

**REMOCIÓN DE COLORANTES ASOCIADOS A RESIDUOS DE TINCIÓN DE GRAM  
UTILIZANDO ARCILLAS GELIFICADAS EN ALGINATO DE SODIO**

**CAMILA ALEXANDRA GOYES LESMES**

**Proyecto integral de trabajo de grado para optar al título de  
Ingeniero Químico**

**Director**

**Dr. ALEJANDRO PÉREZ FLÓREZ  
Químico, M. SC., PhD.,**

**Co Director**

**Dr. Crispín Celis  
Químico, M. SC., PhD.,**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERÍAS  
PROGRAMA INGENIERÍA QUÍMICA  
BOGOTÁ D.C.**

**2021**

## NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

---

---

---

---

Dr. Alejandro Pérez Flórez

---

Ing. Dany José Cárdenas Romay

---

Ing. David Leonardo Sotelo Tobón

Bogotá D.C., Febrero de 2021

## **DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD**

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

**Dr. MARIO POSADA GARCIA-PEÑA**

Consejero Institucional

**Dr. LUIS JAIME POSADA GARCIA-PEÑA**

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

**Dra. MARÍA CLAUDIA APONTE GONZÁLEZ**

Vicerrector Administrativo y Financiero

**Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO**

Secretaria General

**Dra. ALEXANDRA MEJÍA GUZMAN**

Decano Facultad de Ingenierías

**Ing. JULIO CÉSAR FUENTES ARISMENDI**

Director Programa de Ingeniería Química

**Ing. NUBIA LILIANA BECERRA OSPINA**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a todas las personas que han aportado en el desarrollo y oportuno termino de este proyecto de trabajo de grado. En especial al Doctor Alejandro Pérez Floréz, director de este trabajo investigativo por su paciencia, dedicación, compromiso y colaboración para el desarrollo del proyecto.

A mis profesores de Trabajo de grado, en especial al profesor Edgar Moreno Torres por ser guías en el desarrollo y cumplimiento de los parámetros que se establecieron en la Universidad de América.

A la Pontificia Universidad Javeriana con su línea de investigación en tecnología ambiental y de materiales, por brindarme el soporte necesario para iniciar con el proyecto investigativo y que aunque a pesar de la pandemia actual siempre estuvieron dispuestos a abrirme las puertas para culminar con éxito mi trabajo de grado.

Por ultimo agradezco profundamente a Dios y a mi familia por ser apoyo, guía y fortaleza en mi carrera profesional.

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

## TABLA DE CONTENIDO

	pág.
<b>RESUMEN</b>	11
<b>INTRODUCCIÓN</b>	11
<b>1. MARCO TEORICO</b>	14
1.1. Colorantes	14
1.2. Clasificación	15
1.3. Métodos de coloración	16
1.3.1. <i>Tinción simple</i>	16
1.3.2. <i>Tinción específica</i>	16
1.3.3. <i>Tinción diferencial</i>	17
1.4. Tinción de Gram	17
1.4.1. <i>Procedimiento para la tinción de Gram</i>	19
1.4.2. <i>Colorantes asociados a la tinción de Gram</i>	20
1.5. Contaminación de fuentes hídricas	24
1.5.1. Aguas residuales	25
1.6. Tratamientos de aguas residuales	27
1.6.1. <i>Clasificación</i>	28
1.6.2. <i>Tratamientos no convencionales</i>	35
1.7. Adsorción	36
1.8. Arcillas	36
1.8.1. <i>Propiedades fisicoquímicas</i>	37
1.9. Encapsulados de arcilla con Alginato de Sodio	38
<b>2. ESTADO ACTUAL</b>	40
2.1. Antecedentes	40
2.2. Análisis de datos	50
<b>3. MARCO LEGAL CONTAMINACIÓN DE AGUAS RESIDUALES</b>	62
3.1. Ley 23 de 1973	62
3.2. Decreto 2811 de 1974	62
3.3. Decreto 1541 de 1978	63
3.4. Decreto 1875 de 1979	63

3.5. Decreto 1594 de 1984	63
3.6. Ley 99 de 1993	64
3.7. Ley 161 de 1994	64
3.8. Ley 373 de 1997	64
3.9. Decreto 3930 de 2010	65
3.10.Ley 1625 de 2013	65
3.11.Resolución 1207 de 2014	65
3.12. <i>Decreto 1076 de 2015</i>	65
3.13. <i>Resolución 0631 de 2015</i>	66
3.14.Estado Actual - Marco Legal	68
<b>4. PROPUESTA DISEÑO DE EXPERIMENTOS</b>	69
4.1. Síntesis de datos	69
4.2. Configuración para el sistema de adsorción	73
4.3. Diseño experimental	76
<b>5. CONCLUSIONES</b>	79
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	81

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1.</b> Bacteria Gram negativa.	18
<b>Figura 2.</b> Bacteria Gram positiva.	19
<b>Figura 3.</b> Diferencia de bacterias Gram positiva y Gramnegativas a nivel microscópico	20
<b>Figura 4.</b> Estructura molecular Cristal Violeta.	21
<b>Figura 5.</b> Colorante Cristal Violeta.	22
<b>Figura 6.</b> Estructura molecular Fuscina.	23
<b>Figura 7.</b> Colorante Fuscina	24
<b>Figura 8.</b> Afluente del río Medellín-Aburrá.	27
<b>Figura 9.</b> Diagrama de tratamiento primario.	33
<b>Figura 10.</b> Diagrama de tratamiento secundario con proceso biológico.	34
<b>Figura 11.</b> Diagrama de tratamiento terciario con proceso biológico.	35
<b>Figura 12.</b> Documentos por año “Degradación Cristal Violeta”.	50
<b>Figura 13.</b> Documentos por país “Degradación Cristal Violeta”.	51
<b>Figura 14.</b> Documentos por área de interés “Degradación Cristal Violeta”.	52
<b>Figura 15.</b> Documentos por año “Adsorción Cristal Violeta”.	53
<b>Figura 16.</b> Documentos por área “Adsorción Cristal Violeta”.	53
<b>Figura 17.</b> Documentos por país “Adsorción Cristal Violeta”.	54
<b>Figura 18.</b> Documentos por año “Degradación Fuscina”.	55
<b>Figura 19.</b> Documentos por área de interés “Degradación Fuscina”.	55
<b>Figura 20.</b> Documentos por país “ Degradación Fuscina”.	56
<b>Figura 21.</b> Documentos por año “Adsorción de Fuscina”.	56
<b>Figura 22.</b> Documentos por área de interés “Adsorción de Fuscina”.	57
<b>Figura 23.</b> Documentos por país “Adsorción de Fuscina”.	57
<b>Figura 24.</b> Documentos por año “Adsorción Cristal Violeta con Montmorillonita”.	58
<b>Figura 25.</b> Documentos por año “Adsorción Fuscina con Montmorillonita”.	58
<b>Figura 26.</b> Documentos por año “Adsorción Fuscina y Cristal Violeta con Montmorillonita”	59
<b>Figura 27.</b> Parámetros fisicoquímicos y límites permisibles para vertimientos puntuales de aguas residuales no domesticas.	67

## LISTA DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1.</b> Grupos Auxocromos.	15
<b>Tabla 2.</b> Diferencias bacterias Gram positivas y Gram negativas.	18
<b>Tabla 3.</b> Propiedades Cristal Violeta.	21
<b>Tabla 4.</b> Ventajas y Desventajas – Tratamientos por tipo de proceso.	29
<b>Tabla 5.</b> Isotermas de Langmuir – Valor de RL.	46
<b>Tabla 6.</b> Parámetros cinéticos del modelo de pseudo primer y pseudo segundo orden para la adsorción de Cristal Violeta por nano compuestos de MtGO.	47
<b>Tabla 7.</b> Parámetros cinéticos de adsorción de Cristal Violeta en solución con nanocompuestos de alginato de bentonita.	49
<b>Tabla 8.</b> Resumen análisis de datos.	60
<b>Tabla 9.</b> Síntesis de datos – Referencias bibliográficas Cloruro de Calcio y Alginato de Sodio.	70
<b>Tabla 10.</b> Análisis de datos volumen de la solución.	74
<b>Tabla 11.</b> Análisis de datos RPM de agitación.	74
<b>Tabla 12.</b> Análisis de datos cantidad de Adsorbente.	75
<b>Tabla 13.</b> Diseño Factorial.	77
<b>Tabla 14.</b> Resumen variables Diseño Experimentos.	78

## RESUMEN

El mundo atraviesa una crisis ambiental sin precedentes debido a la contaminación de los recursos naturales renovables y no renovables por el mal manejo de los seres humanos. Procesos industriales de baja y gran escala producen desechos innumerables que sin el tratamiento adecuado pueden llegar afectar fuentes hídricas.

Los residuos de colorantes asociados a la tinción de Gram generan una alta contaminación de los recursos hídricos lo cual afecta en gran medida la salud de los animales y los seres humanos por su efecto nocivo y tóxico, por lo que el objetivo principal del presente trabajo es realizar una búsqueda bibliográfica acerca de los antecedentes y estado actual de la remoción de colorantes asociados a residuos de tinción de Gram utilizando arcillas gelificadas en alginato de sodio y de la contaminación actual a la que está sometida Colombia.

Se realizó un análisis bibliográfico mundial de los avances hasta el momento en el tema, además de visualizar el estado actual legal de Colombia para por último realizar una propuesta de un sistema de adsorción con arcilla gelificada en alginato de sodio determinando la configuración y parámetros a tener en cuenta basado en un análisis bibliográfico que permita generar un diseño de experimentos que indique la secuencia de pasos a tomar en cuenta para obtener información relevante que genere un análisis estadístico.

Respecto al análisis bibliográfico se obtuvo que actualmente a nivel mundial los estudios se concentran en continentes como Asia y Europa. En cuanto a América latina y específicamente Colombia, el estudio para la remoción de contaminantes es escaso y lo lideran universidades como la Pontificia Universidad Javeriana y Universidad Nacional. Se obtiene un diseño factorial de  $2^2$  con concentración de alginato de sodio de 2% y 4% y 0,1 y 0,5 gramos de arcilla para un total de cuatro experimentos duplicando cada uno para disminuir la variabilidad. Como resultado se medirá el porcentaje de remoción en la solución.

**Palabras clave:** Adsorción, Arcilla, Alginato de sodio, Cristal Violeta, Fuscina.

**Keywords:** Adsorption, Clay, Sodium Alginate, Crystal Violet, Fuchsine.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad el mundo se enfrenta a uno de los más grandes problemas ambientales debido a la contaminación de fuentes hídricas y aunque el agua es uno de los elementos más abundantes en la tierra, “únicamente el 3% se encuentra como agua dulce y de este aproximadamente el 20% es utilizado por la industria donde aproximadamente el 80% a nivel mundial del total de aguas residuales industriales se liberan sin ningún tratamiento previo”[1] deteriorando así el agua y la disponibilidad de esta.

América latina cuenta con el 33% de los recursos hídricos renovables del mundo y la gran mayoría de países cuentan con disponibilidad catalogada como alta y muy alta en razón de su superficie y población pero la cobertura de agua potable llega hasta un 85% y solo el 49% de la población cuenta con servicios sanitarios. Según la organización mundial de la salud el 85% de las causas de enfermedades y muertes se atribuyen al agua contaminada y la falta de acceso de esta [2].

Sumado a la problemática mencionada se encuentra con que la población, que crece sin medida alguna, aumenta sus demandas exponencialmente respecto a servicios básicos [2] y a un modelo de desarrollo incontrolado sustentado en el máximo beneficio de los recursos naturales generando riqueza y bienes de consumo sin tener en cuenta el deterioro del medio ambiente.

Diferentes procesos industriales y de carácter académico emplean la técnica de tinción de Gram donde se someten diferentes bacterias a la tinción por medio de los colorantes cristal violeta y fucsina generando residuos contaminantes al finalizar el procedimiento. Si al obtener estos contaminantes no se someten a un tratamiento previo al vertimiento se verá afectada la salud de todos los seres vivos de forma directa o indirecta además de que se puede incurrir en diferentes multas por incumplir la legislación de cada país como el caso de Colombia, la resolución 0631 de 2015 [3].

Se calcula que “para el año 2019 los laboratorios de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana generaban entre 20 a 40 litros semanales de efluentes provenientes principalmente de estos colorantes asociados a la tinción de Gram por procedimientos de carácter investigativo y académico” [4].

Debido a lo anterior, el laboratorio de Investigación en Tecnología Ambiental y de Materiales (ITAM) de la Pontificia Universidad Javeriana, se encuentra investigando diferentes métodos y materiales que retengan o remuevan estos contaminantes de sus aguas residuales. El fenómeno de adsorción, uno de los métodos que permite generar alternativas viables para remover estos contaminantes, “se basa en retener sustancias que se encuentran solubles en una mezcla, lo cual ocurre en la interfaz de las fases (Líquido-Sólido o Gas-Sólido), y se obtiene como resultado una capa líquida o gaseosa en la superficie del sólido” [5].

Existen diversos estudios, en donde se mencionan diferentes estrategias con el fin de eliminar estos colorantes, como lo son las membranas de nano filtración, o la combinación de técnicas de adsorción con mecanismos de reducción empleando carbón activado los cuales obtuvieron resultados favorables al eliminar estos colorantes [6], pero generan grandes costos de inversión y mantenimiento, los cuales no serán alcanzables para pequeñas y medianas industrias, por lo que se propone utilizar materiales menos costosos como lo son las arcillas naturales.

El éxito de la capacidad de adsorción de estas arcillas se le atribuye a su reducido tamaño de partícula, estructura laminar y capacidad de intercambio catiónico, el cual se puede determinar con una caracterización exhaustiva para analizar el potencial como adsorbente del cristal violeta y la fuscina en procesos mencionados anteriormente, como lo es la tinción de Gram [7]. Debido a lo anteriormente expuesto, la propuesta tipo monografía, plantea realizar una búsqueda en diferentes tipos de bibliografía (revistas, patentes, páginas web, libros) para verificar la efectividad de la remoción de colorantes asociados a residuos de tinción de Gram utilizando arcillas gelificadas en alginato de sodio.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Proponer un diseño para la remoción de colorantes asociados a la tinción de Gram utilizando arcillas encapsuladas.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Diagnosticar el estado actual, antecedentes y avances respecto a la contaminación de aguas debido a colorantes asociados a la tinción de Gram.
- Analizar el marco legal establecido para la contaminación en aguas residuales debido a colorantes.
- Seleccionar la mejor configuración y parámetros para el sistema de adsorción y encapsulamiento de las arcillas.
- Identificar las variables que afectan la adsorción del cristal violeta en las capsulas de arcilla mediante una propuesta teórica de un diseño de experimentos con base en estudios previos.

## 1. MARCO TEORICO

A continuación se encontraran diferentes conceptos definidos de forma teórica para contextualizar acerca de que es y cómo se clasifican los colorantes, métodos de coloración como el método de tinción de Gram el cual emplea diferentes colorantes que pueden llegar a contaminar en una gran proporción las diferentes fuentes hídricas causando daños al medio ambiente y a la salud de los diferentes seres vivos. Se mencionará la clasificación de los tratamientos de aguas residuales y específicamente la adsorción con arcillas puesto que sus diferentes propiedades químicas hacen este tratamiento idóneo para retirar los colorantes contaminantes de las aguas residuales.

### 1.1. Colorantes

Los colorantes se definen como “sustancias de origen animal o vegetal que se aplican a un sustrato para que este adquiera el color de forma semi-permanente. Estos tintes, pigmentos o reactivos se emplean en un medio soluble para la coloración de tejidos de microorganismos afines con el colorante para exámenes microscópicos”[8].

El color se proporciona en el sustrato debido a la “acción conjunta de un grupo cromóforo y uno auxocromo; donde el primero es el grupo funcional portador, con bastantes electrones orbitales n, causantes del color que se observa. Cualquier molécula portadora de alguno de los siguientes grupos tendrá la facultad de actuar como colorante”[9]:

A. Etilénicos

B. Azo

C. Aromáticos

- Derivados del trifenilmetano
- Derivados de la antraquinona
- Ftalocianinas
- Derivados heteroaromáticos

En cuanto al grupo auxocromo, “cuando se encuentra en conjugación de un cromóforo, puede atraer o donar electrones de forma que varía la intensidad de la absorción de luz desplazando el espectro de longitud de onda cambiando el color que se percibe”[9]. Los grupos auxocromos principales que se encuentran se mencionan en la tabla 1 [8]:

**Tabla 1.**

*Grupos Auxocromos*

Ácidos	Básicos
OH (Fenólico)	NH <sub>2</sub> (Amino)
SO <sub>2</sub> (Sulfónico)	NH-R (Amino)
CO-OH (Carboxilo)	NR <sub>2</sub> (Amino)

**Nota.** Principales grupos auxocromos. Tomado de V. Y. M. Natarén, “Molienda de pigmentos hasta tamaño de partícula submicron con medición de potencial Z,” 2006.

## 1.2. Clasificación

Los colorantes se pueden clasificar dependiendo de la fuente de obtención, de la carga del ion que cuenta con la propiedad tintorial[10] o de su probable método de aplicación dado en el índice internacional de color (base de datos conjunta por la Society of Dyers and Colourists y la American Association of Textile Chemists and Colorists)[11]. Es importante resaltar que estas clasificaciones son excluyentes entre sí.

A. Por su fuente de obtención:

- Colorantes naturales: son aquellos provenientes de los tejidos orgánicos, animales y vegetales. Se consideran inocuos por lo que sus limitaciones de uso son menores a los artificiales pero su obtención es compleja debido a la materia prima[11]. Entre estos se resaltan los siguientes[10]:

- Índigo: se encuentra en las diversas plantas que contienen indican, el cual es el precursor del colorante que se obtiene a partir de una fermentación.

- Carmín: se obtiene mediante tratamiento con alumbre y sales metálicas a hembras del insecto cochinilla.

- Orceína y Tornasol: se obtiene por un proceso industrial de líquenes.

- Hematoxilina: se extrae de la madera del árbol *Haematoxylum campechianum*.

- Colorantes sintéticos: son aquellos “provenientes de la anilina, es decir, derivados del benceno siendo los más utilizados en las industrias textiles, farmacéuticas, alimentarias y cosméticas. Como desventaja se encuentra que son altamente tóxicos debido a su solubilidad y persistencia en aguas residuales”[10].

B. Por la carga del ion[10]:

- Colorantes básicos: La propiedad del colorante se encuentra en el catión.
- Colorante ácido: La propiedad del colorante se encuentra en el anión.
- Colorante neutros: Se forma por soluciones acuosas tanto acidas como básicas con un precipitado resultante neutro.

C. Por su modo de aplicación[11]:

- Ácidos: usualmente se aplican en lana y seda donde la mayoría contiene grupos ácido Sulfónico o carboxilo.
- Básicos: compuestos solubles en agua que forman especies catiónicas.
- Directos: Se aplican en presencia de electrolitos adicionales en medio acuoso.
- Dispersos: son aquellos colorantes no iónicos e insolubles en agua
- Reactivos: Los grupos reactivos se combinan con la celulosa formando enlaces covalentes y reaccionando en presencia de electrólitos.
- Colorantes de tina: si se encuentra en forma reducida es soluble en agua y usada para teñir.
- Mordientes: compuestos que forman complejos con metales.

### **1.3. Métodos de coloración**

Debido que a simple vista no es posible observar los microorganismos por su tamaño se hizo necesario implementar métodos que permitieran analizar y diferenciar microscópicamente sus características en cuanto a forma de nutrición, tamaño, estructura y composición[10]. La tinción se emplea como una técnica para mejorar el contraste en la imagen puesto que el colorante resalta las estructuras en tejidos biológicos.

#### **1.3.1. Tinción simple**

“Se utiliza un único colorante para teñir la muestra de forma que se observa la morfología y tamaño rápidamente del microorganismo. En su mayoría se utiliza el azul de metileno, violeta cristal, fuscina, entre otros” [10].

#### **1.3.2. Tinción específica**

“Se utilizan anticuerpos marcados con una molécula fluorescente para identificar una estructura celular en particular. La inmunocitoquímica es una técnica estandarizada y empleada en su mayoría debido a su método sencillo y rápido, esta se basa en la especificidad y afinidad que tienen los anticuerpos para reconocer moléculas y unirse a ellas” [10].

### **1.3.3. Tinción diferencial**

Para esta técnica se visualiza más de un color puesto que se emplean dos o más colorantes por separado o juntos, formando parte de una solución.

«Las técnicas más utilizadas son la de Gram y de Ziehl Neelsen, estas requieren con anterioridad un proceso de fijación de la muestra, ya sea con un fijador físico donde se emplean métodos como desecación, calor seco, calor húmedo, ultrasonido o microondas; o un fijador químico clasificado como oxidantes: óxido crómico, ácido acético, ácido pícrico, acetona, di-cromato de potasio; o reductores: formaldehído, glutaraldehído, etanol, metanol, paraldehído» [13].

### **1.4. Tinción de Gram**

En el año 1880 el doctor danés Hans Christian Gram desarrolló la técnica bacteriológica más importante hasta la actualidad, esta divide dos grandes categorías de bacterias donde unas se tiñen de azul-violeta conocidas como Gram positivo y las Gram negativas que tiñen de rojo.

En 1963 Salton explico que el mecanismo de diferenciación se debe a la estructura de las paredes celulares de las bacterias donde las Gram positivas cuentan con una pared gruesa impermeable compuesta de peptidoglucanos y polímeros junto con su membrana citoplasmática como se observa en la figura número 1. Por otro lado, como se observa en la figura número 2 las bacterias Gram negativas tienen una capa delgada de peptidoglucanos y una bicapa de lipoproteínas (membrana externa y membrana citoplasmática) que se deshace con la decoloración[14]. Las diferencias de estas se encuentran mencionadas en la tabla 2.

**Tabla 2.**

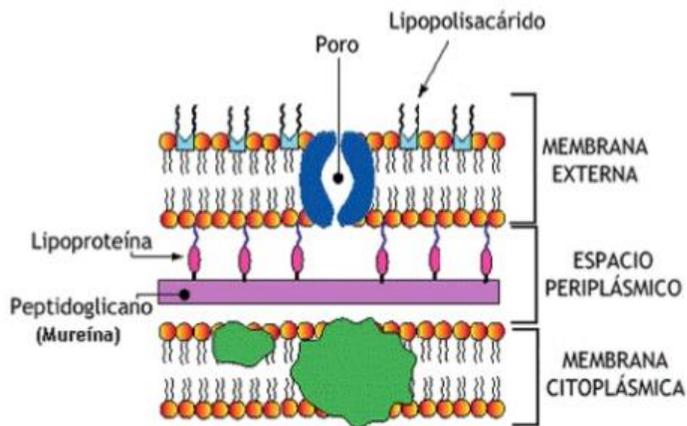
*Diferencias bacterias Gram positivas y Gram negativas.*

	<b>Gram Positivas</b>	<b>Gram Negativas</b>
Color con la tinción de Gram	Violeta	Rojo
Pared celular	Gruesa	Delgada
Presencia de lipopolisacáridos en pared celular	Ausente	Presente
Presencia de ácidos lipoteicoicos y teicoicos en pared celular	Presente	Ausente

**Nota.** Diferencias de las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Tomado de Cuadros comparativos, “Bacterias Gram-positivas vs. Gram-negativas”, 2018. [En línea] Disponible: <https://cuadroscomparativos.com/bacterias-gram-positivas-vs-gram-negativas-cuadros-comparativos/> [Acceso:07,Jan, 2021].

**Figura 1.**

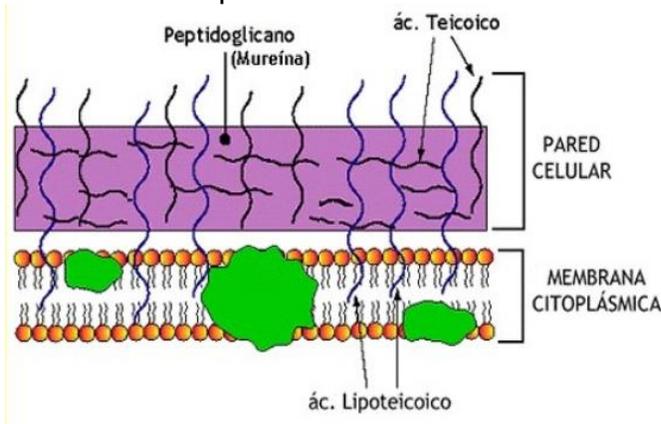
*Bacteria Gram negativa.*



**Nota.** La figura representa la estructura de una bacteria Gram negativa. Tomada de P. A. Rodríguez and R. Arenas, “Hans Christian Gram y su tinción Hans Christian Gram and His Staining,” 2018.

## Figura 2.

Bacteria Gram positiva.



**Nota.** La figura representa la estructura de una bacteria Gram negativa. Tomada de P. A. Rodríguez and R. Arenas, “Hans Christian Gram y su tinción Hans Christian Gram and His Staining,” 2018.

### 1.4.1. Procedimiento para la tinción de Gram

Se inicia recolectando la muestra a teñir mediante un hisopo que permita extenderla sobre el portaobjetos, se seca, ya sea a temperatura ambiente o con un mechero sin quemar las bacterias. Como se mencionaba anteriormente es necesario para esta técnica fijar la muestra al portaobjetos, comúnmente se utiliza “Metanol, fijador químico reductor, deshidratador y coagulante de proteínas generando sean insolubles sin desnaturalizarlas además de mantener la pared celular y evitar sobre-coloración”[13].

Una vez la muestra se encuentre seca y fija en el portaobjetos se procede a aplicar el tinte primario cristal violeta y se deja reposar por un minuto de forma que atraviese la pared bacteriana y tiña gracias a la afinidad con el peptidoglucano, es decir, teñirá bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas[4].

Seguido a esto se enjuaga la muestra con agua y se aplica Lugol esperando un minuto nuevamente de forma que actúe como mordiente fijando el colorante cristal violeta aún más a la muestra y formando el complejo violeta-Lugol[10].

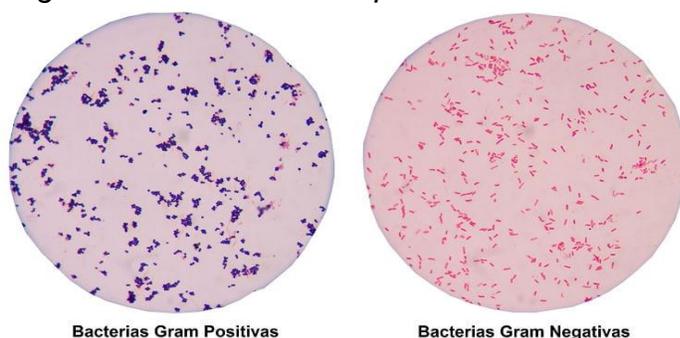
“Posteriormente se somete el portaobjetos a una mezcla decolorante de alcohol y acetona durante 30 segundos de forma que se deshidrata la pared bacteriana y cierra

los poros de la misma disolviendo el complejo violeta-Lugol en las bacterias Gram negativas y permite la retención del complejo en las bacterias Gram positivas gracias a su alto contenido de peptidoglucano” [10].

Por último, se coloca el colorante secundario, safranina o fucsina, durante un minuto seguido de un lavado con agua, de forma que se tiñen aquellas bacterias Gram negativas de color rosa o rojo[4]. El resultado a nivel microscópico de ambas bacterias se puede observar en la figura número 3.

### Figura 3.

*Diferencia de bacterias Gram positiva y Gram negativas a nivel microscópico.*



**Nota.** La figura representa la estructura de una bacteria Gram negativa. Tomada de P. A. Rodríguez and R. Arenas, “Hans Christian Gram y su tinción Hans Christian Gram and His Staining,” 2018.

#### **1.4.2. Colorantes asociados a la tinción de Gram**

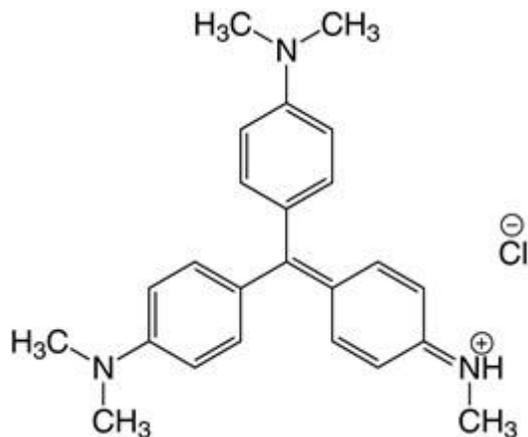
**A. Cristal violeta:** “Igualmente llamado cloruro de Hexametil Pararosnilina, Violeta de Metilo o Violeta de Genciana. Es un colorante orgánico y sintético de triamino-trifenilmetano obtenido mediante la materia prima N,N-dimetilanilina por diferentes rutas que incluyen reacciones de condensación, adición, cloración, entre otras” [16].

Este colorante catiónico presenta cristales azules verdosos que funden a 137°C[17] utilizado como tinte biológico en industrias textil, de papel, medicina veterinaria, aditivos, cosméticos y química analítica[18]. Las propiedades como su peso molecular, punto de fusión y ebullición, entre otras se encuentran mencionadas en la tabla III.

**Tabla 3.***Propiedades Cristal Violeta*

Fórmula molecular	Peso molecular	Punto de fusión	Punto de ebullición	Densidad	Solubilidad	Reactividad
C <sub>25</sub> H <sub>30</sub> Cl N <sub>3</sub>	407.99 g/mol	205 °C	560.86 °C	1.19 g/cm <sup>3</sup> a 20 °C	Agua: 50 g/L a 27 °C	Incompatible con ácidos y agentes oxidantes fuertes.

**Nota.** Propiedades químicas y físicas del Cristal Violeta. Tomado de C. Book, "Crystal Violet," 2017. [En línea] Disponible: [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_cb2161846.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_cb2161846.htm) [Acceso:07,Sep, 2020].

**Figura 4.***Estructura molecular Cristal Violeta.*

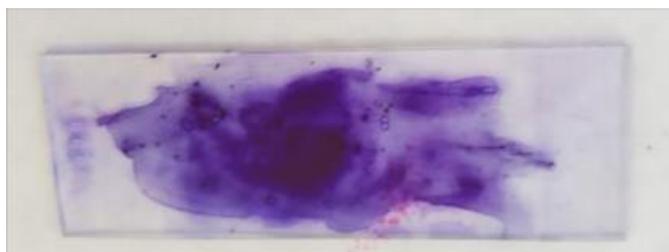
**Nota.** La figura representa la estructura molecular del Cristal Violeta. Tomada de Anonimo, "Cristal violeta." [En línea] Disponible: <https://www.anulab.com/es/product/1698946/cristal-violeta-2b> [Acceso:22,Sep, 2020].

Debido al grupo “trifenil metano que contiene en su estructura, el cual se puede observar en la figura número 4, el Cristal Violeta es nocivo por inhalación, ingestión o por contacto con la piel por lo que se clasifica como agente mutagénico o cancerígeno” [20] por lo que se puede producir una intoxicación con vómitos, diarrea, dolor de cabeza, mareos , daños en la membrana mucosa y tracto gastrointestinal[21].

Puesto que este colorante es altamente utilizado en diferentes industrias sus principales afectaciones se verán involucradas en la presencia, en bajas y medias concentraciones, en aguas residuales por lo que pueden llegar a tener contacto con seres humanos y animales presentando daños en su salud[22]. En la figura 5 se observa su apariencia.

**Figura 5.**

*Colorante Cristal Violeta.*

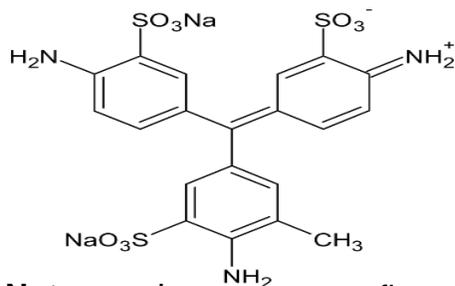


**Nota.** La figura representa el Cristal Violeta visto macroscópicamente. Tomada de N. C. Carreño and W. J. R. Chitiva, “Síntesis de óxidos mixtos de Mn-Fe mediante el método de auto combustión para la degradación de cristal violeta en aguas residuales,” *Int. Rev. Immunol.*, vol. 66, no. 1, pp. 1–15, 2018

**B.** Fuscina: “Colorante de triarilmetano con apariencia líquida roja brillante tal cual la figura 7, olor fenólico con gravedad específica de 0.995 g/cm<sup>3</sup> y soluble en agua a 20°C con fórmula química C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>9</sub>S<sub>3</sub> ampliamente utilizada en histología en las tinciones de Van Gieson, Gram y Mallory. Su uso frecuente radica en la distinción entre músculo y colágeno en tejidos animales” [24].

**Figura 6.**

*Estructura molecular Fuscina.*



**Nota.** La figura representa la estructura molecular de la Fuscina. Tomada de V. Vasquez, "EVALUACIÓN DE LA DISMINUCIÓN EN LA CARGA CONTAMINANTE DE LOS COLORANTES ASOCIADOS A LA TINCIÓN DE GRAM MEDIANTE CARBÓN ACTIVADO ENCAPSULADO EN ALGINATO DE SODIO," 2019

Según la ficha técnica de seguridad y estructura observada en la figura 6, la Fuscina puede presentar efectos toxicológicos para los seres humanos tras la inhalación de este presentando irritación de las mucosas, piel, ojos y dificultad para respirar, igualmente, catalogado como agente mutagénico en humanos. En cuanto a la información ecológica puede llegar a tener un efecto toxico en concentraciones altas sobre peces por lo que no se puede incorporar a suelos o acuíferos sin un debido tratamiento[25].

## Figura 7.

Colorante Fucsina.



**Nota.** La figura representa la Fucsina visto macroscópicamente. Tomada de E. O. Ojeda and R. A. Uribe, “Agua para el Siglo XXI para América del Sur,” 2013.

### 1.5. Contaminación de fuentes hídricas

Actualmente el mundo se enfrenta a un problema ambiental de gran escala, debido a diferentes contaminantes que degradan con el paso del tiempo los recursos no renovables necesarios para un correcto desarrollo de la vida actual como la conocemos[26]. Entre estos contaminantes se encuentra una elevada producción de efluentes de agua residuales de diferentes industrias con una alta carga de contaminantes orgánicos. “Según la UNESCO el 80% del agua residual a nivel mundial son vertidas sin tratamiento alguno, aumentando la contaminación y generando que de aquí al año 2025 la mitad de la población mundial viva en zonas con escasez de agua” [27].

La contaminación del agua es una «acumulación de sustancias tóxicas en un sistema hídrico alterando la calidad de los parámetros físicos, químicos y biológicos por lo cual no reúne las condiciones necesarias para ser aprovechada por los seres humanos, animales o plantas. Es imposible utilizar aguas superficiales o subterráneas contaminadas sin un previo tratamiento; se estima que la contaminación de patógenos afecta a alrededor de un tercio de todos los tramos fluviales en África, Asia y América latina poniendo en riesgo a millones de personas y animales» [27].

«Colombia está catalogada como uno de los países con mayor oferta de agua dulce debido a su ubicación geográfica con una precipitación media anual de 3000 mm comparada con el promedio mundial de precipitación anual de 900 mm y con el promedio en Suramérica de 1600 mm por lo que actualmente se lleva a cabo el Plan Nacional de

Desarrollo y sostenibilidad con el programa “Agua” donde se busca generar un crecimiento sostenible junto con un aprendizaje en equipo entre la comunidad, instituciones y la academia» [28].

En los últimos 40 años se ha tomado conciencia acerca del problema ambiental que generan las sustancias químicas de origen sintético al medio ambiente por lo que se han encaminado esfuerzos hacia las sustancias contaminantes orgánicas persistentes (COP). Según su definición estas son “sustancias tóxicas resistentes a la degradación por lo que perduran a lo largo del tiempo recorriendo grandes distancias almacenándose en los tejidos grasos de diferentes animales” [29].

Todas estas sustancias mencionadas anteriormente tienen un origen relacionado con el ser humano por lo que su depuración no se genera a través del ciclo natural hidrológico y se desechan en los ríos, lagos y océanos contaminándolo con productos como petróleo, breas, aceites minerales asociados a compuestos químicos tóxicos como plomo, arsénico, selenio, manganeso y radiactivos[30].

Estos contaminantes orgánicos persistentes, se caracterizan por diferentes parámetros como:

- A. Persistencia: tiempo en el cual el compuesto permanece sin descomponerse o degradarse físicamente.
- B. Toxicidad: está presenta efectos adversos sobre la salud humana y el medio ambiente.
- C. Bio acumulación: capacidad de almacenarse en grasas y lípidos de los organismos vivos con el paso del tiempo y se bio amplifiquen a través de la cadena alimenticia.
- D. Potencial de transporte: “se pueden transportar en forma de vapor, ser adsorbidos por partículas de la atmosfera o por especies migratorias, por lo que a grandes distancias se encontraran estos contaminantes en el medio ambiente” [29]

La combinación de estos parámetros resulta extremadamente peligroso y explica por qué se encuentran estos compuestos en cualquier lugar del planeta, sin importar si fueron empleados o no en algún lugar cercano.

### **1.5.1. Aguas residuales**

La eliminación de residuos constituye actualmente un problema primordial intrínseco a la sociedad humana. Las masas receptoras como ríos y corrientes subterráneas son

incapaces por si mismas de neutralizar la carga polucional que estas causan deteriorando el equilibrio ecológico. “ Estas aguas residuales se definen como aquellas que por uso del hombre representan un peligro y deben ser desechadas por su cantidad de sustancias o microorganismos” [31], normalmente, son dispuestas en corrientes hídricas generando una alta contaminación con afectación directa a la fauna y flora por lo que se debe garantizar que estas cuenten con un tratamiento previo que cumpla con la normatividad requerida.

Entre los elementos dañinos que se generan por las aguas residuales se puede tener en cuenta: los malos olores, como consecuencia de las sustancias extrañas que contiene puesto que su “desdoblamiento anaeróbico genera gases de descomposición; la acción toxica, la modificación de la apariencia física, la polución térmica y la potencialidad inefectiva que permitirá transmitir enfermedades a través de su ciclo”[32].

Estas aguas se encuentran con diversos orígenes[27] [33]:

- A.** Aguas residuales domésticas o aguas negras: su contaminación proviene del aseo personal, cocina y limpieza de la casa por lo que contienen gran cantidad de materia orgánica, así como restos de jabones y detergentes.
- B.** Aguas blancas: tiene procedencia atmosférica o de limpieza de las calles, parques y lugares públicos.
- C.** Aguas residuales industriales: proceden de procesamientos en fábricas y establecimientos industriales por lo que contendrán aceites, detergentes, antibióticos, ácidos, grasas y otros productos y subproductos de origen mineral, químico, vegetal o animal.
- D.** Aguas residuales agrícolas: proceden de labores agrícolas en zonas rurales.

La contaminación de agua debido a los desechos residuales no tratados es un problema que afecta al mundo entero y en mayor medida a países industrializados. “China admitió recientemente que más del 80% de sus ríos no son aptos para agua potable ni para lavar debido a la alta contaminación producto de sus procesos industriales. En Estados Unidos, dos de cada cinco ríos se encuentran contaminados”[32].

En Colombia un 70% de las aguas servidas en los centros urbanos no son tratadas y en los casos que hay un tratamiento, este no garantiza el vertimiento limpio de las aguas

a las fuentes hídricas naturales[34] además de que “únicamente el 48,2% de los municipios cuentan con planta de tratamiento para aguas residuales lo que se traduce en que más de la mitad del país no recibe el tratamiento adecuado de sus aguas y se están vertiendo sin control alguno causando daños sin precedentes”[35] . Para el año 2014 fue multada con 318 millones de pesos la empresa Cueros Vélez por desechar colorantes a la quebrada la Guayabal, tal como se ve en la figura 8, afluente del río Medellín-Aburrá causando un grave problema en el ecosistema[36].

### **Figura 8.**

*Afluente del río Medellín-Aburrá.*



**Nota.** La figura representa el afluente del río Medellín-Aburrá contaminado. Tomada de L. Republica, “Imponen multa de \$318,5 millones a cueros Vélez por contaminar río,” pp. 20–22, 2014, [ En línea] Disponible: <https://www.larepublica.co/empresas/imponen-multa-de-3185-millones-a-cueros-velez-por-tenir-rio-2103539>. [Acceso: 20, Jan, 2021]

### **1.6. Tratamientos de aguas residuales**

Para Colombia el tratamiento de aguas representa uno de los problemas ambientales más críticos puesto que la descarga de todo tipo de agua residual contamina los ríos, aguas subterráneas, humedales y todo tipo de cuerpo acuático afectando la salud humana y el equilibrio del medio ambiente[37]. Por esta razón, es importante conocer que son una “serie de procesos físicos, químicos y biológicos que buscan eliminar aquellos cuerpos extraños o tóxicos produciendo un efluente limpio o reutilizable en el ambiente dependiendo de las regulaciones o normatividad estatal”[38].

### **1.6.1. Clasificación**

Los tratamientos de aguas residuales se pueden clasificar de distintas formas dependiendo de ciertas características. A continuación se mencionaran algunos de estos de forma general seguida de las ventajas y desventajas de algunos de estos a tener en cuenta.

#### **A. Por tipo de proceso[4]**

- Procesos químicos: aplicación de productos químicos para eliminar o convertir los contaminantes.
- Procesos biológicos: Realizan el tratamiento debido a la actividad biológica de los microorganismos.
- Procesos físicos[39]: remoción de material en suspensión, rejillas, trituradores, sedimentador primario, espesadores y filtración

**Tabla 4.***Ventajas y Desventajas - Tratamientos por tipo de proceso.*

<b>Proceso</b>	<b>Tipo de contaminante</b>	<b>Métodos</b>	<b>Característica</b>	<b>Ventajas y/o Desventajas</b>
<b>Físico</b>	Industriales (Orgánicos, Inorgánicos, metales)	Adsorción	Decoloración por adsorción e intercambio iónico con el colorante	A. Eficiencia solo bajo condiciones específicas de pH y temperatura
		Membranas de filtración	Clarificación, concentración y separación de contaminantes	B. Altos costos C. Resistencia a temperaturas y ataque microbianos D. Puede taponarse si no se reutiliza
		Irradiación	Rompimiento de moléculas	Altos costos
		Coagulación	Remoción de colorantes por la adición de sulfato ferroso y cloruro férrico.	A. Baja remoción de colorantes ácidos B. Altos costos

Tabla 4. Continuación

<b>Biológico</b>	Industriales y domésticos (bajas concentraciones de orgánicos y algunos inorgánicos)	Anaeróbico	Proceso realizado por bacterias en ausencia de oxígeno para transformar la materia orgánica	C. Menor cantidad de producción de lodos D. Energía requerida baja E. Proceso lento
		Aeróbico	Capacidad de microorganismos para asimilar materia orgánica y nutrientes para su propio crecimiento	A. Mayor rendimiento B. Fácil operación C. Minimiza producción de olores D. Gasto energético mayor
		Lodos activados	Desarrollo de cultivo bacteriano en forma de floculo en un deposito agitado y aireado	A. Alto grado de flexibilidad B. Tolera cargas orgánicas altas C. Altos costos de diseño y construcción

Tabla 4. Continuación

<b>Químico</b>	Industriales (orgánicos, inorgánicos, metales)	Fenton	Uso de combinación de peróxido de hidrógeno, catalizadores, presión y temperaturas específicas	A. Produce cambios estructurales de compuestos orgánicos B. Productos con baja toxicidad C. Pueden producirse floculantes no deseados
		Fotoquímicos	Degradación de colorantes por tratamiento con U.V en presencia de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	A. Oxidación del material orgánico B. Reducción de olores C. Altos costos
		Ozonización	Oxidación de fenoles, pesticidas y colorantes por acción del O <sub>3</sub>	A. Decoloración del efluente B. Generación de compuestos tóxicos
		Destrucción electroquímica	Destrucción de colorantes por tratamientos electroquímicos	A. No consume químicos B. No produce lodos C. Altos costos

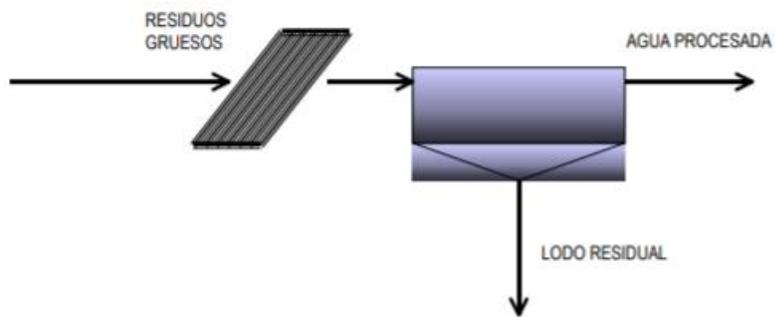
Nota: Ventajas y desventajas de diferentes métodos de tratamiento dependiendo del proceso. Tomado de: Ramos Rincón and Jaidith Marisol, "Estudio del proceso de biosorción de colorantes sobre Borra (Cuncho) de café," Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2010.

## **B. Por grado de tratamiento**

- Tratamientos preliminares: Estos tienen como finalidad eliminar del agua los materiales de tamaño grande a mediano para su posterior remoción de forma mecánica o manual en forma periódica o continua[40]. Para este proceso se puede encontrar: «el cribado, donde se emplean rejillas de barras metálicas las cuales retienen sólidos gruesos; tamices estáticos que consta de un filtro que separa los sólidos gruesos del líquido; trituradores de canal; tanques de igualación, donde se disminuye los efectos de la variación del flujo o concentración y desarenadores donde la grava, arena y demás partículas de alta densidad sedimentan fácilmente junto con la inyección de oxígeno para evitar que se presenten condiciones asépticas en el sistema»[40].
- Tratamientos primarios: procesos que reducen los sólidos en suspensión y materia orgánica del agua residual, en este es posible disminuir de un 30 a 60% la DBO inicial[40]. En la figura 9 se bosqueja el diagrama general de un tratamiento primario.
  - i. Sedimentación: proceso físico en el cual se aprovecha la diferencia de densidad del líquido y las partículas suspendidas por lo que los sólidos se precipitarán separándose del líquido una vez la velocidad del agua disminuye por aproximadamente dos horas.
  - ii. Flotación: proceso en el cual se remueven aceites y grasas además de aglutinar sólidos suspendidos.
  - iii. Coagulación: proceso en el cual los componentes de una dilución se desestabilizan por medio de coagulantes químicos.

## Figura 9.

*Diagrama de tratamiento primario.*

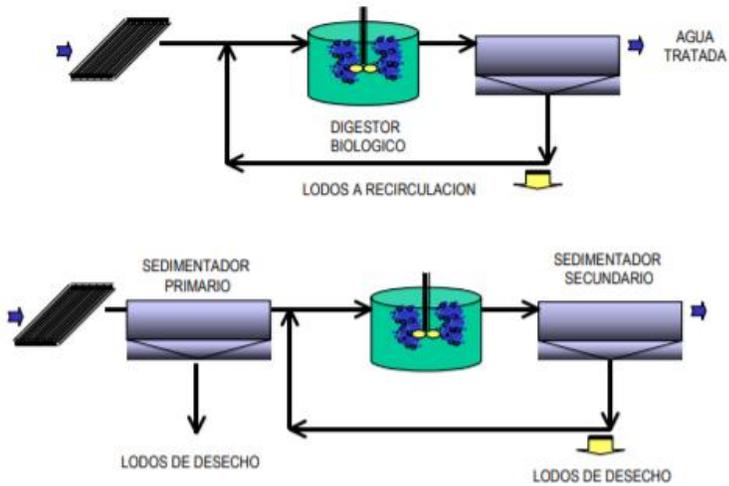


Nota: La figura representa como se compone un proceso con tratamiento primario. Tomado de EcuRed, "Adsorción." [En línea] Disponible: <https://www.ecured.cu/Adsorción> [Acceso 17, Sep, 2020].

- Tratamientos secundarios: Se ejecuta la remoción de la DBO soluble y sólidos suspendidos que no se removieron en procesos anteriores. Generalmente las reacciones que se generan son biológicas donde el material orgánico se digiere y se convierte. Entre estos encontramos sistema de biomasa en suspensión (lodos activados) y sistema de biomasa adherido. En la figura 10 se observa el diagrama de tratamiento secundario el cual puede o no ser con sedimentador primario.

**Figura 10.**

*Diagrama de tratamiento secundario con proceso biológico.*

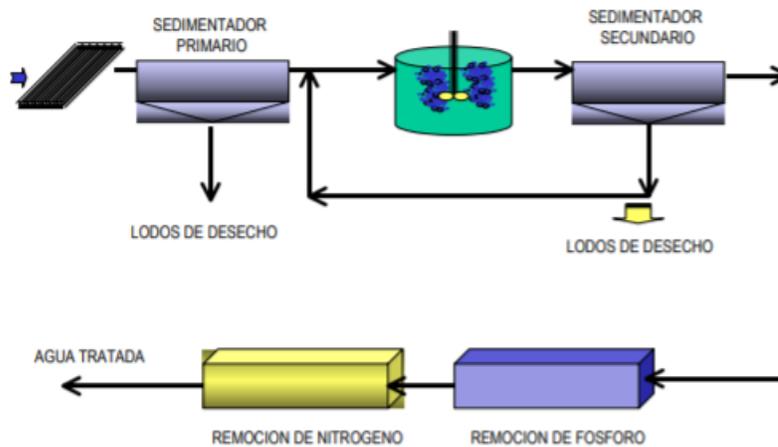


Nota: La figura representa como se compone un proceso con tratamiento secundario junto con un proceso biológico. Tomado de EcuRed, “Adsorción.” [En línea] Disponible: <https://www.ecured.cu/Adsorción> [Acceo 17,Sep, 2020].

- Tratamientos terciarios: proceso de depuración en el cual se rebajan componentes del agua residual. “Un tratamiento terciario consiste generalmente en una coagulación-floculación, una decantación y una filtración. De igual forma puede llegar a eliminar una fracción elevada de los virus y las bacterias presentes en el afluente” [41]. En la figura 11 se bosqueja el diagrama general de un tratamiento terciario.

**Figura 11**

*Diagrama de tratamiento terciario con proceso biológico.*



Nota: La figura representa como se compone un proceso con tratamiento terciario junto con un proceso biológico. Tomado de EcuRed, “Adsorción.” [En línea] Disponible: <https://www.ecured.cu/Adsorción> [Acceo 17, Sep, 2020].

### **1.6.2. Tratamientos no convencionales**

“Con el fin de elevar la calidad y cumplir con la normatividad del agua resultante de cualquier tratamiento mencionado anteriormente existen diferentes métodos clasificados como avanzados o no convencionales”[40]. Entre estos se encuentra: el uso del carbón activado debido a su capacidad adsorbente, la micro filtración, ultrafiltración y nano filtración donde se remueven solidos residuales de tamaño muy fino que causan turbidez del agua. La osmosis inversa donde se remueven partículas, iones y moléculas que contaminan el agua, precipitación con cal, resinas catiónicas y aniónicas, entre otras.

“En el caso de tratamientos no convencionales químicos se han implementado a través del tiempo la oxidación térmica con tratamientos como la incineración, oxidación húmeda, oxidación húmeda catalítica y oxidación húmeda supercrítica. Procesos de oxidación avanzada con tratamientos electroquímicos, ozonación y ultrasonido”[23]. Igualmente tratamientos por medio de arcillas naturales para depurar las aguas residuales mediante la adsorción de los diferentes contaminantes.

## 1.7. Adsorción

En 1881, Káiser introdujo el término de adsorción para diferenciar entre la condensación de gases sobre superficies libres, de la absorción gaseosa, donde las moléculas de gas penetran al sólido. “Según la IUPAC adsorción, es el enriquecimiento en uno o más componentes, de la región entre dos fases conocida como interfase. Este proceso puede tener lugar en la interfase de gas-sólido o líquido-sólido” [42].

“En este proceso se extrae materia de una fase (gas o líquido), la cual se le denominara adsorbato, y se concentra sobre otra superficie, generalmente sólida conocida como el adsorbente” [43]. “Este fenómeno se debe al resultado de la presencia de fuerzas moleculares en la superficie de los sólidos observando una mayor concentración del gas o del líquido (adsorbato) en la superficie del sólido (adsorbente) que en el seno de la fase gaseosa o líquida que contenía el adsorbato” [42].

### 1.7.1. Tipos de Adsorción

- A. Eléctrica: “llamado igualmente como intercambio iónico o adsorción por intercambio debido a que, los iones del adsorbato se concentran en la superficie del adsorbente debido a la atracción electrostática en los lugares cargados de la superficie” [43].
- B. Física: “Se produce por una interacción de fuerzas de Van Der Waals entre el adsorbato y el sustrato. Las moléculas adsorbidas están ligadas débilmente a la superficie y los calores de adsorción son bajos, apenas unas cuantas kilocalorías, comparables al calor de vaporización del adsorbato” [43].
- C. Química: «Se da cuando las moléculas adsorbidas reaccionan químicamente con la superficie, en este caso se forman y se rompen enlaces, el calor de adsorción tiene intervalos de valores análogos a los de una reacción química hasta unas 100 Kcal. [44]La adsorción química no va más allá de una mono capa en la superficie, por lo tanto la isoterma de Langmuir predice el calor de adsorción» [45].

## 1.8. Arcillas

“Se puede definir como un material natural compuesto por partículas de grano fino, menores a 2  $\mu\text{m}$ , con propiedades plásticas, que contienen agua en su estructura y poseen la propiedades de endurecer al ser secadas y/o calcinadas” [46]. Estas se encuentran constituidas por minerales arcillosos acompañadas de impurezas como cuarzo, feldespato, yeso, entre otros.

«Todos los filosilicatos pueden considerarse arcillas por lo que sus propiedades vienen dadas gracias a sus características estructurales. Los grupos tetraédricos se unen compartiendo tres oxígenos con sus vecinos para formar capas de extensión infinita con fórmula  $(\text{Si}_2\text{O}_5)^{2-}$ , estos se pueden distribuir formando hexágonos y puede estar sustituido en parte el silicio por aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ) o por hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Igualmente estas capas tetraédricas se pueden unir a capas octaédricas por medio de los oxígenos de las primeras junto con grupos  $\text{OH}^-$  de las capas octaédricas, las cuales pueden contener hierro ( $\text{Fe}^{2+}$  o  $\text{Fe}^{3+}$ ) o litio, cromo, níquel, cobre o zinc» [47].

### **1.8.1. Propiedades fisicoquímicas**

Propiedades físico químicas como su “i) extremadamente pequeño tamaño de partícula, ii) su morfología laminar y iii) las sustituciones isomorfas, que dan lugar a la aparición de carga en las láminas y a la presencia de cationes débilmente ligados en el espacio interlaminares influyen en gran medida en la aplicación industrial a la cual se destina la arcilla”[48]. Como consecuencia de estos factores las arcillas presentan un valor elevado del área superficial y una gran cantidad de superficie activa con enlaces no saturados[47].

A continuación se detallan algunas propiedades fisicoquímicas importantes que determinan el uso y aplicación de la arcilla.

A. Superficie específica: “Esta consiste en el área de la superficie externa más la interna, en caso de que exista, de las partículas constituyentes por unidad de masa, la cual posee una carga eléctrica (negativa o positiva)” [47]. “Entre más pequeña sea la partícula de arcilla mayor será su superficie específica, y a su vez mayor carga eléctrica, lo que se evidencia en una mayor capacidad de adsorción de agua y plasticidad” [49], lo que se convierte en una propiedad fundamental para aplicaciones industriales donde la interacción sólido-fluido es directamente dependiente de esta [50].

B. Capacidad de intercambio catiónico: “Capacidad de intercambiar los iones fijados en la superficie exterior de sus cristales (en espacios interlaminares) por otros existentes en la solución acuosa. Es decir, es la suma de todos los cationes de cambio que un mineral puede adsorber a un determinado pH” [51].

C. Permeabilidad: “Ésta de forma general, se define como la capacidad de un material para que un fluido lo atraviese dependiendo de su porosidad, densidad y presión del

fluido” [52]. Las arcillas tienen baja permeabilidad puesto que sus aperturas intergranulares son demasiado pequeñas y no permiten que el fluido atraviese rápidamente [53].

D. Tixotropía: “Perdida de resistencia y recuperación al amasar la arcilla en el tiempo. Una arcilla tixotrópica al ser amasada se convierte en líquido, pero si se deja en reposo recuperará su cohesión y comportamiento sólido. Para observar este comportamiento es necesario que el contenido de agua este próximo a su límite líquido y lejano al límite plástico”[47].

E. Plasticidad: “Capacidad de deformarse ante un esfuerzo mecánico conservando la deformación al retirar la carga. Depende directamente del contenido de agua, tamaño de partícula y morfología” [50].

F. Hidratación e Hinchamiento lineal: La hidratación se define como el proceso en el cual las arcillas absorben el agua causando la separación de las láminas [54] y “el hinchamiento es el cambio de volumen medido en una sola dirección debido a fuerzas electrostáticas que aumentan la separación de las láminas” [55].

### **1.9. Encapsulados de arcilla con Alginato de Sodio**

Debido al tamaño de los granos de arcilla ( $2\ \mu\text{m}$  aproximadamente), en la mayoría de trabajos de remoción de contaminantes, uno de los pasos más dispendiosos es la separación de los adsorbentes del medio, haciendo menos atractivo esta clase de materiales para un posible escalado. Con la necesidad de buscar estructurar estos materiales, este proyecto plantea la encapsulación de la arcilla en polvo mediante el uso de alginato de sodio, que permita su estructuración sin aminorar las propiedades adsorbentes de estos materiales pero facilitando la remoción de este.

La encapsulación permite retener gotas de un compuesto de interés en una matriz de encapsulación diseñada para proteger y permitir la liberación del compuesto en un momento dado; uno de los más utilizados en diferentes industrias es el alginato puesto que es bio compatible, no tóxico y degradable. “Se conoce como gelificación iónica la aplicación de su forma de sal más común, alginato de sodio, que al contacto con una solución de catión divalente o polivalente, forma un hidrogel instantáneo” [56].

“El alginato de sodio, es un polímero glicosídico constituido por los monosacáridos D-manurónico y L-gulurónico, el cual es extraído de las algas pardas pertenecientes a la

clase filogénica *Phaeophyceae*” [57]. “Está formado por dos monosacáridos con un grupo ácido, ácido gulurónico y ácido manurónico el cual se degrada con facilidad en presencia de oxígeno siendo su forma ácida la menos estable y la sal sódica la más estable” [58].

## 2. ESTADO ACTUAL

A continuación se mencionaran algunos estudios recientes de tratamientos para aguas residuales contaminadas en los cuales se emplearon diferentes métodos para obtener una reducción de la concentración de colorantes seguido de un análisis de datos de los estudios encontrados en diferentes bases de datos que permitan diagnosticar el estado actual de forma general y una tabla resumen que permita visualizar los parámetros necesarios base para un futuro escalado experimental del presente proyecto.

### 2.1. Antecedentes

- En el artículo “Adsorption of crystal violet on montmorillonite (or iron modified montmorillonite) followed by degradation through Fenton or photo-Fenton type reactions” de los autores L. Guzm, G. Curuthcet, R.M. Torres Sánchez, R. Candal publicada en la revista Journal Of Environmental Chemical Engineering en el año 2014 demuestra la viabilidad del proceso Fenton y Foto-Fenton para separar el Cristal Violeta disuelto en agua utilizando arcillas como Montmorillonita y Montmorillonita modificada con hierro, como adsorbentes y catalizadores heterogéneos en la reacción. Estas arcillas se caracterizaron por diferentes métodos como dispersión de energía de rayos X, difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido, y área de superficie BET, generando su composición elemental, estructural y análisis térmico. «Como resultado se obtuvo que las bentonitas empleadas eliminaron eficazmente los colorantes debido a su alta capacidad de absorción y constante de adsorción además de que resuelve el inconveniente del solido contaminado por medio de un tratamiento Fenton y Foto-Fenton. Se puede concluir que la combinación de adsorción en arcilla con una oxidación avanzada es una combinación que elimina y destruye los contaminantes orgánicos del agua como el cristal violeta»[59].

- La Tesis de Doctorado “Evaluación sobre el uso de arcillas para la adsorción de colorantes utilizados en la industria textil” de la autora Dra. Ing. Cristina Volzone de la Universidad Nacional de La Plata publicada en el año 2017 abarco un estudio del proceso de adsorción de tres colorantes aniónicos empleando como adsorbentes materiales arcillosos (bentonitas) transformadas en organofílicas para facilitar una mayor retención de colorantes. Se realizó un análisis de los colorantes mediante isothermas de adsorción utilizando espectroscopia UV- vis. «Como resultado se obtuvo que las arcillas

modificadas con un tratamiento con sal de amonio cuaternario efectivamente eran capaces de adsorber y retener el colorante contaminante de la muestra, en cuanto a los colorantes evaluados cada uno presenta bandas de absorción diferentes de acuerdo con los grupos auxocromos y cromóforos que conforman su estructura química evidenciando que el grupo cromóforo azo fue el que más se retuvo por ambas organobentonitas»[42].

- En el artículo “Alginate and hidrotalcite-like anionic clay composite systems: Synthesis, characterization and application studies” de los autores Sujata Mandal, Varsha S. Patil, S mayadevi publicado en la revista Microporous and Mesoporous Materials en el año 2012 prueban sistemas de arcilla aniónica con alginato de sodio para formar adsorbentes de compuestos orgánicos e inorgánicos para aplicaciones de tratamiento de aguas, caracterizando los compuestos sintetizados con diferentes técnicas como CRD, DRIFTS, SEM y análisis de porosidad de la superficie. «Se obtuvo un compuesto de arcilla- alginato con alta capacidad de adsorción de iones de flúor y colorante naranja II, comparada con el comportamiento individual de cada uno, esto se debe que al obtener el compuesto aumenta el espacio entre las capas de la arcilla aniónica debido a la intercalación de iones de alginato más grandes por lo que es posible utilizar estos materiales compuestos para purificación y tratamiento de efluentes subterráneos»[60].

- El artículo “Comparative study of calcium alginate, activated carbon, and their composite beads on methylene blue adsorption” de los autores A.F. Hassana,\*, A.M. Abdel-Mohsenb,d, Moustafa M.G. publicado en la revista Carbohydrate Polymers en el año 2013 habla de la elaboración de tres adsorbentes: perlas de alginato de calcio (AB), carbón activado a base de cáscaras de coco y activado con hidróxido sodio (C) y perlas compuestas de alginato de calcio / carbono activado (ACB).Se llevó a cabo diferentes experimentos de adsorción con el objetivo de determinar los efectos de mayor o menor concentración de adsorbente, niveles de pH, tiempo, temperatura y concentración inicial del colorante en estudio. “Se concluye que la cantidad de colorante adsorbida aumenta con respecto a la dosis de adsorbente suministrada debido al área superficial. El carbón activado a base de cascara de coco y activado con hidróxido de sodio muestra la mayor capacidad de adsorción debido a que es la que mayor volumen total de poros presenta”[61].

- En el artículo “Modificación química de arcillas y su aplicación en la retención de colorantes” de los autores Erika G. Tuesta, Magali Vivas, Rosario Sun y Abel Gutarra publicado en la revista Sociedad Química de Perú en el año 2005 aplican un tratamiento termo ácido a una arcilla natural para ser probada como material adsorbente de colorantes tipo azoico, «obteniendo un aumento de 66 a 90 m<sup>2</sup>/g del área superficial de la montmorillonita. Después del tratamiento al cual se sometió la arcilla con ácido clorhídrico 2N a una temperatura de 90 °C se demostró que esta arcilla activada aumenta su capacidad de adsorción en 30 veces más respecto a la natural y es capaz de adsorber casi 75 mg de colorante azul y 30 mg de colorante rojo» [104].
- En el año 2015 en el departamento de Física del “Mepco Schlenk Engineering College” en la India se realizó una degradación foto catalítica del cristal violeta utilizando capsulas de óxido de zinc. “La degradación foto catalítica representa una opción técnicamente viable puesto que la degradación ocurre por la luz solar transformando contaminantes tóxicos en componentes inofensivos donde la eficiencia viene dada por el porcentaje de radiaciones UV que se encuentran en el espectro solar total aumentando esta tasa por medio de nano partículas” [62].

Se inició la preparación de las nano-partículas de óxido de zinc por medio de una precipitación donde se disolvió acetato de zinc en agua destilada junto con polvo de oxalato de amonio sólido asegurando su completa disolución. La solución de amoniaco se añadió en forma de gota aumentando su pH a 10. Se obtuvo un precipitado blanco que se separó por filtración y se secó en el ambiente durante un día para finalizar con un secado en horno a 110°C durante 90 min. Por último se calcino el oxalato de zinc conduciendo a la formación de las capsulas de óxido de zinc.

Seguido a esto se preparó una solución de las capsulas de óxido de zinc en agua destilada, las cuales se sometieron a sonicación, donde se aplica una corriente eléctrica a un sistema mecánico que las convierte en ondas de ultrasonido de forma que se agiten las partículas de una muestra [63]. Esta solución se mezcló con una disolución de cristal violeta para iniciar con la toma de muestras por medio de un espectrómetro UV-Vis en una banda de absorción de 584 nm.

Estas cápsulas se evaluaron en una prueba de actividad antibacteriana verificando la concentración mínima de inhibición, zona de inhibición, densidad óptica y viabilidad

celular puesto que estas comúnmente no pueden soportar el estrés oxidativo causado en la superficie de las nano-partículas del óxido de zinc. Por último se realizaron estudios morfológicos mediante microscopia electrónica de barrido, identificación de fase y geometría por análisis de difracción de rayos X, análisis espectroscópico de infrarrojo con óptica de Bruker y degradación foto catalítica del CV con espectrómetro UV vis.

«Los óxidos de zinc muestran una estructura hexagonal de wurtzita siendo esta una estructura estable en la que cada  $Zn^{2+}$  esta empaquetado con cuatro  $O^{2-}$  en las esquinas de un tetraedro y una morfología esférica con tamaño de diámetro entre 100 a 200 nm. El espectro del análisis de la transformada de Fourier se registró en el pico característico de absorción dado en la literatura con ausencia a ondas mayores de  $3500\text{ cm}^{-1}$  lo que indica un alto grado de pureza de las capsulas de óxido de zinc. Los resultados del análisis de espectroscopia UV-Vis reflejan el 98% de las longitudes de onda en el rango de 400 a 800 nm con un fuerte pico en 544 nm lo que indica la existencia de una estructura isomérica del cristal violeta atribuible a un estado de equilibrio.

Los resultados de la degradación foto catalítica tomada cada diez minutos indicaron una disminución gradual del pico hasta un tiempo de 80 minutos para un nivel de absorbancia de 0,28 degradando un 87% del colorante. En cuanto a los estudios antibacterianos, sino hay cepa bacteriana la absorción será mínima y se visualizaría el medio nutritivo en los tubos de ensayo de color claro, para una cantidad de capsulas de óxido de zinc en una solución 1200 L, la absorbancia disminuye significativamente indicando la inactivación de crecimiento de las bacterias que se emplearon lo que se corrobora con el método de recuento de colonias con valores por debajo de 30 cfu/mL esto se debe a que el óxido de zinc es capaz de penetrar la envoltura de la célula e interrumpir la función de las enzimas respiratorias y mejora la descarga de los fluidos celulares que eventualmente mata a las bacterias» [62]

- Por otro lado, los minerales cuentan actualmente con una gran atención debido a su disponibilidad y propiedades, mencionadas anteriormente, que facilitan la adsorción de colorantes tóxicos en aguas residuales; entre los cuales se encuentra la montmorillonita. Esta arcilla fina posee una alta capacidad de intercambio catiónico y superficie especifica pero con una capacidad de adsorción limita, por lo que se propone

realizar una modificación para mejorar su eficacia aumentando los sitios activos en su superficie[64].

El óxido de grafeno, es un material carbonoso con varios grupos funcionales que interactúan con las moléculas de los colorantes a través de enlaces de hidrogeno e interacciones electrostáticas, lo que resulta en una remoción efectiva de diferentes tipos de contaminantes en aguas residuales.

Debido a lo mencionado anteriormente los autores “Chandni Puri y Gajjala Sumana realizaron una adsorción altamente efectiva del cristal violeta en agua contaminada utilizando nano compuesto de montmorillonita intercalada de óxido de grafeno demostrando la viabilidad de este para eliminar contaminantes de aguas residuales y contribuir a una rehabilitación del medio ambiente”[64].

El nano compuesto de montmorillonita (Mt) y oxido de grafeno (GO) se preparó por un método de solvente. Previamente el GO fue sintetizado por oxidación de polvo de grafito mezclado con nitrato de sodio, ácido sulfúrico y permanganato de potasio; esta mezcla se sometió a una hora de agitación continua a 20°C y a 35°C por 12 horas. El producto resultante se lavó con ácido clorhídrico y agua diluida, seguido de filtración y secado a vacío a una temperatura de 50°C en horno. Una vez obtenido, el GO se mezcló con la Mt en una solución de agua destilada y se sometió a sonicación por 8 horas para finalmente secar a 60°C. Una vez caracterizado el nano compuesto obtenido se demostró que tiene una alta superficie específica, mayor que la obtenida en la caracterización de la Mt y la GO por separado, y una superficie cargada negativamente, lo que sugiere su capacidad de adsorción para tintes catiónicos debido al aumento de sitios activos y volumen de los poros de las partículas gracias a la interacción entre la montmorillonita y el óxido de grafeno.

En los experimentos que se llevaron a cabo se estudió la influencia de la concentración de colorante y el tiempo de contacto para la adsorción manteniendo constante un pH de 6,2, se añadió 25 mg del nano compuesto con 100 mL de solución de colorante con concentración conocida sometiéndola a agitación continua de 130 rpm en baño de agua termostático de 313 K. Se estudió igualmente el efecto de la temperatura (3 diferentes) tomando alícuotas de 1 mL, las cuales se diluyeron y centrifugaron por 10 minutos a 8000

rpm para medir la adsorbancia. Por último la concentración del colorante fue medida espectrofotométricamente a 590 nm.

«Se observa una reducción del pico de adsorción principal (590 nm) del cristal violeta debido a la disminución de la concentración. Los resultados obtenidos muestran que las moléculas se adsorben significativamente más en la superficie del MtGO en comparación con las adsorbidas en Mt y GO por separado. Se evalúa la isoterma de adsorción puesto que esta representa el momento en el que el proceso alcanza un estado de equilibrio para revelar la interacción entre el adsorbente y adsorbato»[64], comúnmente se utiliza el modelo de Langmuir y Freundlich.

“El modelo de Freundlich es una ecuación que no asume homogeneidad en la energía de los sitios en la superficie y sin límite en la carga máxima de adsorción por lo que muestra una distribución exponencial de centros activos” [65]. Por otro lado, “la isoterma de Langmuir es un modelo teórico válido para la adsorción sobre una superficie homogénea con un número finito de sitios específicos y con una interacción despreciable entre las moléculas”[66].

«Para este caso las tres muestras se ajustaron mediante ambos modelos; los coeficientes de correlación más altos de la ecuación de Langmuir demuestran que puede ser usada para la data del experimento asumiendo la existencia de sitios activos homogéneos de los adsorbentes. La máxima capacidad de adsorción del nano compuesto MtGO (746.27 mg/g) comparada con la de GO (487,80 mg/g) y Mt (384,43 mg/g) demuestra que la primera permite una mayor retención de las moléculas del colorante Cristal Violeta debido a la presencia de un gran número de grupos funcionales en la superficie» [64].

Langmuir cuenta con una característica importante relacionada con una constante adimensional conocida como parámetro de equilibrio, dependiendo del valor obtenido se puede encontrar cuatro tipos de isotermas diferentes como se observa en la tabla número 5. Para este caso los valores obtenidos están entre 0 a 1 por lo que se ajusta a un proceso de adsorción favorable.

**Tabla 5.**

*Isotermas de Langmuir – Valor de RL.*

<b>Isoterma</b>	<b>RL</b>
Desfavorable	>1
Lineal	=1
Irreversible	=0
Favorable	0 a 1

**Nota.** Tipo de isoterma dependiendo del valor del parámetro de equilibrio RL. Tomado de R. Fabryanty *et al.*, “Removal of crystal violet dye by adsorption using bentonite – alginate composite,” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 5, no. 6, pp. 5677–5687, 2017

«Para el mecanismo cinético se tuvieron en cuenta el pseudo-primer y pseudo-segundo orden. En la tabla 6 se observan los resultados de los modelos cinéticos y se evidencia que el coeficiente de correlación  $R^2$  y los valores de  $q_e$  experimentales y calculados se ajusta mejor al modelo de pseudo segundo orden indicando que el fenómeno se genera por una quimisorción atribuible a los grupos localizados en el nano compuesto de MtGO debido al GO y a las láminas tetraédricas y octaédricas presentes en el Mt. » [64]

**Tabla 6.**

*Parámetros cinéticos del modelo de pseudo primer y pseudo segundo orden para la adsorción de Cristal Violeta por nano compuestos de MtGO,*

Kinetic model	Parameters				$q_{exp}$ (mg g <sup>-1</sup> )
	$K_1$ (min <sup>-1</sup> )	$K_2$ (g mg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$R^2$	
Pseudo-first-order	0.1749	-	1.991	0.8647	16.13
Pseudo-second-order	-	0.1811	16.289	0.9994	16.13

Nota: Resultados de los parametros cineticos para los dos modelos cineticos. Tomado de C. Puri and G. Sumana, "Highly effective adsorption of crystal violet dye from contaminated water using graphene oxide intercalated montmorillonite nanocomposite," *Appl. Clay Sci.*, vol. 166, no. April, pp. 102–112, 2018.

«En cuanto el efecto de la temperatura se concluyó que el proceso es endotérmico por lo cual a mayor temperatura mayor cantidad de colorante adsorbido debido a una mayor movilidad, mayor penetración de las moléculas de colorante en los poros del nano compuesto y a la generación de nuevos sitios de adsorción además que al aumentar la temperatura se eliminan las moléculas de agua que ocupan los sitios activos de la Mt dando espacio a la adsorción de moléculas del colorante.

El aumento en los valores del cambio de Gibbs indica una adsorción espontánea y favorable, el valor positivo del delta de entalpia describe la naturaleza endotérmica del proceso y el valor positivo del cambio de entropía sugiere la afinidad del nano compuesto para el cristal violeta.

Se evidencia igualmente que a una mayor concentración inicial del colorante se superará la resistencia a la transferencia de masa entre la fase acuosa y sólida. En cuanto al tiempo de reacción se concluye que en los primeros 30 minutos de reacción se satura por completo el nano compuesto y el 85% de adsorción se genera en los primeros 5 minutos debido a la alta disponibilidad de poros en la fase inicial del proceso.

En cuanto a la reutilización del nano compuesto MtGO se logró una desorción usando una solución de etanol, regenerada y luego usada para las siguientes corridas donde después de cinco ciclos de reutilización disminuyo en 4.5% la eficiencia de la eliminación

del colorante debido a que la estructura de algunas partículas se destruyeron ligeramente además que la desorción no fue del 100% por lo que algunas moléculas del colorante permanecían aún en los espacios entre las capas» [64].

- En el año 2017 en Indonesia se realizó un estudio para la eliminación del cristal violeta por adsorción con compuesto de bentonita en alginato donde se sintetizó el adsorbente por medio de un método de irradiación por microondas calentando las moléculas de los materiales aumentando su energía generando que las moléculas de la bentonita se incorporen al alginato[67].

El trabajo inicia reduciendo la humedad aproximadamente al 10% de la bentonita y pulverizándola hasta un tamaño de partícula fino. Esta se le realiza un pre tratamiento de activación de ácido clorhídrico bajo una agitación constante de 200 rpm a 60 °C durante dos horas. Posteriormente, la bentonita activada se filtró, enjuago con agua des ionizada y se secó a 105 °C y se mantuvo en un desecador.

«Como resultado de la caracterización del compuesto se obtuvo que la unión entre el alginato y la montmorillonita se dio a través de la interacción electrostática entre la carga positiva de la montmorillonita con el grupo carboxilo del alginato de sodio. Se evidencia que el pH es un factor que afecta fuertemente el proceso de adsorción donde se logró una máxima captación del colorante a un pH de 4.1 únicamente para la bentonita, 8.9 para el alginato de sodio y 8 para el compuesto de arcilla con alginato de sodio. La razón principal es que el adsorbente tenderá a desprotonarse proporcionando una carga negativa a la superficie del adsorbente por lo que adsorberá mayor cantidad de compuesto por ser un colorante catiónico.

Se evalúa el mecanismo de proceso de adsorción basado en la tasa de control de pasos que consolidan la reacción química, en la tabla VII se observan los resultados para el pseudo primer orden y pseudo segundo orden donde el adsorbente 2B:5A se refiere a una tasa de 2 veces la masa de bentonita (B) por 5 veces la tasa de alginato de sodio (A), el 3B:5A se refiere a 3 veces la masa de bentonita (B) igualmente por 5 veces la tasa de alginato de sodio y por último, el 4B:5A se refiere a 5 veces la masa de bentonita (B) igualmente por 5 veces la tasa de alginato de sodio. » [67]

**Tabla 7.**

*Parámetros cinéticos de adsorción de cristal violeta en solución con nano compuestos de alginato de bentonita.*

Adsorbents	Pseudo First Order			Pseudo Second Order		
	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	$q_e$ (mg/g)	R <sup>2</sup>	$k_2$ (g/mg min <sup>-1</sup> )	$q_e$ (mg/g)	R <sup>2</sup>
Bentonite (B)	0.0161	82.7693	0.8257	0.004	83.6173	0.9209
Alginate (A)	0.0474	64.6494	0.9784	0.0010	71.6565	0.9819
2B:5A	0.0203	135.9726	0.9835	0.002	153.3419	0.9916
3B:5A	0.0202	138.8209	0.9606	0.002	156.2010	0.9883
4B:5A	0.0217	147.6167	0.9875	0.002	169.2418	0.9901

**Nota.** Resultado de los parametros cineticos de adsorción de pseudo primer orden y pseudo segundo orden para 400 mg/L de concentración inicial de cristal violeta en solución con nano compuestos de alginato de bentonita R. Fabryanty *et al.*, “Removal of crystal violet dye by adsorption using bentonite – alginate composite,” *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 5, no. 6, pp. 5677–5687, 2017.

«En cuanto a la constante K se observa que el alginato de sodio posee el mayor valor para ambos casos lo cual demuestra que este tiene menor tamaño de partículas por lo que la condición de equilibrio se alcanza más rápido pero en contraste el valor que se observa para  $q_e$  demuestra que es el compuesto que menor cantidad de cristal violeta adsorbe siendo el compuesto 4B:5A el que representa el mayor porcentaje de remoción. El pseudo segundo orden es el modelo que mejor correlaciona los datos cinéticos con un valor de 0.9883.

Se concluye que la temperatura tiene una influencia positiva en la cantidad adsorbida de colorante, al aumentar está aumenta la capacidad de adsorción de los adsorbentes fijando una mayor cantidad de moléculas de cristal violeta a la superficie por lo que la quimisorción fue dominante. Se obtuvo un valor negativo para el delta de Gibbs por lo que el proceso es favorable a temperaturas más altas, un valor positivo para el cambio de entalpia y entropía por lo que es una reacción endotérmica irreversible lo que se puede concluir como una improbable regeneración del adsorbente. » [67]

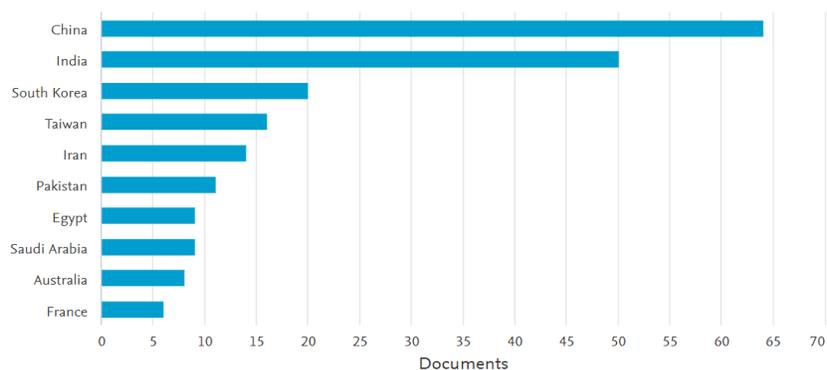
## 2.2. Análisis de datos

Al realizar una búsqueda bibliográfica en diferentes bases de datos como lo son Scopus, Science Direct, Knovel, SciELO, entre otras, fue posible sintetizar y analizar la información encontrada empleando palabras como: “Adsorption, Degradation, Violet Crystal, Calcium Alginate, Clay minerals, dyes, Gram staining” que permitiera diagnosticar el estado actual a nivel mundial frente a los diferentes estudios que tratan la adsorción de colorantes asociados con la tinción de Gram.

Se generó una investigación acerca de los estudios actuales respecto a la “degradación de cristal violeta” y con ayuda de la herramienta de “Analyze search results” de Scopus se encuentran un total de 201 documentos, donde aproximadamente más del 90% de estudios se realizaron desde el año 2009 al 2020 donde el mayor pico se registró en el año 2020 como se observa en la figura 12 , igualmente se puede visualizar en la figura 13 los países a los cuales pertenecen el mayor porcentaje de estudios; estos se registran en 3 continentes diferentes y aproximadamente el 90% de estos se generaron en Asia y únicamente el 5% se generaron en América donde el 1.49% pertenecen a Colombia.

**Figura 12.**

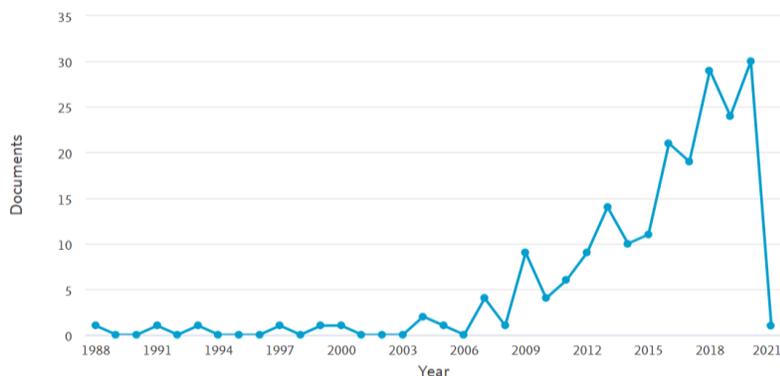
*Documentos por año “Degradación cristal violeta”*



**Nota.** La figura representa los documentos por país en la búsqueda bibliográfica acerca de la degradación de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘Degradation + Crystal Violet’” 2020. [En línea] Disponible:<https://www-scopus-com>. [Acceso 24 Nov, 2020].

**Figura 13.**

*Documentos por país “Degradación cristal violeta”*

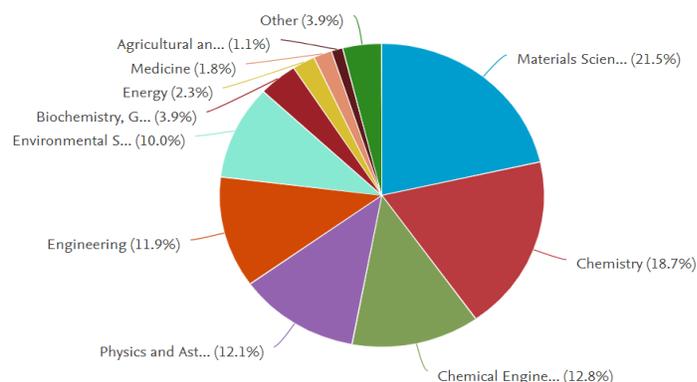


**Nota.** La figura representa los documentos por año en la búsqueda bibliográfica acerca de la degradación de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘Degradation + Crystal Violet’” 2020. [En línea] Disponible:<https://www-scopus-com>. [Acceso 24 Nov, 2020].

Por último, de estos 201 documentos el 43.4% se aplican en el área de interés de la química o ingeniería y específicamente el 12.8% en la ingeniería química lo cual se puede visualizar en la figura 14. De las tres investigaciones que se realizaron en Colombia dos de estas le competen al área de ingeniería química. La Universidad de Antioquia estudio los efectos de los parámetros sonoquímicos y de los iones inorgánicos durante la degradación sonoquímica del cristal violeta en agua y la Pontificia Universidad Javeriana estudio la degradación del cristal violeta por oxidación catalítica de peróxido con óxidos mixtos de Mn/Cu.

**Figura 14.**

*Documentos por área de interés “Degradación cristal violeta”*



**Nota.** La figura representa los documentos por área de interés acerca de la degradación de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘Degradation + Crystal Violet’” 2020. [En línea] Disponible:<https://www-scopus-com>. [Acceso 24 Nov, 2020].

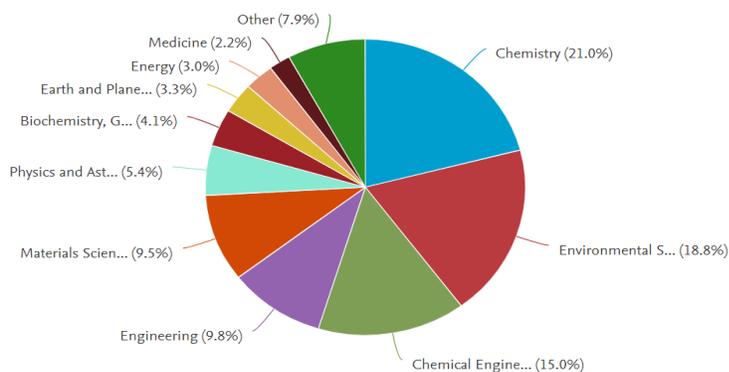
Al modificar la búsqueda bibliográfica específicamente por “Adsorción de cristal violeta” se encuentran en la base de datos 181 documentos, con base en la figura 15 se determina que el 89.5% de estudios sobre el tema fueron desde el año 2006 donde el mayor pico se presenta en el año 2020 y el 36% pertenecen al campo de la química e ingeniería química (figura 16).

**Figura 15.**  
*Documentos por año “Adsorción Cristal Violeta”*



**Nota.** La figura representa los documentos por año en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Adsorption + Crystal Violet,” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

**Figura 16.**  
*Documentos por área “Adsorción Cristal Violeta”*



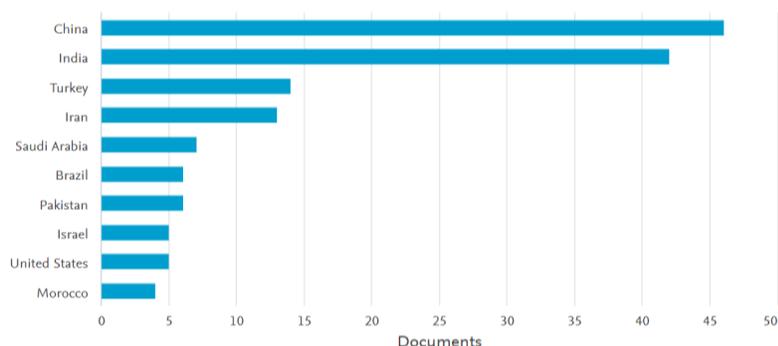
**Nota.** La figura representa los documentos por área en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Adsorption + Crystal Violet,” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

En cuanto a los países de mayor producción se puede notar en la figura 17 que entre los primeros diez se encuentran 7 pertenecientes a Asia, dos de América y uno de África.

El 8.3% del total corresponden a América y el 0.55% a Colombia. La universidad de Antioquia estudio la cinética, isothermas y modelado termodinámico de la adsorción en fase líquida del colorante violeta cristalino en los desechos de camarones en su material crudo, pirolizado y carbones activados en el año 2019.

**Figura 17.**

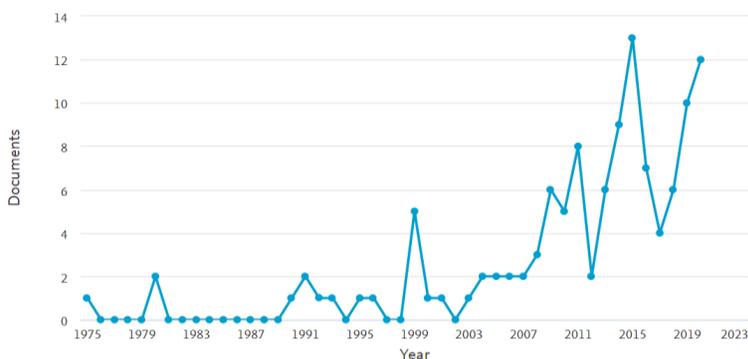
Documentos por país “Adsorción Cristal Violeta”



**Nota.** La figura representa los documentos por país en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Adsorption + Crystal Violet,” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

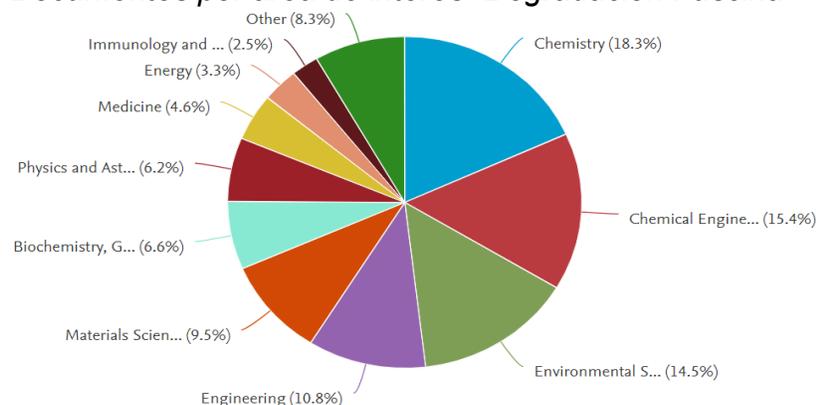
Por otro lado al realizar la búsqueda para “Degradación de fuscina” se generaron 117 documentos, entre los años 2004 a 2020 se observa una tendencia de crecimiento y especial interés (Figura 18), aproximadamente el 85% del total se generaron en estos años. El 33.7% tocan temas que competen a la química e ingeniería química (Figura 19) y el 9.4% se realizaron en América pero ninguno de estos en Colombia (Figura 20).

**Figura 18**  
*Documentos por año “Degradación Fuscina”*



**Nota.** La figura representa los documentos por fecha en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Degradation + Fuchsin ’” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

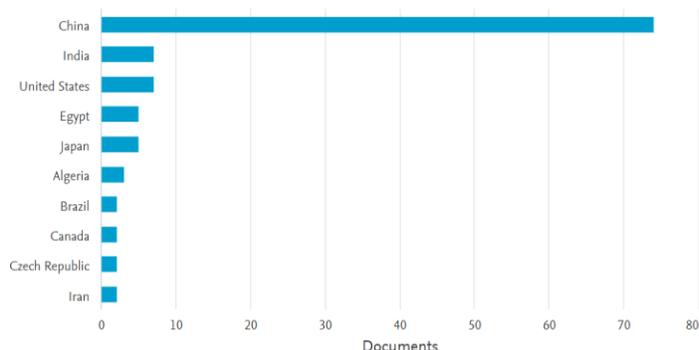
**Figura 19.**  
*Documentos por área de interés “Degradación Fuscina”*



**Nota.** La figura representa los documentos por área de interés en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Degradation + Fuchsin ’” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

**Figura 20.**

*Documentos por país “Degradación Fuscina”*

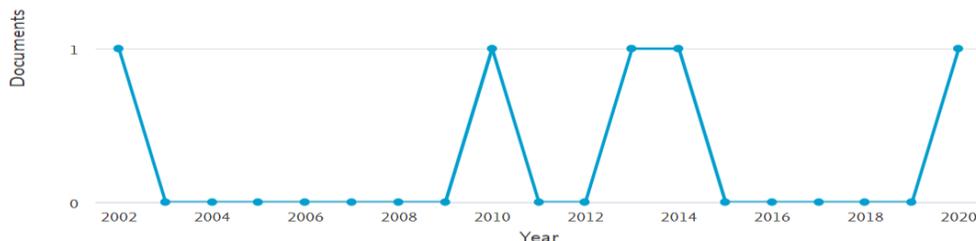


**Nota.** La figura representa los documentos por país en la búsqueda bibliográfica acerca de la degradación de Fuscina. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Degradation + Fuchsin ’” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

Para estudios actuales de la “Adsorción de fuscina”, otro colorante en estudio asociado a la contaminación de aguas residuales por emplear la técnica de tinción diferencial de Gram, se encuentran 5 documentos generados en el año 2002, 2010, 2013, 2014 y 2020 (Figura 21) y tres de estos trataban temas que competen a la ingeniería química en países como China, España e Irán (Figura 22 y 23). Ninguno de estos se realizó en algún país de América ni ha sido estudiado en Colombia.

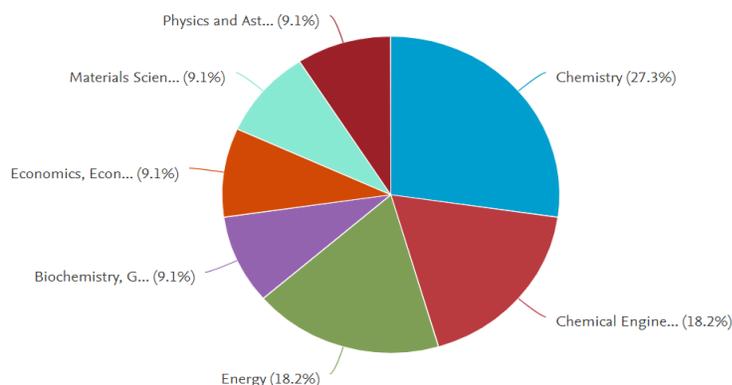
**Figura 21.**

*Documentos por año “Adsorción de Fuscina”*



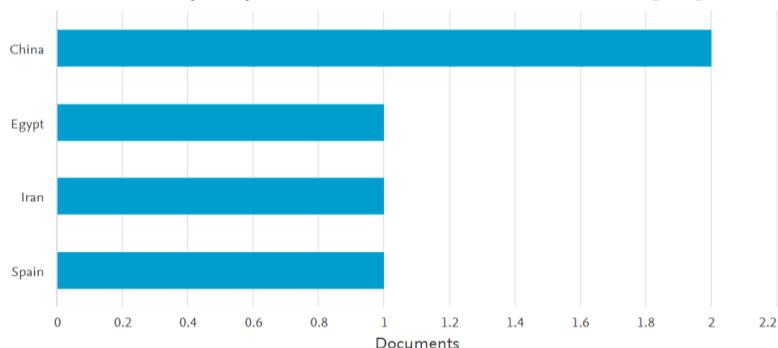
**Nota.** La figura representa los documentos por fecha en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Fuscina. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘Adsorption of Fuchsin,’” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

**Figura 22.**  
*Documentos por área de interés “Adsorción de Fuscina”*



**Nota.** La figura representa los documentos por área de interés en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Fuscina. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘Adsorption of Fuchsin,’” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [ Acceso 24, Nov, 2020].

**Figura 23.**  
*Documentos por país “Adsorción de Fuscina” [69]*



**Nota.** La figura representa los documentos por país en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Fuscina. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘Adsorption of Fuchsin,’” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [ Acceso 24, Nov, 2020].

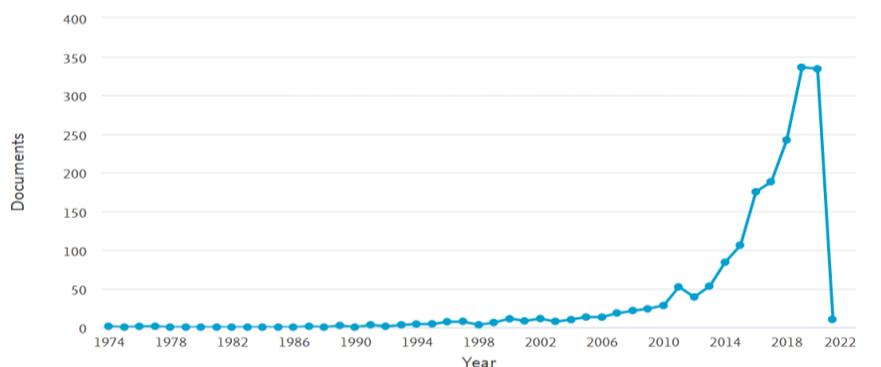
Para estudios que involucraran “Adsorción con alginato de sodio”, es decir, donde se realizara la remoción de algún contaminante con esferas de alginato de sodio se

encontraron únicamente dos artículos en el año 2016 y 2017 en China y sin ninguna relación en el área de ingeniería química [70].

La montmorillonita, es una arcilla perteneciente al grupo de esmectitas, ampliamente empleada para el tratamiento de aguas residuales puesto que tiene un área superficial bastante elevada que le permite realizar una alta depuración.

Para estudios que involucren una adsorción empleando montmorillonita se encuentran aproximadamente 31.695 documentos donde el 87% corresponde desde el año 2003 al 2020 y el 0.29% a estudios realizados en Colombia [71]. Del total mencionado anteriormente 13.571 abarcan colorantes y aproximadamente el 13% de estos estudian la degradación de cristal violeta con una tendencia creciente marcada desde el año 2013 como se puede observar en la figura 24 del cual 12.69% se generaron en América y únicamente el 0.43% se han realizado en Colombia. En cuanto a la adsorción de fuscina por medio de montmorillonita el 1,14% de los 31.695 documentos abarcan el tema con especial interés entre los años 2013 al 2020 como se observa en la figura 25 y ninguno de estos se generó en Colombia. Por último entre los años 2009 a 2020 el 0.13% estudian ambos colorantes (Figura 26).

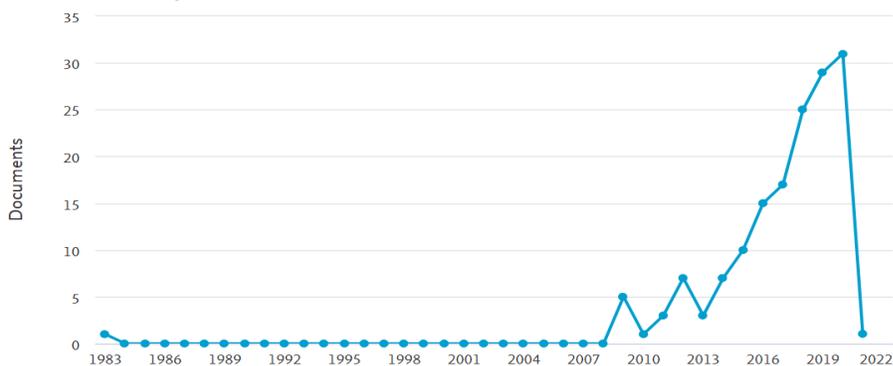
**Figura 24.**  
*Documentos por año “Adsorción Cristal Violeta con Montmorillonita”.*



**Nota.** La figura representa los documentos por año en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Cristal Violeta. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Adsorption + Montmorillonite + Crystal Violet,’” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

**Figura 25.**

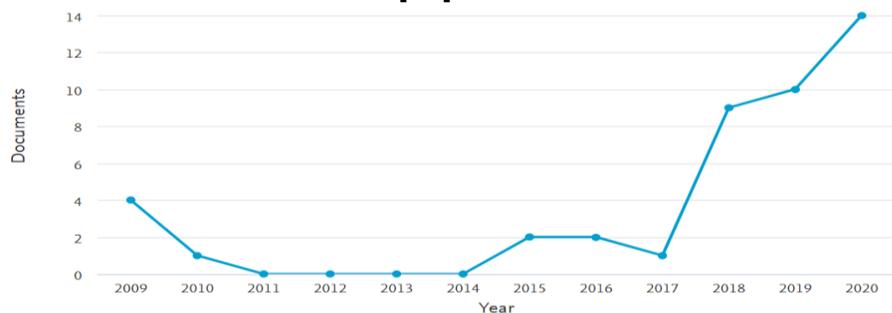
*Documentos por año “Adsorción Fuscina con Montmorillonita”*



**Nota.** La figura representa los documentos por año en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Fuscina con Montmorillonita. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Adsorption + Montmorillonite + Fuschin, ” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>. [Acceso 24, Nov, 2020].

**Figura 26.**

*Documentos por año “Adsorción Fuscina y Cristal Violeta con Montmorillonita” [72]*



**Nota.** La figura representa los documentos por año en la búsqueda bibliográfica acerca de la adsorción de Fuscina y Cristal Violeta con Montmorillonita. Tomado de Scopus, “Analyze search results ‘ Adsorption + Montmorillonite + Dyes + Fuchsin + Crystal Violet, ” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com>.. [Acceso 24, Nov, 2020].

Al realizar una búsqueda bibliográfica más específica respecto a la adsorción de cristal violeta empleando alginato de sodio para encapsular la arcilla se encuentran 35 documentos entre los años 2014 al 2020 y uno de estos se generó en América (Estados

Unidos) y 2 documentos para adsorción de fuscina en el 2014 y 2018 en los países de China e Irán.

**Tabla 8.**

*Resumen análisis de datos.*

<b>Palabra Clave</b>		<b>Años</b>	<b>América</b>	<b>Colombia</b>	<b>Instituto</b>
<i>Degradación C.V</i>		<i>2009-2020</i>	<i>5%</i>	<i>2%</i>	<i>D. Pontificia Universidad Javeriana E. Universidad de Antioquia</i>
<i>Adsorción C.V</i>		<i>2006-2020</i>	<i>8.3%</i>	<i>0.55%</i>	<i>- Universidad de Antioquia</i>
<i>Degradación F</i>		<i>2004-2020</i>	<i>9.4%</i>	<i>0%</i>	<i>N/A</i>
<i>Adsorción F</i>		<i>2002-2020</i>	<i>0%</i>	<i>0%</i>	<i>N/A</i>
<i>Adsorción con montmorillonita</i>	<i>C.V</i>	<i>2013-2020</i>	<i>12.69%</i>	<i>0.43%</i>	<i>- Universidad de la Costa - Pontificia Universidad Javeriana - Universidad Nacional de Colombia - Universidad de los Andes</i>
	<i>F</i>	<i>2013-2020</i>	<i>9.67%</i>	<i>0%</i>	<i>N/A</i>
	<i>C.V Y F</i>	<i>2015-2020</i>	<i>13.95%</i>	<i>0%</i>	<i>N/A</i>
<i>Adsorción con alginate de sodio</i>	<i>C.V</i>	<i>2011-2020</i>	<i>2.85%</i>	<i>0%</i>	<i>N/A</i>
	<i>F</i>	<i>2014-2018</i>	<i>0%</i>	<i>0%</i>	<i>N/A</i>

**Nota.** Resumen de búsqueda bibliográfica por palabras clave.

Para concluir toda la data expuesta anteriormente en la tabla 8 se puede diagnosticar que los estudios para degradar colorantes asociados a la tinción de Gram aumentaron su interés en los últimos años, desde aproximadamente del 2002 a la actualidad. Esto se puede atribuir debido a que para esta época las nuevas generaciones, millenials y centennials, nacidas entre los años 1985 a la actualidad iniciaron un boom acerca del

cuidado del medio ambiente y de cómo el calentamiento global está afectando en gran medida al mundo.

En estudios recientes la encuesta “ Global Shapers Survey” arrojó como resultado que aproximadamente el 48.8% de jóvenes determinan que el asunto más grave a nivel mundial en la actualidad es la destrucción del medio ambiente y el cambio climático por lo que son generaciones que desean un futuro más sostenible[73]. “Según un estudio que realizó el portal “La Nación” a través de Trendsity, una consultora local de investigación, se encuestó a jóvenes entre 14 a 30 años donde el 53% considera que es la primera generación en ser catalogada como la primera generación con verdadera conciencia ambiental” [74].

En cuanto a la ubicación de los estudios, experimentos y artículos se puede determinar que la mayoría de estos, en general el 70%, se realizaron en países de Asia y Europa. Para el tema de interés y palabras claves determinadas se encontró el mayor porcentaje en América para la adsorción con montmorillonita.

En cuanto a Colombia se determina que el porcentaje de interés en el estudio es menor al 0.33% con universidades como la Universidad Nacional, la Pontificia Universidad Javeriana, Universidad de Antioquia , Universidad de los Andes y Universidad de la Costa.

«Latinoamérica es catalogada como una de las regiones más biodiversas del mundo y es dueña nada menos que de un tercio de las fuentes de agua del mundo pero el 70% de las aguas residuales de esta región no son tratadas y se devuelven a los ríos completamente contaminadas, tal es el caso del río Bogotá que recibe las aguas sucias de casi 7 millones de ciudadanos y no cuenta con la capacidad de asimilar tanta contaminación y depurarla de forma natural»[75]. Los esfuerzos de países de esta región en general son vagos y escasos por lo que no representan un gran porcentaje para obtener una solución definitiva.

Se puede determinar que el tema propuesto con un correcto desarrollo significaría un avance en la investigación a nivel de Colombia puesto que este representa una minoría en cuanto a interés sobre el tema a nivel mundial y puede llegar a incorporar un gran paso para un correcto uso de las fuentes hídricas.

### **3. MARCO LEGAL CONTAMINACIÓN DE AGUAS RESIDUALES**

En Colombia actualmente se encuentra en desarrollo un plan para la gestión integral del Recurso Hídrico, donde a través de políticas públicas se genere un proceso que promueva el desarrollo económico y social sin comprometer la sostenibilidad de los ecosistemas. « Las acciones necesarias que se implementan según el ministerio de ambiente son: realizar la formulación de la política hídrica nacional , generar reglamentación y regulación sobre la conservación, preservación, uso y manejo del recurso, formular planes y programas donde se garantice la disponibilidad del recurso junto con un ahorro y uso eficiente de este previniendo la contaminación de todas las fuentes de agua, entre otras»[76].

A continuación se nombraran las principales normas vigentes en orden cronológico relevantes para el uso, protección, conservación y manejo del recurso hídrico en Colombia que pueden llegar a ser de interés para un desarrollo previo experimental puesto que algunas de estas podrán generar límites permisibles en cuanto al agua resultante.

#### **3.1. Ley 23 de 1973**

«El objeto de esta ley es conceder facultades al Presidente de la República para expedir el código de Recursos Naturales y Protección del Medio Ambiente puesto que estos son un patrimonio común donde su mejoramiento y conservación le compete al estado y particulares. El gobierno podrá crear incentivos económicos para fomentar lo anteriormente mencionado y adoptará medidas para coordinar las acciones de las entidades gubernamentales para fijar los niveles mínimos de contaminación y aprovechamiento permisibles para cada uno de los bienes que conforman el medio ambiente además de generar la investigación y multas correspondientes a aquellos procesos industriales, comerciales o de cualquier índole donde técnicamente se establezca que sobrepasaron los niveles mínimos de contaminación o aprovechamiento de los recursos de aire, agua y/o suelo» [77].

#### **3.2. Decreto 2811 de 1974**

«A través de este se genera el código Nacional de Recursos Naturales Renovables y de protección al medio ambiente donde se especifican disposiciones generales acerca de las aguas no marítimas, estas son de dominio público, inalienable e imprescriptible y

la nación se reserva la propiedad y aprovechamiento de aguas minerales y termales. En cuanto a la explotación y ocupación de cauces playas y lechos se generarán permisos para el uso de estas mediante autorización de entidades reglamentadas que garanticen el uso correcto de estas. Igualmente se reglamenta todo aquello que tiene que ver con las servidumbres de acueducto, desagüe y recibir aguas, presa y estribo, tránsito para transportar agua y abreviar ganado y riberas » [78]. Por último se especifica la normatividad acerca del uso, conservación y preservación de las aguas prestando especial atención al control de la contaminación y los usos especiales de estas.

### **3.3. Decreto 1541 de 1978**

«Mediante el presente decreto se dictan disposiciones para cumplir los objetivos establecidos por el artículo 2 del decreto 2811 de 1974 y la ley 23 de 1973, se reglamentan las normas relacionadas con el recurso hídrico en todos sus estados como el dominio y ocupación de los cauces y riberas, restricciones y limitaciones para asegurar el correcto aprovechamiento de las aguas por todos los usuarios, condiciones para la construcción de obras hidráulicas, cargas pecuniarias en razón del uso del recurso y las sanciones y causales de caducidad que haya lugar por la infracción de las normas o incumplimiento de obligaciones» [79].

### **3.4. Decreto 1875 de 1979**

«El 2 de Agosto de 1979 se dictan las normas para prevenir la contaminación del medio marino donde se especifica que por ninguna razón se autoriza el vertimiento al mar de: Mercurio o compuestos de Mercurio, Cadmio o compuestos de Cadmio, Compuestos químicos halogenados, materiales en cualquier estado o seres vivos producidos para la guerra química y/o biológica y cualquier otra sustancia o forma de energía que la Dirección General Marítima y Portuaria estipule con un alto poder contaminante. Se especifica que cualquier nave, artefacto o construcción deberá contar con una póliza de responsabilidad civil, donde el valor dependerá de la actividad específica que realiza además de otros requisitos específicos para la actividad desarrollada»[80].

### **3.5. Decreto 1594 de 1984**

«El decreto 1594 reglamente parcialmente el uso del agua y residuos líquidos donde se generan criterios de calidad, en el capítulo IV, como guía para tomar decisiones sobre

el ordenamiento y asignación de usos al recurso además de generar un listado de especial interés sanitario como sustancias de carácter patógeno para los cuales se deberán realizar periódicamente pruebas de DBO, DQO, SS, pH, T, OD, entre otros. En el capítulo VI se estipula las normas para el vertimiento de los residuos líquidos, los casos en que se permite y las normas que deberán cumplir en parámetros como pH, temperatura, material flotante, grasas y aceites, sólidos suspendidos, entre otros» [81].

### **3.6. Ley 99 de 1993**

«Mediante la presente Ley se creó el Ministerio del Medio Ambiente donde se reordena el sector público encargado de la gestión y conservación del medio ambiente y los recursos naturales renovables y se organiza el sistema nacional ambiental [82]. En el primer título la norma estipula los principios que debe seguir la política ambiental donde se especifica que el desarrollo económico y social del país se regirá a partir de la declaración de Río de Janeiro de 1992 donde el consumo humano será la prioridad sobre cualquier otro uso.

El Ministerio del Medio Ambiente es el organismo rector de la gestión del medio ambiente y de los recursos renovables; el cual define, crear y formular la política nacional ambiental y de recursos naturales renovables para que se garantice el derecho de todas las personas de gozar de un medioambiente sano» [83]. Los títulos restantes tratan temas como la estructura del ministerio del medio ambiente, el consejo nacional ambiental, apoyo científico y las corporaciones autónomas regionales.

### **3.7. Ley 161 de 1994**

«El 3 de agosto de 1994 se creó la Ley 161 la cual organiza la corporación autónoma regional del Río Grande de la Magdalena cuya sigla es Cormagdalena. Se especifica que esta actuará como una empresa industrial y comercial del estado sometida a las reglas de las sociedades anónimas con el objeto de recuperar la navegación y la actividad portuaria, la adecuación y conservación de las tierras y el aprovechamiento sostenible del medio ambiente»[84].

### **3.8. Ley 373 de 1997**

«El 3 de agosto de 1994 se creó la Ley 161 la cual organiza la corporación autónoma regional del Río Grande de la Magdalena cuya sigla es Cormagdalena. Se especifica que esta actuará como una empresa industrial y comercial del estado sometida a las reglas

de las sociedades anónimas con el objeto de recuperar la navegación y la actividad portuaria, la adecuación y conservación de las tierras y el aprovechamiento sostenible del medio ambiente» [84].

### **3.9. Decreto 3930 de 2010**

«En el presente decreto se reglamenta parcialmente el título I de la ley 9 de 1979 y el capítulo II del decreto 2811 de 1974 en cuanto a los usos del agua y residuos líquidos. En el capítulo V se dictan los criterios de calidad para destinación del recurso y en el VI acerca de los vertimientos donde se prohíbe específicamente en cuerpos de agua costeras, acuíferos, cabeceras de las fuentes de agua, entre otros» [85].

### **3.10. Ley 1625 de 2013**

«Tiene como objeto dictar las normas para dotar a las áreas metropolitanas de un régimen político, administrativo y fiscal exceptuando el caso de Bogotá y de sus municipios conurbados [86], estas de forma general permiten realizar programas de planeación conjunta entre los municipios, y así permitir un crecimiento ordenado y proporcional a las fortalezas de cada población por lo que entre sus funciones se encuentra realizar la gestión del recurso hídrico creando consciencia sobre el uso eficiente del agua e impulsar las buenas prácticas en ambos extremos de la cadena de producción» [87].

### **3.11. Resolución 1207 de 2014**

“Establece las disposiciones relacionadas con el uso del agua residual tratada donde se especifica la normatividad para el permiso de vertimientos y para qué casos se permite el uso de estas aguas tratadas, igualmente en el artículo 7 se especifican los criterios de calidad que deben cumplir”[88].

### **3.12. Decreto 1076 de 2015**

«En el 2015 fue expedido por el presidente de la republica con el objetivo de compilar y racionalizar las normas de carácter reglamentario que rigen el sector Ambiente, así se considera este como el más extenso y completo para cualquier decisión de tipo ambiental y uso de recursos del ecosistema. En este se contempla un plan de gestión del riesgo para el manejo de vertimientos, en el cual se estipula que debe existir un análisis del riesgo, medidas de prevención y mitigación, protocolos de emergencia y contingencia y programa de rehabilitación y recuperación.

Igualmente, se encuentra el plan de reconvención a tecnologías limpias en gestión de vertimientos, el cual promueve la reconversión tecnológica de los procesos productivos de los generadores de vertimientos que desarrollan actividades industriales, comerciales o de servicios de forma que se cumpla con la normatividad vigente y se minimice la carga contaminante» [89].

### **3.13. Resolución 0631 de 2015**

“En la resolución 0631 del ministerio de ambiente y desarrollo se establecen los parámetros y valores límites máximos permisible para los vertimientos puntuales a los cuerpos de agua superficiales y sistemas de alcantarillado público, por lo que esta se puede catalogar como referencia base para un futuro proyecto experimental derivado del presente documento”.

En el anexo número 2 se enuncia en el numeral 8.8 la actividad de fabricación de sustancias y productos químicos como colorantes y pigmentos de cualquier fuente por lo que los parámetros fisicoquímicos a monitorear y sus valores límites permisibles se deben tener en cuenta[3].

A continuación en la figura 27 se detallan estos para la fabricación de pigmentos inorgánicos:

**Figura 27.**

*Parámetros fisicoquímicos y límites permisibles para vertimientos puntuales de aguas residuales no doméstica.*

PARÁMETRO	UNIDADES	FABRICACIÓN DE SUSTANCIAS Y PRODUCTOS QUÍMICOS	FABRICACIÓN DE PIGMENTOS INORGÁNICOS	FABRICACIÓN DE PIGMENTOS INORGÁNICOS	FABRICACIÓN DE PIGMENTOS INORGÁNICOS- DE CROMATOS Y MOLIBDATOS DE PLOMO
			DE AZUL ULTRAMAR	DE ÓXIDOS DE HIERRO	
<b>Generales</b>					
pH	Unidades de pH	6,00 a 9,00	6,00 a 9,00	6,00 a 9,00	6,00 a 9,00
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L O <sub>2</sub>	800,00	500,00	500,00	200,00
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> )	mg/L O <sub>2</sub>	600,00	200,00	200,00	150,00
Sólidos Suspendedos Totales (SST)	mg/L	200,00	200,00	200,00	150,00
Sólidos Sedimentables (SSED)	mL/L	5,00	5,00	5,00	5,00
Grasas y Aceites	mg/L	25,00	25,00	25,00	25,00
Fenoles	mg/L	0,20			
Formaldehído	mg/L	Análisis y Reporte			
Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM)	mg/L	Análisis y Reporte			
<b>Hidrocarburos</b>					
Hidrocarburos Totales (HTP)	mg/L	10,00			
<b>Compuestos de Fósforo</b>					
Fósforo Total (P)	mg/L	Análisis y Reporte			
<b>Compuestos de Nitrógeno</b>					
Nitratos (N-NO <sub>3</sub> )	mg/L				Análisis y Reporte
Nitrógeno Amoniacal (N-NH <sub>3</sub> )	mg/L				Análisis y Reporte
Nitrógeno Total (N)	mg/L	Análisis y Reporte			Análisis y Reporte
<b>Iones</b>					
Cianuro Total (CN <sup>-</sup> )	mg/L	0,50			
Cloruros (Cl <sup>-</sup> )	mg/L		Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte
Sulfatos (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	mg/L	400,00	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte
Sulfuros (S <sup>2-</sup> )	mg/L	1,00			
<b>Metales y Metaloides</b>					
Arsénico (As)	mg/L	0,10			
<b>Metales pesados</b>					
Cadmio (Cd)	mg/L	0,05			
Cinc (Zn)	mg/L	3,00		3,00	3,00
Cobalto (Co)	mg/L	Análisis y Reporte			
Cobre (Cu)	mg/L	1,00			
Cromo (Cr)	mg/L	0,50			0,50
Hierro (Fe)	mg/L			5,00	
Mercurio (Hg)	mg/L	0,01			
Níquel (Ni)	mg/L	0,50			
Plomo (Pb)	mg/L	0,20			0,50
Selenio (Se)	mg/L	0,20			
<b>Otros Parámetros para Análisis y Reporte</b>					
Acidez Total	mg/L CaCO <sub>3</sub>	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte
Alcalinidad Total	mg/L CaCO <sub>3</sub>	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte
Dureza Cálcica	mg/L CaCO <sub>3</sub>	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte
Dureza Total	mg/L CaCO <sub>3</sub>	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte
Color Real (Medidas de absorbancia a las siguientes longitudes de onda: 436 nm, 525 nm y 620 nm)	m <sup>-1</sup>	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte	Análisis y Reporte

**Nota.** En la figura 27 se detallan los parámetros fisicoquímicos y los límites permisibles para vertimientos puntuales de aguas residuales no domésticas tomado de Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, *Resolución 0631. 2015*, p. 62.

### **3.14. Estado Actual - Marco Legal**

Aunque en Colombia existen algunas normas para el control de vertimientos de aguas residuales domésticas y no domésticas, no son del todo claras ni especifican ciertos parámetros necesarios. En el numeral 8.8 de la resolución 0631 del 18 de abril de 2015 se tratan puntualmente el vertimiento de colorantes o pigmentos como se observa en la figura 27; pero estos trata únicamente de azul ultramar, de óxidos de hierro, de cromatos y de molibdatos de plomo por lo que se presenta un grado de dificultad para catalogar aquellos derivados de la tinción de Gram.

De forma general se especifican la fabricación de sustancias y productos químicos, de la cual se puede apoyar de alguna forma el presente proyecto, donde se detallan parámetros como pH entre 6 a 9, demanda química de oxígeno 800 mg/L de O<sub>2</sub>, sólidos suspendidos totales de 200 mg/L, entre otros que se pueden determinar en la figura 27.

«Para el año 2019 los laboratorios de microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana generaban entre 20 a 40 litros semanales de efluentes provenientes principalmente de los colorantes asociados a la tinción de Gram con una concentración aproximada inicial de 8000 ppm para el cristal violeta y de 3750 ppm para la fucsina pero debido a que esta solución se somete a diferentes lavados con agua destilada se calcula que aproximadamente la concentración final residual del cristal violeta es de 50 ppm en una solución de 200 mL» [4].

Se recomienda que para futuros estudios con base en el presente proyecto, se caracterice el agua real que se someterá a la adsorción para realizar una acertada comparación respecto a los parámetros establecidos por la legislación actual de Colombia y así determinar si el proceso cumple con una degradación tal que se cumpla con esta para poder contribuir de forma óptima con el cuidado del medio ambiente y fuentes hídricas de Colombia.

## **4. PROPUESTA DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

A continuación se plasmará de forma general aquellas variables a tener en cuenta para un futuro escalado experimental del proyecto, se hace claridad que únicamente se estudiarán las variables involucradas en el diseño experimental, es decir la concentración de alginato de sodio, de calcio y de arcilla. En cuanto a la descripción de cómo se desarrolla el procedimiento, de variables de agitación y temperatura a tener en cuenta, se aconsejara algunos valores para tener en cuenta pero se recomienda apoyarse en los procedimientos descritos en el laboratorio de investigación de tecnología ambiental y de materiales de la Pontificia Universidad Javeriana debido a que estos se encuentran estandarizados gracias a resultados de estudios previos sobre el tema.

### **4.1. Síntesis de datos**

En el segundo capítulo expuesto se realizó una búsqueda bibliográfica para primero, entender y diagnosticar el estado actual en Colombia acerca de los estudios del tema y de cómo este proyecto puede llegar aportar para beneficiar los recursos hídricos y minimizar la contaminación ambiental a la cual se somete el país y segundo para satisfacer la necesidad de generar un punto de partida que proporcione el trayecto para un futuro escalado experimental del proyecto.

Como se mencionó anteriormente se propone encapsular por medio del polisacárido alginato de sodio la arcilla, de forma que su separación una vez removido el colorante, sea de forma rápida y sencilla. “Se debe determinar por lo tanto los parámetros a tener en cuenta para realizar la preparación de estas perlas transformando el alginato por medio de reacciones de intercambio iónico con sales de metales divalentes a través de entrecruzamiento de iones generando hidrogeles que contienen la arcilla en su interior” [90].

A continuación se expondrá en la tabla número IX diversas investigaciones donde se extrae parámetros de operación relevante para la formación de las esferas de alginato de sodio como lo son la concentración de alginato de sodio y concentración de cloruro de calcio en porcentaje volumen peso (w/v). En cuanto a la cantidad de arcilla se recomienda determinar por medio de experimentos previos la cantidad puesto que la información bibliográfica no es clara al respecto.

**Tabla 9.***Síntesis de datos – Referencias bibliográficas Cloruro de Calcio y Alginato de Sodio.*

#	Artículo	Autores	Año	Parámetro	Rango (w/v)
1	Calcium alginate-bentonite-activated carbon composite beads as highly effective adsorbent for methylene blue.	Assia Benhouria, Md. Azharul Islam, H. Zaghouné-Boudiaf, M. Boutahala, B.H. Hameed	2014	CaCl <sub>2</sub>	4%
				Alginato de Sodio	2%
2	Comparative study of calcium alginate, activated carbon, and their composite beads on methylene blue adsorption.	A.F. Hassana A.M. AbdelMohsenb, d, Moustafa M.G. Foudac,d	2013	CaCl <sub>2</sub>	1%
				Alginato de Sodio	3%
3	Tesis de grado: Elaboración y caracterización de micro cápsulas mediante gelificación iónica externa, de la fracción alcaloidea de <i>illex guayusa</i> con alginato sódico, y su utilización en la formulación de una forma de dosificación sólida.	César Augusto Hernández Dávila	2014	CaCl <sub>2</sub>	3%
				Alginato de Sodio	2%

Tabla 9.

Continuación

4	Methylene blue removal by alginate-clay quasi-cryogel beads.	Güler Uyar, Hakan Kaygusuz, f. Bedia Erim	2015	CaCl <sub>2</sub>	3%
				Alginato de Sodio	2%
5	Fabrication of granular activated carbons derived from spent coffee grounds by entrapment in calcium alginate beads for adsorption of acid orange 7 and methylene blue.	Kyung-Won Jung, Brian Hyun Choi, Min-Jin Hwang, Tae-Un Jeong, Kyu-Hong Ahn	2016	CaCl <sub>2</sub>	2%
				Alginato de Sodio	2%
6	Síntesis y caracterización de hidrogeles de alginato y n-isopropilacrilamida para aplicaciones biomédicas.	María Malvina, Soledad Lencina	2013	CaCl <sub>2</sub>	2%
				Alginato de Sodio	4%
7	In-situ gelation of sodium alginate supported on melamine sponge for efficient removal of copper ions.	Yi Feng a, Yayan Wanga,b, Yaquan Wanga, Xiong-Fei Zhang a, Jianfeng Yao	2017	CaCl <sub>2</sub>	2%
				Alginato de Sodio	2%

Nota: Resumen de la concentración obtenida para CaCl<sub>2</sub> y Alginato de sodio de diferentes estudios

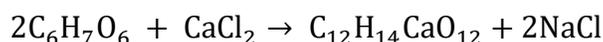
Con el objetivo de plantear un diseño de experimentos es necesario determinar aquellas variables independientes, variables dependientes y la variable interviniente del proceso de forma que se obtenga la variable de salida.

Para este caso se propone fijar una de las variables de independientes de forma que se reduzcan los tiempos de experimentación y por lo tanto la complejidad de este: i) concentración de cloruro de calcio, ii) concentración de alginato de sodio ó iii) concentración de arcilla.

Inicialmente se plantea estas tres variables para la selección en el diseño de experimentos debido a que los estudios guía mencionados en la tabla IX fijan estas como de gran importancia para obtener resultados objetivos en la experimentación. La concentración de cloruro de calcio es necesaria puesto que esta determinará la resistencia de la pared de la capsula obtenida [92], la concentración de alginato de sodio determinará la eficiencia de las capsulas de arcilla en la remoción del colorante y la concentración o cantidad en gramos de arcilla determinará la cantidad necesaria que disminuya el mayor porcentaje de concentración de colorante sin desperdiciar la materia prima.

Por lo tanto, se propone fijar la concentración de cloruro de calcio debido a que se menciona en bibliografía [92]« que estequiometricamente se requiere del 7.2% de cloruro de calcio para una sustitución completa, por lo que mínimo con 2.2% de calcio se logra generar la gelificación pero se recomienda generar un exceso estequimétrico para garantizar que existan cantidades suficientes de iones  $\text{Ca}^{2+}$  (Ecuación 1) y de esta manera haya sustitución completa para la formación de alginato de calcio» [4].

**Ecuación 1.** Reacción estequiometrica para formar esferas de Alginato de Calcio [4]



Fijando la concentración de cloruro de calcio en 3.5% se reducen las variables a concentración de alginato de sodio (2 a 4%) y cantidad de arcilla (sujeta a experimentación previa) reduciendo así a un diseño experimental factorial de  $2^2$ .

La variable dependiente es aquella en la cual se reflejan los resultados del experimento al modificar las variables de entrada, por lo que se plantea realizar la medición del porcentaje de remoción en la solución de colorantes de tinción de Gram por la disminución de unidades de color UPC. Es de gran importancia obtener un alto grado

de precisión en la medición del resultado de dicha variación para asegurar un resultado confiable[96].

Por último para las variables intervinientes son aquellas independientes que si no se controlan alterarían el resultado de la experimentación para este caso son: i) Volumen de solución alginato de sodio, ii) Volumen de solución colorante, iii) RPM de agitación y, iv) gramos de adsorbente. Mantener estas variables constantes asegurara que el resultado obtenido sea objetivo y que únicamente se mida la respuesta con base en la modificación de la concentración de alginato de sodio y de la arcilla.

#### **4.2. Configuración para el sistema de adsorción**

Se recomienda tener en cuenta los siguientes parámetros para realizar un correcto desarrollo del diseño de experimentos. « El modo de operación deberá ser batch cerrado con volumen y concentración de colorante fija (agua sintética para iniciar con concentración conocida de cristal violeta y fucsina), con agitación continua y cantidad de esferas de alginato con arcilla encapsulada constante, esta propuesta se basa en estudios previos experimentales en el laboratorio de investigación y materiales de la Pontificia Universidad Javeriana donde se estipula que para iniciar y tener idea en qué proporción el fenómeno propuesto es viable se iniciara con agua sintética para conocer específicamente la concentración de los contaminantes además de asegurar que únicamente se analicen estos dos colorantes, posteriormente se recomendará realizar una investigación analizando el agua real y caracterizando previamente esta puesto que la aparición de contaminantes distintos al Cristal Violeta y la Fucsina pueden afectar el porcentaje de remoción comparado con el agua sintética»[4].

En cuanto al valor de agitación y la cantidad de esferas de alginato con arcilla encapsulada se propone mantenerla constante puesto que al realizar el análisis bibliográfico en el numeral 4.1 se determina que las únicas dos variables serán la concentración de alginato de sodio y la cantidad de arcilla por lo que para asegurar que el análisis de los resultados de cada experimento sea comparable se deben mantener fijas y constantes las variables enunciadas anteriormente.

A continuación en la tabla 10, 11 y 12 se encuentra el análisis bibliográfico con diferentes valores de los parámetros que se propone mantener constantes para proponer los del presente trabajo de grado.

**Tabla 10.***Análisis de datos volumen de la solución.*

#	Artículo	Volumen alginato de sodio (mL)	Volumen Solución colorantes (mL)
1	Calcium alginate–bentonite–activated carbon composite beads as highly effective adsorbent for methylene blue	100	200
2	Comparative study of calcium alginate, activated carbon, and their composite beads on methylene blue adsorption	100	100
3	Removal of malachite green using carboxymethyl cellulose-gpolyacrylamide/montmorillonite nanocomposite hydrogel	-	50

Nota: Parámetros de volumen de solución de diferentes artículos.

**Tabla 11.***Análisis de datos RPM de agitación.*

#	Artículo	RPM
1	Calcium alginate–bentonite–activated carbon composite beads as highly effective adsorbent for methylene blue	130
2	Methylene blue removal by alginate-clay quasi-cryogel beads	200
3	Single and competitive adsorption studies of two cationic dyes from aqueous mediums onto cellulose-based modified citrus peels/calcium alginate composite	200
4	Adsorption of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from aqueous solution by Organic Montmorillonite Sodium Alginate Nanocomposites	200

Tabla 11.

Continuación.

5	Kinetic and equilibrium studies on the adsorption of Direct Red 23 dye from aqueous solution using montmorillonite nanoclay	250
6	Removal of malachite green using carboxymethyl cellulose-gpolyacrylamide/montmorillonite nanocomposite hydrogel	120

Nota: Parámetros de RPM para agitación continua de diferentes artículos.

**Tabla 12.**

*Análisis de datos cantidad de Adsorbente.*

#	Artículo	Gramos
1	Calcium alginate–bentonite–activated carbon composite beads as highly effective adsorbent for methylene blue	2
2	Comparative study of calcium alginate, activated carbon, and their composite beads on methylene blue adsorption	2
3	Methylene blue removal by alginate-clay quasi-cryogel beads	0.2 a 1.6
4	Adsorption of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from aqueous solution by Organic Montmorillonite Sodium Alginate Nanocomposites	0.2
5	Kinetic and equilibrium studies on the adsorption of Direct Red 23 dye from aqueous solution using montmorillonite nanoclay	0.01 a 0.2
6	Removal of malachite green using carboxymethyl cellulose-gpolyacrylamide/montmorillonite nanocomposite hydrogel	0.05

**Nota.** Cantidad en gramos del adsorbente de diferentes artículos.

Una vez analizados los datos anteriores se propone realizar el montaje en vaso precipitado con 150 mL de solución de agua sintética, 100 mL de esferas de alginato de sodio medidas en probeta graduada y una velocidad de agitación de 200 rpm con el fin de mantener en constante movimiento las esferas a temperatura ambiente y por un tiempo de adsorción de dos horas, el cual se recomienda este sujeto a previa experimentación para determinar el punto de equilibrio de adsorción.

“Según investigaciones de NASHRULLAH y UYAR una vez obtenidas las esferas se deberán mantener en reposo en solución de cloruro de calcio de 2 a 24 horas y realizar un secado en horno a 70°C de 2 a 24 horas” [101]. Se recomienda realizar un estudio de rendimiento acerca de la obtención de esferas al realizar el proceso puesto que se debe evaluar el tiempo de retención y la distancia de caída de las esferas lo que arrojaría todo un nuevo diseño de experimentos a evaluar[102].

En cuanto a la cantidad de arcilla es importante determinar el rango para que disminuya la mayor cantidad de colorante pero no comprometa la remoción de las esferas, y además se ahorre materia prima en el laboratorio. Para fines prácticos y de forma que se pueda plasmar el diseño de experimentos se propone evaluar una cantidad de 0.5 gramos y 1 gramos basándose en la tabla 17 pero se aconseja este sujeto a una previa verificación en laboratorio con múltiples experimentos previos para un futuro escalado del proyecto.

#### **4.3. Diseño experimental**

En cualquier investigación experimental es de suma importancia plasmar un diseño de experimentos puesto que “este indica la secuencia completa de los pasos a tomar respecto a las variables de entrada de un proceso para asegurar la obtención de información relevante y adecuada respecto a las variables de salida y generar un análisis estadístico que permita obtener conclusiones válidas y objetivas” [103].

Para iniciar, se deben seleccionar los factores y niveles, los cuales son las variables independientes y el rango de valores de estas, generando la variable de respuesta (dependiente). Igualmente se debe determinar cómo se medirá esta última y el número de repeticiones o replicas para asegurar una correcta conclusión.

Para el presente proyecto se determinó que los factores serán la concentración de alginato de sodio y la cantidad de carbón activado con dos distintos niveles para cada

uno y con la variable de respuesta del % de remoción de colorantes como se observa en la tabla número XIII dando como resultado un diseño factorial 2<sup>2</sup>. En cuanto a las réplicas se propone realizar un duplicado por cada experimento para disminuir la variabilidad.

**Tabla 13.**

*Diseño Factorial*

Variable de respuesta: % de remoción colorantes		Gramos de Arcilla	
		0.5	1
Concentración alginato de sodio (% m/v)	2%	Experimento 1	Experimento 2
	4%	Experimento 3	Experimento 4

**Nota.** Resultado de número de experimentos debido al diseño factorial.

Debido a que el agua sintética a emplear es una mezcla compleja puesto que presenta dos especies diferentes, se propone cuantificar la disminución del color presente por medio de la medida de color por unidades Hazen el cual cuantifica por unidades de color platino a través del equipo de color midiendo el porcentaje de remoción en la solución de colorantes de tinción de Gram por la disminución de unidades de color UPC.

El objetivo es medir cada 10 minutos durante dos horas en el momento del experimento y se aconseja realizar una dilución 1:2 para ajustar el rango de sensibilidad del equipo por lo que al realizar el cálculo del porcentaje de remoción se deberá corregir el UPC multiplicando por el factor de dilución. Por último se aconseja emplear el análisis de varianza para estudiar el efecto de uno o más factores sobre la media de una variable continua. En la tabla XIV a continuación se detalla el resumen de las variables del diseño de experimentos.

**Tabla 14.***Resumen variables Diseño Experimentos*

#	PARÁMETRO	VALOR	
1	Solución agua sintética	150 mL	
2	Solución esferas de alginato de sodio	100 mL	
3	RPM	200 rpm	
4	Temperatura	Ambiente	
5	Tiempo de espera esfera en reposo	24 Horas	
6	Tiempo de secado de esferas	24 Horas	
7	Temperatura de secado de esferas	70 °C	
8	Gramos de arcilla	Primer experimento	Segundo experimento
9	Concentración alginato de sodio ( %m/v)	:0.5 gramos y 2%	:1 gramos y 2%
		Tercer experimento	Cuarto experimento
		:0.5 gramos y 4%	:1 gramos y 4%

**Nota.** Se observa en la tabla el resumen de las variables del diseño de experimentos a tener en cuenta

## 5. CONCLUSIONES

A partir de la investigación bibliográfica se pudo diagnosticar que el estado actual y los avances respecto a la contaminación de aguas debido a colorantes asociados a la tinción de Gram a nivel mundial se encuentra en su mayoría los estudios en continentes como Asia y Europa y con muy poco porcentaje de participación para el caso de América Latina. En cuanto a Colombia, aún y cuando es uno de los países con mayor riqueza hídrica pero a su vez mayor contaminación de sus recursos hídricos, el estudio para estos contaminantes es escaso y lo lideran universidades como la Pontificia Universidad Javeriana, Universidad Nacional, Universidad de los Andes, entre otras desde el año 2002 en adelante lo que se puede atribuir a mayor conciencia ambiental por parte de las nuevas generaciones que lideran las academias. Todo esto permite concluir que el estudio propuesto es presentar un avance respecto a la degradación de estos colorantes en Colombia.

Aunque la normatividad en Colombia respecto al tema de contaminación en general es amplia se puede determinar que esta es vaga y confusa respecto a la disposición de aguas residuales que contengan contaminantes de colorantes tales como el cristal violeta y la fuscina. La resolución 0631 de 2015 permite dar una visión de algunos parámetros importantes para colorantes orgánicos pero sería importante contar con información más detallada al respecto para asegurar que las diferentes industrias no incurran en ningún tipo de contaminación y de esta formar preservas los recursos naturales.

En cuanto a la configuración y parámetros a tener en cuenta para el sistema de adsorción y encapsulamiento de arcillas, se determina que el modo de operación deberá ser batch cerrado con un volumen de 200 mL de agua y concentración de colorante fija y 120 mL de esferas de alginato con arcilla encapsulada

Por último, las variables que afectan la adsorción de los colorantes en las capsulas de arcilla serán la concentración de alginato de sodio y de arcilla por lo que se propone realizar un diseño de experimentos con dos factores y dos niveles generando un diseño de  $2^2$  con cuatro experimentos duplicando cada experimento de forma que se disminuya la variabilidad obteniendo como resultado el porcentaje de remoción en la solución de

colorantes de tinción de Gram por la disminución de unidades de color UPC corrigiendo su factor de dilución.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] R. M. Agudelo C., “El agua, recurso estratégico del siglo XXI,” *Rev. Fac. Nac. Salud Pública*, pp. 91–102, 2005.
- [2] T. L. del Agua, “Situación Hídrica en América Latina.” , [En línea]. Disponible: <https://tragua.com/situacion-hidrica-en-america-latina/> [Acceso: Oct. 30, 2020].
- [3] Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, *Resolución 0631*. 2015, p. 62.
- [4] V. Vasquez, “EVALUACIÓN DE LA DISMINUCIÓN EN LA CARGA CONTAMINANTE DE LOS COLORANTES ASOCIADOS A LA TINCIÓN DE GRAM MEDIANTE CARBÓN ACTIVADO ENCAPSULADO EN ALGINATO DE SODIO,” 2019.
- [5] J. . Smith, “Ingeniería de la cinética química,” in *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 53, no. 9, 2013, pp. 1689–1699.
- [6] J. L. Ayala, M. E.; Penuela Mesa, G. y Montoya, “Procesos de membranas para el tratamiento de agua residual industrial con altas cargas del colorante amarillo ácido 23,” *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, no. 38, pp. 53–63, 2006.
- [7] L. Andrade, E. F. Covelo, and F. A. Vega, “Uso de Arcillas Especiales para la Depuración de Aguas Residuales,” *Inf. Tecnol.*, 2005.
- [8] V. Y. M. Natarén, “Molienda de pigmentos hasta tamaño de partícula submicron con medición de potencial Z,” 2006.
- [9] T. S. Asencio, “La industria de los colorantes y pigmentos,” Escuela de Ingenierías Industriales”, [En línea]. Disponible:<https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-11.php> [Acceso: Aug. 27, 2020].
- [10] J. González Alfaro, B. González González, and R. González Barrial, “Laboratorio de Microbiología - Instrumentación y Principios Básicos - PDF Free Download,” *Editorial Ciencias Médicas*, 2004. [En línea]. Disponible: <https://epdf.pub/laboratorio-de-microbiologia-instrumentacion-y-principios-basicos.html> [Acceso:27, Aug, 2020].
- [11] Ramos Rincón and Jaidith Marisol, “Estudio del proceso de biosorción de colorantes sobre Borra (Cuncho) de café,” Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2010.

- [12] Anonimo, "Técnicas y tipos de tinción," *scientist-site*.
- [13] L. Esaú López-Jácome, M. Hernández-Durán, C. A. Colín-Castro, S. Ortega-Peña, G. Cerón-González, and R. Franco-Cendejas, "Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología," 2014.
- [14] P. A. Rodríguez and R. Arenas, "Hans Christian Gram y su tinción Hans Christian Gram and His Staining," 2018.
- [15] Cuadros comparativos, "Bacterias Gram-positivas vs. Gram-negativas", 2018. [En línea] Disponible: <https://cuadroscomparativos.com/bacterias-gram-positivas-vs-gram-negativas-cuadros-comparativos/> [Acceso:07,Jan, 2021].
- [16] C. Book, "Crystal Violet," 2017. [En línea ] Disponible: [https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_cb2161846.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_cb2161846.htm) [Acceso:07,Sep, 2020].
- [17] A.V. Sánchez, G.O Escudero, J.G Rodríguez, "Síntesis y caracterización de catalizadores para la oxidación húmeda catalítica de colorantes y aguas residuales ."2013.
- [18] S. Senthilkumaar and K. Porkodi, "Heterogeneous photocatalytic decomposition of Crystal Violet in UV-illuminated sol-gel derived nanocrystalline TiO<sub>2</sub> suspensions," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 288, no. 1, pp. 184–189, 2005.
- [19] Anonimo, "Cristal violeta." [En línea] Disponible:<https://www.anulab.com/es/product/1698946/cristal-violeta-2b> [Acceso:22,Sep, 2020].
- [20] K. P. Singh, S. Gupta, A. K. Singh, and S. Sinha, "Optimizing adsorption of crystal violet dye from water by magnetic nanocomposite using response surface modeling approach," *J. Hazard. Mater.*, vol. 186, no. 2–3, pp. 1462–1473, 2011.
- [21] P. Rai, R. K. Gautam, S. Banerjee, V. Rawat, and M. C. Chattopadhyaya, "Synthesis and characterization of a novel SnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@activated carbon magnetic nanocomposite and its effectiveness in the removal of crystal violet from aqueous solution," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 3, no. 4, pp. 2281–2291, 2015.
- [22] J. Yin, J. Cai, C. Yin, L. Gao, and J. Zhou, "Degradation performance of crystal violet over CuO@AC and CeO<sub>2</sub>-CuO@AC catalysts using microwave catalytic oxidation degradation method," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 4, no. 1, pp. 958–

- 964, 2016.
- [23] N. C. Carreño and W. J. R. Chitiva, "Síntesis de óxidos mixtos de Mn-Fe mediante el método de auto combustión para la degradación de cristal violeta en aguas residuales," *Int. Rev. Immunol.*, vol. 66, no. 1, pp. 1–15, 2018.
- [24] W. L. Holman, "The use of decolorized acid fuchsin as an acid indicator in carbohydrate fermentation tests with some remarks on acid production by bacteria," *J. Infect. Dis.*, vol. 15, no. 1, pp. 227–233, Jul. 1914.
- [25] A. Quimicos, "FICHA TÉCNICA Y DE SEGURIDAD FUCSINA GRAM 12212," 2012. [En línea] Disponible: [www.quimicosalbor.com](http://www.quimicosalbor.com) [Acceso:08, Sep, 2020].
- [26] P. Ángel and M. Cartea, "Problemas ambientales globales y educación ambiental: Una aproximación desde las representaciones sociales del cambio climático" *Rev. Integr. Educ.*, vol. 6, no. 3, pp. 29–64, 2013.
- [27] N. U.- UN-Water, *Aguas residuales: El recurso desaprovechado.*, vol. 3. 2017.
- [28] E. O. Ojeda and R. A. Uribe, "Agua para el Siglo XXI para América del Sur," 2013.
- [29] M. Yarto, A. Gavilán, and J. Barrera, "El Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus implicaciones para México," *Gac. Ecológica*, vol. 69, pp. 7–28, 2003.
- [30] A. C. Martínez, C. C. Olivares, A. E. Lozada, C. G. Ramírez, "Contaminación generada por colorantes de la industria textil," *Vida Científica Boletín Científico la Esc. Prep. No. 4*, vol. 2, no. 3, Jan. 2014. [En línea] Disponible: <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/prepa4/article/view/1862/5730>. [Acceso:08,Sep, 2020].
- [31] M. E. García, J. A. Pérez, and L. Generalidades, "Aguas Residuales. Composición."
- [32] H. R. Pimentel, "Las aguas residuales y sus efectos contaminantes | iAgua," 2017.[En línea] Disponible: <https://www.iagua.es/blogs/hector-rodriguez-pimentel/aguas-residuales-y-efectos-contaminantes> [Acceso Sep. 08, 2020].
- [33] E. L. Jiménez, "Calidad de agua," *Universidad Nacional de Loja*, 2017.[ En línea] Disponible: <https://www.slideshare.net/LilianaJimenez8/calidad-de-agua-131420593> [ Acceso Jan. 07, 2021].

- [34] Acodal, “70% de las aguas servidas en el país no son tratadas y generan contaminación.” [ En línea] Disponible: <http://www.acodal.org.co/70-de-las-aguas-servidas-en-el-pais-no-son-tratadas-y-generan-contaminacion-acodal/> [ Acceso 09,Sep, 2020].
- [35] Andres Venegas Loaiza, “Municipios que cuentan con plantas de tratamiento de aguas residuales,” 2018. [En línea] Disponible: <https://www.larepublica.co/infraestructura/solamente-482-de-los-municipios-cuentan-con-plantas-de-tratamiento-de-aguas-residuales-2611155> [Acceso 09,Sep, 2020].
- [36] L. Republica, “Imponen multa de \$318,5 millones a cueros Vélez por contaminar río,” pp. 20–22, 2014, [ En línea] Disponible: <https://www.larepublica.co/empresas/imponen-multa-de-3185-millones-a-cueros-velez-por-tenir-rio-2103539>. [Acceso: 20, Jan, 2021].
- [37] “El tratamiento de aguas en Colombia y en el mundo | Acuatécnica. [En línea] Disponible:” <https://acuatecnica.com/tratamiento-aguas-colombia-mundo/> [Acceso Apr. 08, 2020].
- [38] EcuRed, “Tratamiento de aguas residuales.” [En línea] Disponible: [https://www.ecured.cu/Tratamiento\\_de\\_aguas\\_residuales](https://www.ecured.cu/Tratamiento_de_aguas_residuales) [ Acceso 09, Sep, 2020].
- [39] L. L. Lugo, “Tratamiento de aguas residuales,” *Universidad de Manizales*, 2016. [En línea] Disponible: <https://www.slideshare.net/leonardolugo1/lugo-luis-aporte-individual> [Acceso 07,Jan, 2021].
- [40] Anonimo, “Ingeniería de tratamiento de aguas residuales,” pp. 1–15.
- [41] A. P. S. Cruz, “REUTILIZACIÓN DE AGUAS RESIDUALES,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 2013.
- [42] S. Martinez, “Evaluación sobre el uso de arcillas para la adsorción de colorantes utilizados en la industria textil.,” *Univ. Nac. la Plata*, p. 182, 2017.
- [43] EcuRed, “Adsorción.” [En línea] Disponible: <https://www.ecured.cu/Adsorción> [Acceo 17,Sep, 2020].
- [44] A. Y. A. Martínez, R. M. Monroy, M. F. O. Ruiz, J. P. S. Monroy, M. K. M. Cid, and H. A. S. Ortiz, “Cinética química para reacciones reversibles y complejas,” 2018.

- [En línea] Disponible:<https://es.scribd.com/document/395416395/Lirio> [ Acceso 07, Jan, 2021].
- [45] “Adsorción Química y física | Adsorción | Catálisis.” [En línea] Disponible:<https://es.scribd.com/doc/37259939/Adsorcion-Quimica-y-fisica> [Acceso Apr. 08, 2020].
- [46] S. Guggenheim *et al.*, “Definition of clay and clay mineral: Joint report of the AIPEA nomenclature and CMS nomenclature committees,” *Clays Clay Miner.*, vol. 43, no. 2, pp. 255–256.
- [47] E. García and M. Suárez, “Las Arcillas: Propiedades Y Usos,” *Univ. Complut. (Madrid), Univ. Salamanca*, pp. 1–28, 2014.
- [48] Christian Ignacio Escobar Escobar, “Estudio de permeabilidad a minerales sulfurados de cobre,” *Universidad Católica del Norte*, 2014. [En línea] Disponible: <https://es.slideshare.net/ChristianEscobar4/memoria-christian-escobar> [Acceso: 07, Jan, 2021].
- [49] T. W. Lambe and R. V. Whitman, *Mecánica de suelos*. .
- [50] C. A. Goyes Lesmes and N. C. Grandas Castañeda, “EVALUACIÓN TÉCNICO FINANCIERA DE LA FORMULACIÓN DE UN LODO DE PERFORACIÓN BASE AGUA PARA EL CONTROL Y PREVENCIÓN DE LA AGLOMERACIÓN Y ACRECIÓN DE ARCILLAS EN LA UNIDAD C2 DEL CAMPO CHICHIMENE,” 2018.
- [51] A. P. Institute, “MANUAL DE FLUIDOS DE PERFORACIÓN.”
- [52] B. Agrario, “PERMEABILIDAD,” Sep. 2020.
- [53] B. J. P. M. J. T. T. CALDERÓN, “DETERMINACIÓN DE LA SUPERFICIE ESPECÍFICA EN SUELOS CAOLINÍTICOS Y BENTONÍTICOS MEDIANTE LA TÉCNICA DE ADSORCIÓN DE AGUA DESTILADA APLICANDO DIFERENTES GRADIENTES TÉRMICOS BREIDY JULIETH PARRADO MORERA JULIETH TATIANA TOLOZA CALDERÓN UNIVERSIDAD CATÓLICA,” 2017.
- [54] C. M. Br. Rausseo U., “Trabajo Especial De Grado Pruebas De Hinchamiento Lineal Utilizando El Aditivo Z – Trol 100 Como Inhibidor De Arcillas En Fluidos De Z – Trol 100 Como Inhibidor De Arcillas En Fluidos De,” 2002.
- [55] B. V. FAHUSAC, “Propiedades de las arcillas .” [En línea] Disponible:

- <https://bvhumanidades.usac.edu.gt/items/show/1750> [Acces 21, sep, 2020].
- [56] G. S. Muchiutti, L. H. López Novello, F. A. Córscico, and V. J. Larrosa, "Cápsulas de alginato para la protección de polifenoles presentes en el aceite esencial de orégano," *Ciencia, Docencia y Tecnol.*, vol. 30, no. 59 nov-abr, pp. 297–309, 2019.
- [57] V. Urtuvia, N. Maturana, F. Acevedo, C. Peña, and A. Díaz-Barrera, "Bacterial alginate production: an overview of its biosynthesis and potential industrial production," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 33, no. 11, p. 0, 2017.
- [58] M. C. Rebollar, "Carbohidratos - ALGINATO," *Universidad de Zaragoza*. [En línea] Disponible:<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/alginate.html> - [Acceso 07, Jan, 2021].
- [59] L. Guz, G. Curutchet, R. M. Torres Sánchez, and R. Candal, "Adsorption of crystal violet on montmorillonite (or iron modified montmorillonite) followed by degradation through Fenton or photo-Fenton type reactions," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 2, no. 4, pp. 2344–2351, 2014.
- [60] S. Mandal, V. S. Patil, and S. Mayadevi, "Alginate and hydrotalcite-like anionic clay composite systems: Synthesis, characterization and application studies," *Microporous Mesoporous Mater.*, vol. 158, pp. 241–246, 2012.
- [61] A. F. Hassan, A. M. Abdel-Mohsen, and M. M. G. Fouda, "Comparative study of calcium alginate, activated carbon, and their composite beads on methylene blue adsorption," *Carbohydr. Polym.*, vol. 102, no. 1, pp. 192–198, 2014.
- [62] K. Jeyasubramanian, G. S. Hikku, and R. K. Sharma, "Photo-catalytic degradation of methyl violet dye using zinc oxide nano particles prepared by a novel precipitation method and its anti-bacterial activities," *J. Water Process Eng.*, vol. 8, pp. 35–44, 2015.
- [63] S. Topics, "Sonication - an overview." [En línea] Disponible: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/sonication> [Acceso 22, Sep, 2020].
- [64] C. Puri and G. Sumana, "Highly effective adsorption of crystal violet dye from contaminated water using graphene oxide intercalated montmorillonite nanocomposite," *Appl. Clay Sci.*, vol. 166, no. April, pp. 102–112, 2018.

- [65] D. Figueroa, A. Moreno, A. Hormaza, M. Sc, and P. Asociado, "Equilibrio, termodinámica y modelos cinéticos en la adsorción de Rojo 40 sobre tuza de maíz."
- [66] D. Figueroa, A. Moreno, and A. Angelina, "Equilibrio, termodinámica y modelos cinéticos en la adsorción de Rojo 40 sobre tuza de maíz," *Rev. Ing. Univ. Medellín*, vol. 14, no. 26, pp. 105–120, 2015.
- [67] R. Fabryanty *et al.*, "Removal of crystal violet dye by adsorption using bentonite – alginate composite," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 5, no. 6, pp. 5677–5687, 2017.
- [68] Scopus, "Analyze search results " Degradation of Fuchsin," 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com.ezproxy.javeriana.edu.co/term/analyzer.uri?sid=901970fc37a7724130578115f41126b8&origin=resultslist&src=s&s=TITLE-ABS-KEY%28%22degradation+of+fuchsin%22%29&sort=plf-f&sdt=b&sot=b&sl=39&count=4&analyzeResults=Analyze+results&txGid=872> [Acceso 24, Nov 2020].
- [69] Scopus, "Analyze search results 'Adsorption of Fuchsin,'" 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com.ezproxy.javeriana.edu.co/term/analyzer.uri?sid=901970fc37a7724130578115f41126b8&origin=resultslist&src=s&s=TITLE-ABS-KEY%28%22adsorption+of+fuchsin%22%29&sort=plf-f&sdt=b&sot=b&sl=38&count=5&analyzeResults=Analyze+results&txGid=f255> [Acceso 24, Nov, 2020].
- [70] Scopus, "Analyze search results 'Adsorption + Sodium Alginate,'" 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com.ezproxy.javeriana.edu.co/term/analyzer.uri?sid=901970fc37a7724130578115f41126b8&origin=resultslist&src=s&s=TITLE-ABS-KEY%28%22adsorption+%2B+sodium+alginate%22%29&sort=plf-f&sdt=b&sot=b&sl=45&count=2&analyzeResults=Analyze+results&t> [Acceso 24 Nov, 2020].
- [71] Scopus, "Analyze search results 'Adsorption + Montmorillonite,'" 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com.ezproxy.javeriana.edu.co/term/analyzer.uri?sid=901970fc37a7724130578115f41126b8&origin=resultslist&src=s&s=TITLE-ABS-KEY%28%22adsorption+%2B+montmorillonite%22%29&sort=plf-f&sdt=b&sot=b&sl=45&count=2&analyzeResults=Analyze+results&t>

- com.ezproxy.javeriana.edu.co/term/analyzer.uri?sid=782485ffc0c7e857f85edd5dacc47c9d&origin=resultslist&src=s&s=TITLE-ABS-KEY%28%22adsorption+%22%29&sort=plf-f&sdt=sisr&sot=b&sl=28&count=32146&analyzeResults=Analyze+results&ref=%28montmo [Acceso 24, Nov, 2020].
- [72] Scopus, “Analyze search results ‘ Adsorption + Montmorillonite + Dyes + Fuchsin + Crystal Violet,’” 2020. [En línea] Disponible: <https://www-scopus-com.ezproxy.javeriana.edu.co/results/results.uri?editSaveSearch=&sort=plf-f&src=s&st1=%22adsorption+%22&nlo=&nlr=&nls=&sid=4912823ce8aa0decf01bf5c1be65d9e2&sot=b&sdt=sisr&sl=28&s=TITLE-ABS-KEY%28%22adsorption+%22%29&ref=%28%28%28%28mont>. [Acceso 24, Nov, 2020].
- [73] E. Espectador, “El compromiso de las nuevas generaciones con el medio ambiente y la sociedad,” 2017.
- [74] L. Nacion, “La era de los nativos sustentables,” 2018. [En línea] Disponible: <https://www.lanacion.com.ar/lifestyle/la-era-de-los-nativos-sustentables-nid2133761>. [Acceso: 26, Oct, 2020.]
- [75] A. A. agropecuaria de A. L. y el C. | O. de las N. U. para la A. y la Agricultura, “Los ríos de América Latina, entre los más contaminados del mundo |.” [En línea] Disponible:<http://www.fao.org/in-action/agronoticias/detail/es/c/513301/> [Acceso 26, Oct, 2020]
- [76] M. de A. y D. Sostenible, “Gestión Integral del Recurso Hídrico.” [En línea] Disponible:<https://www.minambiente.gov.co/index.php/gestion-integral-del-recurso-hidrico> [Acceso 14 Sep, 2020].
- [77] Vivienda y desarrollo territorial Republica de Colombia Ministerio de Ambiente, *LEY 23 DE 1973*, vol. 4, no. 3. 2013, pp. 11–13.
- [78] A. K. R. Suarez, “Decreto 2811 Resumen,” 2013. [En línea] Disponible:<https://es.slideshare.net/angiers19/resumen-decreto-2811-38193375> [Acceso Sep. 15, 2020]
- [79] F. Publica, “Decreto 1541 de 1978,” 1978. [En línea] Disponible: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=1250>

- [Acceso: 15, Sep, 2020].
- [80] R. de C. M. de Agricultura, "Decreto 1875 de 1979," 1979.
- [81] R. de C. M. de Agricultura, "DECRETO 1594 DE 1984," 1984.
- [82] R. de Colombia, "Ley 99 de 1993," 1993.
- [83] C. Villalobos, "Resumen de la Ley 99 de 1993: Ley General Ambiental de Colombia - Justicia Ambiental," 2016. [En línea] Disponible: <https://justiciaambientalcolombia.org/resumen-de-la-ley-99-ambiental-colombiana/> [Acceso Sep. 14, 2020].
- [84] F. Publica, "Ley 161 de 1994." [En línea] Disponible:<https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=68533> [Acceso 14, Sep, 2020]
- [85] Ministerio de ambiente vivienda y desarrollo territorial, "Decreto 3930 del 2010," *Minist. Ambient. vivienda y Desarro. Territ.*, p. 29, 2010, [En línea] Disponible: <http://www.minambiente.gov.co/images/normativa/app/resoluciones/bf-Resolución610de2010-CalidaddelAire.pdf>. [Acceso 14, Sep, 2020]
- [86] F. Publica, "Ley 1625 de 2013," 2013. [En línea] Disponible: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=52972> [Acceso 14, Sep, 2020].
- [87] "Producción y consumo sostenible. [En línea] Disponible: " <https://www.metropol.gov.co/ambiental/Paginas/Consumo-sostenible/Produccion-y-consumo-sostenible.aspx> [Acceso 14, Sep, 2020].
- [88] Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible, "Resolución número 1207," vol. 2014, no. julio 25, p. 9, 2014, [En línea] Disponible: [http://www.minambiente.gov.co/images/GestionIntegraldelRecursoHidrico/pdf/normativa/Res\\_1207\\_2014.pdf](http://www.minambiente.gov.co/images/GestionIntegraldelRecursoHidrico/pdf/normativa/Res_1207_2014.pdf) [Acceso 14, Sep, 2020].
- [89] C. Villalobos, "Resumen del Decreto 1076 de 2015 (Decreto único reglamentario del Sector Ambiente y Desarrollo Sostenible) - Justicia Ambiental," *Universidad del Rosario*, 2016. [En línea] Disponible: <https://justiciaambientalcolombia.org/resumen-decreto-1076/> [Acceso 15, Sep, 2020]..
- [90] L. N. Gaurín, "ANTECEDENTES Y MARCO TEORÍCO."

- [91] A. Benhouria, M. A. Islam, H. Zaghouane-Boudiaf, M. Boutahala, and B. H. Hameed, "Calcium alginate-bentonite-activated carbon composite beads as highly effective adsorbent for methylene blue," 2015
- [92] C. A. H. DÁVILA, "ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MICROCÁPSULAS MEDIANTE GELIFICACIÓN IÓNICA EXTERNA, DE LA FRACCIÓN ALCALOIDEA DE *Ilex guayusa* CON ALGINATO SÓDICO, Y SU UTILIZACIÓN EN LA FORMULACIÓN DE UNA FORMA DE DOSIFICACIÓN SÓLIDA," 2014.
- [93] G. Uyar, H. Kaygusuz, and F. Bedia Erim, "Methylene blue removal by alginate-clay quasi-cryogel beads," 2016.
- [94] K. W. Jung, B. H. Choi, M. J. Hwang, T. U. Jeong, and K. H. Ahn, "Fabrication of granular activated carbons derived from spent coffee grounds by entrapment in calcium alginate beads for adsorption of acid orange 7 and methylene blue," *Bioresour. Technol.*, vol. 219, pp. 185–195, Nov. 2016.
- [95] Y. Feng, Y. Wang, Y. Wang, X. F. Zhang, and J. Yao, "In-situ gelation of sodium alginate supported on melamine sponge for efficient removal of copper ions," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 512, pp. 7–13, Feb. 2018-
- [96] G. Ramón, "Diseños experimentales."
- [97] S. J. Peighambaroust, O. Aghamohammadi-Bavil, R. Foroutan, and N. Arsalani, "Removal of malachite green using carboxymethyl cellulose-g-polyacrylamide/montmorillonite nanocomposite hydrogel," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 159, pp. 1122–1131, 2020.
- [98] A. Aichour and H. Zaghouane-Boudiaf, "Single and competitive adsorption studies of two cationic dyes from aqueous mediums onto cellulose-based modified citrus peels/calcium alginate composite," 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.10.277.
- [99] W.-J. Dai *et al.*, "Adsorption of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from aqueous solution by Organic Montmorillonite Sodium Alginate Nanocomposites," 2020.
- [100] A. H. Mahvi and A. Dalvand, "Kinetic and equilibrium studies on the adsorption of direct red 23 dye from aqueous solution using montmorillonite nanoclay," *Water Qual. Res. J. Canada*, vol. 55, no. 2, pp. 132–144, 2020.
- [101] A. Nasrullah, A. H. Bhat, A. Naeem, M. H. Isa, and M. Danish, "High surface area

mesoporous activated carbon-alginate beads for efficient removal of methylene blue,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 107, pp. 1792–1799, Feb. 2018.

- [102] H. D. C. A., “Elaboración y caracterización de Microcápsulas mediante Gelificación Iónica externa, de la fracción alcaloidea de *ilex guayusa* con alginato sódico, y su utilización en la formulación de una forma de dosificación sólida.” 2015.
- [103] V. Uday, “Conceptos Básicos de Diseño Experimental,” *Slideshare*, 2017. [En línea] Disponible: <https://es.slideshare.net/VinicioUday/conceptos-bsicos-de-diseo-experimental> [Acceso:30,Oct, 2020].
- [104] E. G. Tuesta, M. Vivas, and R. Sun, “Modificación Química De Arcillas Y Su aplicación En La Retención De Colorantes,” *Rev. la Soc. Química del Perú*, vol. 71, no. 1, pp. 26–36, 2005.