

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE POLÍMEROS  
CATIÓNICOS A PARTIR DE GLICEROL PARA SU APLICACIÓN COMO  
FLOCULANTES DE MICROALGAS EN MEDIO ACUOSO**

**JUAN CARLOS ARIZA PACHÓN  
JAIRO ANDRÉS VELANDIA RAMIREZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2015**

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE POLÍMEROS  
CATIONICOS A PARTIR DE GLICEROL PARA SU APLICACIÓN COMO  
FLOCULANTES DE MICROALGAS EN MEDIO ACUOSO**

**JUAN CARLOS ARIZA PACHÓN  
JAIRO ANDRÉS VELANDIA RAMIREZ**

**Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de  
INGENIERO QUÍMICO**

**Director:  
GUSTAVO EMILIO RAMIREZ CABALLERO  
Ing. Químico, Ph.D**

**Codirector:  
ANDREA JULIANA GARZÓN SANABRIA  
Ing. Química, Ph.D**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2015**

## DEDICATORIA

*Este proyecto de grado se lo dedico a mis padres Yolanda y Jairo que con tanto amor han hecho posible este logro en mi carrera profesional. A mi hermano Jose por el apoyo que me brinda incondicionalmente.*

*A mis amigos que me han enseñado y han hecho más grata esta etapa de la vida.*

*Jairo Andrés Velandía Ramírez*

*Este proyecto se lo dedico a mi padre, a mi madre, a mi hermana, a mi cuñado, a mis sobrinas, a mi novia, a Pinky, a toda mi familia, todas mis amistades y todos los que me ayudaron a hacerlo. Gracias a ellos he logrado terminar el proyecto junto con Jairo y gracias a ellos soy quien soy.*

*Juan Carlos Ariza Pachón*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Industrial de Santander y a la Escuela de Ingeniería Química por brindarnos tan excelente educación.

A la doctora Andrea Garzón por su dedicación, colaboración, conocimiento y compromiso que permitió la realización de este proyecto.

Al doctor Gustavo Ramírez, por su apoyo, confianza, interés y la oportunidad de trabajar en el grupo de investigación en polímeros.

A las ingenieras Diana Rojas y Carolina Ardila por su constante ayuda durante todo el desarrollo del proyecto.

A todos los compañeros del grupo de investigación en polímeros por su compañía, colaboración y buen trato.

Al laboratorio de biomasa de la universidad por permitir el uso de las instalaciones, los equipos y colaborar con la orientación necesaria para el proyecto.

Al laboratorio de Espectroscopía y al laboratorio de Espectrometría de masas del parque tecnológico Guatiguará por permitirnos el uso de sus equipos para la elaboración del proyecto.

## TABLA DE CONTENIDO

|  |    |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN .....   | 16 |
| 1.METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....  | 19 |
| 1.1.SÍNTESIS DE LOS POLÍMEROS .....  | 19 |
| 1.1.1.Materiales .....   | 19 |
| 1.1.2.Método de síntesis de los polímeros funcionalizados .....  | 19 |
| 1.1.3.Diseño experimental para la síntesis de los polímeros funcionalizados .....  | 20 |
| 1.2.CARACTERIZACIÓN DE LOS POLÍMEROS .....   | 21 |
| 1.2.1.Determinación del peso molecular (MALDI-TOF) .....   | 21 |
| 1.2.2.Determinación de los grupos funcionales vía Espectroscopía Infrarroja.....   | 22 |
| 1.2.3.Cuantificación de la cantidad de grupos amino de los polímeros<br>funcionalizados vía Titulación Acido-Base Fuertes..... | 22 |
| 1.3.APLICACIÓN DE LOS POLIMEROS COMO AGENTES FLOCULANTES DE<br>MICROALGAS .....  | 22 |
| 1.3.1.Cultivo de microalgas.....   | 22 |
| 1.3.2.Diseño Experimental para la floculación de microalgas .....  | 23 |
| 2.RESULTADOSY DISCUSIÓN .....  | 24 |
| 2.1.EVALUACIÓN DEL PESO MOLECULAR DE LOS POLÍMEROS .....   | 24 |
| 2.2.ANÁLISIS DEL ESPECTRO INFRARROJO OBTENIDO DE LOS<br>POLÍMEROS.....   | 25 |
| 2.3.CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA DE LOS POLÍMEROS SINTETIZADOS ..  | 27 |
| 2.4.PRUEBAS DE FLOCULACIÓN .....   | 29 |
| 3.CONCLUSIONES .....   | 32 |
| 4.RECOMENDACIONES .....  | 33 |

REFERENCIAS .....34  
BIBLIOGRAFIA.....37  
ANEXOS.....38

## Lista de figuras

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1</b> Metodología de la investigación.....  | 19 |
| <b>Figura 2</b> Peso molecular promedio de los polímeros obtenidos (Promedio en peso Mw y en número Mn) ..... | 25 |
| <b>Figura 3</b> Espectro infrarrojo de muestras significativas. Ver anexo D .....                             | 27 |
| <b>Figura 4</b> Curvas de titulación de los polímeros funcionalizados.....                                    | 29 |
| <b>Figura 5</b> Resultados de las pruebas de floculación con los polímero funcionalizados .....               | 30 |

## Lista de tablas

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1</b> Resumen de los polímeros sintetizados .....               | 21 |
| <b>Tabla 2</b> Diseño experimental para las pruebas de floculación ..... | 23 |
| <b>Tabla 3</b> Solución de NaOH requerida para la titulación .....       | 28 |
| <b>Tabla 4</b> mmol $\text{NH}_2$ / g de poliglicerol .....              | 29 |

**Lista de anexos:**

|  |    |
|--|----|
| <b>ANEXO A</b> Montaje de polimerización y procedimiento:.....                 | 38 |
| <b>ANEXO B</b> Reacción de polimerización .....                                | 39 |
| <b>ANEXO C</b> Cálculo del peso molecular del polímero .....                   | 40 |
| <b>ANEXO D</b> Espectros infrarrojos.....                                      | 42 |
| <b>ANEXO E</b> Resultados de titulación.....                                   | 48 |
| <b>ANEXO F</b> Curva de crecimiento de <i>Chlorella vulgaris</i> .....         | 50 |
| <b>ANEXO G</b> Análisis de varianza para los resultados de la floculación..... | 51 |

## RESUMEN

**TÍTULO:** SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DE POLÍMEROS CATIONICOS A PARTIR DE GLICEROL PARA SU APLICACIÓN COMO FLOCULANTES DE MICROALGAS EN MEDIO ACUOSO\*

**AUTORES:** JUAN CARLOS ARIZA PACHÓN, JAIRO ANDRÉS VELANDIA RAMIREZ\*\*

**PALABRAS CLAVES:** POLIGLICEROL, FLOCULACIÓN, GLUTAMINA, CHLORELLA VULGARIS, MICROALGAS

### DESCRIPCIÓN:

Se realizó la síntesis de polímeros funcionalizados con glutamina a partir de glicerol puro, con el fin de darle un valor agregado a este subproducto de la producción de biodiesel. Los factores que se tuvieron en cuenta al realizar la polimerización fueron la cantidad de glutamina agregada (15%, 10% y 5% del índice hidroxilo) y el instante en que se realizaba la adición (inicio de la reacción y posterior a la polimerización del glicerol). Los polímeros fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja (IR), determinación de peso molecular (MALDI-TOF) y cuantificación de la cantidad de grupos amino del polímero vía titulación Acido-Base fuertes. Con los resultados obtenidos de la caracterización se determinó que el peso molecular de los polímeros disminuyó con el aumento en la cantidad de glutamina y también disminuyó al agregar la glutamina desde el inicio de la reacción. Cultivos de *Chlorella vulgaris* (UTEX1803), en medio Balsa de Bold, fueron utilizados para la evaluación de los polímeros como floculantes de microalgas. Las pruebas de floculación se realizaron cuando los cultivos alcanzaron una densidad óptica (750nm) de aproximadamente 0,88. Se utilizaron dos concentraciones distintas de polímero (50mg/l y 500mg/l) para las pruebas de floculación.

Los polímeros obtenidos presentaron una eficiencia de remoción de biomasa baja en comparación con polímeros comerciales. Las pruebas realizadas con mayor concentración de polímero obtuvieron eficiencias de remoción más altas.

---

\* Trabajo de grado

\*\* Facultad de ingenierías físico-químicas. Escuela de ingeniería química. Director: Ph.D. Gustavo Emilio Ramírez Caballero, Codirector Ph.D. Andrea Juliana Garzón Sanabria

## ABSTRACT

**TITLE:** SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF CATIONIC POLYMERS FROM GLYCEROL FOR APPLICATION AS FLOCCULANTS OF MICROALGAE IN AQUEOUS MEDIUM\*.

**AUTHORS:** JUAN CARLOS ARIZA PACHÓN, JAIRO ANDRÉS VELANDIA RAMIREZ \*\*.

**KEYWORD:** POLYGLYCEROL, FLOCCULATION, GLUTAMINE, CHLORELLA VULGARIS, MICROALGAE

### DESCRIPTION:

The synthesis of functionalized polymers with glutamine was made from pure glycerol, with the aim of giving an added value to the byproduct of biodiesel production. The factors that were taken into account during the polymerization were the amount of glutamine added (15%, 10%, 5% of the hydroxyl number) and the moment of addition of the glutamine (from the beginning of the reaction and after the glycerol polymerization). The polymers were characterized by infrared spectroscopy (IR), determination of molecular weight (MALDI-TOF) and quantification of the amount of amine groups via strong Acid-Base titration. The results of the characterization determined that the molecular weight of the polymers diminished with the increase in the amount of glutamine and the molecular weight also diminished when the glutamine was added from the beginning of the reaction. Cultures of *Chlorella vulgaris* (UTEX 1803), in Bold Basal medium, were used for evaluation of polymers as microalgae flocculants. Flocculation tests were carried on when the cultures reached an optical density (750 nm) of approximately 0,88. Two different concentrations of polymer (50mg/l and 500mg/l) were used for the tests.

The polymers obtained showed a low efficiency of biomass removal compared with commercial polymers. The tests with higher polymer concentration showed higher removal efficiencies.

---

\* Bachelor thesis

\*\* Physic-chemist Engineering Faculty. Chemical Engineering, Director Ph.D. Gustavo Emilio Ramírez Caballero, Codirector Ph.D. Andrea Juliana Garzón Sanabria

## INTRODUCCIÓN

Los biocombustibles se han convertido en opciones atractivas para continuar con el uso de combustibles líquidos de los cuales depende en gran parte el transporte a nivel mundial. Los beneficios de los biocombustibles comparado con los combustibles tradicionales incluyen mayor seguridad energética y menor impacto medioambiental. El biodiesel es uno de los biocombustibles que más se ha estudiado últimamente, sin embargo el obstáculo principal en la comercialización de este producto son los costos. Una de las formas de mejorar la economía de la industria del biodiesel es incrementando el valor agregado del principal de sus subproductos, el glicerol [1]. El glicerol es un alcohol el cual es el principal componente de los triglicéridos, se encuentra en la grasa animal, el aceite vegetal, o el petróleo crudo. El glicerol es viscoso, inodoro, incoloro y de un ligero sabor dulce; posee tres grupos hidroxilo hidrófilos, los cuales lo hacen higroscópico y soluble en agua. Debido a que generalmente entre el 10% al 20% del volumen total de biodiesel producido se compone de glicerol actualmente se está estudiando este subproducto para encontrar nuevas aplicaciones en las que se use como materia prima de bajo costo para la fabricación de productos de mayor valor agregado [2], [3]. Dado el aumento de la producción de biodiesel en Colombia [4] se espera que también aumente la oferta de glicerol en el país y es importante la búsqueda de aplicaciones para esta materia prima.

Una aplicación importante del glicerol es polimerizarlo para producir poliglicerol, que debido a su estructura la esterificación catiónica ha sido abundantemente usada para generar productos con diferentes aplicaciones. La alta cantidad de grupos funcionales libres combinado con la reactividad de los hidroxilos hacen que el poliglicerol sea aplicado en diferentes áreas. El poliglicerol ha podido ser sintetizado de manera controlada para lograr polímeros híper-ramificados con

propiedades importantes y también ha demostrado una excelente biocompatibilidad con el cuerpo humano por lo cual se han estudiado diversas aplicaciones biomédicas [5], [6], se ha estudiado la influencia de la carga superficial de ciertos derivados del poliglicerol y la asimilación de estos en células humanas, concluyendo que estos polímeros son candidatos prometedores para el suministro sistemático de agentes terapéuticos [7]. Debido a la afinidad que tiene el poliglicerol para esterificarse ha sido comúnmente reaccionado con diversos ácidos grasos para producir agentes tensoactivos aplicados a la industria, los ácidos grasos le dan un carácter anfifílico a las moléculas, lo cual las hacen propicias para estabilizar emulsiones [8].

Se han investigado polímeros orgánicos con propiedades similares al poliglicerol para ser usados como floculantes, dadas las preocupaciones por el medio ambiente, este tipo de polímeros biodegradables han sido más estudiados. Diferentes tipos de floculantes basados en polisacáridos funcionalizados con poliácridamida fueron evaluados en diferentes clases de aguas residuales industriales obteniendo mejores tiempos de sedimentación y cantidad de materia sedimentada que varios floculantes comerciales comunes, además se ha enfatizado en estudiar la carga del polímero y sus ramificaciones [9]. Entre los polímeros naturales más revisados en la actualidad se encuentra el quitosano [10] que es un amino-biopolímero que ha demostrado buenos rendimientos al ser usado como compuesto en diferentes productos floculantes, usándolo como base en un floculante junto con cloruro de polialuminio y silicato [11], y junto con polialuminio cloruro férrico y montmorillonita modificada [12]. Incluso el quitosano sin modificar ha demostrado ser un óptimo floculante, sin embargo resulta costoso implementarlo [13].

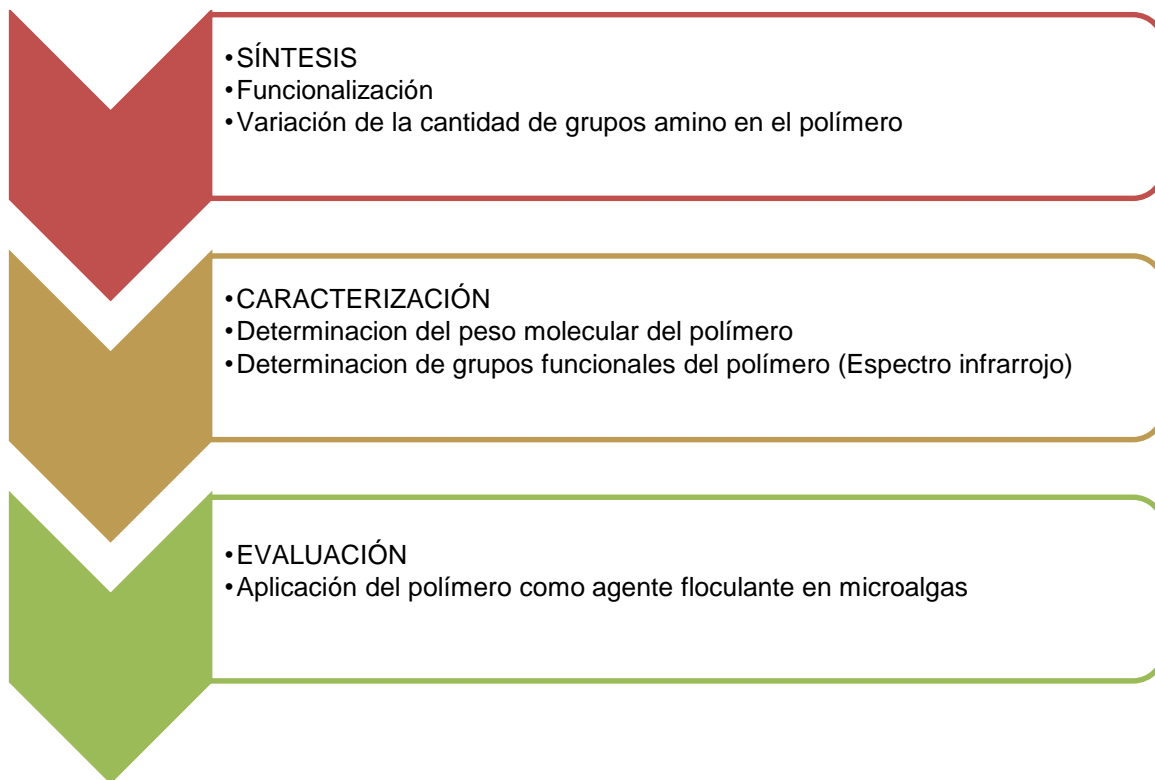
Una de las aplicaciones en las que se utiliza la técnica de floculación que está siendo estudiada actualmente es en la separación y concentración de microalgas. Esto debido a la variedad de usos potenciales que tiene este tipo de materia orgánica que entre las que más se destacan la producción de biodiesel, el secuestro de dióxido de carbono, el tratamiento de aguas residuales, en la salud

humana, como aditivo en alimentos y en acuicultura [14]. También la floculación de microalgas se estudia actualmente dada la dificultad que se presenta en su recolección, que genera grandes costos de dinero o de energía [15]. La floculación de microalgas ha sido comparada con la filtración de flujo tangencial, obteniendo mayor eficiencia con la floculación; sin embargo, menores costos a nivel global con la filtración [16]. Los métodos de concentración de microalgas dependen de la especie, las propiedades de la suspensión, el diseño del proceso y los costos asociados [15], [17]. También se ha registrado la influencia que tiene el pH, la densidad inicial de las microalgas, la fase de crecimiento en que estas se encuentren, la dosis de floculante [13], [18], la concentración de materia extracelular producida por las microalgas y la salinidad del medio al realizar la floculación [19].

Dadas las propiedades del poliglicerol y sus potenciales aplicaciones el objetivo del presente estudio es sintetizar, caracterizar y funcionalizar un polímero a partir de glicerol con potencial para ser usado como floculante de microalgas de medio acuoso.

# 1. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Figura 1 Metodología de la investigación.



## 1.1. SÍNTESIS DE LOS POLÍMEROS

### 1.1.1. Materiales

Glicerol (85%), Ácido sulfúrico (95%), Hidróxido de sodio (99%), L-Glutamina, Ácido clorhídrico (36,8%) fueron obtenidos de Merck. El glicerol fue rotoevaporado para remover agua.

### 1.1.2. Método de síntesis de los polímeros funcionalizados

El montaje consta de un reactor de 50 ml con tres bocas: una para el burbujeador que suministra nitrógeno, otra para el termómetro y otra para la adición de reactivos. El reactor presenta una salida lateral que conecta a un condensador, este conecta a un recipiente y este a su vez a una bomba de vacío. El recipiente

funciona como trampa para los fluidos que pasen el condensador. El reactor permanece dentro de un baño de aceite sobre una plancha de calentamiento, Ver Anexo A.

Las condiciones de polimerización del glicerol puro se llevan a cabo a 130°C, presión de vacío de 23 pulgadas de Hg, añadiendo 10 ml de glicerol y ácido sulfúrico al 5,2% (%p/p) como catalizador. La funcionalización del polímero se realizó con un aminoácido (glutamina) manteniendo las mismas condiciones.

### **1.1.3. Diseño experimental para la síntesis de los polímeros funcionalizados**

Para el diseño de experimentos se tuvieron en cuenta 2 factores: 1.) la cantidad de glutamina para la funcionalización y 2.) el instante en que se debía agregar. Para el factor de cantidad de glutamina se eligieron 3 niveles, como nivel bajo 0,379 g, como nivel medio 0,758 g y como nivel alto 1,137 g. Estas cantidades fueron determinadas de acuerdo a la cantidad de moles del grupo hidroxilo presentes en 10 ml de poliglicerol sintetizado a las mismas condiciones [20], para una relación equivalente al 5%, 10% y 15% molar de glutamina. Se tomó 15% como la medida superior debido a que la reacción se inhibía a esta cantidad cuando se realizaba la adición en el inicio. Las medidas de 5% y 10% se tomaron para determinar la cantidad de grupos amino presentes en el polímero funcionalizado al variar la cantidad de glutamina.

En cuanto al momento en que se debía agregar la glutamina se determinaron dos niveles: agregarla desde el inicio de la reacción y agregarla finalizando la polimerización. Esto para determinar el efecto causado por el orden de adición de la glutamina en la esterificación del poliglicerol. Todas las pruebas se realizaron por triplicado.

**Tabla 1** Resumen de los polímeros sintetizados

| <b>NOMBRE DEL POLÍMERO SINTETIZADO</b> | <b>GLICEROL (G)</b> | <b>NIVEL GLUTAMINA</b> | <b>CANTIDAD DE GLUTAMINA (G)</b> | <b>MOMENTO DE ADICIÓN DE LA GLUTAMINA</b> |
|--|---------------------|------------------------|----------------------------------|---|
| PF 3                                   | 13,33               | Bajo                   | 0,3789                           | Final                                     |
| PF 4                                   | 13,29               | Medio                  | 0,7579                           | Final                                     |
| PF 5                                   | 13,37               | Alto                   | 1,137                            | Final                                     |
| PF 7                                   | 13,13               | Medio                  | 0,7579                           | Inicial                                   |
| PF 8                                   | 12,92               | Bajo                   | 0,3789                           | Inicial                                   |
| PF 9                                   | 13,1                | Medio                  | 0,7579                           | Final                                     |
| PF 10                                  | 13                  | Alto                   | 1,137                            | Inicial                                   |
| PF 11                                  | 12,98               | Medio                  | 0,7579                           | Final                                     |
| PF 12                                  | 13,19               | Bajo                   | 0,3789                           | Inicial                                   |
| PF 13                                  | 13,02               | Bajo                   | 0,3789                           | Inicial                                   |
| PF 14                                  | 13,17               | Alto                   | 1,137                            | Final                                     |
| PF 15                                  | 13,16               | Medio                  | 0,7579                           | Inicial                                   |
| PF 16                                  | 13,33               | Medio                  | 0,7579                           | Inicial                                   |
| PF 17                                  | 13,13               | Bajo                   | 0,3789                           | Final                                     |
| PF 18                                  | 13,53               | Alto                   | 1,137                            | Inicial                                   |
| PF 19                                  | 13,2                | Alto                   | 1,137                            | Final                                     |
| PF 20                                  | 13,19               | Alto                   | 1,137                            | Inicial                                   |
| PF 21                                  | 13,02               | Bajo                   | 0,3789                           | Final                                     |

## **1.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS POLÍMEROS**

### **1.2.1. Determinación del peso molecular (MALDI-TOF)**

Con el fin de determinar el peso molecular de los polímeros sintetizados se llevó a cabo una prueba por MALDI-TOF para todas las muestras. Se utilizó un Espectrómetro de Masas MALDI / TOF / TOF Ultraflex extreme de Bruker Daltonics

### **1.2.2. Determinación de los grupos funcionales vía Espectroscopía Infrarroja**

Se utilizó un espectrómetro Nicolet is50FT-IR de ThermoScientific con celda ATR en modo de transmitancia con transformada de Fourier para un rango de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  con las muestras de polímeros funcionalizados para determinar los grupos funcionales presentes por medio de las bandas de absorción arrojadas como resultado y comprobar si se realizó la funcionalización.

### **1.2.3. Cuantificación de la cantidad de grupos amino de los polímeros funcionalizados vía Titulación Acido-Base Fuertes**

Para determinar la concentración de grupos amino insertados en los polímeros se utilizó el procedimiento utilizado por [21] que consiste en una titulación ácido fuerte con base fuerte. Se pesaron 500 mg de la muestra de polímero funcionalizado y se disolvieron en 5 ml de HCL 1M, posteriormente se agregaron 450 ml de NaCl 0,001M y se agitó para obtener una solución uniforme. La solución obtenida se tituló conductimétricamente con 90 ml de NaOH 0,1M.

## **1.3. APLICACIÓN DE LOS POLIMEROS COMO AGENTES FLOCULANTES DE MICROALGAS**

### **1.3.1. Cultivo de microalgas**

La microalga *Chlorella vulgaris* (UTEX 1803), adquirida del laboratorio de biomasa de la Universidad Industrial de Santander, se cultivó en el medio Bold Basal que tiene una composición en g/L de:  $\text{NaNO}_3$  ( $2,94 \times 10^{-3}$ ),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $3,04 \times 10^{-4}$ ), NaCl ( $4,28 \times 10^{-4}$ ),  $\text{KH}_2\text{-PO}_4$  ( $1,29 \times 10^{-3}$ ),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $1,70 \times 10^{-4}$ ),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $3,07 \times 10^{-5}$ ),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ( $7,28 \times 10^{-6}$ ),  $\text{MoO}_3$  ( $4,93 \times 10^{-6}$ ),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ( $6,29 \times 10^{-6}$ ),  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $1,68 \times 10^{-6}$ ),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ( $1,85 \times 10^{-4}$ ), EDTA ( $1,71 \times 10^{-4}$ ), KOH ( $5,53 \times 10^{-4}$ ),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $1,79 \times 10^{-5}$ ) a una temperatura de 25°C con agitación constante por burbujeo y ciclos de luz/oscuridad de 12h

### 1.3.2. Diseño Experimental para la floculación de microalgas

Para realizar las pruebas de floculación se tuvieron en cuenta dos niveles de concentración de cada polímero, como nivel alto se eligió 500 mg/l como una concentración de referencia basada en un barrido preliminar realizado en el laboratorio. Como nivel bajo se utilizó 50 mg/l que es una concentración que cae dentro del rango utilizado de los floculantes comerciales sintéticos y naturales para floculación de microalgas [26], [13], con el objetivo de mirar cómo se comportan estos polímeros con respecto a los floculantes comerciales.

**Tabla 2** Diseño experimental para las pruebas de floculación

| POLÍMERO | MILIGRAMOS DE POLÍMERO/LITRO DE MICROALGAS |            |
|----------|--|------------|
|          | NIVEL ALTO                                 | NIVEL BAJO |
| PF 9     | 500  | 50         |
| PF 13    | 500  | 50         |
| PF15     | 500  | 50         |
| PF19     | 500  | 50         |
| PF20     | 500  | 50         |
| PF21     | 500  | 50         |

Se realizaron pruebas preliminares donde se agregó directamente las cantidades correspondientes de polímero para los niveles alto y bajo a las muestras de microalgas y se realizó el protocolo que se describe más adelante. Los resultados de estas pruebas muestran que a estas condiciones no se logra una floculación considerable (ver Anexo G), por esto las siguientes pruebas se realizaron con un ajuste de pH.

Se preparó una solución stock concentrada de 25 g/l de polímero, esta se preparó con 19,3g de agua destilada, 0,2g de ácido acético (100%) y 0,5g del polímero funcionalizado para cada uno de los polímeros. De esta solución se tomó el nivel alto (equivalente a 2ml) y el nivel bajo (equivalente a 0,2ml), y se agregaron a 100ml de muestra de microalgas con una densidad óptica (750 nm) de 0,88

aproximadamente. Posteriormente se realizó un ajuste de pH de la muestra de microalgas hasta aproximadamente 8 con una solución (1 M de NaOH) después de adicionar el polímero. Esto con el objetivo de evaluar si un incremento en el pH favorece la formación de flóculos de microalgas. La solución obtenida se agitó inicialmente a 500 rpm durante 40 segundos para homogenizar el polímero en la solución de microalgas y posteriormente se disminuyó la agitación a 200rpm durante 5 minutos para inducir la formación de flóculos y posterior sedimentación de los mismos [22], [13]. Al finalizar el periodo de agitación se tomaron medidas de densidad óptica (750 nm), teniendo en cuenta el mismo nivel de profundidad, al transcurrir 0, 30 y 60 minutos. Las pruebas se realizaron por triplicado. Adicionalmente se tomaron las mediciones de floculación para microalgas sin adición de polímero siguiendo el mismo procedimiento como un control negativo.

## **2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **2.1. EVALUACIÓN DEL PESO MOLECULAR DE LOS POLÍMEROS**

Se lograron sintetizar 18 polímeros funcionalizados con grupos amino con valores de pesos moleculares entre 663 y 1396 Dalton. Los polímeros de más bajo peso molecular son los que tuvieron la adición de glutamina desde el inicio de la reacción. Las muestras que tuvieron la adición del nivel bajo (0,37 g) de glutamina al inicio tuvieron un peso molecular mayor que las que tuvieron la adición media (0,75g) y alta (1,13g), como se puede observar en el gráfico, esto sugiere que la cantidad de glutamina afecta la reacción de polimerización inhibiéndola y ocasionando un bajo peso molecular. Los polímeros con adición de glutamina posterior a la polimerización presentan un peso molecular más uniforme en promedio, como era de esperarse dado que no tuvieron la influencia de glutamina durante la reacción; sin embargo, las muestras con la adición del nivel alto (1,13g) son las que presentan el menor peso molecular, probablemente debido a moléculas de glicerol que aún no habían reaccionado al momento de la adición y que fueron inhibidas con la misma. En general los polímeros obtenidos presentan

un peso molecular relativamente bajo en comparación a polímeros usados comercialmente como agentes floculantes en la bioseparación de la biomasa de microalgas del medio acuoso. Los índices de polidispersidad fueron cercanos a la unidad para todas las muestras, comprobando la homogeneidad en el tamaño de las moléculas del polímero. Ver anexo C.

**Figura 2** Peso molecular promedio de los polímeros obtenidos (Promedio en peso Mw y en número Mn)



## 2.2. ANÁLISIS DEL ESPECTRO INFRARROJO OBTENIDO DE LOS POLÍMEROS

En la región de 3000 a 3600  $\text{cm}^{-1}$  se muestra una señal característica de los enlaces O-H por lo que una mayor intensidad representa una menor polimerización debido a que quedan más grupos hidroxilo libres de moléculas de glicerol. En este rango se aprecia una señal presente en todos los polímeros pero

con una intensidad mayor para las muestras a las que se les agrego la glutamina desde el inicio de la polimerización. Esto se puede deber a la presencia de moléculas de glicerol que no pudieron reaccionar porque el aminoácido inhibe la reacción de polimerización, así mismo los polímeros a los que se les agregó la glutamina finalizando la polimerización tuvieron una menor intensidad en esta señal, consecuente con lo anteriormente dicho.

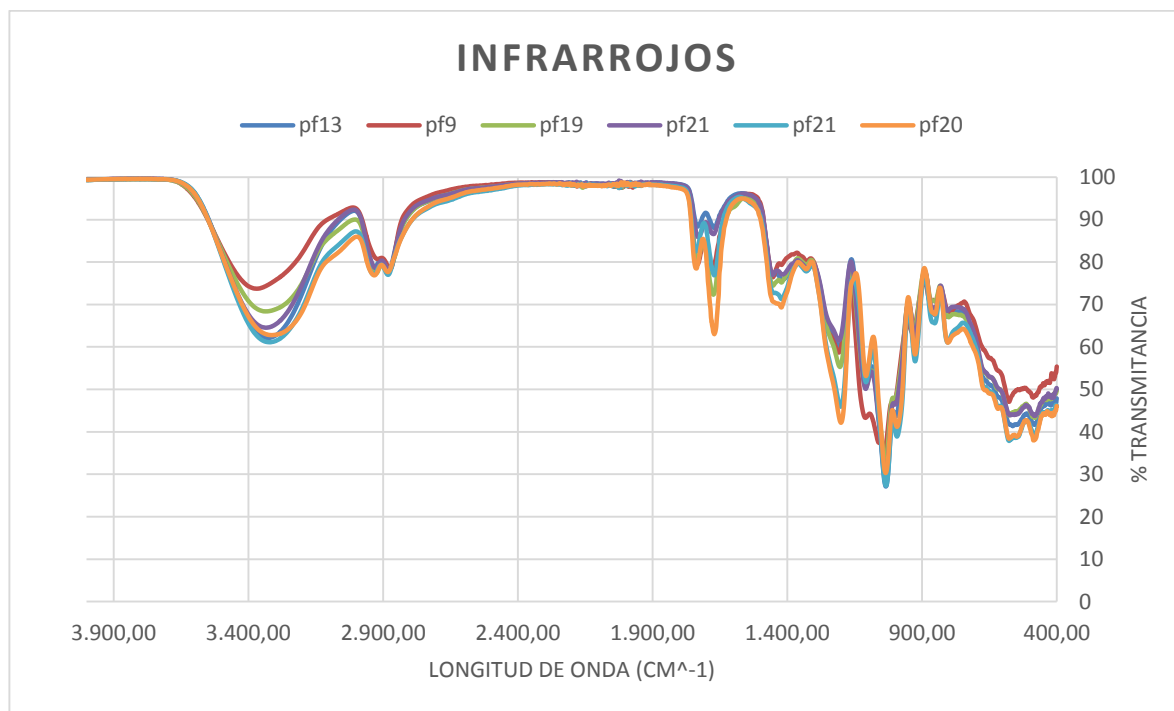
Se observan picos en el rango de  $2800$  a  $3000\text{cm}^{-1}$ , correspondiente a los enlaces C-H que provienen principalmente del poliglicerol, similares para todas las muestras.

Para la región de  $1800$  a  $1600\text{cm}^{-1}$  se encuentran dos picos muy importantes que representan los grupos carbonilo presentes en las muestras, el pico que se encuentra aproximadamente en la frecuencia  $1735\text{cm}^{-1}$  representa el grupo carbonilo de los grupos éster, el cual es un indicador del éxito de la esterificación. La intensidad de estos picos muestra una magnitud similar en los polímeros con cantidad media y alta de glutamina, siendo los de cantidad media ligeramente mayores, y una intensidad menor para los polímeros de cantidad baja, esto puede deberse a que la glutamina inhibe la reacción de polimerización y al agregar el aminoácido en cantidades mayores no se garantiza una mayor esterificación y al agregar la cantidad baja no hay suficiente aminoácido para lograr una esterificación tan alta como la de los polímeros con los niveles medio y alto. Para los polímeros a los que se les adicionó la glutamina posterior a la polimerización se obtuvo una mayor intensidad en este pico, probablemente debido a que al inicio de la reacción el glicerol tenderá a reaccionar con otras moléculas de glicerol en vez de la glutamina, ocasionando que no se lleven a cabo las reacciones de esterificación, en cambio cuando se agrega al final, el glicerol ya ha reaccionado en su mayoría para formar poliglicerol y los hidroxilos libres tienen mayor tendencia a realizar una esterificación que reaccionar con otras cadenas del polímero y entrecruzarse. El pico que se encuentra aproximadamente en la frecuencia  $1675\text{cm}^{-1}$  representa el grupo carbonilo de los grupos amida que son

propios de la glutamina, a mayor cantidad de glutamina mayor intensidad en este pico.

En el rango 1000 a 1200  $\text{cm}^{-1}$  que muestra los enlaces éter presentes, característicos de la formación de poliglicerol.

**Figura 3** Espectro infrarrojo de muestras significativas. Ver anexo D



### 2.3. CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA DE LOS POLÍMEROS SINTETIZADOS

Se construyeron curvas de conductancia para determinar la cantidad de grupos amino presentes en los polímeros sintetizados. Las curvas obtenidas presentan tendencias similares para las muestras de polímero funcionalizado con 3 regiones diferenciables. Inicialmente se observó una conductividad alta debido a los iones  $\text{H}^+$  presentes por el ácido adicionado en un principio, estos iones tienen una movilidad alta. Al agregar la solución de  $\text{NaOH}$  ocurre una neutralización de los iones  $\text{H}^+$  libres con los  $\text{OH}^-$  que se van añadiendo y se van formando iones  $\text{Na}^+$  libres que tienen una movilidad menor lo que hace que la conductividad disminuya de manera casi lineal hasta que se alcanza el punto de equilibrio de la curva

donde el HCl se ha neutralizado y se inicia la titulación de los grupos aminos protonados. Posteriormente se da un incremento en la conductividad por la neutralización de los grupos amino presentes en el polímero funcionalizado. Finalmente, al terminar la titulación de estos grupos amino, la conductividad sigue en aumento pero con una pendiente mayor por los iones OH<sup>-</sup> libres que se van añadiendo. Con esta curva es posible determinar los grupos amino que hay presentes por gramo de polímero gracias al punto de equivalencia, determinando la cantidad de NaOH requerido para titular los grupos amino del polímero, que corresponde a la diferencia entre los dos puntos de intersección de las 3 secciones de la curva. [21]

$$\frac{mmol_{(NH_2)}}{g(PG)} = \frac{(0,1 N)(x ml NaOH)}{(0,5g PG)}$$

0,1 N = Normalidad solución de NaOH

0,5g PG = cantidad de polímero funcionalizado utilizado

Como era de esperarse, las muestras con mayor cantidad de glutamina necesitaron de mayor cantidad de NaOH para su titulación ya que al tener más grupos amino se requiere más solución para lograr el punto de equivalencia, sin embargo esta titulación no diferencia entre las moléculas de glutamina que reaccionaron con el poliglicerol y las que no. Ver anexo E

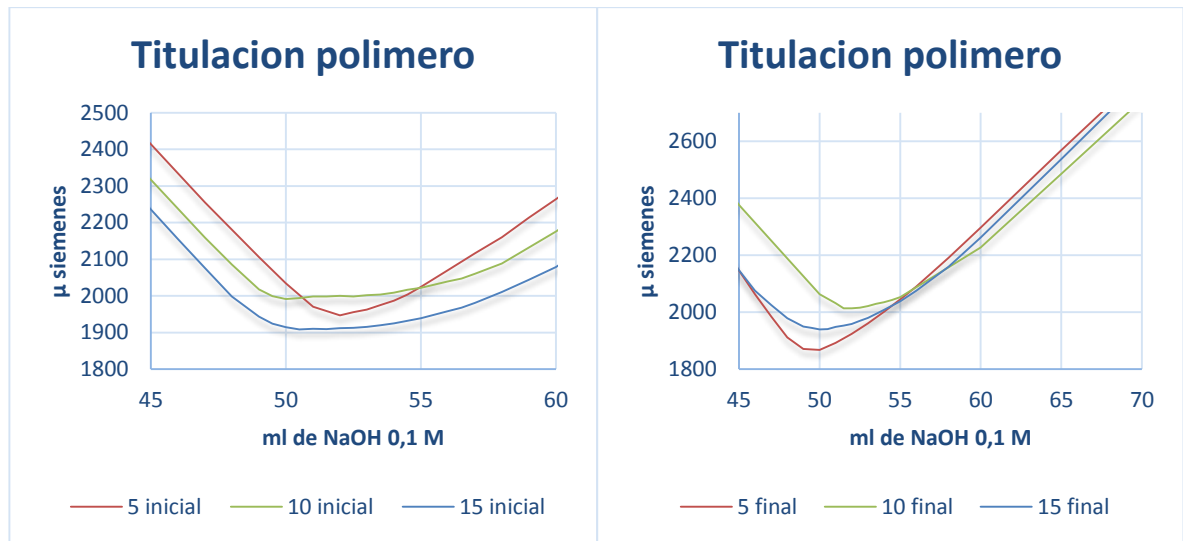
**Tabla 3** Solución de NaOH requerida para la titulación

| NIVEL DE<br>GLUTAMINA | AGREGADA AL FINAL |                    | AGREGADA AL INICIO |                    |
|-----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                       | PROMEDIO<br>(ml)  | DESVIACIÓN<br>(ml) | PROMEDIO<br>(ml)   | DESVIACIÓN<br>(ml) |
| BAJO                  | 2,17              | 1,04               | 1,50               | 0,87               |
| MEDIO                 | 4,67              | 2,02               | 6,83               | 0,76               |
| ALTO                  | 5,17              | 0,76               | 7,83               | 2,36               |

**Tabla 4** mmol NH<sub>2</sub>/ g de poliglicerol

| NIVEL DE GLUTAMINA | mmol NH <sub>2</sub> /g(PG) | mmol NH <sub>2</sub> /g(PG) |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| BAJO               | 0,43                        | 0,30                        |
| MEDIO              | 0,93                        | 1,37                        |
| ALTO               | 1,03                        | 1,57                        |

**Figura 4** Curvas de titulación de los polímeros funcionalizados



#### 2.4. PRUEBAS DE FLOCULACIÓN

Las pruebas de floculación se realizaron con cultivos de microalgas que estaban finalizando su fase exponencial de crecimiento y tenían una densidad óptica (a 750 nm) de aproximadamente 0,88. (Ver Anexo F), la eficiencia de remoción se calculó usando la fórmula [13]:

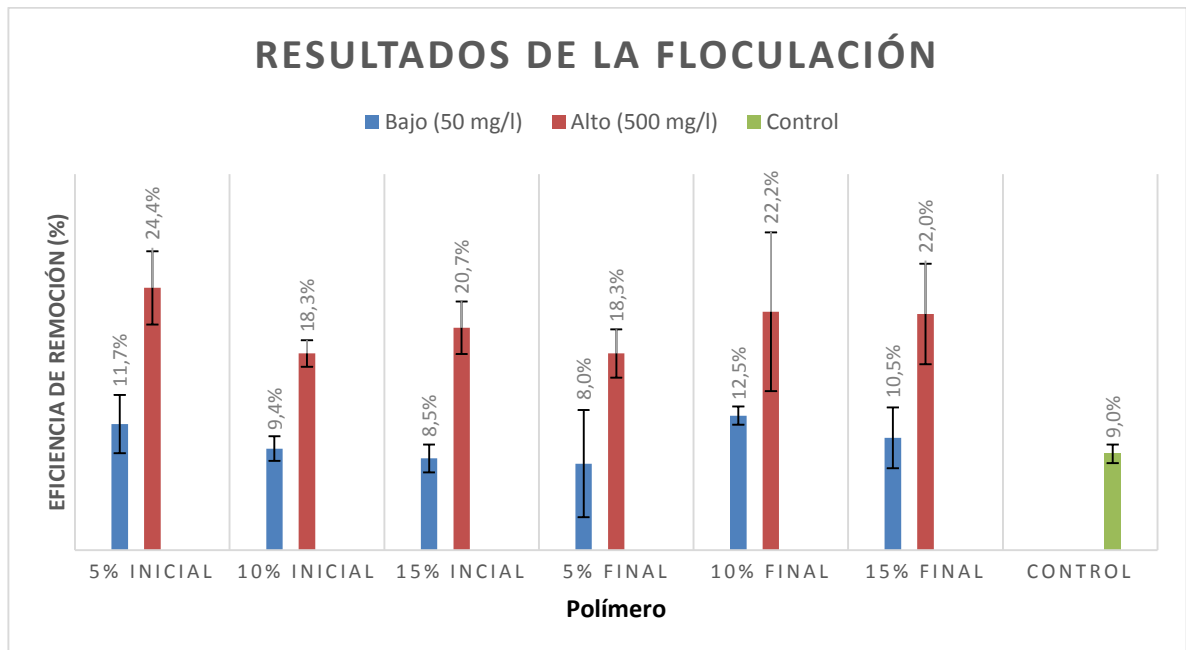
$$RE = \left[ 1 - \left( \frac{O.D_f}{O.D_0} \right) \right] * 100$$

A simple vista se observa la formación de flóculos en las microalgas que contenían una concentración alta de polímero, sin embargo estos se mantienen suspendidos y pocos se precipitan, esto puede ser debido al bajo peso molecular del polímero que no logra aglomerar suficientes partículas de microalgas, por esto los flóculos

no alcanzan suficiente densidad para precipitarse durante el tiempo de la prueba. El promedio de la eficiencia de remoción para estas pruebas fue de 21%.

En cuanto a las pruebas con concentraciones bajas de polímero no se observan formación de flóculos, esto puede ser debido a que la cantidad de polímero no es suficiente para lograr desestabilizar el sistema de microalgas en suspensión para que se permita la agregación entre células. En promedio la eficiencia de remoción para estas pruebas fue de 10%, muy similar a la de la muestra de control que no tenía polímero, que fue de 9%. (Ver Anexo G)

**Figura 5** Resultados de las pruebas de floculación con los polímero funcionalizados



Teniendo estos resultados se realiza un análisis de varianza para las muestras a las que se les agregó una concentración alta de polímero ya que estas dieron resultados considerablemente diferentes a la muestra control.

Del análisis de varianza y la prueba F se determina que la cantidad de glutamina que tiene el polímero, el momento de la reacción a la que se agrega la glutamina al polímero, y la combinación de estos factores, no son variables significativas que afecten la eficiencia de floculación de las microalgas. Esto puede ser debido a que a pesar de las diferencias en la cantidad de enlaces éster y la cantidad de grupos

amino de los polímeros estas no representan una diferencia considerable en la eficiencia de separación de las microalgas del medio acuoso vía floculación al utilizar dichos polímeros. Ver anexo G

### 3. CONCLUSIONES

Se sintetizaron 18 polímeros catiónicos con diferentes pesos moleculares y grados de funcionalización, utilizando la glutamina como aportante de los grupos amino.

Se determinó que el momento de la adición de la glutamina (inicio o final de la reacción de polimerización) afecta el peso molecular de los polímeros; por lo tanto, al iniciar la reacción de polimerización con la glutamina y el glicerol simultáneamente se obtienen como resultado polímeros de menor peso molecular y menor grado de esterificación. Adicionalmente, mayor cantidad de glutamina en la reacción no asegura mayor grado de esterificación.

La eficiencia de remoción de la biomasa de microalgas (*Chlorella Vulgaris*) vía floculación utilizando los polímeros catiónicos sintetizados es baja al compararla con las eficiencias de remoción que se obtienen con polímeros comerciales para el mismo fin. Al utilizar una concentración de 500 mg/L de polímero se obtuvo un mejor resultado que con la concentración de 50 mg por litro. Con la concentración baja no se observó diferencia en la eficiencia de floculación con respecto a la muestra sin polímero (control negativo), con la concentración alta hay mayor floculación durante el tiempo de la prueba.

Se considera que los polímeros sintetizados presentan un peso molecular bajo, no adecuado para formar flóculos que se precipiten por acción de la gravedad en un determinado tiempo.

Se concluye que el factor más importante que afectó la eficiencia de remoción en las pruebas de floculación fue la esterificación, ya que no fue suficiente y la cantidad de grupos aminos en el polímero fueron pocos. La baja cantidad de grupos amino de los polímeros no permite desestabilizar el sistema adecuadamente para que se lleve a cabo la agregación entre partículas.

#### 4. RECOMENDACIONES

Estudiar la influencia de la temperatura en la reacción de esterificación con el aminoácido.

Estudiar la reacción de esterificación con otros compuestos que aporten grupos aminos al polímero.

Usar algún tipo de purificación después de la reacción para eliminar las moléculas de aminoácido que no reaccionan y quedan disueltas en el polímero.

Determinar la densidad de carga presente en los polímeros funcionalizados, la cual es un valor determinante para su comparación con polímeros comerciales.

Realizar un diseño de experimentos para diferentes concentraciones de polímero funcionalizado a las estudiadas en este trabajo para comprobar si puede haber un mejor rendimiento.

Estudiar la influencia del pH en el correcto funcionamiento del polímero funcionalizado para lograr activar los grupos amino que aporta la glutamina.

## REFERENCIAS

- [1] A. Demirbas, «Political, economic and environmental impacts of biofuels: a review,» *Applied Energy*, vol. 86, pp. S108-S117, 2009.
- [2] M. Pagliaro, R. Ciriminna, H. Kimura, M. Rossi y C. Della Pina, «From Glycerol to Value-Added Products,» *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 46, nº 24, pp. 4434-4440.
- [3] Z. Gholami, A. Z. Abdullah y K. T. Lee, «Dealing with the surplus of glycerol production from biodiesel industry through catalytic upgrading to polyglycerols and other value-added products,» *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 39, pp. 327-341, 2014.
- [4] Federación Nacional de Biocombustibles, «Producción y Venta de Biodiesel,» 2015. [En línea]. Available: <http://www.fedebiocombustibles.com/estadistica-produccion-titulo-Biodiesel.htm>.
- [5] D. Wilms, S. E. Stiriba y H. Frey, «Hyperbranched polyglycerols: from controlled synthesis of biocompatible polyether polyols to multipurpose applications,» *Accounts of chemical research*, vol. 43, nº 1, pp. 129-141, 2009.
- [6] D. Steinhilber, A. L. Sisson, D. Mangoldt, P. Welker, K. Licha y R. Haag, «Synthesis, reductive cleavage, and cellular interaction studies of biodegradable, polyglycerol nanogels,» *Advanced Functional Materials*, vol. 20, nº 23, pp. 4133-4138, 2010.
- [7] J. Khandare, A. Mohr, M. Calderón, P. Welker, K. Licha y R. Haag, «Structure-biocompatibility relationship of dendritic polyglycerol derivatives,» *Biomaterials*, vol. 31, nº 15, pp. 4268-4277, 2010.
- [8] C. Curschellas, K. Nagy, E. Windhab y H. J. Limbach, «Characteristics of polyglycerol ester and its different fractions,» *Journal of colloid and interface science*, vol. 393, pp. 182-191, 2013.
- [9] R. P. Singh, T. Tripathy, G. P. Karkamar, S. K. Rath, N. C. Karkamar, S. R.

- Pandey, K. Kannan, S. K. Jain y N. T. Lan, «Novel biodegradable flocculants based on polysaccharides,» *CURRENT SCIENCE-BANGALORE*, vol. 78, n° 7, pp. 798-803, 2000.
- [10] F. Renault, B. Sancey, P. M. Badot y G. Crini, «Chitosan for coagulation/flocculation processes-an eco-friendly approach,» *European Polymer Journal*, vol. 45, n° 5, pp. 1337-1348, 2009.
- [11] D. Zeng, J. Wu y J. F. Kennedy, «Application of a chitosan flocculant to water treatment,» *Carbohydrate polymers*, vol. 71, n° 1, pp. 135-139, 2008.
- [12] Z. Defang y Q. Wen, «Study on a novel environment-friendly flocculant for drinking water treatment,» *Arabian Journal of Chemistry*, 2014.
- [13] A. J. Garzón Sanabria, R. T. Davis y Z. L. Nikolov, «Harvesting *Nannochloris oculata* by inorganic electrolyte flocculation: effect of initial cell density, ionic strength, coagulant dosage, and media pH,» *Bioresource technology*, vol. 118, pp. 418-424, 2012.
- [14] T. M. Mata, A. A. Martins y N. S. Caetano, «Microalgae for biodiesel production and other applications: a review,» *Renewable and sustainable energy reviews*, vol. 14, n° 1, pp. 217-232, 2010.
- [15] N. Uduman, Y. Qi, M. K. Danquah, G. M. Forde y A. Hoadley, «Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels,» *Journal of renewable and sustainable energy*, vol. 2, n° 1, p. 012701, 2010.
- [16] M. K. Danquah, L. Ang, N. Uduman, N. Moheimani y G. M. Forde, «Dewatering of microalgal culture for biodiesel production: exploring polymer flocculation and tangential flow filtration,» *Journal of chemical technology and biotechnology*, vol. 84, n° 7, pp. 1078-1083, 2009.
- [17] C. L. Chen, J. S. Chang y D. J. Lee, «Dewatering and Drying Methods for Microalgae,» *Drying Technology*, 2014.
- [18] M. W. Tenney, W. F. Echelberger, R. G. Schuessler y J. L. Pavoni, «Algal flocculation with synthetic organic polyelectrolytes,» *Applied microbiology*, vol.

18, nº 6, pp. 965-971, 1969.

- [19] A. J. Garzón Sanabria, S. S. Ramírez Caballero, F. E. Moss y Z. L. Nikolov, «Effect of algogenic organic matter (AOM) and sodium chloride on *Nannochloopsis salina* flocculation efficiency,» *Bioresource technology*, vol. 143, pp. 231-237, 2013.
- [20] C. Ardila Suárez, *Synthesis, characterization, and properties evaluation of value-added polymer materials from glycerol: polyglycerol, hydrogels and oil-gels*, Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2014.
- [21] A. V. N. H. A. C. A. L. M. Nadia Rodríguez Hamamura, «PREPARACIÓN DE PARTÍCULAS DE QUITOSANO RETICULADAS CON TRIPOLIFOSFATO Y MODIFICADAS CON POLIETILENGLICOL,» *Revista Sociedad Química del Perú*, nº 4, pp. 336-354, 27 10 2010.
- [22] H. Perez y R. Luis, *EVALUACION DEL BIOPOLINERO FO4990 EN LA FLOCULACION DE CHLORELLA VULGARIS UTEX 1803*, Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2014.
- [23] L. F., *Fundamentos de Polímeros*, Mérida: Universidad de los Andes, Facultad de ciencias, 2004.
- [24] S. Salehpour, «Synthesis of stimuli-responsive hydrogels from glycerol,» Ottawa, 2012.
- [25] R. L. G. J.L Mier, *Síntesis de Polímeros. Pesos moleculares. Conformación y configuración*, Universidad da Coruña.
- [26] A. Y. Zahrim, C. Tizaoui y N. Hilal, «Coagulation with polymers for nanofiltration pre-treatment of highly concentrated dyes: a review,» *Desalination*, vol. 266, nº 1, pp. 1-16, 2011.

## BIBLIOGRAFIA

C. Ardila Suárez, *Synthesis, characterization, and properties evaluation of value-added polymer materials from glycerol: polyglycerol, hydrogels and oil-gels*, Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, 2014.

L. F., *Fundamentos de Polímeros*, Mérida: Universidad de los Andes, Facultad de ciencias, 2004.

A. J. Garzón Sanabria, R. T. Davis y Z. L. Nikolov, «Harvesting *Nannochloris oculata* by inorganic electrolyte flocculation: effect of initial cell density. ionic strength, coagulant dosage, and media pH,» *Bioresourse technology*, vol. 118, pp. 418-424, 2012.

A. J. Garzón Sanabria, S. S. Ramírez Caballero, F. E. Moss y Z. L. Nikolov, «Effect of algogenic organic matter (AOM) and sodium chloride on *Nannochloopsis salina* flocculation efficiency,» *Bioresourse technology*, vol. 143, pp. 231-237, 2013.

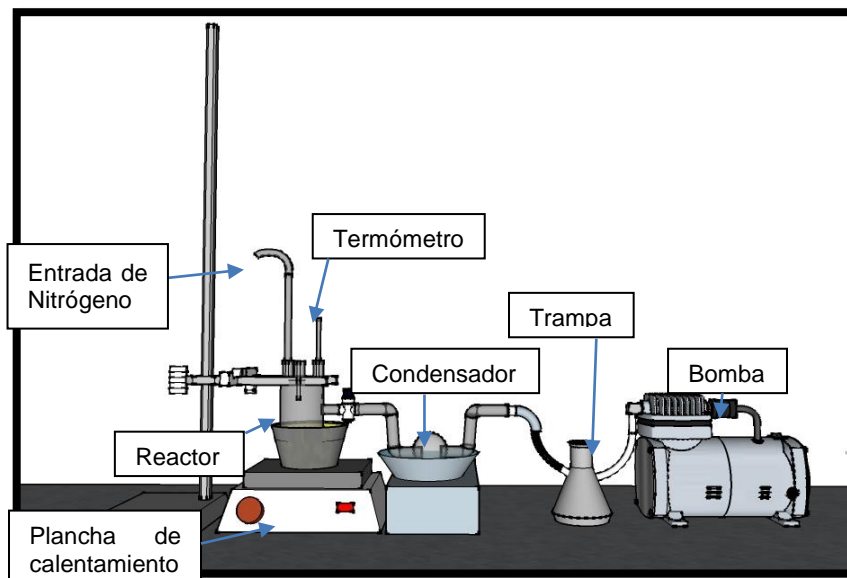
T. M. Mata, A. A. Martins y N. S. Caetano, «Microalgae for biodiesel production and other applications: a review,» *Renewable and sustainable energy reviews*, vol. 14, nº 1, pp. 217-232, 2010.

R. L. G. J.L Mier, *Síntesis de Polímeros. Pesos moleculares. Conformación y configuración*, Universidad da Coruña.

S. Salehpour, «Synthesis of stimuli-responsive hydrogels from glycerol,» Ottawa, 2012.

## ANEXO A Montaje de polimerización y procedimiento:

Figura A-1 Montaje de poliglicerol



### Procedimiento de polimerización:

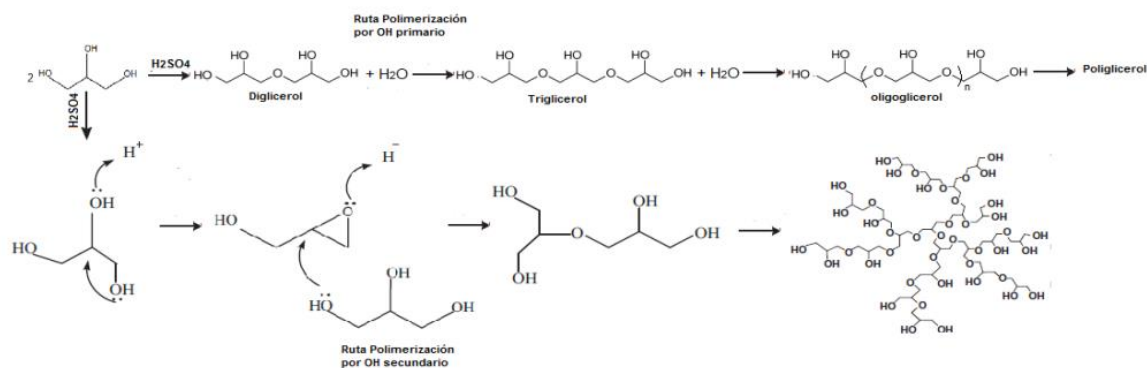
Se midieron 10ml de glicerol, rotoevaporado para eliminar agua e impurezas, 5,2%(p/p) del catalizador  $H_2SO_4$  y si era el caso, el porcentaje de glutamina determinado (0,379 g, 0,758 g o 1,137 g de glutamina) disuelta en 1ml de agua para facilitar la adición. Se colocaron en el reactor que está sumergido en un baño de aceite para proporcionar el calor necesario, cuenta con una entrada de nitrógeno para el burbujeador, que ayuda a eliminar el agua que produce la reacción y el agua introducida junto con la glutamina, un termómetro para el control de la temperatura y una salida a una bomba de vacío para disminuir la presión interna, extraer el agua que se forma y favorecer la reacción. Se utilizó un condensador y una trampa para evitar posibles filtraciones a la bomba y garantizar su correcto funcionamiento. Para los polímeros que tuvieron la adición de glutamina desde un principio, se llevó a cabo la reacción hasta alcanzar el punto de gel y se retiró del baño de aceite. Para los polímeros con adición final se utilizó un tiempo de 2 horas de polimerización inicial, luego se agregó la glutamina disuelta en 1ml de agua y se continuó la reacción hasta volver a observar el punto de gel.

## ANEXO B Reacción de polimerización

La reacción de polimerización con glicerol ocurre por medio de una eterificación, en la cual monómeros se van adicionando continuamente por los extremos activos de las cadenas de polímero en crecimiento. Este tipo de polimerización es llamado por etapas y genera finalmente una distribución continua de pesos moleculares desde el monómero hasta la cadena ramificada de polímero [23].

En estudios realizados por Salehpour [24] se propuso un mecanismo de reacción por etapas para el glicerol usando como catalizador un ácido fuerte, que permite obtener polímeros de relativamente alto peso molecular. La adición de monómeros a la cadena en crecimiento ocurre por medio de dos mecanismos dependiendo del sitio activo al que se agregue el monómero. El primero consiste en la protonación del hidroxilo primario del glicerol, uniendo las dos moléculas en un enlace éter. El segundo se da al usar temperaturas altas que favorecen la formación de un epóxido activo (glicidol) que puede continuar reaccionando con monómeros de glicerol, esta reacción tiene lugar en el grupo carboxilo secundario, generando cadenas ramificadas de polímero [24].

Figura B-1 Polimerización de glicerol



Fuente S. Salehpour, «Synthesis of stimuli-responsive hydrogels from glycerol,» Ottawa, 2012.

## ANEXO C Cálculo del peso molecular del polímero

Peso molecular en número (Mn): corresponde al número de moléculas disueltas en la unidad de volumen de disolución, generalmente se obtiene por métodos de ebulloscopía, crioscopia y osmometría, realizadas con disoluciones diluidas. Viene dada por: [25]

$$Mn = \frac{\sum N_i * M_i}{\sum N_i}$$

Donde  $N_i$  es el número de especies de peso molecular  $M_i$

Peso molecular en masa (Mw): Da una medida ponderada de las fracciones en peso de las moléculas de un determinado tamaño, corresponde a valores obtenidos por viscosimetría de disoluciones diluidas y medidas de dispersión de luz. Viene dada por: [25]

$$Mw = \sum \omega_i * M_i = \frac{\sum W_i * M_i}{\sum W_i} = \frac{\sum N_i * M_i^2}{\sum N_i * M_i}$$

Índice de polidispersidad: permite determinar la amplitud de la distribución de pesos moleculares presentes. Está dado por la expresión:

$$ip = \frac{Mw}{Mn}$$

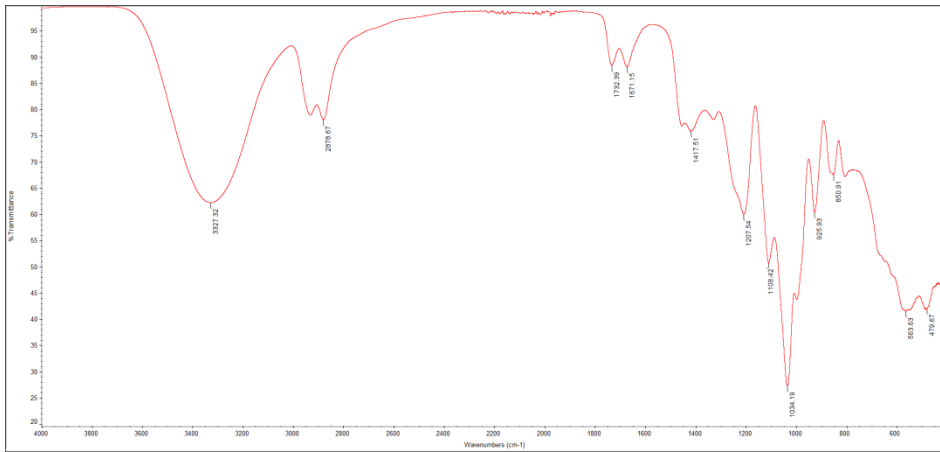
Valores cercanos a la unidad representan una homogeneidad de pesos moleculares, por lo que la campana de distribución será estrecha, si los valores son mucho mayores a la unidad habrá una gran dispersión y la campana de dispersión será abierta [25].

**Tabla C-1** Resultados del peso molecular para las muestras

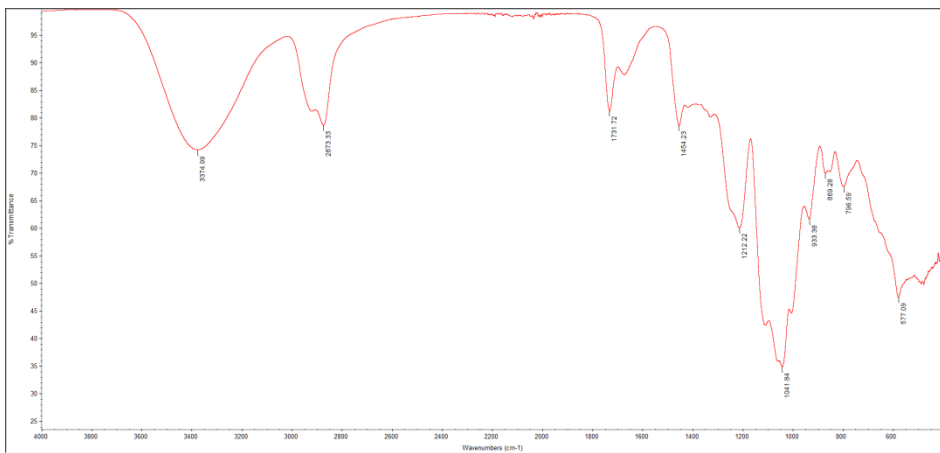
|                    |                    |         |         |          |            |
|--------------------|--------------------|---------|---------|----------|------------|
|                    | <b>5% INICIAL</b>  |         |         |          |            |
|                    | pf13               | pf12    | pf8     | promedio | desviación |
| <b>MW (DALTON)</b> | 1012,41            | 1173,66 | 1250,95 | 1145,67  | 121,71     |
| <b>MN (DALTON)</b> | 986,51             | 1136,63 | 1210,32 | 1111,15  | 114,06     |
| <b>IP</b>          | 1,03               | 1,03    | 1,03    | 1,03     | 0,00       |
|                    | <b>10% INICIAL</b> |         |         |          |            |
|                    | pf7                | pf15    | pf16    | promedio | desviación |
| <b>MW (DALTON)</b> | 979,04             | 856,98  | 907,32  | 914,45   | 61,34      |
| <b>MN (DALTON)</b> | 945,11             | 823,36  | 871,31  | 879,93   | 61,33      |
| <b>IP</b>          | 1,04               | 1,04    | 1,04    | 1,04     | 0,00       |
|                    | <b>15% INICIAL</b> |         |         |          |            |
|                    | pf20               | pf18    | pf10    | promedio | desviación |
| <b>MW (DALTON)</b> | 952,02             | 883,41  | 663,92  | 833,11   | 150,49     |
| <b>MN (DALTON)</b> | 888,23             | 833,09  | 649,83  | 790,38   | 124,81     |
| <b>IP</b>          | 1,07               | 1,06    | 1,02    | 1,05     | 0,03       |
|                    | <b>5% FINAL</b>    |         |         |          |            |
|                    | pf21               | pf17    | pf3     | promedio | desviación |
| <b>MW (DALTON)</b> | 1187,29            | 914,96  | 1396,50 | 1166,25  | 241,46     |
| <b>MN (DALTON)</b> | 1142,98            | 873,48  | 1338,44 | 1118,30  | 233,46     |
| <b>IP</b>          | 1,04               | 1,05    | 1,04    | 1,04     | 0,00       |
|                    | <b>10% FINAL</b>   |         |         |          |            |
|                    | pf11               | pf9     | pf4     | promedio | desviación |
| <b>MW (DALTON)</b> | 1006,76            | 1246,12 | 1118,12 | 1123,67  | 119,78     |
| <b>MN (DALTON)</b> | 967,18             | 1193,97 | 1046,42 | 1069,19  | 115,10     |
| <b>IP</b>          | 1,04               | 1,04    | 1,07    | 1,05     | 0,02       |
|                    | <b>15% FINAL</b>   |         |         |          |            |
|                    | pf5                | pf19    | pf14    | promedio | desviación |
| <b>MW (DALTON)</b> | 1003,79            | 1015,39 | 856,65  | 958,61   | 88,49      |
| <b>MN (DALTON)</b> | 958,57             | 970,43  | 830,79  | 919,93   | 77,42      |
| <b>IP</b>          | 1,05               | 1,05    | 1,03    | 1,04     | 0,01       |

## ANEXO D Espectros Infrarrojos

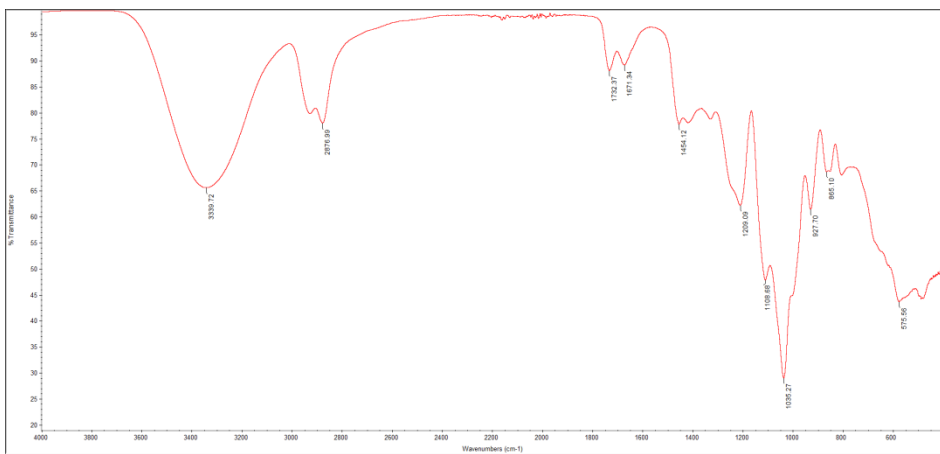
Polímeros con cantidad baja (5%) de glutamina agregada desde el inicio



pf13

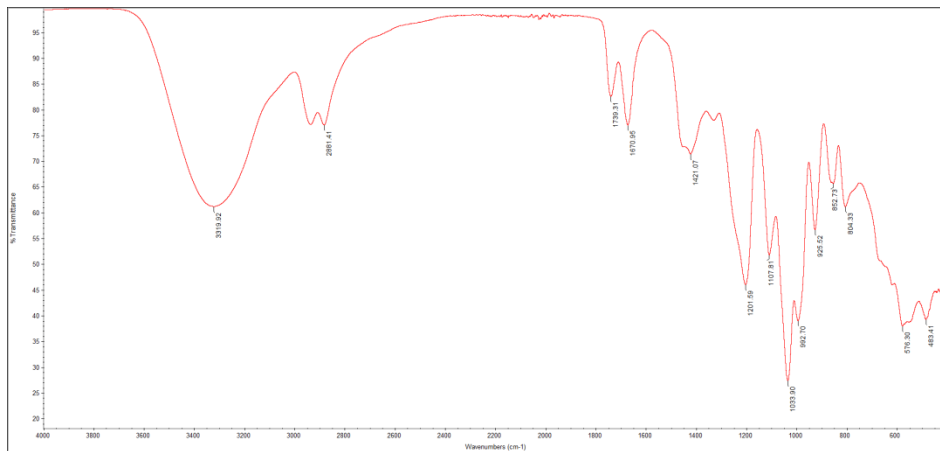


pf8

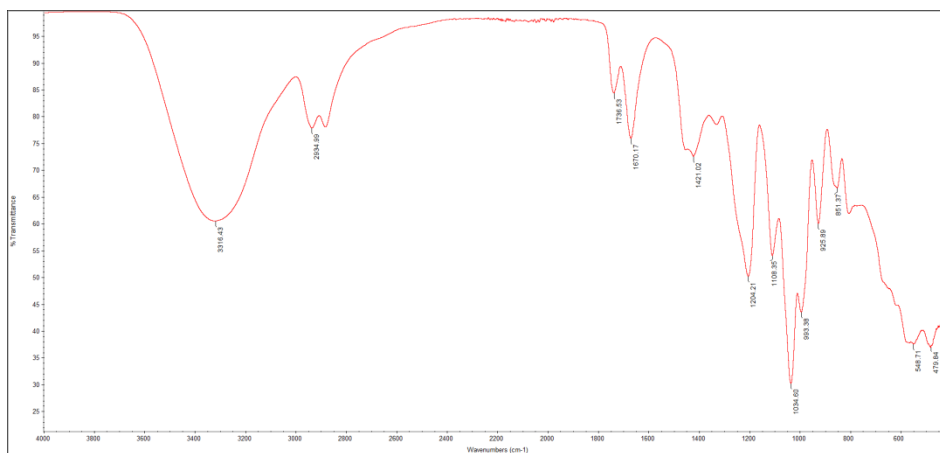


pf12

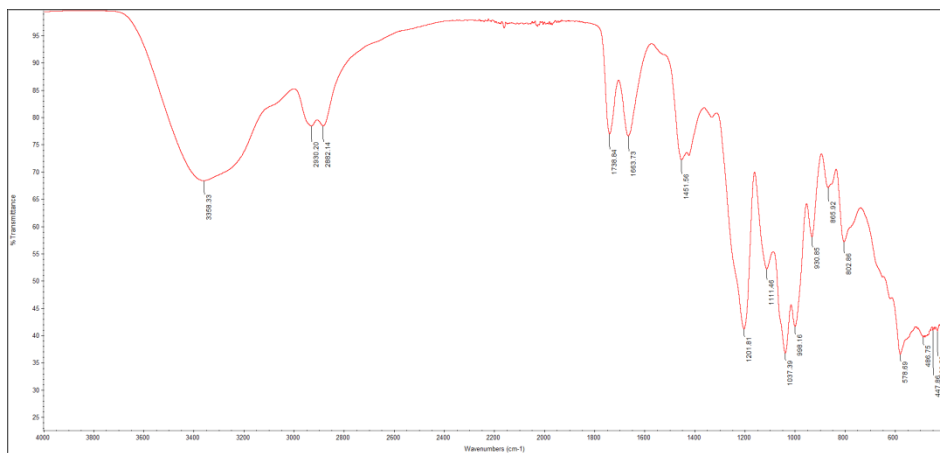
Polímeros con cantidad media (10%) de glutamina agregada desde el inicio



pf15

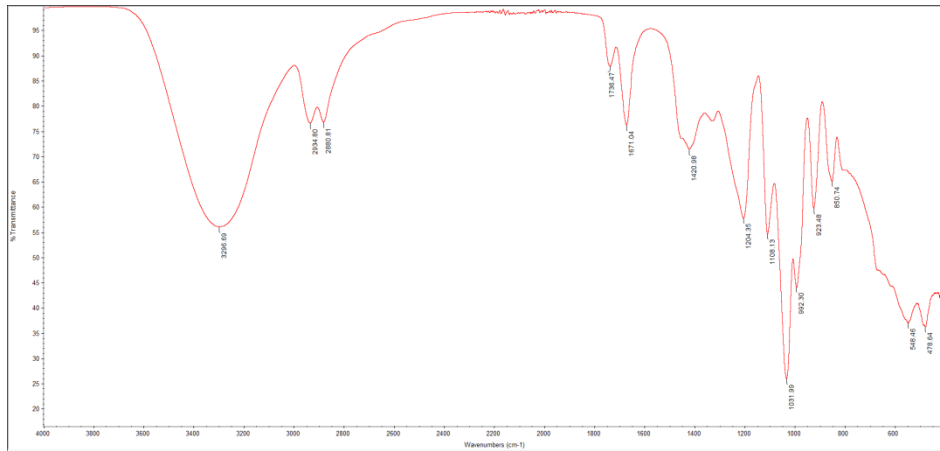


pf16

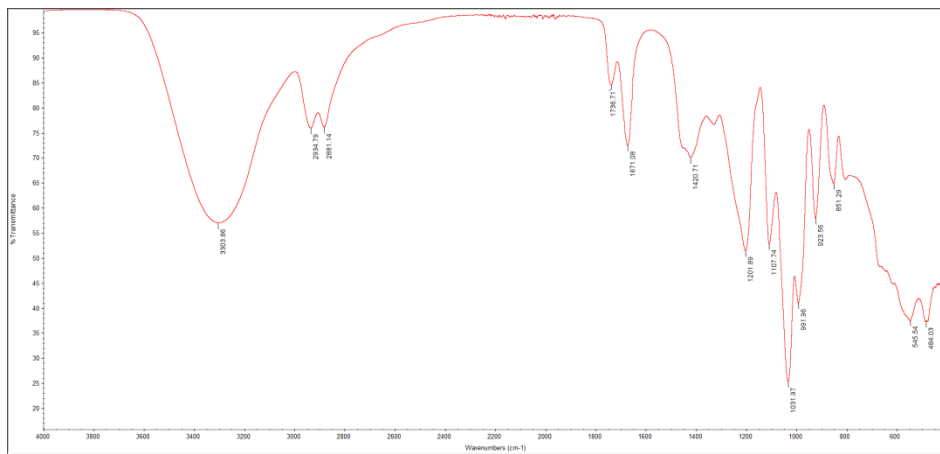


pf7

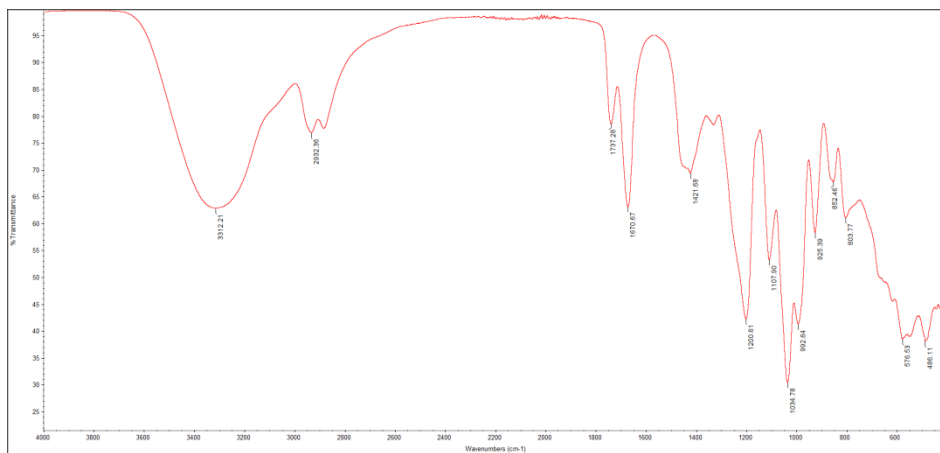
# Polímeros con cantidad alta (15%) de glutamina agregada desde el inicio



pf10

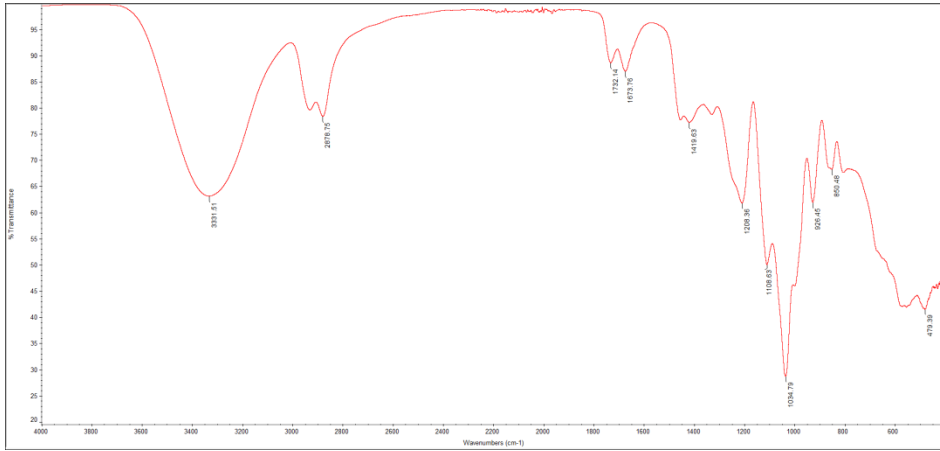


pf18

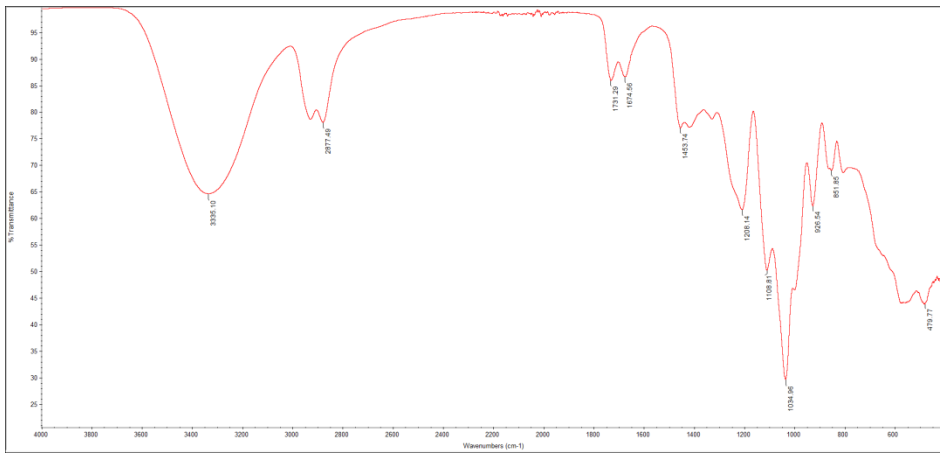


pf20

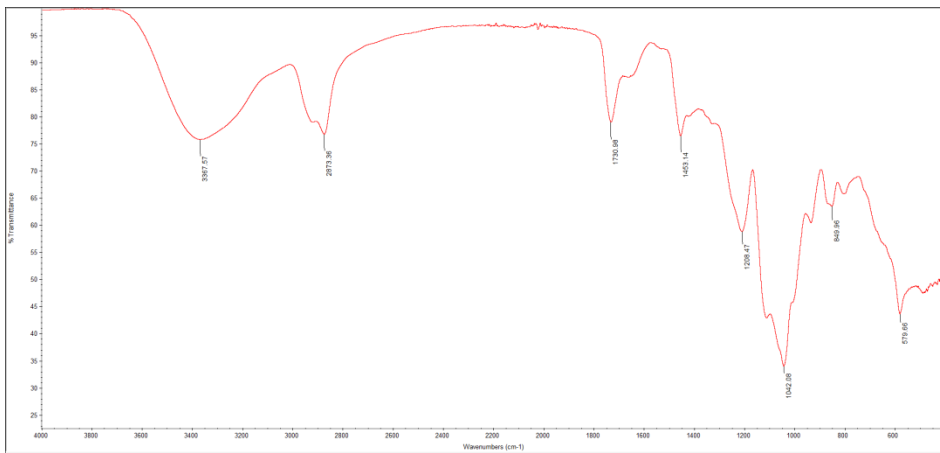
## Polímeros con cantidad baja (5%) de glutamina agregada al final



pf17

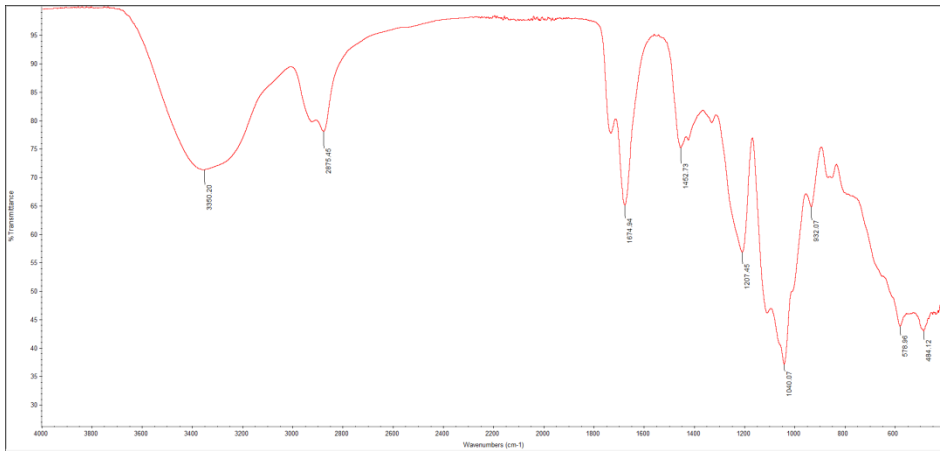


pf21

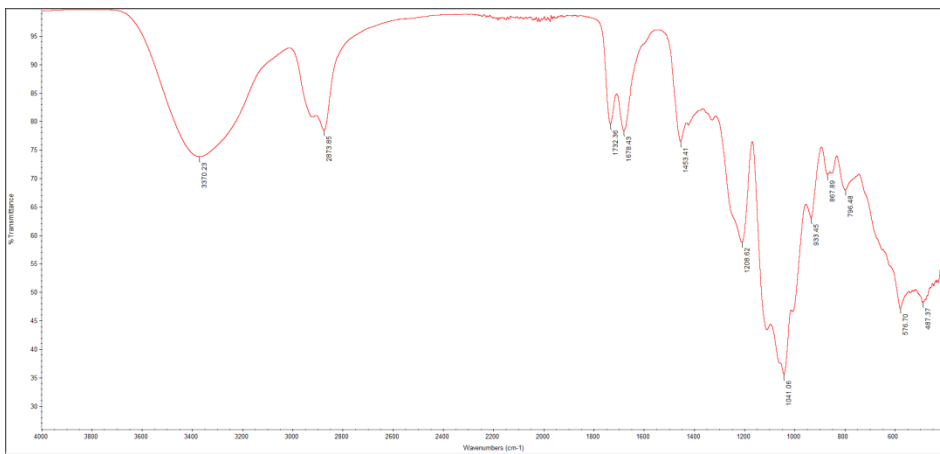


pf3

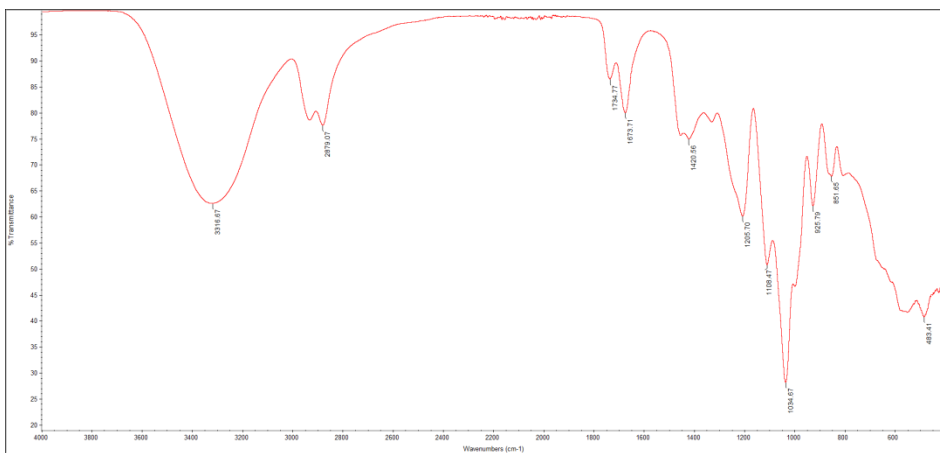
# Polímeros con cantidad media (10%) de glutamina agregada al final



pf4

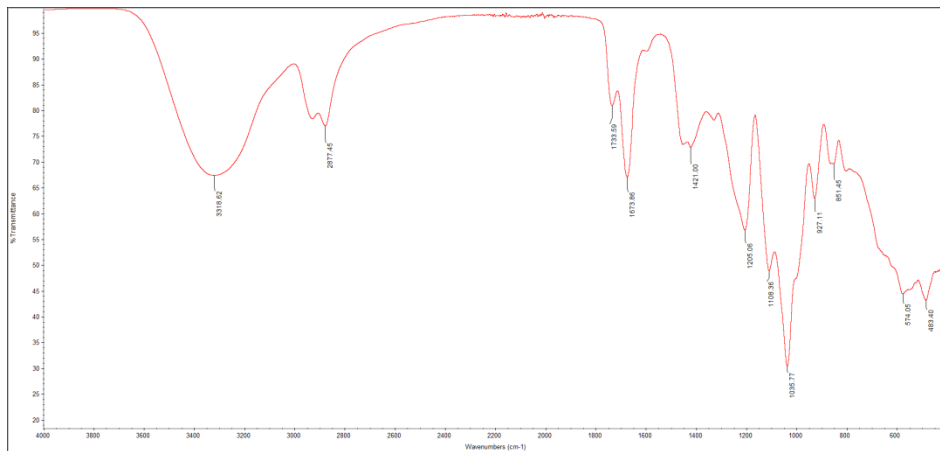


pf9

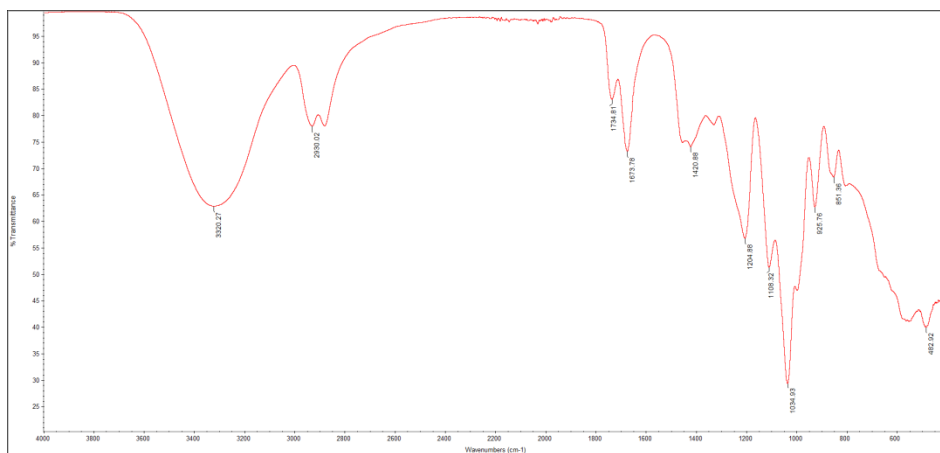


pf11

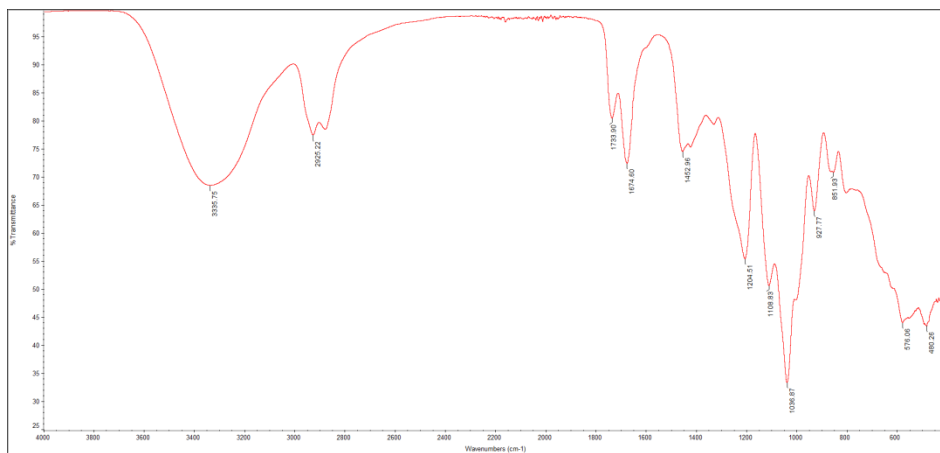
## Polímeros con cantidad alta (15%) de glutamina agregada al final



pf5

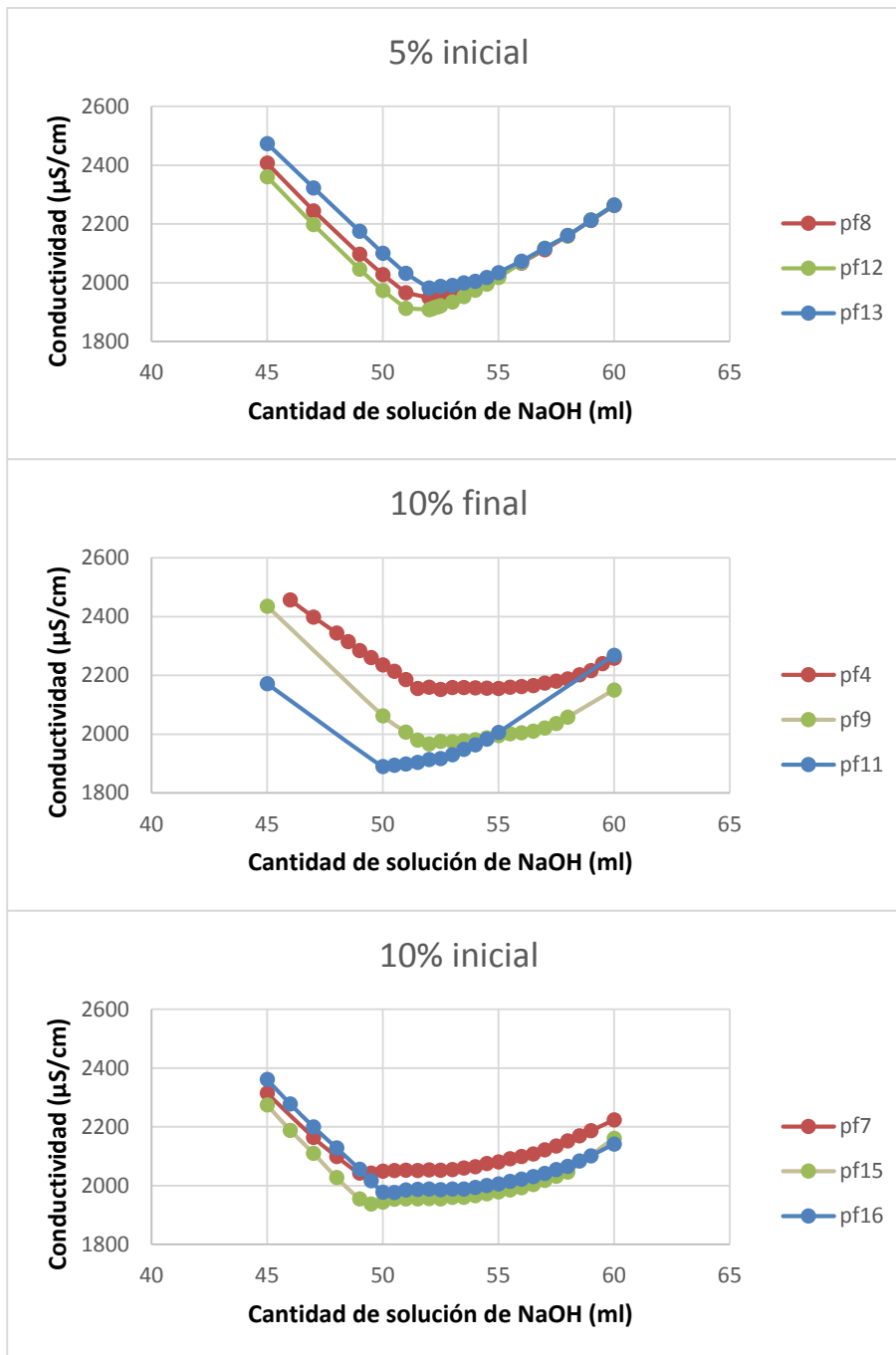


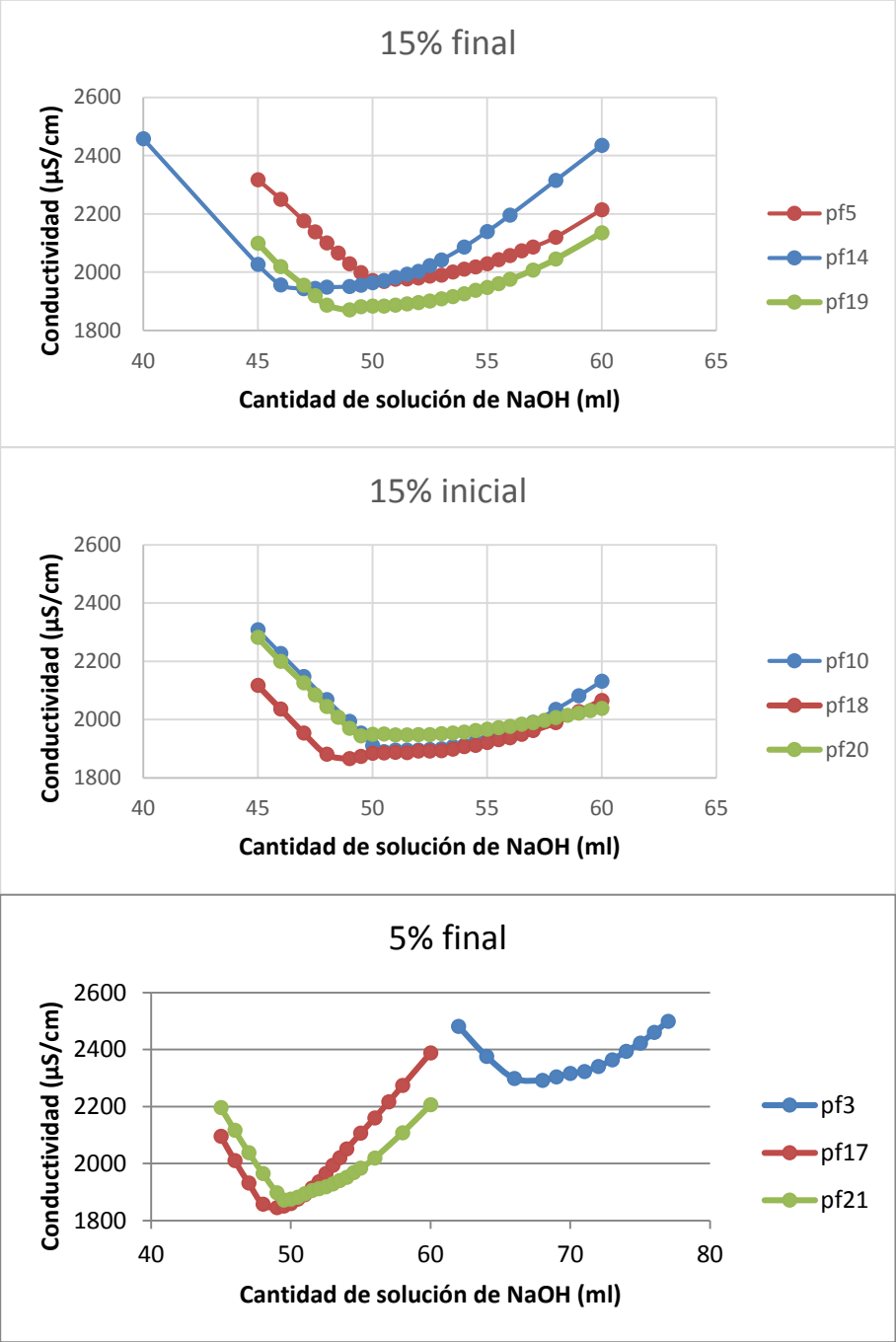
pf14



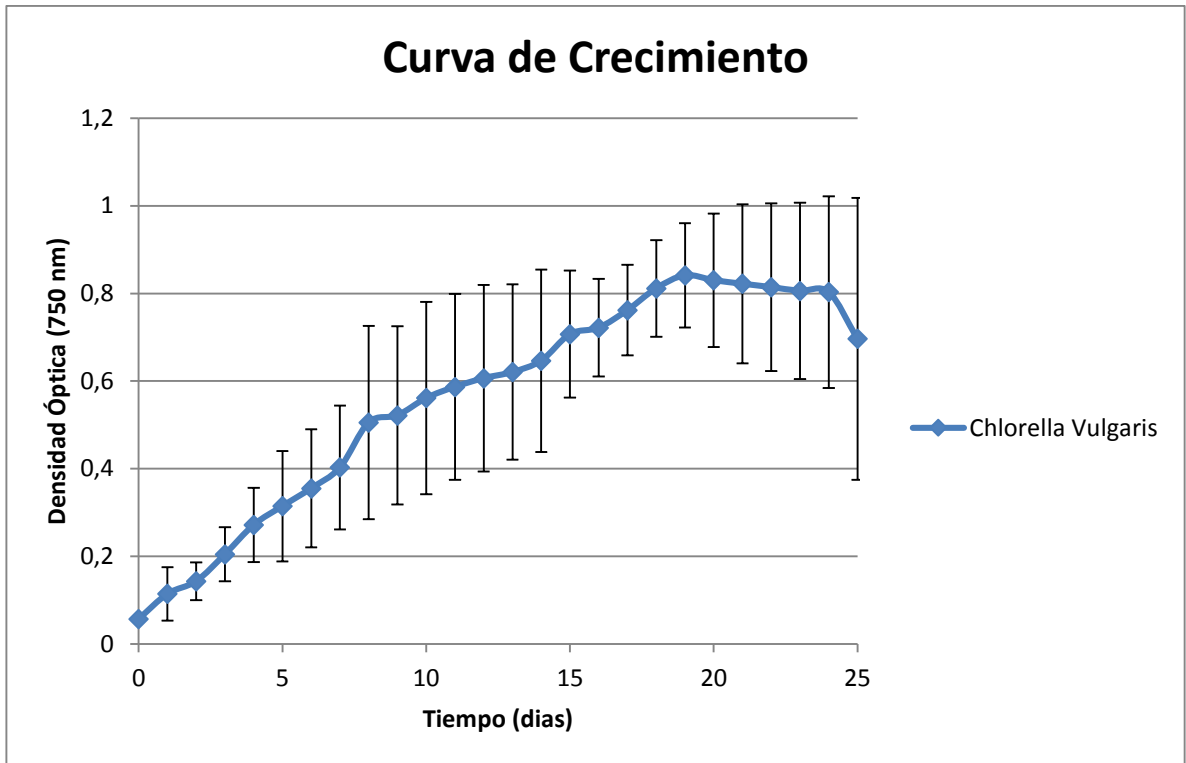
pf19

## ANEXO E Resultados de la titulación





**ANEXO F** Curva de crecimiento de *Chlorella vulgaris*



## ANEXO G Análisis de varianza para los resultados de la floculación

Resultados de la pruebas preliminares sin ajuste de pH

| POLÍMERO         | CONCENTRACIÓN DE POLÍMERO |                 | CONTROL |
|------------------|---------------------------|-----------------|---------|
|                  | BAJO (50 MG/L)            | ALTO (500 MG/L) |         |
| PF21 (5% FINAL)  | 9,45%                     | 10,46%          |         |
| PF9 (10% FINAL)  | 8,89%                     | 10,87%          |         |
| PF19 (15% FINAL) | 6,47%                     | 8,41%           |         |
| CONTROL          |                           |                 | 8,97%   |

Eficiencias de Remoción de las pruebas con ajuste de pH

| POLÍMERO            | CONCENTRACIÓN DE POLÍMERO |                 | CONTROL |
|---------------------|---------------------------|-----------------|---------|
|                     | BAJO (50 MG/L)            | ALTO (500 MG/L) |         |
| PF 13 (5% INICIAL)  | 11.7%                     | 24.4%           |         |
| PF 15 (10% INICIAL) | 9.4%                      | 18.3%           |         |
| PF 20 (15% INICIAL) | 8.5%                      | 20.7%           |         |
| PF21 (5% FINAL)     | 8.0%                      | 18.3%           |         |
| PF 9 (10% FINAL)    | 12.5%                     | 22.2%           |         |
| PF 19 (15% FINAL)   | 10.5%                     | 22.0%           |         |
| CONTROL             |                           |                 | 9.0%    |

ANOVA de los resultados de las muestras con concentración alta de polímero y ajuste de pH. (alfa=0,05)

| ORIGEN DE LAS VARIACIONES  | SUMA DE CUADRADOS | GRADOS DE LIBERTAD | PROMEDIO DE LOS CUADRADOS | F    | P    | VALOR CRÍTICO PARA F |
|----------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------|------|----------------------|
| MUESTRA (CANTIDAD)         | 41.26             | 2                  | 20.63                     | 1.23 | 0.33 | 3.88                 |
| COLUMNAS (INICIAL O FINAL) | 8.33              | 1                  | 8.33                      | 0.49 | 0.49 | 4.75                 |
| INTERACCIÓN                | 18.61             | 2                  | 9.30                      | 0.55 | 0.59 | 3.88                 |
| DENTRO DEL GRUPO           | 201.49            | 12                 | 16.79                     |      |      |                      |
| TOTAL                      | 269.69            | 17                 |                           |      |      |                      |