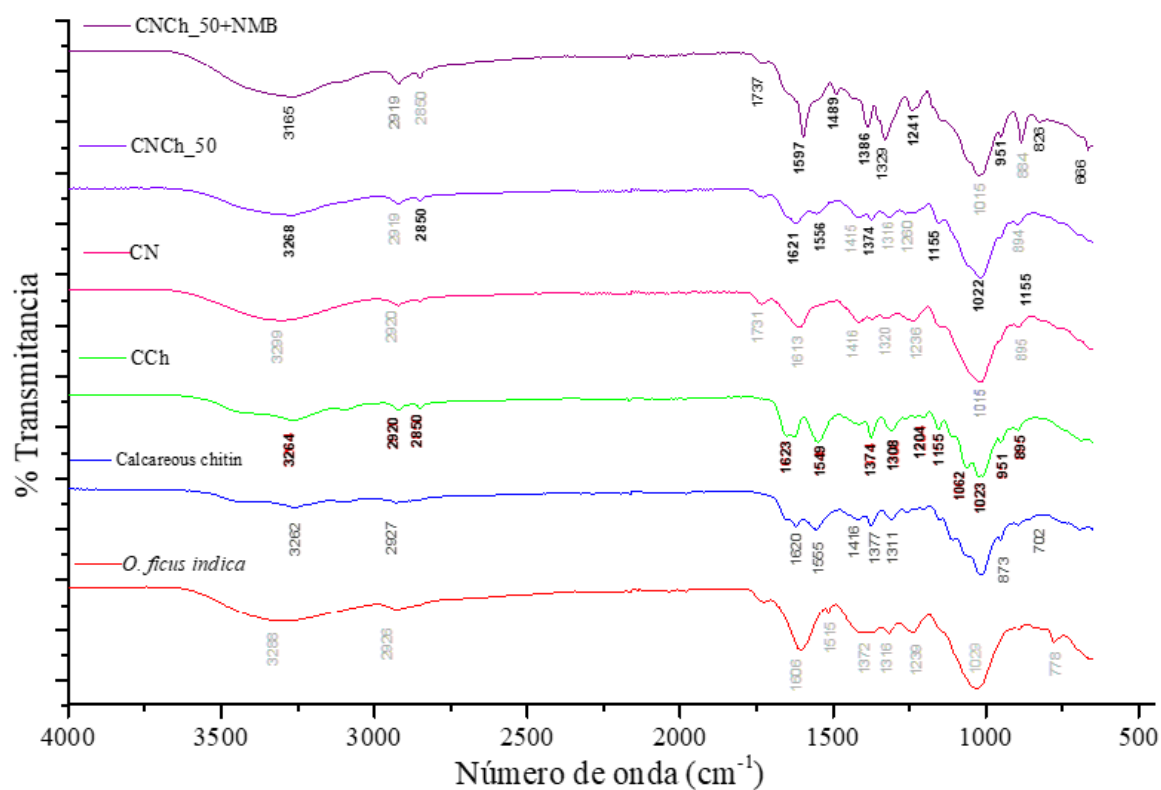
**Figura 16.** Histograma de frecuencias relativas de distribución de poros en adsorbentes CCh, CNCh\_50 y CN

### 5.2.10 Espectroscopía infrarroja (FTIR)

Se compararon los espectros FTIR de los adsorbentes CNCh con los materiales precursores (Ch y N) antes y después de adsorber NMB (Figura 17). En el espectro de Ch, CCh, y CNCh\_50, se observó un pico asociado con la presencia del grupo amida a los  $3268\text{ cm}^{-1}$ , del grupo N–H del grupo amida II a  $1620$  y a  $1550\text{ cm}^{-1}$ ; y a  $1308\text{ cm}^{-1}$  otro pico característico de  $\text{NH}_2$ ; mientras que las interacciones C-O se observaron a  $1204\text{ cm}^{-1}$ ; la presencia de vibraciones atribuidas a la formación de enlaces de hidrógeno se observa en CCh a  $1155\text{ cm}^{-1}$  y OH a  $1062\text{ cm}^{-1}$  en Ch, CCh y CNCh\_50 (Jain et al., 2021; Yin et al., 2022; Manna et al., 2017; Khorasani et al., 2021). Los adsorbentes CCh, CN y la mezcla CNCh\_50 mostraron picos asociados con grupos OH a  $3299\text{ cm}^{-1}$  y un pico característico del grupo C=O a  $1737\text{ cm}^{-1}$ , indicando el estiramiento de uniones C-O de grupos carboxílicos no iónicos (Barka et al., 2013); vibraciones asimétricas del doble enlace C=O y COO desde  $1606\text{ cm}^{-1}$  a  $1613\text{ cm}^{-1}$ , y la presencia de grupos fenólicos OH y vibraciones C-O de ácidos carboxílicos a  $1418$

$\text{cm}^{-1}$ , mientras que un pico asociado a los grupos OH de lignocelulosa se puede observar a  $1320 \text{ cm}^{-1}$  en CN y  $1316 \text{ cm}^{-1}$  en CN y CNCh\_50, así como vibraciones asimétricas de los grupos C-O-C y C-O de lignocelulosa a  $1236 \text{ cm}^{-1}$  (Aranday-García et al., 2019; Rosa et al., 2010; Fosso-Kankeu et al., 2017).

CN y Ch mostraron picos comunes entre  $2920$  y  $2926 \text{ cm}^{-1}$  asociados con el grupo metilo; entre  $1606$  y  $1620 \text{ cm}^{-1}$  y entre  $1372$  y  $1374 \text{ cm}^{-1}$  que corresponden al estiramiento asimétrico del grupo carbonilo, otro pico entre  $1015$  y  $1022 \text{ cm}^{-1}$  corresponde al estiramiento del grupo hidroxilo y a  $895 \text{ cm}^{-1}$  asignado al anillo piranoso de quitina y celulosa (Jain et al., 2021; Yin et al., 2022). Por otra parte, en materiales CNCh\_50, el pico en  $1062 \text{ cm}^{-1}$  asociado con grupos hidroxilo de quitinas desapareció, mostrando una interacción entre OH quitina y el grupo carbonilo de compuestos lignocelulósicos.

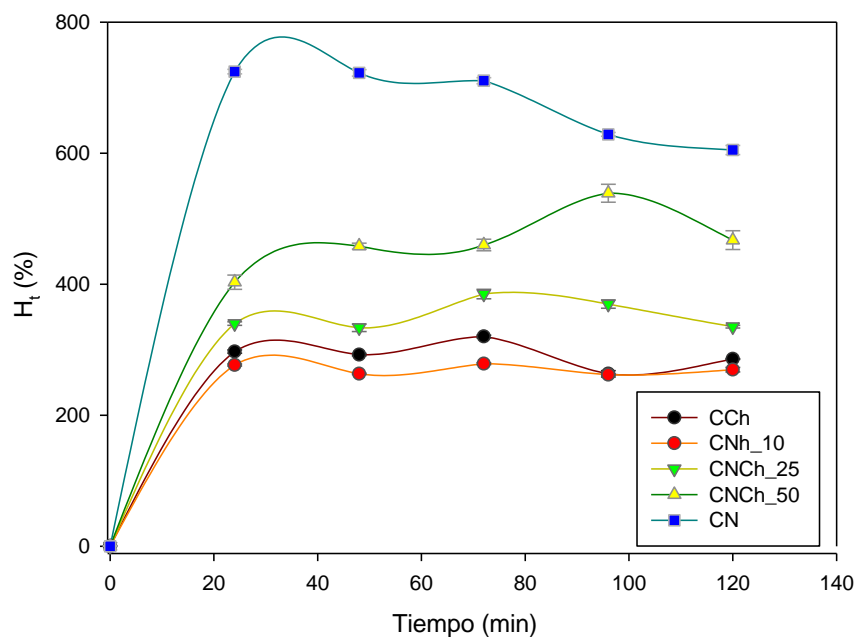


**Figura 17.** Espectros ATR-FTIR de quitina calcárea y *O. ficus indica*, CCh, CN, CNCh

### 5.2.11 Perfiles de hinchamiento de los materiales

Los adsorbentes CN y aquellos con una alta proporción de lignocelulosa de nopal presentaron perfiles de hinchamiento ( $H_t$ ) más altos en soluciones de NMB (0.25 mM), mientras que las mezclas con mayor contenido de quitina (CNCh\_10) fueron significativamente bajas a lo largo del tiempo. La Figura 18 muestra que a partir de 24 h se alcanzó el hinchamiento al equilibrio. El compósito con una mayor proporción de quitina, CNCh\_10, no fue significativamente diferente de Ch, según la prueba post hoc Tukey-Kramer.

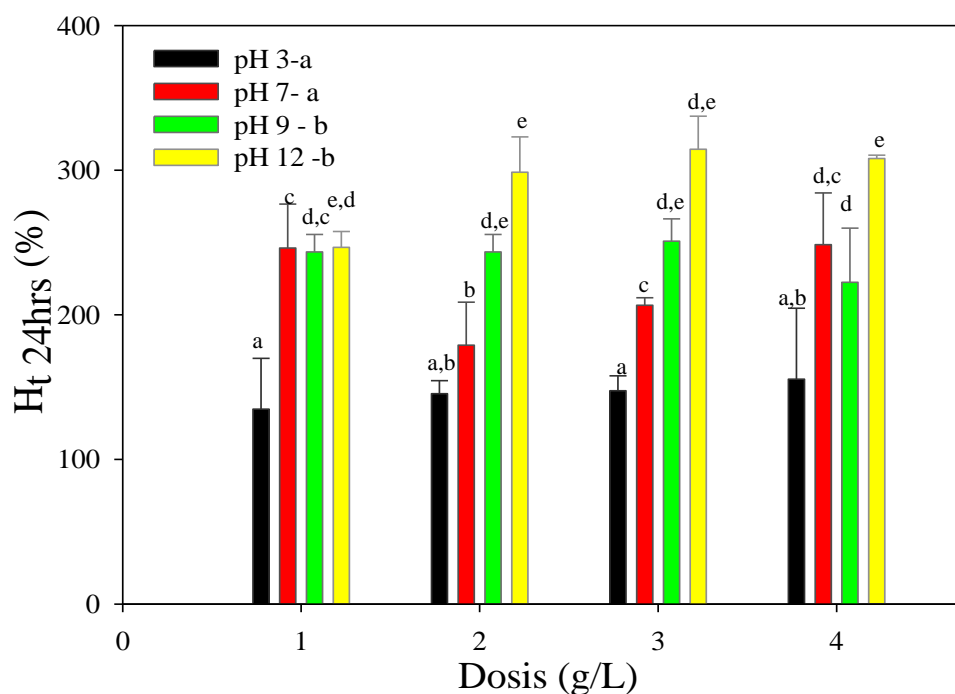
Aunque los adsorbentes CNCh\_10 y CNCh\_50 mostraron rendimientos similares (Tabla 4), el  $H_t$  de CNCh\_50 era más alto y estadísticamente diferente que CNCh\_10. Se ha reportado que otros materiales adsorbentes basados en quitina muestran un menor  $H_t$  debido a su naturaleza hidrofóbica con respecto de los fabricados con lignocelulosa y sus derivados mediante tratamientos ácidos; esto se explica por la presencia de un mayor número de carboxilo grupos capaces de interactuar con el agua en matrices lignocelulósicas (Tang et al., 2014).



**Figura 18.** Perfil de hinchamiento al equilibrio de las diferentes mezclas adsorbentes

El perfil de hinchamiento de CNCh\_50 en NMB (1 mM/L) en varias dosis y condiciones de pH mostraron que el hinchamiento de los adsorbentes se redujo en condiciones de pH ácido, mientras que en condiciones alcalinas aumentado (Figura 19).

La dosis no presentó un efecto en el  $H_t$  de los compósitos, solo el pH mostró una influencia significativa en esta variable de respuesta ( $\alpha \leq 0.05$ ) debido a que el pH está asociado a la carga superficial del material. El promedio  $H_t$  de CNCh\_50 a pH 3 era  $155.49 \pm 49.05\%$  en la máxima dosis, mientras que a pH 7 fue  $248.49 \pm 35.7\%$ ,  $243.5 \pm 12.02\%$  a pH 9, y  $308.07 \pm 2.27\%$  a pH 12. El análisis de la varianza y una prueba Tukey-Kramer post hoc mostró que el  $H_t$  en el equilibrio a pH 9 y 12 fueron significativamente más altos que el obtenido a pH 3 y 7 ( $\alpha \leq 0.005$ ). Aunque el  $H_t$  más alto ocurre en condiciones de pH alcalino, el  $H_t$  fue menor que el obtenido en las pruebas de hinchamiento con soluciones de NMB (0.25 mM) bajo condiciones neutras, lo que significa que, junto con la concentración de iones hidroxilo en el medio, la concentración del contaminante son factores esenciales en el hinchamiento del material.



**Figura 19.** Hinchamiento al equilibrio (24 h) en NMB (1mM) variando pH y dosis de CNCh\_50. Las letras diferentes significan que son significativamente diferentes ( $\alpha \leq 0.05$ ) según la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ( $\alpha \pm \leq 0.05$ )

Este comportamiento es característico de hidrogeles físicos, que son sensibles a las fuerzas iónicas porque forman enlaces débiles como puentes de hidrógeno. Cuando el pH disminuye, un aumento de iones  $H^+$  promueve una mayor formación de vínculos con grupos funcionales del hidrogel, haciendo que se encoja debido a la formación de enlaces de hidrógeno entre sus cadenas que conducen a una naturaleza hidrofóbica (Tang et al., 2014).

Además, la naturaleza poli aniónica del compósito, cuyas cargas son en su mayoría negativas bajo condiciones alcalinas de pH, produce una mayor afinidad por el NMB en solución.

Estudios previos mencionan que la presencia de sales con iones cloruro afectan el comportamiento de hinchamiento de hidrogeles, un factor que también contribuye a una capacidad de hinchazón limitada en CNCh\_50 debido a la presencia de cloro metano ( $CH_3Cl$ ) y cloruro de zinc ( $ZnCl_2$ ) de la molécula NMB (Chang et al., 2011).

Los resultados del ángulo de contacto de los compósitos son coherentes con el alto  $H_i$  de NC (664.2%), CNCh\_50 (464%) y CCh (291.9%), siendo el material CCh el más hidrófobo.

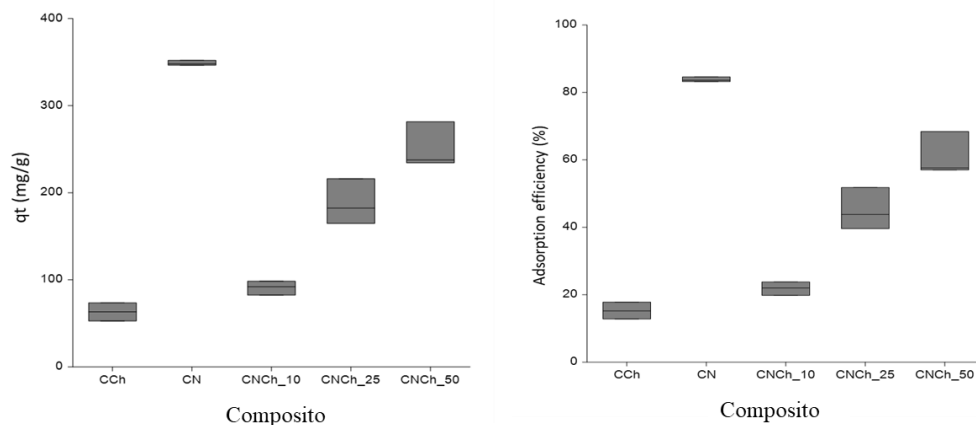
### 5.3 Adsorción de nuevo azul de metileno

#### 5.3.1. Capacidad de adsorción de compósitos CNCh

Los resultados del análisis de barrido espectrofotométrico mostraron que la máxima absorbancia del colorante NMB fue a los 664 nm. Las pruebas preliminares de adsorción de NMB 1 mM al pH de la solución después de 24 h mostraron que CN tuvo la mayor capacidad adsorbente ( $q_t = 348.73 \pm 2.17$  mg/g, con una  $E = 83.82 \pm 0.68\%$ ); seguido por los adsorbentes CNCh\_50 ( $q_t = 205.08 \pm 20.18$  mg/g y  $E = 60.95 \pm 6.37\%$ ); mientras que CCh mostró la capacidad más baja ( $q_t = 63.24 \pm 6.32$  mg/g con  $E = 15.2 \pm 2.53\%$ ) (Figura 20). A pesar de la alta capacidad de adsorción de CN, este material no fue considerado en el desarrollo de adsorbentes debido a su bajo rendimiento de obtención después de su fabricación, por su parte, CNCh\_10 y CCh no fueron estadísticamente diferentes, mientras que el resto de los compósitos diferían ( $\alpha \leq 0.05$ ).

La capacidad de adsorción obtenida en este estudio es consistente con las reportadas por otros autores que utilizaron matrices lignocelulósicas en la eliminación de MB como madera seca de pino, carbón activado o adsorbentes de *O. ficus indica* obtenidos por copolimerización de injertos y cáscaras de frutos radiados con rayos gamma (Barka et al., 2013; Pelaez-Cid et al.,

2016; Caldera-Villalobos et al., 2021). En el presente estudio las capacidades de adsorción (q) obtenidas de CN y CNCh\_50 son 2.9 y 1.7 veces más altas que lo reportado por Barka et al., (2013), quien obtuvo capacidades adsorbentes de 118.8 mg/g con cladodios de *O. ficus indica* secos.



**Figura 20.** Capacidades adsorbentes y Eficiencias de adsorción de NMB por las diferentes mezclas adsorbentes CNCh

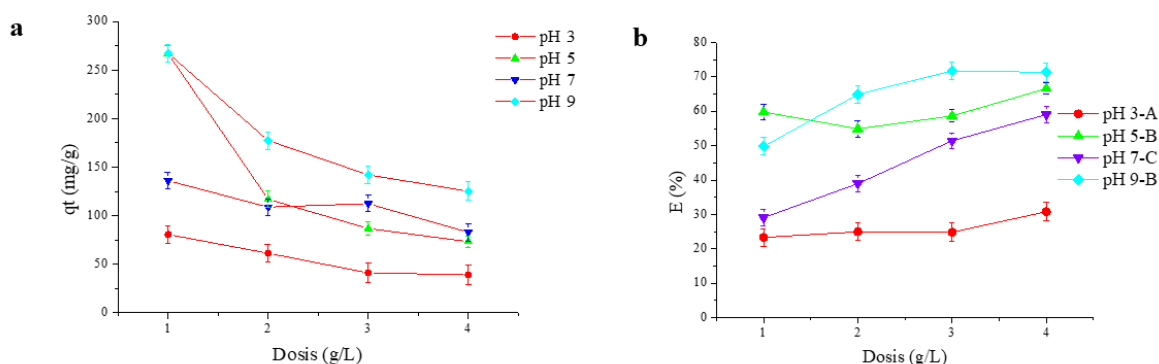
Basado en los resultados de la hinchazón, capacidad de adsorción, eficiencia de eliminación, rendimiento y características fisicoquímicas tales como valor pzc y pKa distribución, se llevó a cabo más trabajo con el compuesto CNCh\_50.

### 5.3.2. Efecto del pH y dosis de adsorbente en la adsorción de NMB

Se observó una interacción entre el pH y la dosis de adsorbente asociada a la eficiencia de adsorción y capacidad de adsorbente de CNCh\_50 ( $\alpha \leq 0.05$ ). Una mayor capacidad adsorbente se asoció con la dosis de adsorbente más baja (1 g/L) y pH 9, mientras que la mayor eficiencia de adsorción se observó a pH 9 y una dosis de adsorbente de 3 g/L (Figura 21).

En pH 7 la dosis de adsorbente de 1 g/L obtuvo la menor eficiencia de adsorción; sin embargo, ésta aumentó drásticamente al aumentar el pH. La capacidad de adsorción se vio afectada por la interacción entre el adsorbente y el adsorbato en cada condición de pH, limitando la interacción entre el colorante y el adsorbente en condiciones de pH 3, y favoreciéndola en condiciones alcalinas. En pH 3, tanto el adsorbente como el colorante están parcialmente protonadas, y una dosis más alta de adsorbente es necesaria para aumentar la adsorción de NMB; por el contrario, en pH 9, donde la carga total del adsorbente es

fuertemente aniónica, un aumento en la afinidad por el colorante se observó junto con el área de interacción para una mayor capacidad de hinchamiento. La eficiencia de adsorción de NMB por CNCh\_50 en varios pH puede observarse en la Figura 21.



**Figura 21.** Eficiencia (a) y capacidad adsorbente (b) de NMB (1 mM) compósitos CNCh\_50 en diferentes dosis y condiciones de pH. Diferentes letras en cada condición representan que son significativamente diferentes de acuerdo con las comparaciones múltiples de Tukey-Kramer prueba ( $\alpha \leq 0.05$ )

Salazar-Rabago et al., (2017) reportó una capacidad adsorbente de azul de metileno (MB) por *Pinus durangensis* de 87 mg/g a pH 10 cuando la concentración inicial del colorante  $C_0 = 300$  mg/L utilizando 1 g/L de lignocelulosa, cuyo contenido de celulosa varió entre 43.3-43.9% y de lignina de 26.3-28.6%. En el presente estudio se observó que la capacidad adsorbente de NMB en  $C_0 = 416.05$  mg/L (1 mM) fue de  $272.25 \pm 9.14$  mg/g a pH 9 utilizando una dosis de 1 g/L con porcentajes de remoción de  $56.3 \pm 0.7\%$  después de 100 min, y mayor al 80% después de 400 min usando 3 g/L.

### 5.3.3 Isotermas de adsorción de NMB

Las isotermas de adsorción se ajustaron mejor al modelo de Freundlich a pH 9 y 3 g/L, asociando la remoción de NMB a un proceso multicapa donde no había una sola fuerza que llevara a cabo la adsorción, sino más bien muchos sitios disponibles para la retención del colorante que corresponden con grupos superficiales diversos tanto de la quitina como de la

lignocelulosa, tales como amino, carboxilo e hidroxilo. La Tabla 6 muestra los constantes  $k_L$  y  $k_F$  obtenidas por los modelos Langmuir y Freundlich, respectivamente.

**Tabla 6.** Constantes de adsorción de Langmuir y Freundlich de CNCh\_50

Langmuir				Freundlich		
Dosis (g/L)	$q_{max}$ (mg/g)	$K_b$ (L/mg)	$R^2$	$K_F$ (mg/g)	n	$R^2$
3	294.22	0.0069	0.95	11.51	1.89	0.96

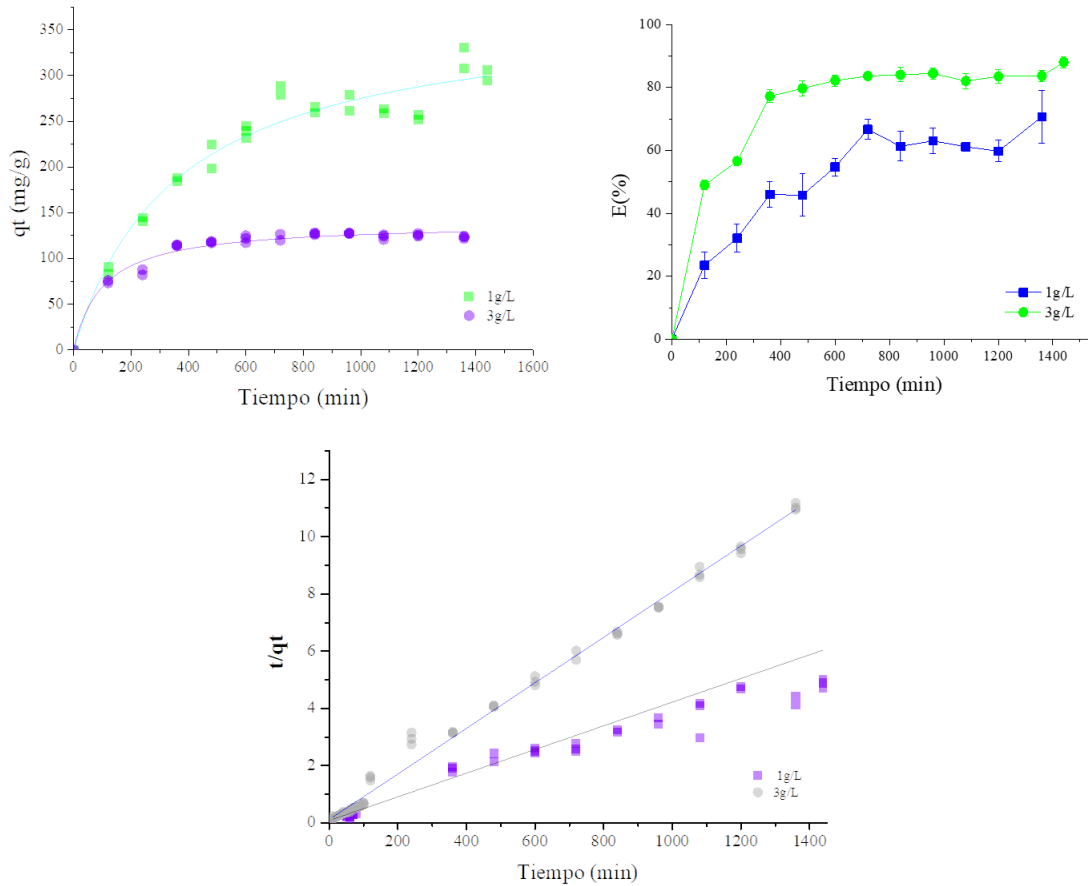
La isoterma de Langmuir indica la capacidad máxima (294,11 mg/g) cuando la energía de adsorción es uniforme y transportada en monocapas.  $k_b$  es la constante relacionada con la energía de adsorción, mientras que  $k_F$  sugiere una fuerza de unión del adsorbido con el adsorbente o su afinidad al adsorbente.

Los datos experimentales de adsorción se ajustan mejor al modelo Freundlich ( $R^2=0.96$ ) con un valor de  $k_F$  estimado de 11.51 mg/g y  $n=1.89$ , que indican una interacción favorable adsorbente/adsorbato (Mckay et al., 1999). En consecuencia, el comportamiento de adsorción de NMB se produjo debido a la formación de múltiples capas con diferentes energías de adsorción, en las que la superficie de CNCh\_50 es energéticamente heterogénea debido a la diversidad de grupos funcionales presentes en el adsorbente.

### 5.3.4 Cinéticas de adsorción de NMB

Las mejores condiciones de pH y dosis estimadas por el modelo equilibrado fueron pH 9 a 1 g/L y 3 g/L para la máxima capacidad de adsorción y eficiencia de eliminación del colorante, por lo que se probaron ambas dosis a pH 9 durante las cinéticas de adsorción.

La Figura 19 muestra que la dosis de 3 g/L tiene la capacidad de adsorción más baja; sin embargo, presenta una eficiencia de eliminación del colorante cercana al 80% en 400 min, alcanzando el equilibrio en 360 min, mientras que la dosis de 1 g/L alcanza la meseta después de 800 min. La Tabla de la Figura 22 muestra el ajuste de datos de adsorción al modelo de pseudo segundo orden y los parámetros cinéticos estimados.



**Figura 22. a:** Capacidad adsorbente de NMB (1 mM) y **b:** eficiencia de adsorción de CNCh\_50 de las dosis 1 y 3 g/L; **c:** datos de adsorción ajustados a modelo de pseudo-segundo orden.

La velocidad de adsorción aumenta en función a las dosis en una razón de  $5.96 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$  para 3 g/L y  $5.34 \times 10^{-5} \text{ min}^{-1}$  para 1 g/L, pero no la capacidad adsorbente, que fue de 125.5  $\text{mg/g}$  para 3 g/L de CNCh\_50 y 295.86 para 1 g/L de adsorbente; la velocidad de adsorción depende de la fuerza motriz, que puede verse incrementada en la menor dosis de adsorbente por la mayor penetración del colorante en la matriz pero a un mayor tiempo respecto a la dosis de 3g/L, donde más volumen de adsorbente puede retener el colorante pero de manera más superficial, lo cual se ve reflejado como un incremento en la eficiencia de adsorción en un menor tiempo pero una menor capacidad adsorbente. El modelo de pseudo segundo orden

explica que la capacidad de adsorción del compósito está limitada a su interacción con el adsorbente.

La baja capacidad de adsorción de NMB en condiciones ácidas se explica por la alta densidad de grupos hidroxilo de quitina y lignocelulosa, además de grupos carbonilo de lignocelulosa capaces de protonarse a medida que disminuye el pH. En la molécula de NMB, la especiación de sus grupos funcionales se produce en función del pH, y sus especies no disociadas predominan a pH 3; en contraste, en  $\text{pH} > 6$  la presencia de especies no cargadas y protonadas se acerca al 50%, como es reportado en otros estudios (Salazar-Rabago et al., 2017). Esta es la razón por la cual grupos funcionales protonados en el adsorbente y especies no disociadas y protonadas del colorante producen una menor atracción con el compósito CNCh\_50 condiciones de pH ácido.

#### **5.4 Adsorción de azul índigo**

Debido a que el azul índigo es un colorante VAT no soluble en agua, se probaron tres sistemas solventes antes de hacer las pruebas de adsorción y se determinó la máxima absorbancia por espectrofotometría-UV

##### **5.4.1 Suspensiones de azul índigo**

No se observó que el colorante se disolviera en etanol ni en cloroformo. Los pesos de las membranas después de filtrar el colorante mostraron que cerca del 40% del colorante permaneció de manera suspendida en etanol: agua mientras que el 100% del colorante quedó retenido en la membrana para las suspensiones en cloroformo, por lo que las pruebas de adsorción no se realizaron en estos sistemas solvente.

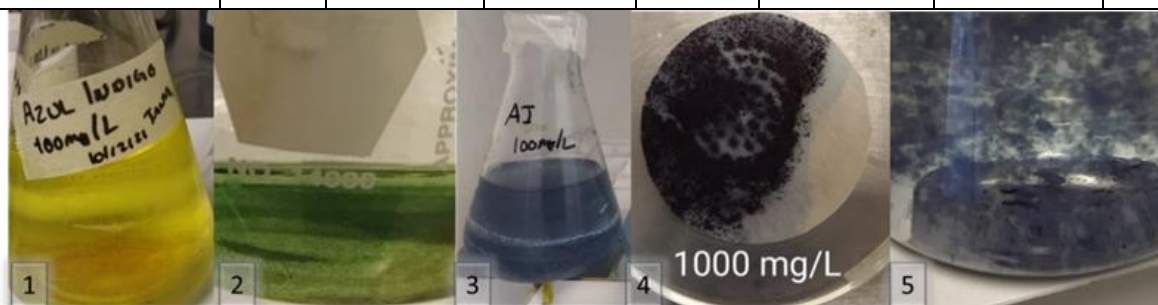
Suspensiones en NaOH/  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ : Se observó que la metodología reportada por Manu (2015) fue la mejor en la disolución de azul índigo. Sin embargo, ambos métodos mostraron la formación de precipitados de colorante una vez que se hacía la oxidación del mismo después de pocos minutos e incluso a días de haber realizado la oxidación del colorante, por lo que se optó por centrifugar las muestras de colorante después de la oxidación y se filtraron las muestras previo a las pruebas de adsorción.

En la Tabla 7 se puede observar que el contenido de sólidos suspendidos se reduce drásticamente en los sistemas donde se empleó NaOH/ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  incrementando el porcentaje

de colorante en suspensión después de su oxidación con y sin centrifugar; sin embargo, la formación de precipitados se siguió formando (Figura 23).

**Tabla 7.** Resultados de las pruebas de disolución de azul índigo en diferentes disolventes

Disolvente	Peso filtro	Peso filtro + colorante AI	Peso del colorante agregado	Peso retenido	SST/100mL	% Colorante suspendido	% Colorante disuelto
EtOH	0.769	0.783	0.026	0.014	0.014	52.250	47.750
CHCl <sub>3</sub>	0.775	0.811	0.027	0.036	0.036	100	0
NaOH/Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	0.230	0.250	0.339	0.021	0.021	6.040	93.960
NaOH/Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> después de centrifugar	0.228	0.245	0.021	0.017	0.017	9.626	90.374



**Figura 23.** Disolución de azul índigo en NaOH/Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. **23.1:** suspensión en medio reductor, **23.2:** inicio del proceso de oxidación del colorante; **20.3:** colorante después de su completa oxidación; **23.4:** filtros con colorante remanente; **23.5:** formación de precipitados de colorante 24 horas después de la oxidación.

#### 5.4.2 Pruebas de adsorción de azul índigo

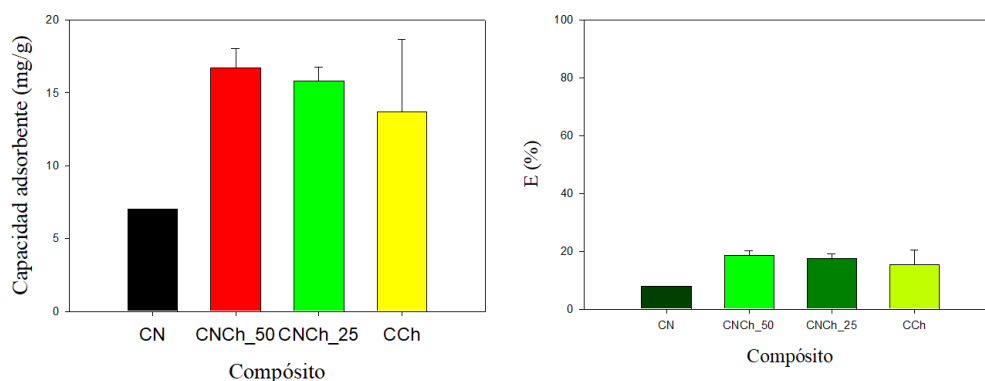
Debido a la naturaleza química del colorante azul índigo es distinta a la del NMB, se realizaron pruebas de adsorción a 24 h con las mezclas adsorbentes CCh, CNCh\_25, CNCh\_50 y CN a una C<sub>0</sub>= 100 mg/L. La cuantificación de la remoción se llevó a cabo a partir de una curva de calibración de las soluciones de azul índigo filtradas en una membrana

de celulosa de 0.45  $\mu\text{m}$ . Las muestras adsorbidas también fueron filtradas previo a su análisis espectrofotométrico en un espectrofotómetro UV-Vis (JASCO V-730 modelo SSE-704), corroborando que la máxima absorbancia del colorante fue de 667 nm en su forma oxidada, un valor de absorbancia muy cercano a lo reportado por Manu et al., (2015). La determinación de máxima absorbancia en las soluciones de azul índigo en su forma reducida fue de 438 nm, valor cercano a lo que reporta Saikhao et al., (2018).

#### **5.4.3 Capacidad adsorbente y eficiencia de adsorción del azul índigo**

La Figura 24 muestra que la capacidad adsorbente del colorante fue menor a 20 mg/g para todos los compósitos, presentando eficiencias de adsorción menores al 20% en todos los casos; es importante mencionar que por el sistema solvente empleado, las pruebas de adsorción se llevaron a cabo en condiciones de pH 12. A pesar de que el compósito CNCh\_50 obtuvo la máxima capacidad adsorbente ( $q_t=14.75$  mg/g) y eficiencia de adsorción ( $E=16.88\%$ ), no fue significativamente mejor que el resto de las mezclas de acuerdo con lo obtenido del análisis de varianza y prueba post hoc de Tukey-Kramer con un  $\alpha \leq 0.005$ .

Los resultados obtenidos son coherentes con los reportado en otros estudios en donde se menciona una débil interacción entre adsorbato y adsorbentes, donde se menciona que la remoción del colorante ocurre en presencia de estructuras altamente porosas con sistemas de poros interconectados en donde puede existir la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares entre grupos amino del colorante y grupos funcionales de la quitina y lignocelulosa como NH, O-H, C=O y COO<sup>-</sup> (Zhu et al.,2016). Estas interacciones son débiles y en general pocas, ya que el colorante no interactúa por carga con otros materiales como carboximetil celulosa e incluso presenta bajas capacidades de adsorción con materiales altamente iónicos como nanocristales de Fe/Cu o mezclas con carbono y los metaloides (C/Fe/Cu), mostrando capacidades adsorbentes de  $14.75 \pm 2.682$  y  $13.21 \pm 2.682$  mg/g respectivamente (Trujillo-Reyes et al., 2010).



**Figura 24.** Capacidad de adsorción y eficiencia de adsorción del colorante azul índigo por todas las mezclas adsorbentes

El adsorbente CN mostró la más baja capacidad y eficiencia de adsorción ( $q_t = 7.004 \pm 4.646$  mg/g;  $E = 7.99\%$ ); mientras que el adsorbente CCh mostró la segunda mayor eficiencia de remoción junto con el compuesto CNCh\_50 y CNCh\_25 ( $q_t = 10.297 \pm 2.68$  mg/g).

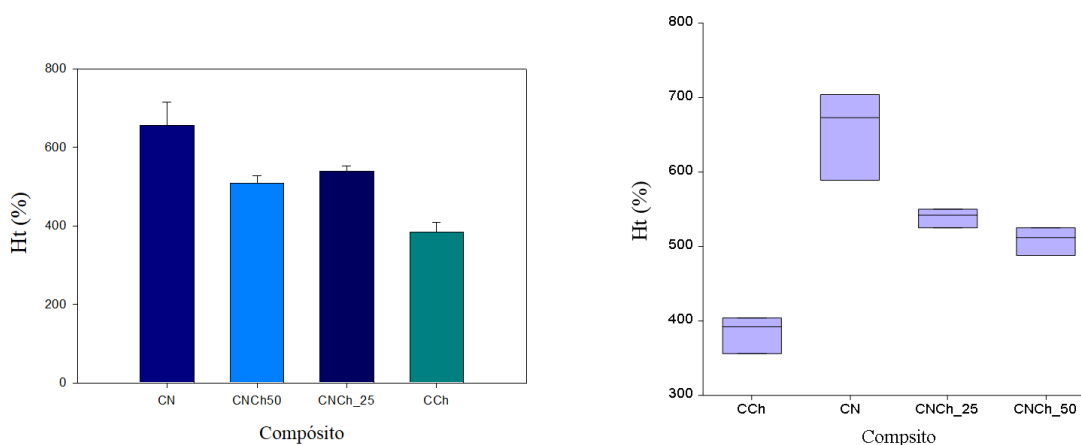
La capacidad adsorbente de los materiales empleados en el presente estudio es similar a las reportadas por Zhu et al., (2016) y Trujillo-Reyes et al., (2010); tanto en este estudio como en los de los autores mencionados, se emplea una solución de azul índigo oxidada en medios álcalis con ditionito de sodio, siendo el pH de la solución problema superior a 11, por lo que no se pone a prueba si factores como el pH pueden intervenir en los procesos de remoción como ocurre con el colorante NMB.

En un estudio realizado por Mahzoura et al., (2019) para la remoción de azul índigo por carbones activados dopados con silicatos como caolinita, ilita, óxido de silicio y aluminio, así como carbonatos de calcio, se muestran remociones superiores a 69 mg/g en condiciones de pH neutro, 60 mg/g a pH 2 y un decremento a 53 mg/g en pH 11 para  $C_0 = 5$  g/L de azul índigo estabilizadas con surfactantes y oxidadas en ditionito de sodio. El autor menciona que pese a no lograr altas remociones del colorante, hay cambios en la capacidad adsorbente en función del pH, explicando que el colorante se encuentra en su forma neutra o cargado negativamente en condiciones de pH neutras a alcalinas; estas observaciones son coherentes con una menor remoción del colorante por CN en este estudio, ya que en medios alcalinos el material es fuertemente aniónico, pudiendo promover más interacciones de repulsión; en el

caso de las mezclas CNCh, aquellas que tuvieron una mayor proporción de quitina mostraron mayor eficiencia de adsorción.

#### 5.4.4 Perfiles de hinchamiento en azul índigo

Pese a la baja remoción del colorante, el porcentaje de hinchamiento de los materiales fue similar al obtenido con NMB, mostrando que el material CN tiene el máximo porcentaje de hinchamiento ( $H_t = 655.28 \pm 59.64\%$ ), mientras que el material elaborado únicamente de quitina mostró el menor porcentaje de hinchamiento ( $H_t = 384.07 \pm 25.18\%$ ) siendo estadísticamente diferentes a CNCh\_50 y CNCh\_25 con un  $\alpha \leq 0.005$ , los cuales no mostraron diferencias estadísticas significativas con valores de  $H_t = 508.10 \pm 18.55\%$  y  $538.83 \pm 12.71\%$  respectivamente (Figura 25).

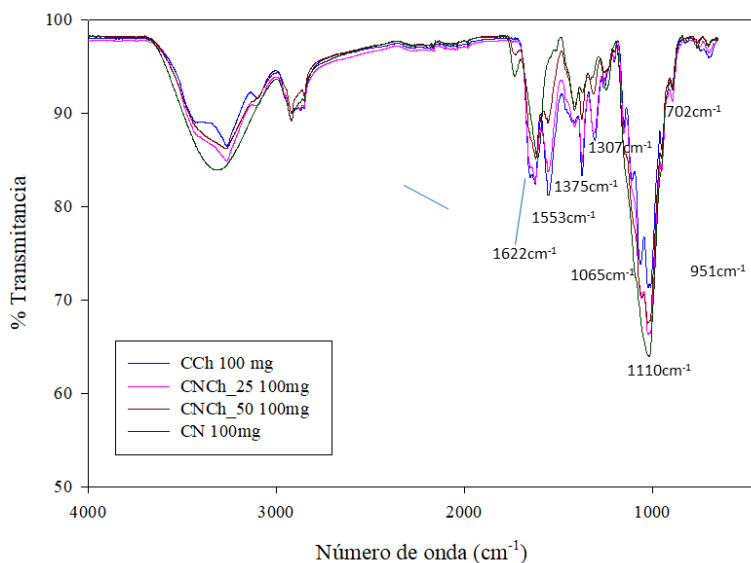


**Figura 25.** Perfiles de hinchamiento al equilibrio y gráfico de cajas y bigotes de la capacidad de hinchamiento de las diferentes mezclas adsorbentes

#### 5.4.5 Espectros FTIR después de adsorber azul índigo

Los espectros de la Figura 26 se muestran los espectros FTIR de los adsorbentes CNCh, CCh y CN después de adsorber azul índigo. Como se puede observar, tanto en CNCh\_25 como CNCh\_50 se observó un pico a los  $3264 \text{ cm}^{-1}$  asociado a la vibración asimétrica de grupos C-H y OH de lignocelulosa y quitina, a los  $2922 \text{ cm}^{-1}$  se observaron vibraciones asimétricas asociadas a C-H tanto de quitina como de nopal, y a  $1622 \text{ cm}^{-1}$  la presencia de vibraciones asociadas al grupo carbonilo y deformación en plano del grupo amino de quitina. Picos asociados a la presencia de azul índigo se observaron a los  $1553 \text{ cm}^{-1}$  asociado a uniones C-

C del anillo de azul índigo, así como  $1165\text{ cm}^{-1}$  asociado a vibraciones C-C y deformaciones en plano de grupos C-H del colorante, y a los  $1153\text{ cm}^{-1}$  por la presencia de uniones CH, OH o C-N con el colorante, de acuerdo con lo reportado por Xu et al.,(2019), así como un pico a los  $1065\text{ cm}^{-1}$  asociado a la presencia de ditionito de sodio.



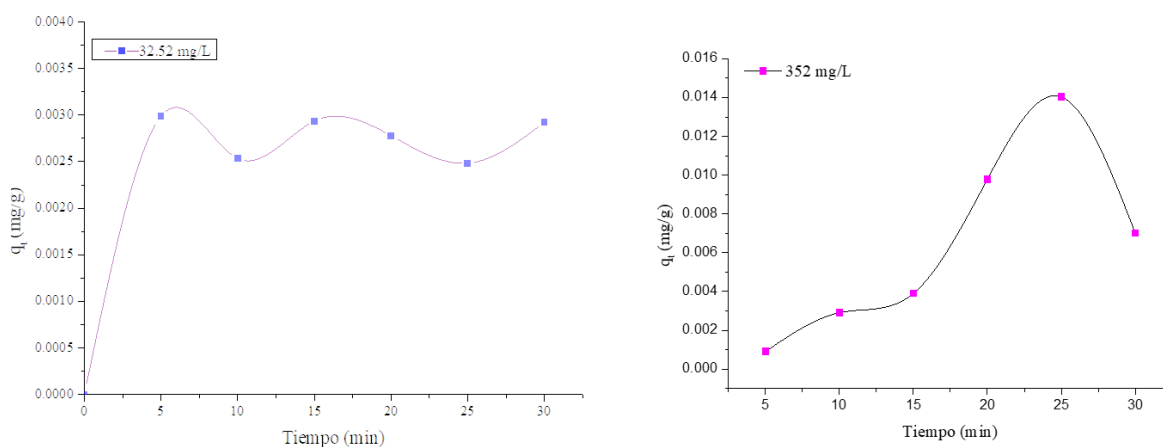
**Figura 26.** Espectros FTIR de adsorbentes CNCh después del tratamiento de adsorción con azul índigo

### 5.5. Adsorción de ampicilina

La determinación de remoción de ampicilina se realizó por HPLC previo a una curva de calibración elaborada con distintas concentraciones del fármaco de 0.008 a 1.5ng/mL (Anexo 2). Las pruebas de adsorción tomando muestras cada 5 minutos durante experimentos de adsorción de 30 minutos se llevaron a cabo en dos concentraciones iniciales diferentes:  $C_0=0.352\text{ mg/mL}$ , equivalente a 352 mg/L del fármaco, y  $C_0=0.03252\text{ mg/mL}$ , equivalentes a 32.52 mg/L de ampicilina. Las soluciones de fármaco presentaron valores de  $\text{pH}=5.79$ .

La Figura 27 muestra las capacidades adsorbentes a cada tiempo, mostrando una asíntota a los 25 minutos seguido de un decremento en la capacidad adsorbente para las muestras con mayor concentración del fármaco ( $q_{t25\text{min}}= 0.014\pm 0.81\text{ mg/g}$ ), mientras que, en las concentraciones más bajas, los valores de  $q_t$  mostraron llegar a una asíntota entre los primeros

5-10 minutos de adsorción, y se mantuvieron fluctuantes con desviaciones estándar muy grandes entre muestras ( $q_{t5\text{min}} = 0.00299 \text{ mg/g}$ ).



**Figura 27.** Capacidades adsorbentes de CNCh\_50 por ampicilina. **A)**  $C_0 = 32.52 \text{ mg/L}$ , **B)**  $C_0 = 352.2 \text{ mg/L}$  pH 5.79

La eficiencia de adsorción del fármaco a los 25 minutos por compósitos CNCh\_50, mostró ser del 14.51% para  $C_0 = 352.2 \text{ mg/L}$  y de  $30 \pm 0.04 \%$  para  $C_0 = 32.52 \text{ mg/L}$ . Los experimentos de adsorción se llevaron a cabo al pH de la solución, que fue 5.79, a esta condición de pH la ampicilina tiende a estar cargada negativamente, ya que tiene dos valores de  $pK_a$ , uno de ellos es 2.3 correspondiente al  $pK_a$  de un grupo carboxilo ( $\text{COOH}^-$ ), mientras que el otro valor de  $pK_a$  es 7.3, correspondiente al grupo  $\text{NH}_3^+$ , por lo que se protona en rangos de pH de 2-4 y se desprotonan en rangos de pH de 6-8, siendo una molécula que se comporta como un zwitterion en rangos de  $\text{pH} > 3-7$  (Rahman y Varshney 2020, Petterson et al., 2020), adquiriendo una carga débilmente negativa en este rango de pH, promoviendo interacciones de repulsión con el adsorbente CNCh\_50.

Pese a que muchos reportes mencionan que la adsorción de fármacos ocurre en los primeros minutos de adsorción, un estudio realizado por Li et al., (2020) para la remoción de ampicilina sódica, menciona que además del pH, el tiempo de contacto puede ser un factor importante en la remoción del fármaco, logrando la máxima adsorción después de 400-600 minutos con una mejor remoción del fármaco en condiciones de  $\text{pH} < 4$ , el autor menciona

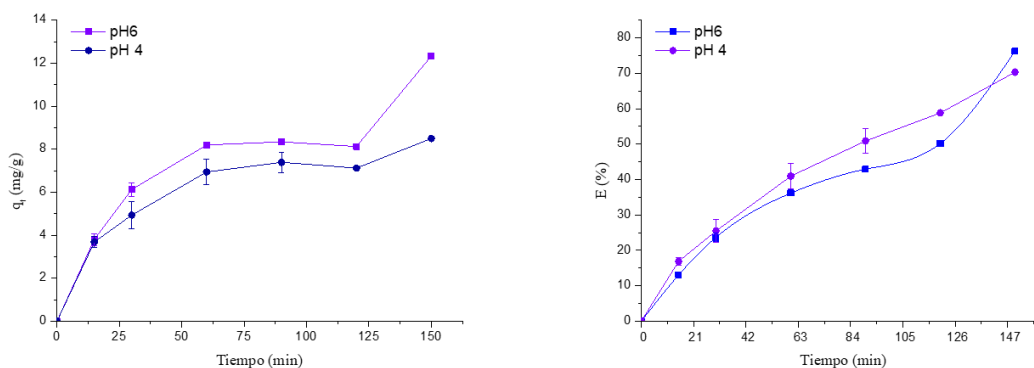
que el modificar la superficie de carbones activados por oxidación, interfiere en la eficiencia de adsorción de ampicilina.

Muchos reportes de adsorción de contaminantes emergentes emplean adsorbentes modificados para interactuar con fármacos por intercambio iónico o facilitando la formación de enlaces  $\pi$ , además de interacciones de carga como es el caso de las zeolitas (López-Agudelo et al., 2021; Shin et al., 2021), siendo muy empleado el uso de carbones activados modificados y derivados de matrices lignocelulósicas como la carboximetilcelulosa (Mosavi et al., 2023).

Este fármaco ha mostrado ser removido por adsorción mediante adsorbentes altamente iónicos como es el caso de nanopartículas de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (Stan et al., 2017), o por adsorbentes sintéticos dopados con zirconio (Rahman et al., 2020) que interactúan con el fármaco de diferente manera a distintas condiciones de pH, siendo la mejor condición reportada a pH 5 y 2 y temperaturas de  $40^\circ\text{C}$  y  $21^\circ\text{C}$  (Stan et al., 2017). Reportes de adsorción con carbones activados mencionan elevadas áreas superficiales ( $543.3 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ), logrando las máximas remociones en condiciones de pH entre 4 y 6 (Del Vecchio et al., 2019).

## **5.6 Adsorción de mercurio**

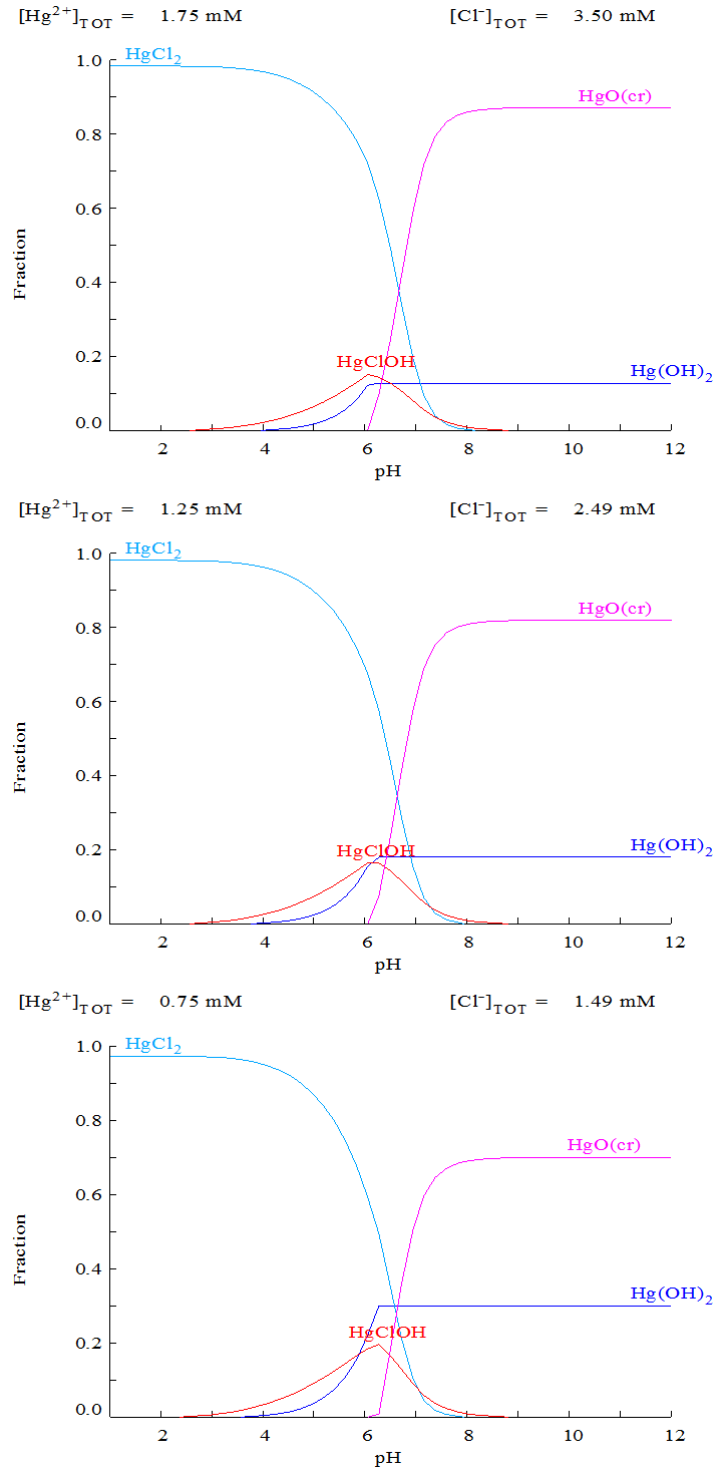
Los resultados de los experimentos preliminares de adsorción de mercurio con una  $C_0 = 350$  ppm/L y una dosis de 10 g/L de CNCh\_50 mostraron que la capacidad adsorbente se mantiene cercana en valores de pH 4 y 6, después de 120 minutos, siendo de  $8.123 \pm 0.047$  mg/g a pH 6 y de  $7.119 \pm 0.065$  mg/g a pH 4 (equivalentes a  $0.40 \pm 0.00023$  mmoles/g y  $0.0354 \pm 0.00032$  mmoles/g respectivamente); sin diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con un análisis de varianza y prueba post hoc de Tukey-Kramer con un  $\alpha = 0.05$ . Después de 180 minutos,  $q_t = 12.329 \pm 0.010$  mg/g (equivalentes a  $0.06 \pm 4.98 \times 10^{-5}$  mmoles/g) a pH 6, mientras que después de 150 minutos, el valor de  $q_t = 8.495 \pm 0.001$  mg/g (equivalentes a  $0.0423 \pm 4.98 \times 10^{-6}$ ) a pH 4 (Figura 28).



**Figura 28.** Capacidad adsorbente de mercurio por CNCh\_50 en pH 6 y 4 (izquierda) y eficiencia de adsorción (derecha).  $C_0= 350\text{ppm/L}$ , dosis de  $10\text{g/L}$  de adsorbente

A pesar de la capacidad adsorbente parece alcanzar un equilibrio en los primeros 60 minutos en ambas condiciones de pH ( $q_t=8.19\pm 0.135$  y  $6.93\pm 0.59$  mg/g, equivalentes a  $0.04\pm 0.0006$  y  $0.034\pm 0.0029$  mmoles/g a pH 6 y 4 respectivamente), ésta incrementa después de los 120 minutos. La eficiencia de remoción a pH 6 después de 180 minutos fue de  $76.293\pm 0.065\%$ , mientras que a pH 4  $E=70.310\pm 0.010\%$

La Figura 29 muestra el diagrama de especiación de mercurio en función del pH y concentración de  $\text{HgCl}_2$  en solución. Las especies predominantes en el diagrama de especiación coinciden con los reportados con Lloyd et al., (2004) y Arias et al., (2017), mostrando que en condiciones de pH de 2 a 6 la especie predominante es  $\text{HgCl}_2$ , con una menor presencia de  $\text{Hg}(\text{OH})_2$  y  $\text{HgClOH}$ . Lloyd et al.,(2004) y Arias et al., (2017) mencionan que la concentración en la que se encuentra la sal de mercurio en agua está en función del pH, y que la concentración del metal precipitado en agua dependerá de su saturación en solución; después de pH 6 se encontrarán presentes especies de  $\text{Hg}(\text{OH})_2$  y  $\text{HgClOH}$ , pero se propiciará la formación de cristales de  $\text{HgO}$ ; mientras que en condiciones de pH de mayores a 8, la formación de precipitados de mercurio será predominante con una pequeña fracción de  $\text{Hg}(\text{OH})_2$ .



**Figura 29.** Diagramas de especiación de Hg con las concentraciones del metal empleadas en el presente estudio (1.75 mmoles equivalentes a 350 ppm, 1.25 mmoles equivalentes a 250 ppm y 0.75 mmoles equivalentes a 150 ppm). Diagramas obtenidos en el software MEDUSA pro a partir de las concentraciones propuestas

Las condiciones experimentales empleadas en el presente estudio consideraron una condición de pH por debajo del pzc del material y una condición de pH por debajo de la condición en donde predomina la forma precipitada de mercurio.

Con los datos obtenidos de las cinéticas de adsorción en cada condición experimental, se realizaron ajustes a los modelos de pseudo primer y pseudo segundo orden, obteniendo que los datos experimentales se ajustaron mejor con el modelo de pseudosegundo orden. Se realizó un análisis de varianza con una prueba post hoc de Tukey Kramer para comparar los valores de  $q_e$  estimados por el modelo de pseudo segundo orden y los valores experimentales (Anexo 4), obteniendo que no existen diferencias significativas entre ambos valores con un  $\alpha= 0.05$ . Los resultados experimentales y estimados por el modelo se muestran en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Resultados de la capacidad adsorbente al equilibrio de Hg predicha por el modelo de pseudo segundo orden y la obtenida experimentalmente

PSEUDO SEGUNDO ORDEN												
N° DE EXP	[Hg] (mg/L)	CNCh_50 (g/L)	pH	1/h=intercepto		t/q <sub>e</sub> =m		R <sup>2</sup> Ajustada	k	q <sub>e</sub> =1/m	q <sub>e</sub> experimental	E (%) al equilibrio
				Valor	Error St	Valor	Error St					
1	150	5	6	1.825	0.439	0.097	0.002	0.986	0.0051	10.32	10.00	48.310
2	350	5	6	5.022	1.055	0.075	0.006	0.884	0.0011	13.26	12.01	30.842
3	150	15	6	4.186	0.926	0.146	0.005	0.974	0.0051	6.83	6.47	34.130
4	350	15	6	7.161	0.821	0.170	0.005	0.985	0.0040	5.90	5.11	41.127
5	250	5	3	-4.238	1.421	0.274	0.008	0.982	- 0.0177	3.65	5.70	14.260
6	250	15	3	14.141	2.501	0.274	0.014	0.947	0.0053	3.65	3.11	34.373
7	150	10	3	-3.542	0.858	0.182	0.005	0.985	- 0.0094	5.49	5.58	44.153
8	350	10	3	15.987	5.799	0.231	0.033	0.700	0.0033	4.33	4.35	18.900
9	250	10	6	3.423	0.698	0.113	0.004	0.975	0.0037	8.83	8.17	58.131

Se realizó un análisis por regresión lineal múltiple para determinar si existía una posible relación entre la capacidad de adsorción ( $q_e$ ) y los factores experimentales pH, dosis de CNCh\_50 y concentración de HgCl<sub>2</sub>. Los resultados del análisis ajustando el modelo lineal muestran que los factores de la interacción entre el pH y la concentración de HgCl<sub>2</sub> son los

de mayor peso en la adsorción de mercurio, no siendo estadísticamente significativos la dosis de CNCh\_50 ni el pH de manera independiente con un  $\alpha=0.05$  y un valor de  $R^2= 0.9571$  y una  $R^2$  ajustada de 91.42%. Los coeficientes de regresión se muestran en la Tabla 9.

**Tabla 9. Coeficientes de la regresión múltiple para la adsorción de mercurio**

Variable Independiente	Coefficientes de regresión	Error estándar	Coefficientes estandarizados	Estadístico t	P value
Intercepto	7.432	2.158	0.0000	3.444	0.0184
[HgCl <sub>2</sub> ]	-0.013	0.010	-0.4038	-1.246	0.2680
CNCh_50	0.161	0.265	0.2405	0.608	0.5697
[HgCl <sub>2</sub> ]*CNCh_50	-0.001	0.0007	-0.8302	-2.215	0.0776
[HgCl <sub>2</sub> ]*pH	0.0058	0.0014	1.2517	4.136	0.0090
CNCh_50*pH	-0.034	0.034	-0.3375	-1.000	0.3634

\*De acuerdo con el modelo ajustado,  $q_e = 7.43217955801106 - 0.0135411602209945 * Hg + 0.161291436464089$

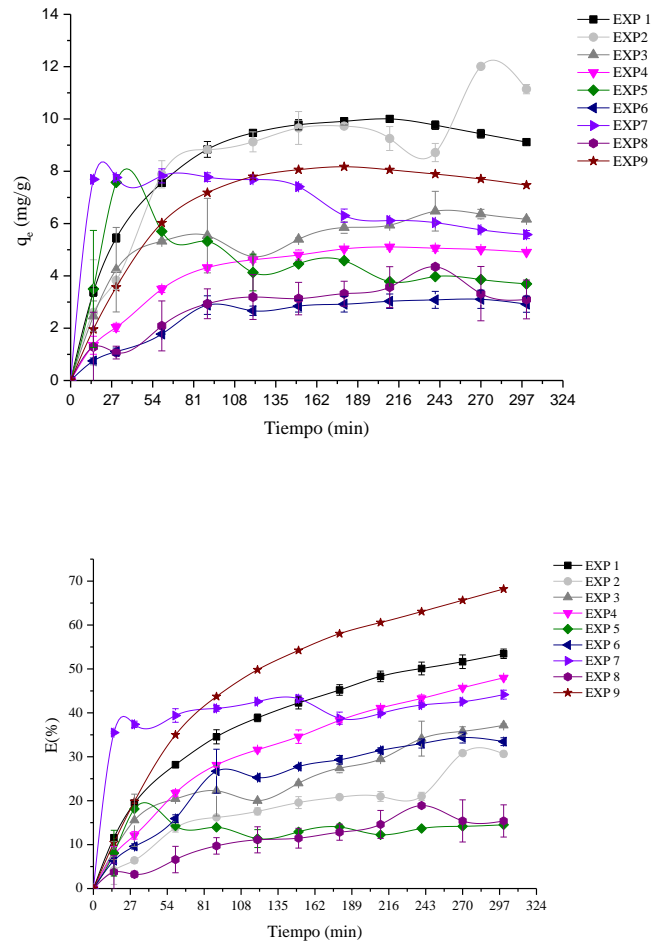
$*CNCh_50 - 0.001685xHg * CNCh_50 + 0.00588489871086557 * Hg * pH - 0.0348082872928178 * CNCh_50 * pH$

La  $q_e$  más alta fue reportada por el experimento 2 (350 mg/L HgCl<sub>2</sub>, 5g/L de CNCh:50 y pH 6, ver Tabla 2), con una  $q_e = 12.01 \pm 0.051$  mg/g que corresponde a las condiciones de  $C_0 = 350$  mg/L de Hg<sup>2+</sup>, 5g/L de CNCh\_50 y pH 6; siendo ésta última  $q_e$  obtenida en el minuto 270; este valor es coherente con los resultados obtenidos por la regresión lineal múltiple, en donde la dosis de adsorbente no muestra ser significativa en la remoción de HgCl<sub>2</sub>, pero si la interacción entre el pH y la concentración de metal en solución. Como se puede observar en la tabla 8, los valores de  $q_e$  para los experimentos 4 y 8 fueron de  $5.11 \pm 0.81$  y  $4.35 \pm 0.05$  mg/g; ambos experimentos fueron realizados a una  $C_0 = 350$  mg/L de HgCl<sub>2</sub>, pero a una dosis de 15mg/L de CNCh\_50 y pH 6 en el experimento 4, y una dosis de 10g/L de CNCh\_50 y pH de 3 para el experimento 8. El tiempo requerido para llegar al equilibrio en el experimento 4 fue de 210 minutos, mientras que en el experimento 3 se requirieron 240 minutos. Los resultados del análisis de varianza y una prueba post hoc de Tukey-Kramer muestran una diferencia significativa en el parámetro pH con un  $\alpha=0.05$ .

El uso de quitina para la remoción de  $\text{Hg}^{2+}$  ha sido reportada con valores de  $q_e = 28.4 \pm 0.5$  mg/g (0.14 mM/g) después de 200 minutos en condiciones de neutralidad (Barriada et al., 2008), mientras que un estudio de la capacidad adsorbente de  $\text{Hg}^{2+}$  por quitosano recubierto con magnetita mostró una  $q_e = 4.48$  mg/g (0.022 mM/g) cuando la  $C_0 = 8$  mg/L (Rahbar et al., 2014) en condiciones de pH 5. En el caso de la remoción de  $\text{Hg}^{2+}$  por compuestos lignocelulósicos, se han reportado capacidades adsorbentes de 20 mg/g (0.09 mM/g), mencionando que la remoción de este metal por biomasa lignocelulósica ocurre más por la interacción del  $\text{Hg}^{2+}$  con ácidos carboxílicos y fenólicos de la lignina que con grupos OH que tienden a cargarse negativamente al incrementar el pH, reportando una elevada remoción del metal por debajo de pH 3 (Arias et al., 2017).

En el presente estudio, la máxima  $q_e$  fue de  $12.01 \pm 0.051$  mg/g en pH 6 (Figura 31a), mientras que en pH 3, la capacidad adsorbente fue menor a 6 mg/g para todas las concentraciones de Hg y dosis de CNCh\_50 evaluadas. Se trabajó con un material cuyo  $pzc = 4.06$ , esto implica que, por debajo de este pH, las cargas superficiales del adsorbente son positivas por la protonación de sus grupos funcionales superficiales y repelen al metal, por ello la adsorción de mercurio en pH 3 fue muy baja, mientras que en condiciones de pH superiores a 4, el material se cargó negativamente, favoreciendo mejor las interacciones con el metal en agua.

Pese a que las máximas  $q_e$  se alcanzaron en el experimento 9, el gráfico de la Figura 31 muestra una tendencia a incrementar esta eficiencia de adsorción con el tiempo, con excepción de los experimentos 5 y 8, que corresponden a la máxima concentración de mercurio  $C_0 = 350$  mg/l) y pH 3; la menor eficiencia de adsorción en el experimento 2 se puede atribuir a una menor dosis de adsorbente capaz de remover el metal; sin embargo corresponde a la máxima capacidad adsorbente porque el material es capaz de interactuar con el mercurio en pH 6.

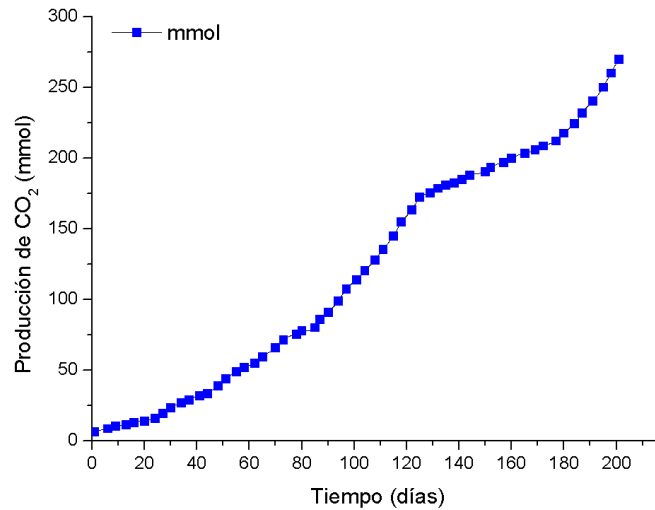


**Figura 30.** Eficiencia de adsorción de Hg en cada condición experimental.

## 5.7 Compostabilidad de matrices adsorbentes

### 5.7.1 Producción de CO<sub>2</sub> durante la compostabilidad de adsorbentes

Los adsorbentes CNCh\_50 se llevaron a compostaje en laboratorio durante 6 meses y 21 días (201 días), colocándolos en columnas de composta por triplicado, y haciendo titulaciones con HCl 0.5 mM cada 72 horas para medir la producción de CO<sub>2</sub>. El gráfico de la Figura 32 muestra la producción acumulada de CO<sub>2</sub> a lo largo del tiempo.



**Figura 31.** Producción de CO<sub>2</sub> de manera acumulativa hasta el día 201.

Como se puede observar en la Figura 32, la producción de CO<sub>2</sub> de manera acumulativa crece exponencialmente con una pequeña asíntota de producción de CO<sub>2</sub> en el día 120 y continúa creciendo sin llegar a formar una meseta en el tiempo evaluado.

A la mitad del periodo de compostaje, se ajustaron los datos obtenidos durante la cinética de biodegradación del material a un modelo logístico para estimar el día en el que se llegaría a la máxima degradabilidad del material y máxima producción de CO<sub>2</sub>. Para ello se empleó la ecuación (24) para obtener lo mostrado en la ecuación 25.

$$Y = ae^{-e^{(b-cx)}} \quad (24)$$

$$PCO_2(t) = \frac{PCO_{2max}}{1 + \left( \frac{PCO_{2max} - PCO_{2inicial}}{PCO_{2inicial}} \right) \exp^{-kt}} \quad (25)$$

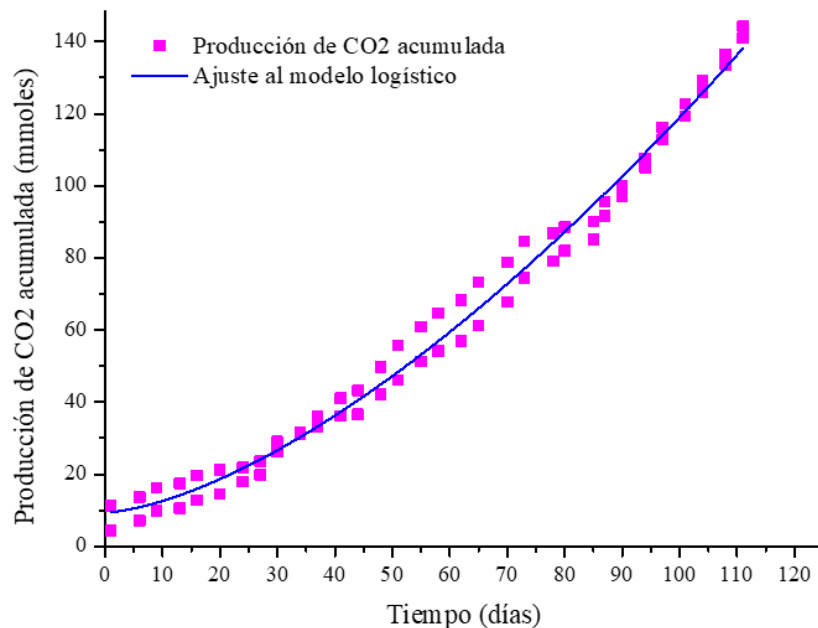
Donde

PCO<sub>2max</sub> es la máxima producción de CO<sub>2</sub> obtenida en el tiempo t

PCO<sub>2inicial</sub> es la producción inicial de CO<sub>2</sub>

K<sub>t</sub> es la constante de la tasa de producción de CO<sub>2</sub> en el tiempo

A partir de esta ecuación se obtuvieron los datos predichos por el modelo obteniendo la gráfica de la Figura 33



**Figura 32.** Producción acumulada de CO<sub>2</sub> (mmol) predicha por el modelo logístico

Los resultados de la estimación por el modelo logístico indicaron que la máxima producción de CO<sub>2</sub> sería de 217.31 mmoles con un ajuste  $r = 0.9931$  con una velocidad de producción de gas de 0.030704 mmol entre los días 180 y 200. La producción de CO<sub>2</sub> acumulada real para el día 180 fue de 217.59 mmoles y 270.05 mmoles de CO<sub>2</sub> para el día 201 (al final del ensayo). De acuerdo con la estimación de porcentaje de biodegradabilidad, el material fue 100% biodegradado.

Al graficar los datos de la producción acumulada de CO<sub>2</sub> de los 201 días (seis meses y veinte días), se puede observar la formación de una pequeña asíntota al día 120 (Figura 34), por lo que los datos se volvieron a ajustar al modelo de Morgan-Mercer-Flodin (MMF) con una  $r=0.9957$ . El modelo MMF explica un comportamiento de crecimiento sigmoideal y explica la relación entre el consumo de nutrientes y una respuesta (que puede ser crecimiento, ganancia de peso, concentración de plasma, etc.); se caracteriza por tener una forma en S, en donde a partir de un punto máximo, la respuesta será constante (Widiharih T., et al., 2016).

El modelo que se describe en la ecuación 26 está dado por

$$Y = \frac{ab+cx^d}{b+x^d} \quad (26)$$

En donde:

x= es el consumo de nutrientes

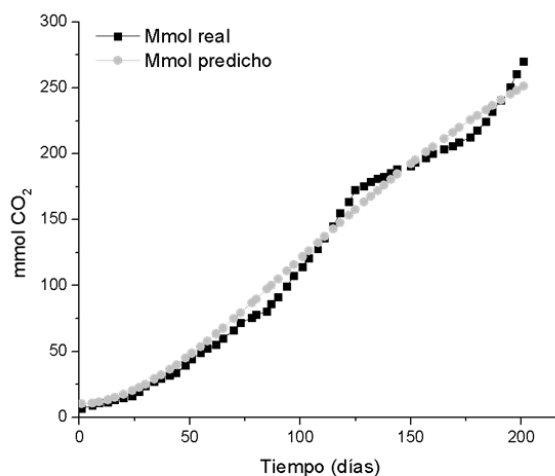
a= es el intercepto a la ordenada calculada en la curva de respuesta a nutrientes

b= es la constante de nutrición o consumo de sustrato

c= es la máxima respuesta del organismo o punto asintótico

d= es el orden cinético aparente de la respuesta para x cuando se acerca a cero

Al sustituir en la ecuación las constantes arrojadas por el modelo se obtuvieron los valores predichos por el modelo ajustado. Al hacer la comparación entre los valores predichos por el modelo ajustado MMF y los datos reales no se observaron diferencias significativas con un  $\alpha=0.005$  (Figura 34) por un análisis de varianza y prueba post hoc de Tukey Kramer.



**Figura 33.** Producción de CO<sub>2</sub> de los valores experimentales y los predichos por el modelo MMF para la curva de degradación de compósitos CNCh\_50.

Se calculó el porcentaje de biodegradabilidad a partir del CO<sub>2</sub> teórico (ThCO<sub>2</sub>) que puede producir la muestra a partir de la masa de material agregado a cada columna y su fracción en porcentaje como Carbono, los resultados muestran en la Tabla 10 que la biodegradabilidad

alcanzada fue del 100% en las columnas al término de los seis meses de compostaje en laboratorio.

**Tabla 10.** Biodegradabilidad y porcentaje de producción de CO<sub>2</sub> teórico y experimental después de 201 días (seis meses)

	<b>Biodegradabilidad</b>	
	<b>CNCh_50 A</b>	<b>CNCh_50 B</b>
<b>ThCO<sub>2</sub></b>	2.446	2.445
<b>CO<sub>2</sub> real [mmol]</b>	154.49	172.36
<b>CO<sub>2</sub> real [g]</b>	6.79	7.58
<b>% Biodegradabilidad</b>	100	100
<b>Desviación Estándar</b>	12.63	

De manera paralela los experimentos de compostabilidad en laboratorio, se realizaron experimentos de biodegradabilidad por pérdida de peso en a escala planta piloto, haciendo las pruebas de compostabilidad en una pila de compostaje. Al término del tiempo de compostaje se observó que muchos de los costales que contenían muestras se habían roto o las muestras habían sido dispersadas en la pila de compostaje, por lo que los datos de pérdida de peso solo fueron tomados por duplicado, los compósitos rescatados fueron lavados y secados para el registro de su peso.

Inicialmente, los costales contenían 1.5 g de CNCh\_50, 2 g de CCh y 1.5g de CN y 1.2 g CNCh\_50 saturado con NMB; al término de tres meses, los materiales mostraron porcentajes de biodegradación de 71.53±7.49 % para CCh, 70.84± 1.29% para CNCh\_50, 51.65±12.07% para CN y 27.47±14.97% para CNCh\_50 con NMB.

Los resultados de producción de CO<sub>2</sub> de acuerdo con lo establecido con la ASTM D-5338 y D-5247 muestran que el material cumple con las características de biodegradabilidad requeridas para matrices bioplásticas o elaboradas a partir de biopolímeros; sin embargo, las pruebas por pérdida de peso de acuerdo con la ASTM D-6003 no fueron concluyentes por la pérdida de muestra durante la degradación y por pérdida de material en las pruebas de compostabilidad en campo.

El análisis de compostabilidad en laboratorio se llevó a cabo también para los materiales CCh, CN y CNCh\_50 impregnado con el colorante, obteniendo porcentajes de degradación menores que CNCh\_50, y la producción de CO<sub>2</sub> en el blanco de aire se estimó de acuerdo con la ecuación 28 (Anexo 4), a partir del flujo de aire suministrado al sistema de compostaje y que posteriormente llegaría a las trampas de CO<sub>2</sub> con un volumen determinado de NaOH. Los milimoles de una solución de calcular como se muestra en las ecuaciones 27 y 28.

$$n = \frac{m}{PM} \quad (27)$$

Donde:

$n$  es el número de moles en la solución

$m$  es la masa de CO<sub>2</sub> en la solución (ppm)

PM es el peso molecular del CO<sub>2</sub>

Y que

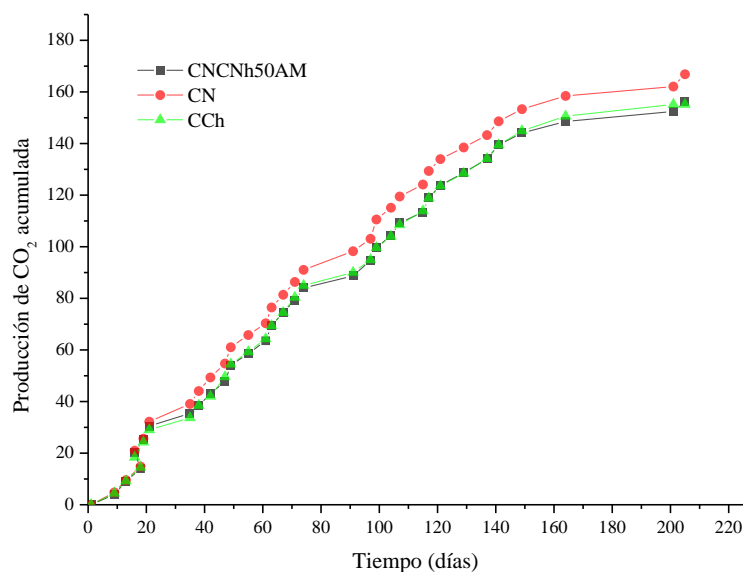
$$M = \frac{n}{V} \quad (28)$$

Donde:

$M$ : es la molaridad

$V$ : es el volumen de la solución

La Figura 35 muestra la producción de CO<sub>2</sub> acumulada por la matriz CNCh\_50 con NMB y los blancos CN y CCh.



**Figura 34.** Producción de CO<sub>2</sub> de manera acumulada de los adsorbentes CNCh\_50 con NMB, CN y CCh hasta el día 201

### 5.7.2 Diversidad microbiológica

Al hacer la comparación por SEM de la diversidad de comunidades microbianas presente en las matrices CCh, CN y CNCh\_50 recuperadas después del compostaje, se observó la presencia de actinomicetos en todas las muestras, así como bacilos y algunas esporas ancladas a microfibras de celulosa, así como la presencia de escamas de quitina. Algunos cocos y estreptococos fueron visibles en las muestras de los materiales CN y CNCh\_50, así como estructuras correspondientes a cristales de oxalato de calcio que se forman naturalmente en los cladodios de nopal de acuerdo con lo reportado por Ventura et al., (2017).

Las muestras CCh mostraron muchas esporas en hifas (Figura 36-38) que, por el tamaño, corresponden a actinomicetos, que también ha sido reportado por Lacombe-Harvey et al., (2018), quien asocia la presencia de este género con enzimas quitinolíticas endo y exohidrolasas, así como mono-oxigenasas líticas de polisacáridos que permiten la degradación de este polímero.

La degradación de quitina puede ocurrir inicialmente por hidrólisis de las uniones  $\beta$ -1,4 glucosídicas, catalizadas principalmente por enzimas quitinolíticas presentes en hongos que desacetilan la quitina a quitosano; también se ha reportado el efecto de otras enzimas como lisozimas e incluso celulasas, que, a diferencia de las quitosanasas, no tienen un lugar específico de corte, siendo las lisozimas también responsables de la hidrólisis de quitina (Beier et al., 2013; Xia et al., 2018).

La quitina puede descomponerse totalmente en tres pasos principales: una escisión del polímero en oligómeros solubles en agua, la división de estos oligómeros en dímeros, y la escisión de los dímeros en monómeros.

Hasta hace poco, había escasos reportes de degradación por bacterias como las del género *Streptomyces* (Beier et al., 2013); sin embargo, recientes estudios reportan además la presencia de bacterias de los géneros *Oxalobacteraceae*, *Gemmatimonadaceae* y *Acidobacteria* en suelos no fertilizados y fertilizados (Hui et al., 2020), siendo las bacterias más reconocidas en la degradación de quitina las pertenecientes a los géneros *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Firmicutes* (Wieczorek et al., 2019), y coinciden con lo reportado en las micrografías obtenidas en este estudio, donde también se logró apreciar la presencia de bacilos.

Las bacterias de la familia *Oxalobacteraceae* son bacterias gram negativas heterotróficas no formadoras de esporas, casi todas mesofílicas y con morfologías de varilla, varilla curvada, vibrio- o en forma de espirilla, y con funciones ecológicas importantes como la fijación de nitrógeno, siendo los miembros del género *Oxalobacter* anaerobios estrictos (De Long et al., 2012).

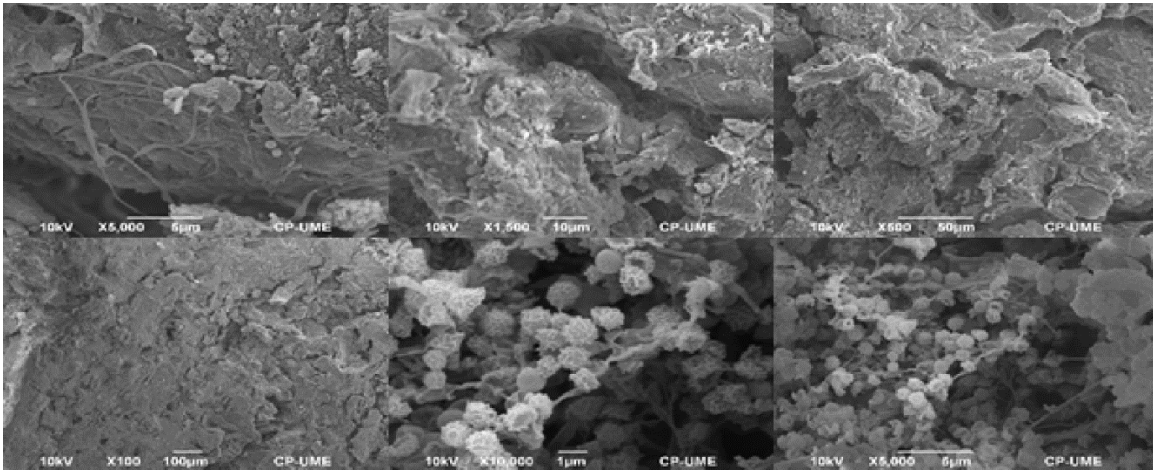
Las bacterias del género *Oxalobacter* no solo se encuentran presentes en suelos, sino también en el rumen de algunos animales y por ende en sus heces, y están asociadas a ciertas plantas ricas en oxalato (Daniel et al., 2021), lo cual es coherente con su presencia en las muestras CN y CNCh\_50 debido a que el nopal presentó cristales de oxalato de calcio que se

conservaron en el material después de coloidizarlo; aunque también están directamente involucradas en la degradación de quitina debido a que este polímero contiene grupos amino que éstas bacterias pueden asimilar contribuyendo a los ciclos del carbono y nitrógeno (Wieczorek et al.,2014, Hui et al., 2020).

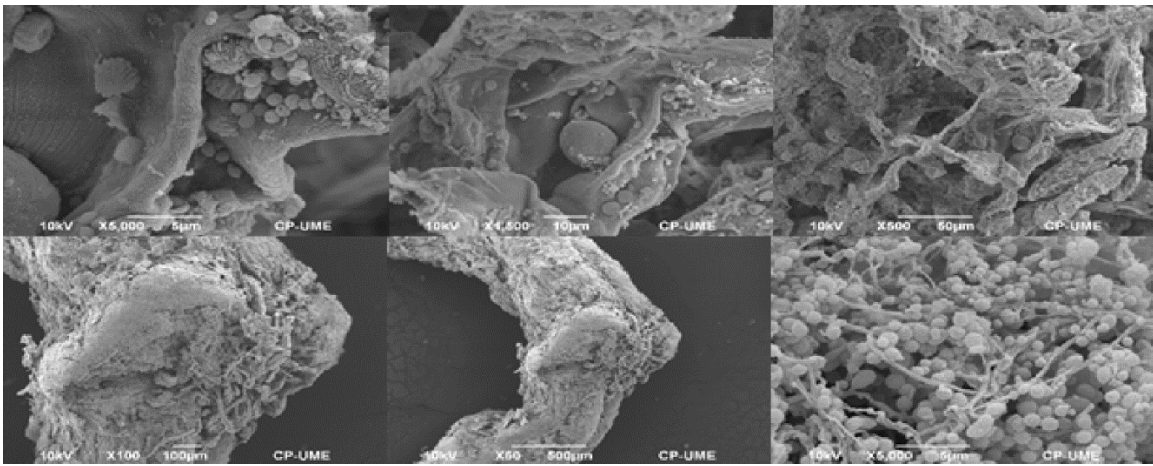
Las bacterias del orden *Gemmatimonadaceae* son degradadores secundarios de quitina, existiendo reportes de que la degradación de quitina en suelos por estas bacterias ocurre primero por una desacetilación en condiciones aerobias, seguido de su amonificación y nitrificación a CO<sub>2</sub> en condiciones óxicas. En ausencia de oxígeno, una fermentación butírica y propiónica puede ocurrir durante los procesos de amonificación por estas bacterias (Wieczorek et al.,2014). *Gemmatimonadaceae* actúa junto con otras de los órdenes *Planctomycetes* y *Verrucomicrobia* como organismos saprofitos en las rutas de degradación quitinolítica (Wieczorek et al.,2014), siendo *Planctomycetes* bacterias que aprovechan la fracción de N-acetilglucosamina de quitina mientras que *Verrucomicrobia* aprovechan el <sup>13</sup>C de quitina o carbonos enriquecidos derivados de la primera degradación de quitina (Wieczorek et al.,2019).

Las bacterias del phylum *Planctomycetes* no solo degradan quitina por el aprovechamiento de N-acetilglucosamina, sino que también pueden degradar celulosa (Wieczorek et al.,2019, Sagulenko et al.,2014), por lo que su presencia puede ayudar a la degradación de ambas matrices en el compuesto CNCh\_50. Las bacterias del orden *Actinobacteria*, se han identificado como miembros potenciales de la degradación de celulosa también en condiciones óxicas por dos tipos de respuesta metabólica: disimilación de celulosa, celobiosa o glucosa a productos y la asimilación de carbono derivado del <sup>12</sup>C y <sup>13</sup>C de celulosa, celobiosa o glucosa (Schellenberger et al.,2010).

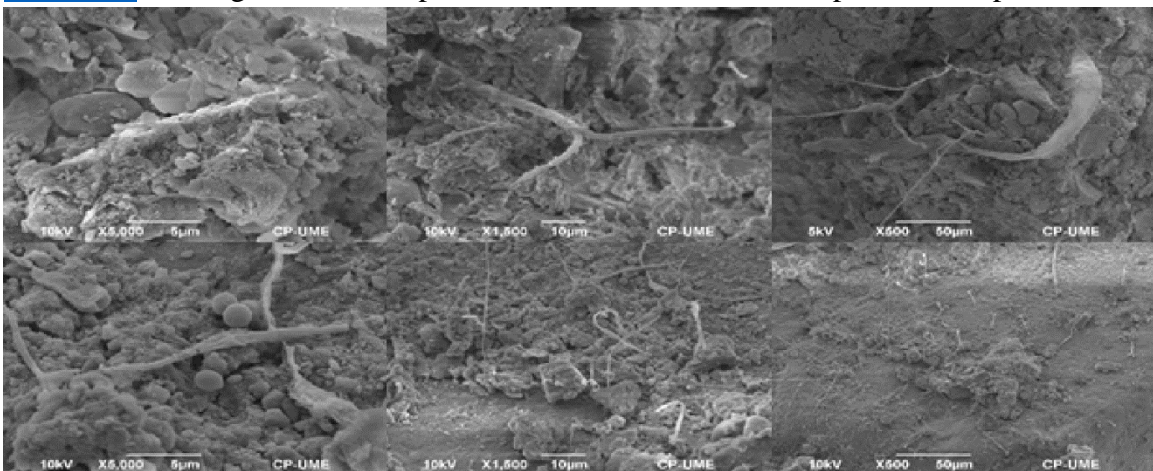
Los reportes que involucran la degradación de quitina y lignocelulosa por bacterias se basan en estudios de genómica y proteómica, en donde la comparación de secuencias permite conocer el tipo de bacteria presente en una muestra compleja, debido a que muy pocas de estas bacterias pueden ser fácilmente identificables por simples análisis microscópicos y solo un bajo porcentaje de ellas es cultivable en medios estándar (Schellenberger et al., 2010, Wieczorek et al.,2019).



**Figura 35.** Micrografías de los composites CCh después de seis meses de compostabilidad



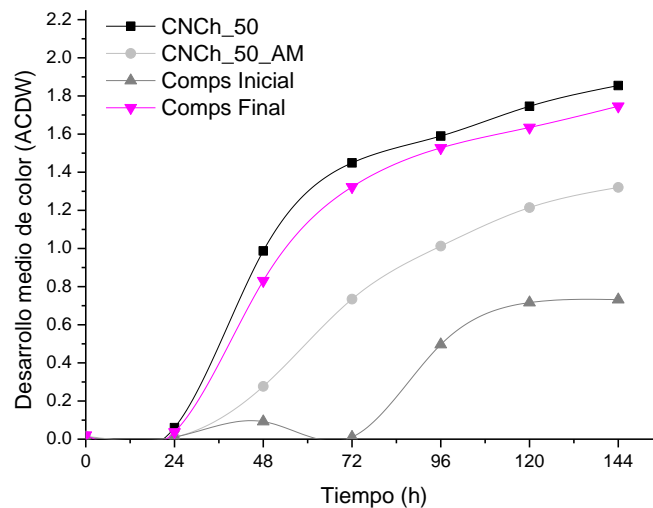
**Figura 36.** Micrografías de composites CNCh\_50 con NMB después de compostabilidad



**Figura 37.** Micrografías SEM de los composites CN después de seis meses de compostabilidad

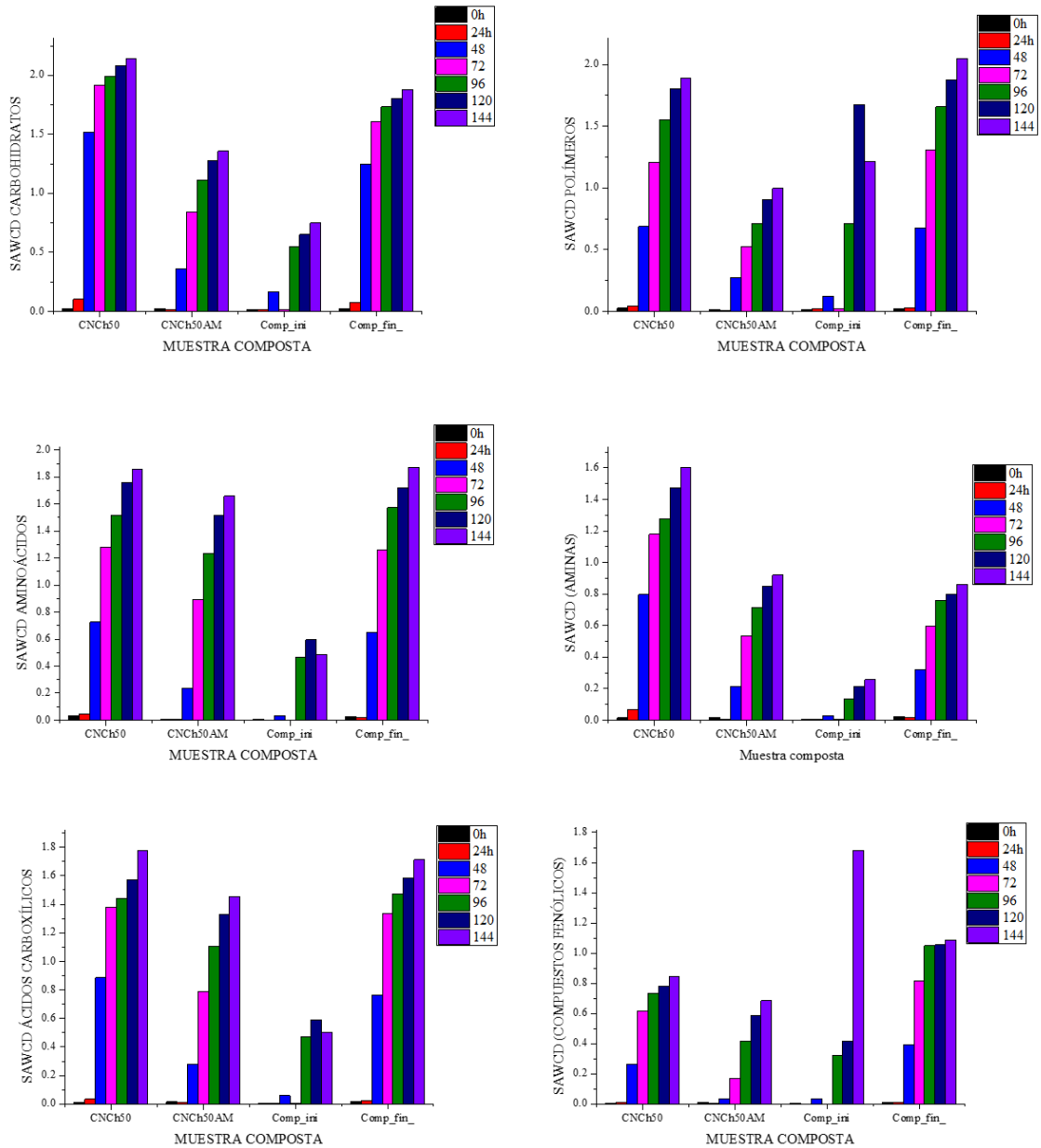
### 5.7.3. Pruebas de actividad metabólica

Se determinó el índice de desarrollo de color global de las 0 a las 144 horas de incubación para los adsorbentes de la mezcla CNCh, CCh, CN y CNCh\_50+NMB, mostrando que la mayor diversidad y actividad metabólica se obtuvo en el material compuesto con respecto al material que ya había adsorbido el NMB. Como se puede observar en la Figura 39, el adsorbente CNCh\_50 tuvo un desarrollo de color similar al obtenido en la muestra final de composta, mientras que el adsorbente que contenía NMB, muestra un desarrollo de color similar al obtenido de la muestra de pre-composta, es decir, la tierra antes de pasar por el proceso de compostaje.



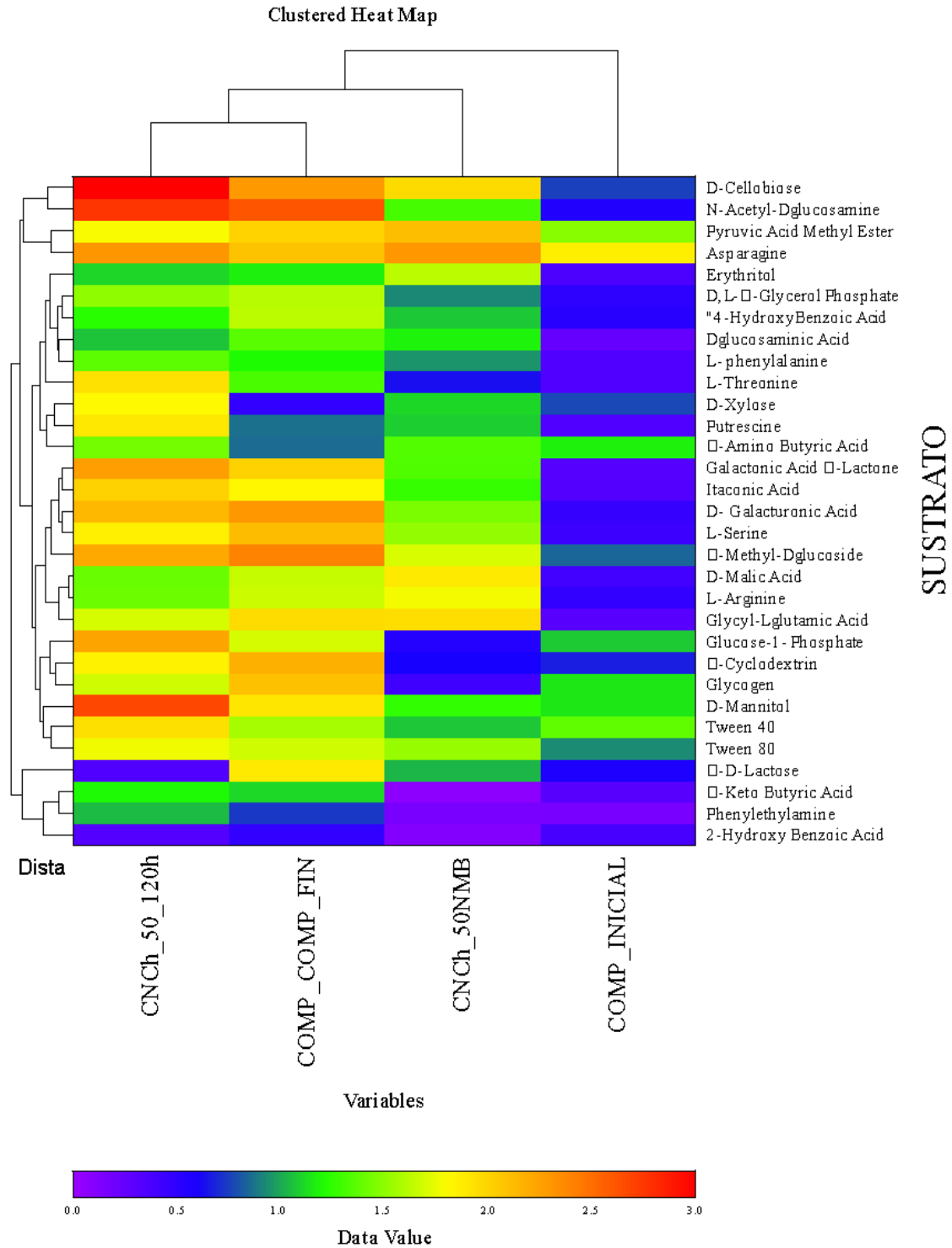
**Figura 38.** Desarrollo de color en el tiempo por los materiales CNCh\_50 con y sin adsorber NMB respecto a la muestra de composta y pre composta.

Los gráficos de SAWCD se muestran en la Figura 40, donde se aprecia que los carbohidratos, compuestos fenólicos y aminos son los sustratos más contrastantes a lo largo del tiempo de incubación entre las muestras de composta final, CNCh\_50 y CNCh\_50 + NMB. Para todos los sustratos, la muestra de pre-composta presentó el menor desarrollo de color a lo largo del tiempo debido a la menor diversidad metabólica que existe al inicio de un proceso de composteo.



**Figura 39.** Evolución del desarrollo medio del color por sustrato (SAWCD) de las 0 a las 120 horas de incubación para los compósitos CNCh\_50 antes y después de adsorber NMB, muestras de pre-composta y de composta sin el material.

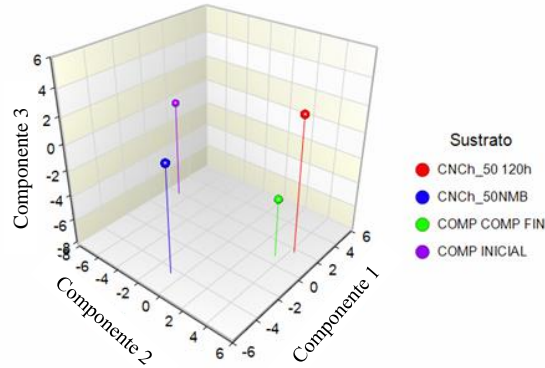
Se utilizó el software NCSS para construir un mapa de calor de los sustratos con respecto a las muestras para obtener dendogramas que permitieran observar que sustratos fueron más oxidados por cada sustrato (Figura 41).



**Figura 40.** Mapa de calor de los sustratos con mayor actividad por muestra de composta, pre-composta y adsorbentes CNCh\_50 antes y después de adsorber NMB. En rojo se muestra la mayor actividad.

Como se puede apreciar en el mapa de calor, una elevada actividad metabólica en CNCh\_50 está asociada a la oxidación de D-celobiosa y N-acetil glucosamina, lo que indica una actividad de microorganismos asociados a la degradación de quitina y celulosa como son actinomicetos y lactobacilos, que se observaron por SEM (Figura 36). La máxima actividad de esta muestra está asociada a la oxidación de D-manitol, un azúcar producido por algunos lactobacilos, levaduras y bifidobacterias durante procesos fermentativos (Laureys et al., 2014), lo cual a su vez es un indicador de la producción de oligómeros al final de la degradación de quitina. Pese a que la composta final presentó una actividad metabólica similar a la de CNCh\_50, la oxidación de celobiosa y N-acetilglucosamina no tuvo la misma intensidad; mientras que en la muestra CNCh\_50 impregnada con NMB no fue muy intensa la actividad oxidativa para N-acetilglucosamina, pero sí para celobiosa, lo que implica que el colorante es un interferente en la degradación del material, y es coherente con el hecho de que se degrade antes el colorante que el material. La muestra de pre-composta presentó su mayor actividad metabólica por la oxidación de carbohidratos y polímeros, con densidades óptica de 1-1.5, mientras que un aminoácido (asparagina) y un ácido carboxílico (ácido pirúvico), mostraron actividad oxidante en esta muestra.

El ACP para los diferentes sustratos a las 120 horas se analizó en el software IBM SPSS Statistics arrojó tres componentes principales: el primero corresponde a CNCh\_50 con NMB, el segundo componente clasifica a CNCh\_50 y la muestra de composta final y el tercer componente está constituido por la muestra de pre-composta. (Figura 42).



**Figura 41.** Análisis de componentes principales relacionados a la compostabilidad de adsorbente CNCh\_50

En la Tabla 11 se muestran los valores de la varianza total explicada para componente principal estimado

**Tabla 11.** Varianza total explicada de los componentes principales

Componente	Total	% de Varianza	% Acumulado
1	19.863	64.063	64.073
2	6.525	21.049	85.122
3	4.612	14.878	100

Como se puede observar en la Figura 42, el compósito CNCh\_50 y la muestra de composta fueron clasificados en el mismo componente, lo que significa que el material tiene un grado de biodegradabilidad similar a la tierra de compostaje, lo que representa una ventaja del material al ser compostable. Aunque la matriz CNCh\_50 impregnada con NMB presentó actividad metabólica, esta es distinta a la matriz sin contaminar, lo que implica que la presencia del colorante interfiere en su degradación, sin embargo, no significa que la haga menos biodegradable, significa que la actividad metabólica en su degradación es distinta a la empleada para degradar el material sin tratar. En el caso de la muestra de pre-composta, se puede observar que la actividad metabólica es totalmente distinta a la de la composta final y CNCh\_50 con y sin NMB.

#### 5.7.4. Diversidad metabólica

En la Tabla 11 se muestran los resultados de la estimación promedio de los índices de Shannon, riqueza metabólica y uniformidad de Shannon durante la incubación de los pozos EcoPlates. La mayor riqueza de actividad de sustratos ocurre en las muestras de composta final y donde se compostó CNCh\_50; es decir, hubo una actividad promedio de  $19.0 \pm 1.73$  sustratos para CNCh\_50, con la mayor actividad metabólica a las 96 y 120 h, mientras que en la muestra de composta final mostró una riqueza metabólica con actividad promedio de  $19.5 \pm 0.95$ .

La uniformidad de Shannon ( $E'$ ), mostró ser mayor en las muestras CNCh\_50 y la muestra de pre-composta, que fueron las muestras que tuvieron menor actividad metabólica por oxidación de sustratos. Esta uniformidad de Shannon indica que menos especies estuvieron asociadas a la degradación de las muestras, lo cual es lógico para el caso de la pre-composta, en donde no existe una diversidad microbológica alta; en el caso de la muestra CNCh\_50, esta menor actividad metabólica implica que el colorante NMB no es fácilmente degradado por cualquier microorganismo, siendo solo un grupo de bacterias capaces de llevar a cabo el proceso de degradación del material; sin embargo, al final del tiempo de compostaje.

**Tabla 12.** Índices de diversidad metabólica microbiana de los datos obtenidos en EcoPlates.  $H'$ -Índice de Shannon,  $E'$ - Uniformidad de Shannon y  $S$ -índice de riqueza metabólica

	CNCh_50	CNCh_50+AM	Comp Inicial	Comp Fin
$H'$ =	3.139	3.012	2.764	3.206
$E$ =	0.981	1.047	1.773	0.986
$S$ =	19.000	15.333	9.833	19.500

## **5.8. Conclusiones**

Los materiales CNCh mostraron incrementar su hidrofobicidad al contener una mayor proporción de quitina, mientras que los materiales con mayores proporciones de nopal se comportaron como materiales hidrófilos que incrementaron su porcentaje de hinchamiento considerablemente. Los materiales constituidos mayormente de quitina presentaron estructuras porosas y frágiles. Las mezclas de quitina y nopal se comportan como hidrogeles físicos formados por sistemas sol-gel reversibles, en donde los nanocristales de quitina permiten tener estructuras más estables en mezcla con fracciones lignocelulósicas mejorando los rendimientos de obtención con respecto a los materiales formados solo de lignocelulosa, con la formación de redes de unión entre polímeros por interacciones del tipo puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals e interacciones de London como se propone en otros trabajos donde se elaboran hidrogeles físicos como los reportados por Chang et al., 2020 y Chung et al., 2009. En el presente estudio, estas interacciones pueden corroborarse por FTIR, donde en la mezcla CNCh\_50 el pico en  $1062\text{ cm}^{-1}$  asociado con grupos hidroxilo de quitina desaparece, mostrando una interacción entre OH quitina y el grupo carbonilo de compuestos lignocelulósicos. Una de las desventajas de este tipo de sistemas es que es difícil medir su resistencia mecánica en húmedo, sin embargo, al disponer las mezclas en conglomerados de diámetro menor a 0.5 cm se compactan en estructuras rígidas.

La adsorción de NMB se logró con éxito debido a que la matriz adsorbente presenta una carga aniónica definida; sin embargo, el equilibrio se obtuvo después de los 380 minutos para la dosis de 3g/L de adsorbente y después de los 800 min para la dosis de 1g/L de adsorbente. A pesar de que la dosis de adsorbente no mostró ser estadísticamente significativa en la capacidad adsorbente, se observó un incremento en la eficiencia de adsorción y menor tiempo requerido para remover cerca del 80% del colorante. El pH mostró ser un factor de influencia en la remoción de NMB; el mecanismo de adsorción asociado a la remoción de NMB por los materiales CNCh\_50 es por interacciones electrostáticas, en donde una afinidad de cargas existe entre el adsorbato y el adsorbente.

El desempeño adsorbente de la mezcla CNCh\_50 mostró que el compuesto no interactúa por cargas con el colorante azul índigo, y los materiales con mayor contenido lignocelulósico presentaron las menores remociones del colorante. La mejora en la remoción de azul índigo por materiales ricos en quitina con respecto a matrices completamente lignocelulósicas puede

deberse a la estructura macroporosa de estos materiales que pueden retener una mayor cantidad de sólidos en suspensión antes de su precipitación. Además de lo anterior, los materiales CCh tienen un potencial Z débilmente aniónico, por lo que es posible que exista menos repulsión hacia las cargas del colorante relativa a los adsorbentes CN, cuya naturaleza es fuertemente aniónica en condiciones alcalinas y puede repeler el colorante, cuya naturaleza es neutra a aniónica en condiciones alcalinas. Los espectros de infrarrojo mostraron interacciones entre grupos funcionales NH y CH presentes en los materiales y el colorante. La remoción de ampicilina por el adsorbente CNCh\_50 fue baja, sin embargo, no se puede concluir si el pH de la solución fue un factor determinante en la adsorción del fármaco porque no se probaron otras condiciones de pH, dosis y proporciones en la mezcla adsorbente. Otros experimentos exploratorios fueron llevados a cabo con acetaminofén sin obtener remoción del fármaco. Actualmente existen muchos reportes de adsorción de fármacos que emplean matrices funcionalizadas o dopadas con algunos metaloides (Li X., et al., 2020; Petterson et al., 2010; Rahman et al., 2020), por lo que se puede concluir, que de manera general, la interacción por cargas entre la ampicilina y CNCh\_50 fue baja y podría incluso depender de otros factores y características de la molécula de ampicilina como son las estructuras de resonancia, que son las responsables de la formación de enlaces  $\pi$  reportados en otros estudios.

La interacción de pH con la concentración de  $\text{HgCl}_2$  mostró ser el factor más importante en la remoción de este metal. Con excepción de los experimentos realizados a pH 3 donde las eficiencias de remoción fueron menores al 50 %, en los experimentos a pH 6 la eficiencia de remoción se encontró mayormente por arriba del 50%. El material no logró remover más del 70% del metal en agua, por lo que mejoras en su formulación pueden ser propuestas, así como la exploración de otros factores que puedan estar involucrados en su adsorción como son la temperatura.

Los adsorbentes CNCh\_50 mostraron ser compostables antes y después de adsorber NMB, logrando degradaciones similares a las de muestras de tierra de composta, por lo que puede proponerse su implementación en la remoción de algunos contaminantes con carga positiva. Los resultados de la actividad metabólica y diversidad microbológica asociada a procesos de biodegradabilidad muestran que el material es compostable en un tiempo menor a seis meses y que las bacterias asociadas a su descomposición son principalmente las

pertenecientes a los phyla *Actinomycetes* (principalmente a bacterias del género *Streptomyces*) y *Firmicutes* (bacilos), con potencial actividad de bacterias degradadoras de oxalatos como las del orden *Oxalobacter*. Los índices de Shannon y de riqueza mostraron que las muestras de composta final y CNCh\_50 tuvieron la mayor diversidad metabólica, lo cual es coherente con la degradación del material en las pruebas de compostabilidad, y las micrografías SEM mostraron evidencia de la presencia de microorganismos asociados al rompimiento y descomposición de las cadenas de quitina con mayor abundancia de *Actinomycetes* en las muestras CCh. EN las muestras CNCh\_50 también se pudo observar la presencia de estos microorganismos, pero también fue evidente la presencia de estructuras de lactobacilos, cocos y estreptococos asociados a la degradación de lignocelulosa. Una mayor actividad en la oxidación de aminas en las pruebas de Ecoplates fue evidente en las muestras CNCh\_50 con respecto a las muestras de composta, este resultado es coherente con reportes bibliográficos de la actividad de enzimas quitinolíticas en la degradación de quitina. El presente estudio evaluó la capacidad adsorbente de contaminantes de carácter catiónico (NMB), aniónico (azul índigo), de naturaleza débilmente prótica y la sal de un metal pesado ( $\text{HgCl}_2$ ) por un material elaborado por la mezcla de quitina y lignocelulosa sin ninguna matriz plastificante o dispersante, actuando como medio de soporte y función de los mismos, los compuestos presentes las materias primas con que se elaboraron. Aunque las remociones de los contaminantes no fueron elevadas, mejoras en la composición del material pueden ser prometedoras en la fabricación de un material adsorbente elaborado completamente a partir de residuos lignocelulósicos y de quitina cruda, lo cual ofrece una oportunidad de desarrollo de nuevas matrices completamente biodegradables por métodos de obtención simples.

## 6. Trabajos presentados y publicaciones

### 6.1. Trabajos presentados

- Oral presentación in the IMRC 2022 with the topic: **“Lignocellulosic wastes and chitin as pollutant adsorbents on wastewaters ”** in symposium C1, Emerging Materials for Clean Energy and Environmental Remediation Applications at the XXX International Materials Research Congress, to be held in Cancun in August 14 - 19, 2022
- Poster: Biopolymer for material production and application in life sciences: Chitin and Chitosan -Sakura Science Program financiado por Japan Science and Technology Agency (JST) (Research Project Sojo University & Universidad Autonoma Metropolitana), Febrero, 2022
- Poster: Preparation of chitin and lignocellulose-base adsorbent composite from Agro-Industrial and Food By-Products, Virtual Conference of the European Federation of Biotechnology, Mayo 2021.

### 6.2 Publicaciones

Flor Tania Escárcega Olivares, Pedro Martínez Rodríguez, Roberto Olayo-Valles, Roeb García-Arrazola and Keiko Shirai. 2023. Lignocellulosic and chitinous wastes as pollutant adsorbents and their enzymatic degradation. En Value-Addition in Agri-Food Industry Waste Through Enzyme Technology. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89928-4.00005-5>

- F. T. Escárcega Olivares, R. Olayo-Valles, R. Garcia-Arrazola, H. Vazquez-Torres, E. Rivera Becerril, J. M. Esparza-Schulz, K. Shirai. Valorization of cactus cladode wastes and chitin Nanowhiskers in biocomposite designed for sorption of new methylene blue. International Journal of Environmental Science and Technology. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-04944-3>.

## REFERENCIAS

- Albert O., Desdoits-Lethimonier C., Lesné L., Legrand A., Guillé F., Bensalah K., Dejucq-Rainsford N. and BJ. Paracetamol, aspirin and indomethacin display endocrine disrupting properties in the adult human testis in vitro. *Hum Reprod.* 2013;28(7):1890-1898. DOI:10.1093/humrep/det112
- Al-Ghouti M. A., Da'ana D., Abu-Dieyeh M., Khraisheh M., Adsorptive removal of mercury from water by adsorbents derived from date pits. *Scientific Reports.* 2019. 9:15327 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51594-y>

- Anastopoulos I., Bhatnagar A., Bikiaris D. N., Kyzas G. Z., Chitin Adsorbents for Toxic Metals: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 114; doi:10.3390/ijms18010114
- ANSI/ASTM D1105-56 Standard test method for preparation of Extractive-Free Wood. ASTM International. Technical Association of Pulp and Paper Industry Standard method T 1205-75. 2010.
- Aranday-García R, Saimoto H, Shirai K, Ifuku S. Chitin biological extraction from shrimp wastes and its fibrillation for elastic nanofiber sheets preparation. *Carbohydr. Polym.* 2019; 213(February):112-120. doi:10.1016/j.carbpol.2019.02.083
- Arias Arias F., Beneduci E., Chidichimo F., Furia E., Straface S., Study of the adsorption of mercury (II) on lignocellulosic materials under static and dynamic conditions. *Chemosphere* 180 (2017) 11e23. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.137>
- Barka N, Ouzaoui K, Abdennouri M, Makhfouk M El. Dried prickly pear cactus (*Opuntia ficus indica*) cladodes as a low-cost and eco-friendly biosorbent for dyes removal from aqueous solutions. *J Taiwan Inst Chem Eng.* 2013; 44(1):52-60. doi:10.1016/j.jtice.2012.09.007
- Barriada J., Herrero H., Prada-Rodríguez D., Sastre de Vicente M. E., Interaction of mercury with chitin: A physicochemical study of metal binding by a natural biopolymer. *Reactive & Functional Polymers* 68 (2008) 1609–1618. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2008.09.002
- Basheer A. A., New generation nano-adsorbents for the removal of emerging contaminants in water. *Journal of Molecular Liquids* 261 (2018) 583–593. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.04.021>
- Bashir S., Hina M., Iqbal J., Rajpar A. H., Mujtaba M. A., Alghamdi N. A., Wageh S., Ramesh K., Ramesh S., Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. *Polymers* 2020, 12, 2702; doi:10.3390/polym12112702.
- Beier S., Bertilsson S. Bacterial chitin degradation—mechanisms and ecophysiological strategies. *Frontiers in microbiology. Terrestrial microbiology. Volume 4 Article 149 2.* doi: 10.3389/fmicb.2013.00149
- Bello G., Carrera Bocourt D., Diaz Maqueira E., Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar.* Vol 40, 45-50. ISSN: 0138-6204. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120664006>
- Briggs C., Bain B. J., Basic Haematological Techniques, Editor(s): Barbara J. Bain, Imelda Bates, Michael A. Laffan, Dacie and Lewis Practical Haematology (Twelfth Edition), Elsevier, 2017, Pages 18-49, ISBN 9780702066962, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00003-5>.
- Brigs C., Bain B. J., Basic Haematological Techniques. Dacie and Lewis Practical Haematology (Twelfth Edition), Elsevier, 2017, Pages 18-49, ISBN 9780702066962, <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00003-5>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702066962000035>)
- Buscio V., Crespi M., Gutierrez-Bouzán C., 2014, A Critical Comparison of Methods for the Analysis of Indigo in Dyeing Liquors and Effluents. *Materials*, 7, 6184-6193; ISSN 1996-1944; doi:10.3390/ma7096184
- Caldera-Villalobos M, Herrera-González AM, Carreón-Castro M del P. Improving the adsorption capacity of *Opuntia ficus-indica* fruit peels by graft-copolymerization using gamma radiation. *Radiat Phys Chem.* 2021;189(June):1-8. doi:10.1016/j.radphyschem.2021.109653
- Camacho-Muñoz D, Martín J., Santos J.L., Aparicio I., Alonso E., 2009. An affordable method for the simultaneous determination of the most studied pharmaceutical compounds as wastewater and surface water pollutants. *J. Sep. Sci.* 2009, 32, 3064–3073. DOI 10.1002/jssc.200900128
- Cambel L.L and Williams O. B., 1951. A study of chitin decomposing micro-organism of marine origin. *Journal of general microbiology.* 5, 894-905. DOI: 10.1099/00221287-5-5-894
- Cantrell K. B., Hunt P. G., Uchimiyama M., Novak J. M., Ro K.S. 2012. Impact of pyrolysis temperature and manure source on physicochemical characteristics of biochar. *Bioresour Technol.* 2012;107:419-428. doi:10.1016/j.biortech.2011.11.084
- Cao YL, Pan ZH, Shi QX, Yu JY. Modification of chitin with high adsorption capacity for methylene blue removal. *Int J Biol Macromol.* 2018;114(2017):392-399. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.03.138
- Cazón P., Vázquez M., Velázquez G., 2019. Composite Films with UV-Barrier Properties Based on Bacterial Cellulose Combined with Chitosan and Poly (vinyl alcohol): Study of Puncture and Water Interaction Properties. *Biomacromolecules.* Vol 20-5, DOI: 10.1021/acs.biomac.9b00317.
- Chang C, Chen S, Zhang L. 2011. Novel hydrogels prepared via direct dissolution of chitin at low temperature: Structure and biocompatibility. *J Mater Chem.* 2011;21(11):3865-3871. doi:10.1039/c0jm03075a
- Chang Z., Chen Y., Tang S., Yang J., Chen Y., Chen S., Li P., Yang Z., Construction of chitosan/polyacrylate/graphene oxide composite physical hydrogel by semi-dissolution/acidification/sol-gel transition method and its simultaneous cationic and anionic dye adsorption properties. *Carbohydrate Polymers* 229 (2020) 115431. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115431>.

- Chung H. J., y Park G., Self-assembled and nanostructured hydrogels for drug delivery and tissue engineering. *Nano Today* (2009) 4, 429- 437. doi: 10.1016/j.nantod.2009.08.008.
- Clogston JD, Patri AK. Zeta potential measurement. *Methods Mol Biol.* 2011;697:63-70. doi:10.1007/978-1-60327-198-1\_6
- Cysewski P., Jelinski T., Przybyłek M., Nowak W., Olczak M., 2022. Solubility Characteristics of Acetaminophen and Phenacetin in Binary Mixtures of Aqueous Organic Solvents: Experimental and Deep Machine Learning Screening of Green Dissolution Media. *Pharmaceutics* 2022, 14, 2828. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122828>.
- Da Silva Alves DC, Healy B, Pinto LA d. A, Cadaval TRSA, Breslin CB. Recent Developments in Chitosan-Based Adsorbents for the Removal of Pollutants from Aqueous Environments. *Molecules.* 2021;26(3). doi:10.3390/molecules26030594
- son F., *The Prokaryotes. Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria.* Fourth edition. (2012) Springer Reference. ISBN 978-3-642-30196-4 ISBN 978-3-642-30197-1 (eBook). ISBN 978-3-642-30198-8 (print and electronic bundle) DOI 10.1007/978-3-642-30197-1 Springer Heidelberg New York Dordrecht London.
- Dhananasekaran S, Palanivel R, Pappu S. Adsorption of Methylene Blue, Bromophenol Blue, and Coomassie Brilliant Blue by  $\alpha$ -chitin nanoparticles. *J Adv Res.* 2016;7(1):113-124. doi:10.1016/j.jare.2015.03.003
- Dominguez-Martinez BM, Martínez-Flores HE, Berrios JDJ, Otoni CG, Wood DF, Velazquez G. Physical Characterization of Biodegradable Films Based on Chitosan, Polyvinyl Alcohol and Opuntia Mucilage. *J Polym Environ.* 2017;25(3):683-691. doi:10.1007/s10924-016-0851-y
- Elgueta E., Sánchez J., Dax D., Xu C., Willfor S., Rivas B.L., 2016. Functionalized galactoglucomannan-based hydrogels for the removal of metal cations from aqueous solutions. *J. Appl. Polym. Sci.* 2016, DOI: 10.1002/APP.44093
- Espadín A., Tamay de Dios L., Ruvalcaba E., Valadez-G. J., Velasquillo C., Bustos J. I., Vázquez T H., Gimeno M., Shirai K., 2016. Production and characterization of a nanocomposite of highly crystalline nanowhiskers from biologically extracted chitin in enzymatic poly ( $\epsilon$ - caprolactone), *Carbohydrate Polymers* 181 (2018) 684–692. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.094>
- Espíndola-Cortés A, Moreno-Tovar R, Bucio L, Gimeno M, Ruvalcaba-Sil JL, Shirai K. Hydroxyapatite crystallization in shrimp cephalothorax wastes during subcritical water treatment for chitin extraction. *Carbohydr Polym.* 2017; 172:332-341. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.05.055
- Feng M, Lu X, Hou D, Zhang S. Solubility, chain characterization, and derivatives of chitin. In: *Handbook of Chitin and Chitosan.* INC; 2020:101-129. doi:10.1016/b978-0-12-817970-3.00004-3
- Floch C., Chevremont A.C., Joanico K., Capowicz Y., Criquet S., 2011. Indicators of pesticide contamination: Soil enzyme compared to functional diversity of bacterial communities via Biolog® Ecoplates, *European Journal of Soil Biology*, Volume 47, Issue 4, 2011, Pages 256-263, ISSN 1164-5563, doi. 10.1016/j.ejsobi.2011.05.007
- Fosso-Kankeu E., Mittal H., Waanders F., Sinha Ray S., 2017. Thermodynamic properties and adsorption behaviour of hydrogel nanocomposites for cadmium removal from mine effluents.
- Franks G.; Meagher L., The isoelectric points of sapphire crystals and alpha-alumina poder. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* Volume 214, Issues 1–3, 12 March 2003, Pages 99-110. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(02\)00366-7](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(02)00366-7)
- Gallardo Rivera R., Aguilar Santamaría M. A., Silva-Bermúdez P. García López J, Tecante A., Vazquez-Torres H., Shirai K. Polyelectrolyte complex of Aloe vera, chitosan, and alginate produced fibroblast and lymphocyte viabilities and migration. *Carbohydrate Polymers* 192 (2018) 84–94. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.044>
- Gewurtz S., Teslic S., Hamilton C., Smith S.A., 2022. Influence of Conjugation on the Fate of Pharmaceuticals and Hormones in Canadian Wastewater Treatment Plants. *ACS EST Water* 2022, 2, 329–338. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsestwater.1c00376>
- Global Carbon Budget 2022. Doi: <https://doi.org/10.5194/essd-14-4811-2022>
- Gopi S., Balakrishnan P., Pius A., Thomas T., Chitin nanowhisiker (ChNW)-functionalized electrospun PVDF membrane for enhanced removal of Indigo carmine. *Carbohydrate Polymers* 165 (2017) 115–122. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.046>.
- Grządziel J., Furtak K., Gałazka A., 2019. Community-Level Physiological Profiles of Microorganisms from Different Types of Soil That are Characteristic to Poland—a Long-Term Microplot Experiment. *Sustainability* 2019, 11, 56, DOI: 10.3390/su11010056
- Gutierrez Pulido H. de la Vara Salazar roman, 2008. Análisis y Diseño de experimentos. Segunda Edición. Mc Graw Hill. ISBN: 9789701065266

- Hähnke, V.D., Kim, S. & Bolton, E.E. PubChem chemical structure standardization. *J Cheminform* **10**, 36 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0293-8>
- Hähner G.; Marti A., Spencer N. D; Caseri W. R., Orientation and electronic structure of methylene blue on mica: A near edge x-ray absorption fine structure spectroscopy study. *J. Chem. Phys.* **104**, 7749–7757 (1996) <https://doi.org/10.1063/1.471451>
- Harris R., Pollman C., Landing W., Evans D., Axelrad D., Hutchinson D., Morey S. L., Rumbold D., Dukhovskoy D., Adams D. H., Vijayara K., Holmes C., Atkinson R., D., Myers T., Sunderland E., Mercury in the Gulf of Mexico: Sources to receptors. *Environmental Research* **119** (2012) 42–52. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2012.08.001>
- Harvey M.E., Brzezinski R., Beaulieu C., Chitinolytic functions in actinobacteria: ecology, enzymes, and evolution. *Appl Microbiol Biotechnol* (2018) 102:7219–7230 doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9149-4>
- Hernández-Urbiola M.I., Contreras-Padilla M., Pérez-Torrero E., Hernández-Quevedo G., Rojas-Molina J.I. and MER-G. MEC Study of Nutritional Composition of Nopal (*Opuntia ficus indica* cv. Redonda) at Different Maturity Stages. *Open Nutr J.* 2015;4(1):11-16. doi:10.2174/1874288201004010011
- Ho Y. S., Mckay G. Pseudo-second order model for sorption processes. *Process Biochemistry* **34** (1999) 451–465. DOI: 10.1016/S0032-9592(98)00112-5
- Hoizey G, Lamiable D, Frances C, Trenque T, Kaltenbach M, Denis J, Millart H. Simultaneous determination of amoxicillin and clavulanic acid in human plasma by HPLC with UV detection. *J Pharm Biomed Anal.* 2002 Oct 15;30(3):661-6. doi: 10.1016/s0731-7085(02)00289-3. PMID: 12367691.
- Hou, J.P. and Poole, J.W. (1969), The amino acid nature of ampicillin and related penicillins. *J. Pharm. Sci.*, **58**: 1510-1515. <https://doi.org/10.1002/jps.2600581219>
- Hu Z, Srinivasan MP. Mesoporous high-surface-area activated carbon. *Microporous Mesoporous Mater.* 2001; **43**:267-275. DOI:10.1016/S1387-1811(00)00355-3
- Hui C., Jiang H., Liu B., Wei R., Zhang Y., Zhang Q., Liang Y., Zhao Y., Chitin degradation and the temporary response of bacterial chitinolytic communities to chitin amendment in soil under different fertilization regimes *Science of the Total Environment* **705** (2020) 136003. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136003>
- Jain S. N., Gotate P. R., 2021. Acid Blue 113 removal from aqueous solution using novel biosorbent based on NaOH treated and surfactant modified fallen leaves of *Prunus Dulcis*. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **5** (2017) 3384–3394
- Jaafarzadeh N, Mengelizadeh N, Takdastan A, Heidari-Farsani M, Niknam N. Adsorption of Zn (II) from aqueous solution by using chitin extraction from crustacean shell. *J Adv Environ Heal Res.* 2014;2(2):110-119. [http://jaehr.muk.ac.ir/article\\_40151.html](http://jaehr.muk.ac.ir/article_40151.html)
- Juela D. Comparison of the adsorption capacity of acetaminophen on sugarcane bagasse and corn cob by dynamic simulation. *Sustainable Environment Research* (2020) 30:23. Doi: <https://doi.org/10.1186/s42834-020-00063-7>
- Karaçetin G, Sivrikaya S, Imamoğlu M. Adsorption of methylene blue from aqueous solutions by activated carbon prepared from hazelnut husk using zinc chloride. *J Anal Appl Pyrolysis.* 2014;110(1):270-276. doi:10.1016/j.jaap.2014.09.006
- Karthikeyan G, Muthulakshmi Andal N, Anbalagan K. Adsorption studies of iron(III) on chitin. *J Chem Sci.* 2005;117(6):663-672. doi:10.1007/BF02708296
- Khan N., Sarwar A., Determination of points of zero charge of natural and treated adsorbents. *Surface Review and Letters*, Vol. 14, No. 3 (2007) 461–469. DOI: 10.1142/S0218625X07009517
- Khorasani A. C., F. Kouhfar, Shojaosadati A. S., Pectin/lignocellulose nanofibers/chitin nanofibers bionanocomposite as an efficient biosorbent of cholesterol and bile salts. *Carbohydr Polym.* 2021;261(March):117883. doi:10.1016/j.carbpol.2021.117883.
- Kishor R., Purchase D., Saratale G., D., Saratale R. G., Ferreira L. F. R., Bilal M., Chandra R., Ecotoxicological and health concerns of persistent coloring pollutants of textile industry wastewater and treatment approaches for environmental safety. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **9** (2021) 105012. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.105012>.
- Kulkarni P., Olson N., Raspanti G. A., Rosenberg Goldstein R. E., Gibbs S. G., Sapkota A., Sapkota A. R., Antibiotic Concentrations Decrease during Wastewater Treatment but Persist at Low Levels in Reclaimed Water. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2017, **14**, 668; doi:10.3390/ijerph14060668.
- Krupadam RJ, Sridevi P, Sakunthala S. 2011 Removal of endocrine disrupting chemicals from contaminated industrial groundwater using chitin as a biosorbent. *J Chem Technol Biotechnol.* 2011;86(3):367-374. doi:10.1002/jctb.2525

- Laureys D. y De Vuyst L., Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014.80-8 p. 2564–2572. Doi: 10.1128/AEM.03978-13
- Li G., Wang Y., Sun C., Liu F., Determination of the microscopic acid dissociation constant of piperacillin and identification of dissociated molecular forms. *Front. Chem.* (2023). 11:1177128. doi: 10.3389/fchem.2023.1177128
- Li W., Zhang X., Han J., 2022. Formation of Larger Molecular Weight Disinfection Byproducts from Acetaminophen in Chlorine Disinfection. *Environ. Sci. Technol.* 2022, 56, 16929–1693
- Li X., Zhang N., Yang L., Adsorption of ampicillin sodium on activated carbons with different surface chemistries. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 467 (2020) 012184. Doi:10.1088/1755-1315/467/1/012184
- Liu P, Sehaqui H, Tingaut P, Wichser A, Oksman K, Mathew AP. Cellulose and chitin nanomaterials for capturing silver ions (Ag<sup>+</sup>) from water via surface adsorption. *Cellulose*. 2014;21(1):449-461. doi:10.1007/s10570-013-0139-5
- López-Agudelo V., Gómez-Ríos D., Ramírez-Malule H., 2021. Clavulanic Acid Production by *Streptomyces clavuligerus*: Insights from Systems Biology, Strain Engineering, and Downstream Processing. *Antibiotics* 2021, 10, 84. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010084>
- Mahmood T., Saddique M., Naeem A., Westerhof P., Mustafa S., Alum A., Comparison of Different Methods for the Point of Zero Charge Determination of NiO. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2011, 50, 10017–10023. [dx.doi.org/10.1021/ie200271d](https://doi.org/10.1021/ie200271d)
- Manna S, Roy D, Saha P, Gopakumar D, Thomas S. Rapid methylene blue adsorption using modified lignocellulosic materials. *Process Saf Environ Prot.* 2017; 107:346-356. doi:10.1016/j.psep.2017.03.008
- Mansouri F., Chouchene K., Roche N., Ksibi M., 2021. Removal of Pharmaceuticals from Water by Adsorption and Advanced Oxidation Processes: State of the Art and Trends. *Appl. Sci.* 2021, 11, 6659. <https://doi.org/10.3390/app11146659>
- Manu B., Physico-chemical treatment of indigo dye wastewater. *Color. Technol.*, 2006. 123, 197–202. Society of dyers and colourist. doi: 10.1111/j.1478-4408.2007.00080.x
- Marcano D., Introducción a la química de los colorantes. Colección Divulgación científica y Tecnológica. Academia de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales. 2018. Caracas, Venezuela, 254p. ISBN: 978-980-6195-59-2.
- Mahzoura M., Tahri N., Daramola M. O., Duplay J., Schafer G., Ben Amar R., Comparative investigation of indigo blue dye removal efficiency of activated carbon and natural clay in adsorption/ultrafiltration system. *Desalination and Water Treatment*. 2019, 164, 326-338. Doi: 10.5004/dwt.2019.24361
- Melo BC, Paulino FAA, Cardoso VA, Pereira AGB, Fajardo AR, Rodrigues FHA. Cellulose nanowhiskers improve the methylene blue adsorption capacity of chitosan g-poly(acrylic acid) hydrogel. *Carbohydr Polym.* 2018;181:358-367. doi:10.1016/j.carbpol.2017.10.079
- Mehrtens A., Licha T., Burke V., 2021. Occurrence, effects and behaviour of the antibiotic lincomycin in the agricultural and aquatic environment – A review. *Science of the Total Environment* 778 (2021) 146306. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146306>
- Morin A., Dufresne A. Nanocomposites of Chitin Whiskers from *Riftia* Tubes and Poly(caprolactone). *Macromolecules*, Vol. 35, No. 6, 2002. Doi: <https://doi.org/10.1021/ma011493a>.
- Mosavi, S.S.; Zare, E.N.; Behniafar, H.; Tajbakhsh, M. Removal of Amoxicillin Antibiotic from Polluted Water by a Magnetic Bionanocomposite Based on Carboxymethyl Tragacanth Gum-Grafted-Polyaniline. *Water* 2023, 15, 202. <https://doi.org/10.3390/w15010202>
- Muniyasamy, S., Anstey A., Reddy M. M., Misra M., Mohanty A., Biodegradability and Compostability of Lignocellulosic Based Composite Materials. *J. Renew. Mater.*, Vol. 1, No. 4, November 2013. DOI: 10.7569/JRM.2013.634117
- Mushi N., Nishino T., Berglund L. A., Zhou Q., Strong and Tough Chitin Film from  $\alpha$ -Chitin Nanofibers Prepared by High Pressure Homogenization and Chitosan Addition. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 2019, 7, 1692–1697. DOI: 10.1021/acssuschemeng.8b05452.
- Németh I., Molnár S., Vaszita E., Molnár M., The Biolog EcoPlate™ Technique for Assessing the Effect of Metal Oxide Nanoparticles on Freshwater Microbial Communities. *Nanomaterials* 2021, 11, 1777. Doi <https://doi.org/10.3390/nano11071777>
- Pacheco N., Garnica-González M., Gimeno M., Bárzana E., Trombotto S., Laurent D., Shirai K., Structural Characterization of Chitin and Chitosan Obtained by Biological and Chemical Methods. *Biomacromolecules* 2011, 12, 3285–3290. [dx.doi.org/10.1021/bm200750t](https://doi.org/10.1021/bm200750t).
- Papageorgiou M., Kosma C., Lambropoulou D., 2016. Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in

- Peláez-Cid A. A., Herrera-González A. M., Salazar-Villanueva M., Bautista-Hernández A. Elimination of textile dyes using activated carbons prepared from vegetable residues and their characterization. *Journal of Environmental Management* 181 (2016) 269e278. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.06.026>
- Petterson J., Burkhardt a, R., S., Shaw D. S., Schuiling A. B., Haserodt M. J., Seymour M. D., Experimental determination of ampicillin adsorption to nanometer-size Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in water. *Chemosphere* 80 (2010) 1268–1273. Doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.06.055.
- Peterson L. (1977), “A simplification of the protein assay method of Lowry et al., which os more generally applicable”, *Anal. Biochem.*, 83: 36-356.
- Prasanna S. y Doerksen R. J. Topological Polar Surface Area: A Useful Descriptor in 2D-QSAR. *Curr Med Chem.* 2009; 16(1): 21–41. doi: [10.2174/092986709787002817](https://doi.org/10.2174/092986709787002817)
- Rahbar N., Jahangiri A., Boumi S., Javad Khodayar M., Mercury Removal From Aqueous Solutions With Chitosan-Coated Magnetite Nanoparticles Optimized Using the Box-Behnken Design. *Jundishapur J Nat Pharm Prod.* 2014 May; 9(2): e15913. DOI: 10.17795/jjnpp-15913.
- Rahman N. y Varshney P. Assessment of ampicillin removal efficiency from aqueous solution by polydopamine/zirconium(iv) iodate: optimization by response surface methodology. *RSC Adv.*,2020, 10,20322–20337. DOI: 10.1039/d0ra02061c
- Retamal N., Durán J. M. and Fernández J., 1987. Seasonal Variations of Chemical Composition in Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller). *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 1987,38, 303-311. DOI: 10.1002/jsfa.2740380403
- Ribeiro J. N., Ribeiro A. V., da Silva A. R., Pereira M. de G., Oliveira J. P., Tomaz A. T., Vitoria B., Vermicompost for Indigo Blue and Congo Red Removal. *Journal of Water Resource and Protection*, 2021. 13, 419-434. <https://doi.org/10.4236/jwarp.2021.136025>.
- Rice K., Walker E. M., Wu M., Gillete C., Blough E. R., Environmental Mercury and Its Toxic Effects. *J Prev Med Public Health* 2014; 47:74-83 • <http://dx.doi.org/10.3961/jpmph.2014.47.2.74>
- Rodríguez- García ME, de Lira C, Hernandez-Becerra E, Cornejo-Villegas MA, Palacios-Fonseca AJ, Rojas-Molina I, Reynoso R, Quintero LC, Del-Real A, Zepeda TA, Munoz-Torres C (2007) Physicochemical characterization of nopal pads (*Opuntia ficusindica*) and dry vacuum nopal powders as a function of the maturation. *Plant Foods Hum Nutr.* 62(3):107–112. <https://doi.org/10.1007/s11130-007-0049-5>
- Rosa M. F., Medeiros E. S., Malmonge J. A., Gregorski K. S., Wood D. F., Mattoso L. H. C., Glenn G., Orts W. J.; SHI. Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: Effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. *Carbohydr Polym.* 2010;81(1):83-92. doi:10.1016/j.carbpol.2010.01.059
- Ruelas Inzunzula J., Delgado-Álvarez C., Frías- Espiricueta M., Paez-Ozuna F., Mercury in the Atmospheric and Coastal Environments of Mexico. *Reviews of environmental contamination and toxicology* Volume. 2013. 226, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 226, DOI 10.1007/978-1-4614-6898-1\_3
- Sagulenko E., Morgan G. P., Webb R. I., Yee B., Lee K. C., Fuerst J. A., Structural Studies of Planctomycete Gemmata obscuriglobus Support Cell Compartmentalisation in a Bacterium., *Plos One.* March 2014. Volume 9. Issue 3. e91344. doi:10.1371/journal.pone.0091344.g001.
- Saikhao L., Setthayanond J., Karpkird T., Bechtold T., Suwanruji P., 2018. Green reducing agents for indigo dyeing on cotton fabrics. *Journal of Clean. Prod.* 197 (2018) 106e113. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.199>
- Salazar-Rabago JJ, L.-Ramos R, Rivera-Utrilla J, Ocampo-Perez R, Cerino-Cordova FJ. Biosorption mechanism of Methylene Blue from aqueous solution onto White Pine (*Pinus durangensis*) sawdust: Effect of operating conditions. *Sustain Environ. Res.* 2017;27(1):32-40. doi:10.1016/j.serj.2016.11.009
- Salcedo O., Vargas D., Giraldo L., Moreno-Piraján J. C., Study of Mercury [Hg(II)] Adsorption from Aqueous Solution on Functionalized Activated Carbon. *ACS Omega* 2021, 6, 11849–11856. Doi: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06084>
- Salih SS, Ghosh TK. Highly efficient competitive removal of Pb(II) and Ni(II) by chitosan/diatomaceous earth composite. *J Environ Chem Eng.* 2018;6(1):435-443. doi:10.1016/j.jece.2017.12.037
- Samandari M., Attar H. M., Ebrahimpour K., Mohammadi F., Ghods S., Measurement of ampicillin and penicillin G antibiotics in wastewater treatment plants during the COVID-19 pandemic: A case study in Isfahan. *Environmental Health Engineering and Management Journal* 2022, 9(3), 201-211. DOI: 10.34172/EHEM.2022.21.
- Saura V., Galindo F., 2015. Utilización del colorante índigo en el laboratorio docente de Química Orgánica. *Educación Química* (2016), 27, 133-138. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eq.2015.11.005>
- Schellenberger S., Kolb S., Drake H. L., Metabolic responses of novel cellulolytic and

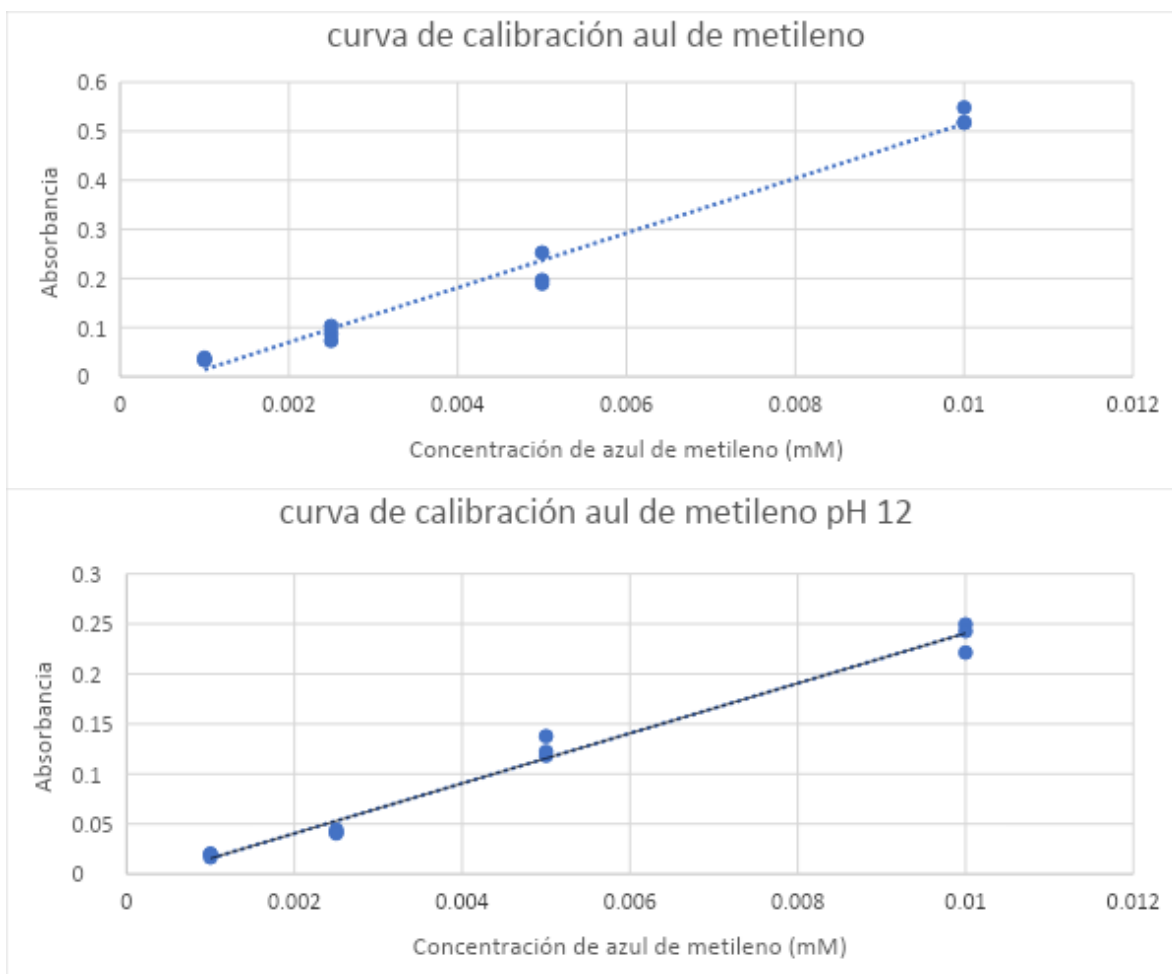
- saccharolytic agricultural soil Bacteria to oxygen. *Environmental Microbiology* (2010) 12(4), 845–861. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02128.x.
- Secretaría de Salud. 2014. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima edición. Vol. 1. ISBN: 978 – 607 – 460 – 454 – 2
- Sehauqui H., Zhou Q., Ikkala O. Berglund L. A., Strong and tough cellulose nanopaper with high specific surface area and porosity. *Biomacromolecules*. 2011;12(10):3638-3644. doi:10.1021/bm2008907
- Selin N., Global biogeochemical cycling of mercury: A review. *Biogeochemical Cycling of Mercury*. Annu. Rev. Environ. Resour. 2009. 34:43–63. Doi: 10.1146/annurev.environ.051308.084314.
- Shamshina JL, Berton P, Rogers RD. Advances in Functional Chitin Materials: A Review. *ACS Sustain Chem Eng*. 2019;7(7):6444-6457. doi:10.1021/acssuschemeng.8b06372
- Shen L., Liu Y., Xu H.-L., Treatment of ampicillin-loaded wastewater by combined adsorption and biodegradation., *J Chem Technol Biotechnol* 2010; 85: 814–820 DOI 10.1002/jctb.2369.
- Shen X, Xie Y, Wang Q, Yi X, Shamshina JL, Rogers RD. Enhanced heavy metal adsorption ability of lignocellulosic hydrogel adsorbents by the structural support effect of lignin. *Cellulose*. 2019;26(6):4005-4019. doi:10.1007/s10570-019-02328-w
- Shin J., Kwak J., Lee Y.G., Kim S., Choi M., Bae S., Lee S-H., Park Y., Chon K., Competitive adsorption of pharmaceuticals in lake water and wastewater effluent by pristine and NaOH-activated biochars from spent coffee wastes: Contribution of hydrophobic and p-p interactions. *Environ. Pollut.* 270 (2021) 116244. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116244>
- Slama H. B., Bouket A. C., Pourhassan Z., Alenezi F. N., Silini A., Cherif-Silini H., Oszako T., Luptakova L., Golinska P., Belbahri L. Diversity of Synthetic Dyes from Textile Industries, Discharge Impacts and Treatment Methods. *Appl. Sci.* 2021, 11, 6255. <https://doi.org/10.3390/app11146255>
- Skripkina T., Podgorbunskikh E., Lomovsky O. Sorption of Methylene Blue for Studying the Specific Surface Properties of Biomass Carbohydrates. *Coatings* 2020, 10, 1115; doi:10.3390/coatings10111115.
- Stan M., Lung I., Soran M. L., Leostean C., Popa A., Stefan M., Lazar M. D., Opris O., Silipas T. D., Porav A., S., Removal of antibiotics from aqueous solutions by green synthesized magnetite nanoparticles with selected agro-waste extracts. *Process Safety and Environmental Protection* 107 (2017) 357–372. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psep.2017.03.003>
- Supanchaiyamat N, Jetsrisuparb K, Knijnenburg JTN, Tsang DCW, Hunt AJ. Lignin materials for adsorption: Current trend, perspectives and opportunities. *Bioresour Technol*. Published online 2019:570-581. doi:10.1016/j.biortech.2018.09.139.
- Szcześniak L, Rachocki A, Tritt-Goc J. 2008. Glass transition temperature and thermal decomposition of cellulose powder. *Cellulose*. 2008;15(3):445-451. doi:10.1007/s10570-007-9192-2
- Szwarc-Rzepka K, Bartczak P, Ehrlich H, Jesionowski T (2013) Preparation and characterization of multifunctional chitin/lignin materials. *J Nanomater*. 2013(425726):2013. <https://doi.org/10.1155/2013/425726>
- Szymanska-Chargot M. y Zdunek A., Use of FT-IR Spectra and PCA to the Bulk Characterization of Cell Wall Residues of Fruits and Vegetables Along a Fraction Process. *Food Biophysics* (2013) 8:29–42 DOI 10.1007/s11483-012-9279-7.
- Tang H, Chen H, Duan B, Lu A, Zhang L. Swelling behaviors of superabsorbent chitin/carboxymethylcellulose hydrogels. *J Mater Sci*. 2014;49(5):2235-2242. doi:10.1007/s10853-013-7918-0
- Test Method TAPPI T-222 om-02. Acid insoluble lignin in Wood and Pulp. Technical Association of the Pulp and Paper Industry.
- Trujillo-Reyes J., Sánchez-Mendieta V., Colín-Cruz A., Morales-Luckie A., 2010. Removal of Indigo Blue in Aqueous Solution Using Fe/Cu Nanoparticles and C/Fe–Cu Nanoalloy composites. *Water Air Soil Pollut* (2010) 207:307–317. DOI 10.1007/s11270-009-0138-1
- Uddin Kamal M. Z., Miah Y. Arsenic Speciation Techniques in Soil Water and Plant: An Overview. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.99273>
- Usmani MA, Khan I, Haque A, Bhat AH, Mondal D, Gazal U. *Biomass-Based Composites from Different Sources: Properties, Characterization, and Transforming Biomass with Ionic Liquids*. Elsevier Ltd.; 2017. doi:10.1016/B978-0-08-100959-8.00004-4
- Younis AM, Aly-Eldeen MA, Elkady EM. Effect of different molecular weights of chitosan on the removal efficiencies of heavy metals from contaminated water. *Egypt J Aquat Biol Fish*. 2019;23(4):149-158. doi:10.21608/ejabf.2019.52591
- Valladares-Cisneros MG, Valerio Cárdenas C, de la Cruz Burelo P, Melgoza Alemán RM. Adsorbentes no-convencionales, alternativas sustentables para el tratamiento de aguas residuales. *Rev Ing Univ Medellín*. 2017;16(31):55-73. DOI:10.22395/rium.v16n31a3

- Ventura-Aguilar RI, Bosquez-Molina E, Bautista-Banos S, Rivera-Cabrera F (2017) Cactus Stem (*Opuntia ficus-indica* Mill): anatomy, physiology and chemical composition with emphasis on its biofunctional properties. *J Sci Food Agric* 97(15):5065–5073. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8493>
- Vilar V. J. P., Botelho C. M. S., Boaventura R. A. R., Methylene blue adsorption by algal biomass based materials: Biosorbents characterization and process behaviour. *Journal of Hazardous Materials*. 147 (2007)120–132. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2006.12.055
- Wan Ismail W., N., y Umairah Mokhtar S. Various Methods for Removal, Treatment, and Detection of Emerging Water Contaminants. Chapter: Emerging contaminants. Intech Open. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.93375>
- Wang D., Ren J., Tan Z., You J., 2020. Gut Microbial Profiles in *Nereis succinea* and Their Contribution to the Degradation of Organic Pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 2020, 54, 6235–6243. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/acs.est.9b07854>
- Widiharih T., Haryatmi S., Wilandari Y, Wilandari G., Algorithms of D-optimal Designs for Morgan Mercer Flodin (MMF) Models With Three Parameters. *AIP Conf. Proc.* 1707. 080015 (2016). doi: <https://doi.org/10.1063/1.4940872>
- Wieczorek A. S., Hetz S. A., Kolb S. Microbial responses to chitin and chitosan in oxic and anoxic agricultural soil slurries. *Biogeosciences*, 11, 3339–3352, 2014 [www.biogeosciences.net](http://www.biogeosciences.net). 11 3339 2014. doi:10.5194/bg-11-3339-2014
- Wieczorek A., Schmidt O., Chatzinotas A., von Bergen M., Gorissen A., Kolb S., Ecological Functions of Agricultural Soil Bacteria and Microeukaryotes in Chitin Degradation: A Case Study. *Front. Microbiol.* 10:1293. doi: 10.3389/fmicb.2019.01293
- Wijesena RN, Tissera ND, Rathnayaka VW, de Silva RM, de Silva KMN. Colloidal stability of chitin nanofibers in aqueous systems: Effect of pH, ionic strength, temperature & concentration. *Carbohydr Polym.* 2020;235(September 2019): 1-8. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116024
- Xagorarakis I., Hullman R., Song W., Li H., Voice T., 2008. Effect of pH on degradation of acetaminophen and production of 1,4-benzoquinone in water chlorination. *J. Water Supply: Res. Technol. AQUA.* 57.6, 2008. DOI: 10.2166/aqua.2008.095
- Xia W., Liu P., Liu J., Advance in chitosan hydrolysis by non-specific cellulases. *Bioresource Technology* 99 (2008) 6751–6762. doi:10.1016/j.biortech.2008.01.011
- Xiang B., Fan W., Yi X., Wang Z., Gao F., Li Y.; Gu H., Dithiocarbamate-modified starch derivatives with high heavy metal adsorption performance. *Carbohydr Polym.* 2016; 136:30-37. doi:10.1016/j.carbpol.2015.08.065
- Yang Y, Shen H, Wang X, Qiu J. 2019. Preparation of Nanolignocellulose/Chitin Composites with Superior Mechanical Property and Thermal Stability. *J Bioresour Bioprod.* 2019;4(4):251-259. doi:10.12162/jbb.v4i4.014
- Yin Q, Nie Y, Han Y, Wang R, Zhao Z. Properties and the Application of Sludge- Based Biochar in the Removal of Phosphate and Methylene Blue from Water: Effects of Acid Treating. *Langmuir.* 2022;38(5):1833-1844. doi:10.1021/acs.langmuir.1c02946
- Zhang X., Elsayed I., Navarathna, C., Schueneman G. T., Hassan E., B., Biohybrid Hydrogel and Aerogel from Self-Assembled Nanocellulose and Nanochitin as a High-Efficiency Adsorbent for Water Purification, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2019, 11, 46714–46725. DOI: 10.1021/acsami.9b15139.
- Zhang H., Yang S., Fang J., Deng Y., Wang D., Zhao Y., Optimization of the fermentation conditions of *Rhizopus japonicus* M193 for the production of chitin deacetylase and chitosan. *Carbohydrate Polymers* 101 (2014) 57–67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.015>
- Zdarta J., Klapiszewski Ł, Wysokowski M, Majchrzak I, Szatkowski T, Nowacka M, Siwińska-Stefańska K, Chitin-Lignin Material as a Novel Matrix for Enzyme Immobilization. *Mar. Drugs* 2015, 13, 2424-2446; doi:10.3390/md13042424
- Zhao R., Wang Y., An Y., Yang L., Sun Q., Ma J., 2022. Chitin-biocalcium as a novel superior composite for ciprofloxacin removal: Synergism of adsorption and flocculation. *Journal of Hazardous Materials* 423 (2022) 126917. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126917>
- Zhong L, Fu S, Peng X, Zhan H, Sun R. Colloidal stability of negatively charged cellulose nanocrystalline in aqueous systems. *Carbohydr Polym.* 2012; 90(1):644-649. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.05.091
- Zhou A., Chen W., Liao L., Xie P., Zhang T. C., Wu X., Febg X., Comparative adsorption of emerging contaminants in water by functional designed magnetic poly(N-isopropylacrylamide)/ chitosan hydrogels. *Science of the Total Environment* 671 (2019) 377–387. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.183>.
- Zhou Y, Zhang M. 2016. Removal of Crystal Violet by a Novel Cellulose-Based Adsorbent: Comparison with Native Cellulose. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2014, 53, 5498–5506, doi: [dx.doi.org/10.1021/ie404135y](http://dx.doi.org/10.1021/ie404135y) |

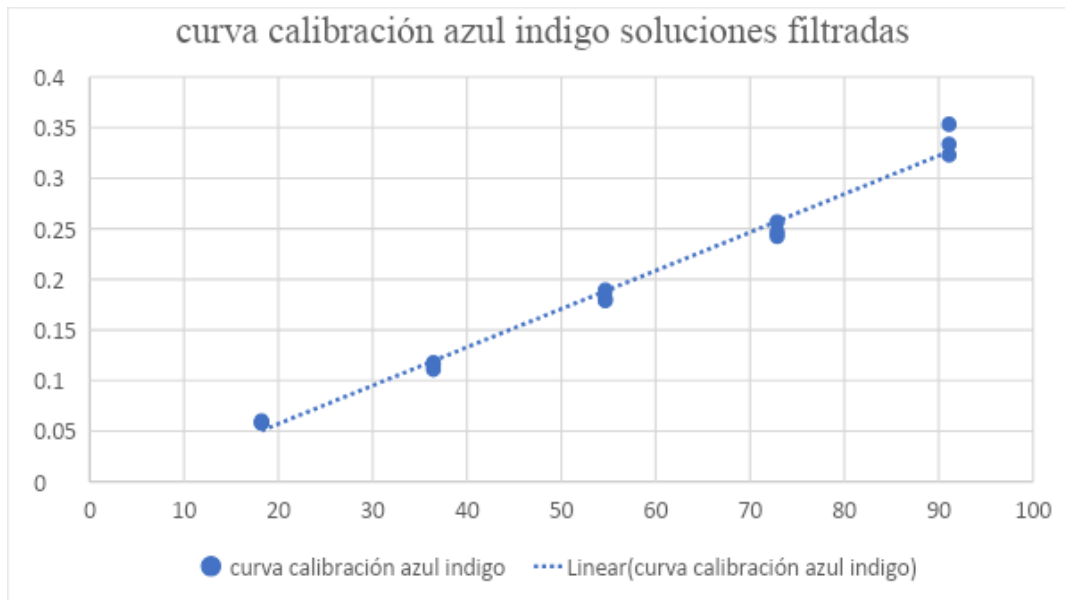
- Zhou D, Wnag H, Guo S. Preparation of Cellulose/Chitin Blend Materials and Influence of Their Properties on Sorption of Heavy Metals. *Sustainability* 2021, 13, 6460. <https://doi.org/10.3390/su13116460>.
- Zhu X., Bao L., Wei Y., Removal of toxic indigo blue with integrated biomaterials of sodium carboxymethyl cellulose and chitosan. *Int. Biol. Macromol.* 2016. Volume 91, October 2016, Pages 409-415. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.097>

## ANEXO 1

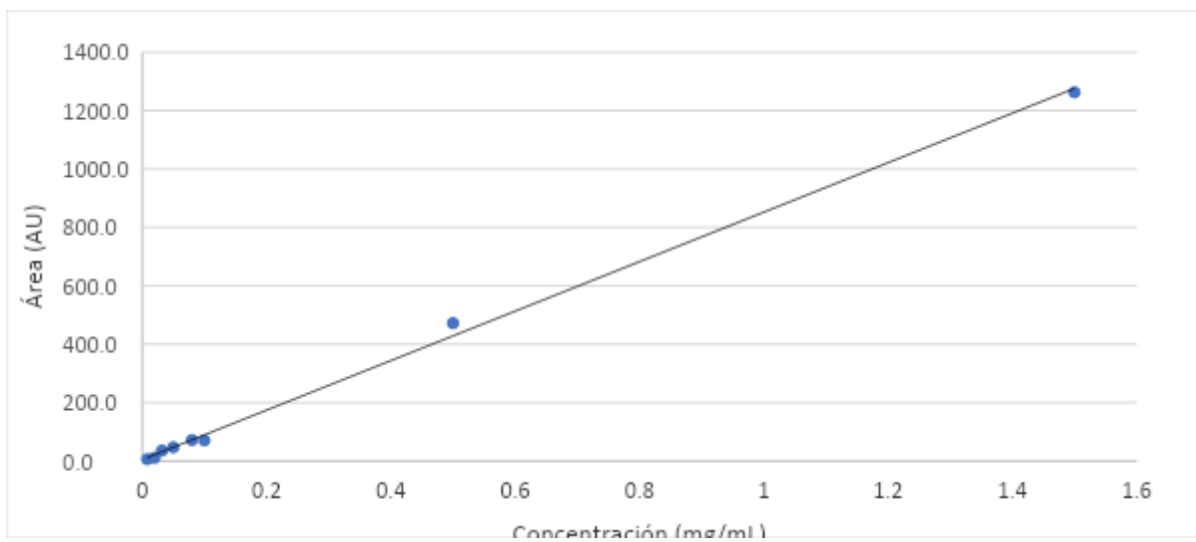
### Curva patrón de NMB



### Curva de calibración azul índigo

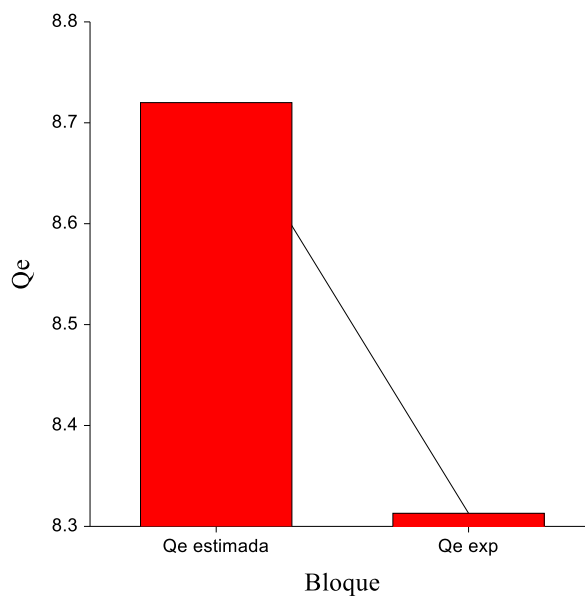


### Curva patrón de ampicilina sódica



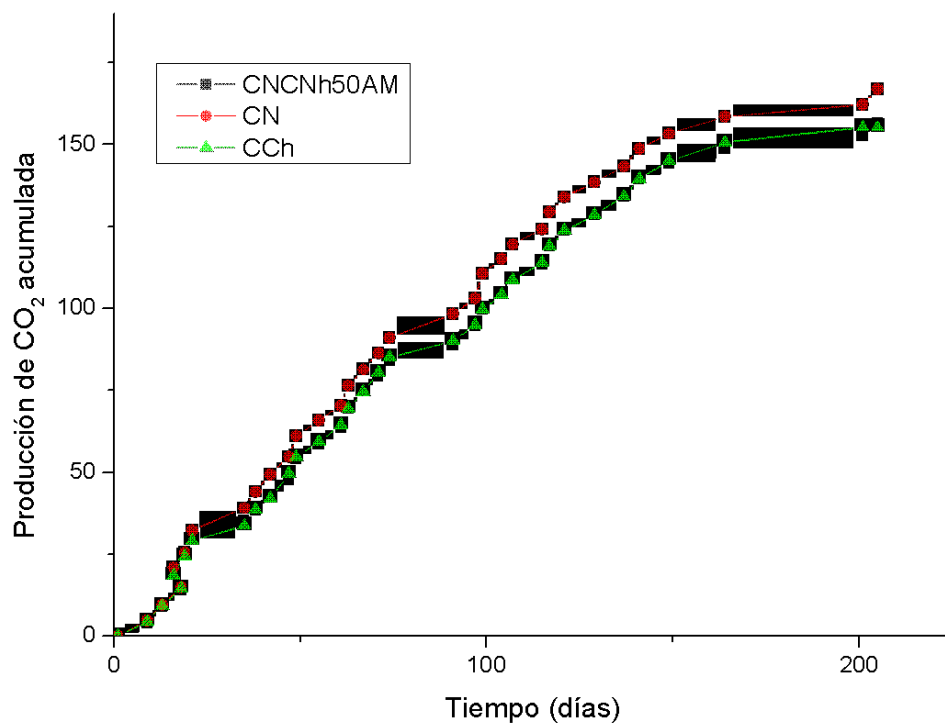
## ANEXO 2

Prueba post hoc Tukey- Kramer para comparar los resultados de  $q_e$  experimentales y estimados por el modelo de pseudosegundo orden



## ANEXO 3

Producción de  $\text{CO}_2$  acumulado por materiales CNCh\_50+NMB, CCh y CN



Porcentajes de degradación estimados (la producción de CO<sub>2</sub> en el blanco de aire se calculó a partir de la medición de flujo de aire que entraba al sistema de mangueras considerando en el aire hay 400ppm de CO<sub>2</sub>/m<sup>3</sup> (Global Carbon Budget 2022).

Biodegradabilidad			
	CNCh50_AM	CN	CCh
CO <sub>2</sub> real [mmol]	-0.36	10.13	3.18
CO <sub>2</sub> real [g]	-0.0157341	0.44585224	0.13977435
% Biodegradabilidad	-0.6409465	14.4051565	5.62784465