



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

USO DE UN BIOFLOCULANTE A BASE DE EXTRACTO TÁNICO DE CÁSCARAS DE  
*Juglans regia* MODIFICADOS PARA LA ELIMINACIÓN DE SULFATOS EN  
SISTEMAS ACUOSOS

**Línea de investigación:**

**Etotoxicología y química ambiental**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Química

**Autora:**

Pereda Villalobos, Carolinne Amelia

**Asesora:**

Ruiz Martel, Candy Janice

ORCID: 0000-0003-4911-022X

**Jurado:**

Barreto Yaya, Danilo Arturo

Castañeda Pérez, Luz Genara

Lezama Vigo, Helmer Heli

Lima - Perú

2024



# USO DE UN BIOFLOCULANTE A BASE DE EXTRACTO TÁNICO DE CÁSCARAS DE *Juglans regia* MODIFICADOS PARA LA ELIMINACIÓN DE SULFATOS EN SISTEMAS ACUOSOS

## INFORME DE ORIGINALIDAD

17%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

1%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	5%
2	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Fuente de Internet	1%
3	<a href="http://bibliotecadigital.ciren.cl">bibliotecadigital.ciren.cl</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://repositorio.puce.edu.ec">repositorio.puce.edu.ec</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="http://idoc.pub">idoc.pub</a> Fuente de Internet	<1%
7	<a href="http://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1%
8	<a href="http://repositorio.unap.edu.pe">repositorio.unap.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS**

**USO DE UN BIOFLOCULANTE A BASE DE EXTRACTO TÁNICO DE CÁSCARAS  
DE *Juglans regia* MODIFICADOS PARA LA ELIMINACIÓN DE SULFATOS EN  
SISTEMAS ACUOSOS**

**Línea de investigación:**

**Etoxicología y química ambiental**

**Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Química**

**Autora:**

Pereda Villalobos, Carolinne Amelia

**Asesora:**

Ruiz Martel, Candy Janice

0000-0003-4911-022X

**Jurado:**

Barreto Yaya, Danilo Arturo

Castañeda Pérez, Luz Genara

Lezama Vigo, Helmer Heli

**Lima – Perú**

**2024**

### **Dedicatoria**

La presente investigación está dedicada a mis padres que siempre me apoyaron en todo momento, a nunca rendirme, a mis tíos que me apoyaron en toda mi etapa escolar y universitaria y a mis mascotas Chust y Minnie, por acompañarme en las madrugadas de estudio.

## **Agradecimientos**

En primer lugar, les agradezco a mis padres que siempre me han brindado su apoyo incondicional para poder cumplir todos mis objetivos personales y académicos. Ellos son los que con su cariño me han impulsado siempre a perseguir mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades. También son los que me han brindado el soporte material y económico para poder concentrarme en los estudios y nunca abandonarlos

A mi asesor de tesis, la Mg. Candy Janice Ruiz Martel, quien me brindó conocimientos, su dedicación y tiempo para el desarrollo del trabajo de investigación.

Al señor Eustaquio, Eriko y la señora Iris por el APOYO en el laboratorio.

A mi jefe, el Ing. José Salinas Coaguila, por el apoyo y comprensión en todo momento para el desarrollo de esta investigación.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>133</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>144</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>155</b>
<i>1.1. Descripción y Formulación del Problema.....</i>	<i>187</i>
<i>1.1.1. Formulación del problema.....</i>	<i>188</i>
<i>1.2. Antecedentes.....</i>	<i>199</i>
<i>1.2.1. Investigaciones Internacionales.....</i>	<i>199</i>
<i>1.2.2. Investigaciones Nacionales.....</i>	<i>20</i>
<i>1.3. Objetivos de la investigación.....</i>	<i>21</i>
<i>1.3.1. Objetivo General.....</i>	<i>221</i>
<i>1.3.2. Objetivos Específicos.....</i>	<i>221</i>
<i>1.4. Justificación.....</i>	<i>221</i>
<i>1.5. Hipótesis.....</i>	<i>22</i>
<i>1.5.1. Hipótesis Específica.....</i>	<i>22</i>
<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>23</b>
<i>2.1. Origen de los drenajes ácidos por sulfatos.....</i>	<i>23</i>
<i>2.1.1. Drenaje ácido de mina (DAM).....</i>	<i>23</i>
<i>2.1.2. Sulfatos procedentes de curtiembres.....</i>	<i>25</i>
<i>2.2. Método Turbidimétrico y Espectroscopía Infrarroja.....</i>	<i>27</i>
<i>2.2.1. Fundamentos de Turbidimetría.....</i>	<i>28</i>

2.2.2. Fundamentos de Espectroscopía Infrarroja.....	29
2.3. Coagulación y Floculación.....	30
2.3.1. Partículas Coloidales.....	30
2.3.2. Coagulación y Floculación.....	31
2.3.3. Etapas de Coagulación.....	332
2.3.4. Factores que afectan a la coagulación.....	33
2.3.5. Tipos de Coagulantes.....	34
2.4. Taninos.....	377
2.4.1. Definición.....	37
2.4.2. Clasificación.....	37
2.5. Reacción de Mannich.....	39
2.5.1 Ventajas de la reacción de Mannich.....	39
2.5.2. Principales reactantes para la aminometilación.....	40
2.5.3. Condiciones de Reacción.....	45
2.5.4. Mecanismos de Reacción.....	45
2.6.2. Factores Edáficos.....	49
2.6.3. Taninos condensados.....	50
<b>III. MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>51</b>
3.1. Tipo de Investigación.....	51
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	51
3.2.1. Espacial (Geográfica).....	51

3.2.2. <i>Temporal</i> .....	51
3.3. <i>Variables</i> .....	51
3.3.1 <i>Variable Independiente</i> .....	51
3.3.2. <i>Variable Dependiente</i> .....	51
3.4. <i>Población y muestra</i> .....	51
3.5. <i>Instrumentos y Materiales</i> .....	51
3.6. <i>Procedimiento</i> .....	52
3.6.1. <i>Síntesis del Biofloculante</i> .....	52
3.6.2. <i>Preparación de la solución de sulfatos y adición del biofloculante</i> .....	54
3.6.3. <i>Determinación de sulfatos</i> .....	54
3.6.4. <i>Cuantificación de Taninos Condensados</i> .....	56
3.7 <i>Análisis de Resultados</i> .....	57
<b>IV. RESULTADOS</b> .....	<b>58</b>
4.1 <i>Remoción de Sulfatos</i> .....	58
4.2 <i>Caracterización del biofloculante</i> .....	62
4.3 <i>Número de Stiasny</i> .....	64
<b>V. DISCUSIONES</b> .....	<b>66</b>
5.1 <i>Remoción de Sulfatos</i> .....	66
5.2 <i>Modificación química de taninos condensados de Juglans regia</i> .....	66
5.3 <i>Caracterización de los taninos condensados de Juglans regia antes y después de la modificación química a través de la reacción de Mannich</i> .....	69

5.4 Número de Stiasny de las cáscaras de <i>Juglans regia</i> .....	70
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	<b>71</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b> .....	<b>72</b>
<b>VIII. REFERENCIAS</b> .....	<b>73</b>
<b>ANEXO A</b> .....	<b>87</b>
<b>ANEXO B</b> .....	<b>88</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> .....	<b>26</b>
<i>Residuos generados por cada operación unitaria de una curtiduría</i> .....	26
<b>Figura 2</b> .....	<b>28</b>
<i>Turbidimetría</i> .....	28
<b>Figura 3</b> .....	<b>29</b>
<i>Frecuencias vibratoriales para algunos enlaces</i> .....	29
<b>Figura 4</b> .....	<b>31</b>
<i>Distribución del tamaño de Partículas en el Agua</i> .....	31
<b>Figura 5</b> .....	<b>32</b>
<i>Desestabilización de un coloide</i> .....	332
<b>Figura 6</b> .....	<b>333</b>
<i>Etapas de coagulación</i> .....	33
<b>Figura 7</b> .....	<b>38</b>
<i>Estructura representativa de un tanino condensado</i> .....	38
<b>Figura 8</b> .....	<b>39</b>
<i>Taninos hidrolizables. (a) Galotaninos y (b) Elagiotaninos</i> .....	399
<b>Figura 9</b> .....	<b>477</b>
<i>Mecanismo de reacción- Reacción de Mannich</i> .....	477
<b>Figura 10</b> .....	<b>48</b>
<i>Mecanismo de ataque electrofílico a un fenol presente en el extracto tánico</i> .....	48

<b>Figura 11.</b> .....	<b>48</b>
<i>Mecanismo de sustitución nucleofílica a un fenol presente en el extracto tánico.</i> .....	48
<b>Figura 12</b> .....	<b>53</b>
<i>Posible producto de la reacción de Mannich con los taninos condensados de Juglans regia.</i> .....	53
<b>Figura 13</b> .....	<b>58</b>
<i>Representación de la Curva de Calibración</i> .....	58
<b>Figura 14</b> .....	<b>59</b>
<i>Absorbancia de la muestra 6</i> .....	59
<b>Figura 15</b> .....	<b>59</b>
<i>Absorbancia de la muestra 8</i> .....	59
<b>Figura 16</b> .....	<b>60</b>
<i>Aplicación del biofloculante</i> .....	60
<b>Figura 17</b> .....	<b>61</b>
<i>Proceso de floculación</i> .....	61
<b>Figura 18</b> .....	<b>61</b>
<i>Sedimentación del biofloculante y los iones sulfatos</i> .....	61
<b>Figura 19</b> .....	<b>62</b>
<i>Espectro FTIR del Extracto de la muestra 6</i> .....	62
<b>Figura 20</b> .....	<b>63</b>
<i>Espectro FTIR del biofloculante de la muestra 6</i> .....	63

**Figura 21 .....65**

*Extracto seco de tanino condensado.....65*

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.....</b>		<b>17</b>
	<i>Características del Drenaje Ácido Minero (DAM).....</i>	<i>17</i>
<b>Tabla 2.....</b>		<b>27</b>
	<i>Características de aguas contaminadas provenientes de curtiduría.....</i>	<i>27</i>
<b>Tabla 3.....</b>		<b>41</b>
	<i>Clasificación general de las bases de Mannich.....</i>	<i>41</i>
<b>Tabla 4.....</b>		<b>43</b>
	<i>Ejemplos de Selección de sustratos sujetos a una Aminometilación.....</i>	<i>43</i>
<b>Tabla 5.....</b>		<b>44</b>
	<i>Ejemplos de Aminas usadas en la Aminometilación.....</i>	<i>44</i>
<b>Tabla 6.....</b>		<b>46</b>
	<i>Condiciones comunes para la reacción de Aminometilación.....</i>	<i>46</i>
<b>Tabla 7.....</b>		<b>49</b>
	<i>Clasificación botánica.....</i>	<i>49</i>
<b>Tabla 8.....</b>		<b>57</b>
	<i>Valores Obtenidos con respecto a la estadística descriptiva.....</i>	<i>57</i>
<b>Tabla 9.....</b>		<b>57</b>
	<i>Valores obtenidos del p value.....</i>	<i>57</i>
<b>Tabla 10.....</b>		<b>58</b>
	<i>Curva de Calibración.....</i>	<i>58</i>

<b>Tabla 11.....</b>	<b>60</b>
<i>Resultados de Absorbancias y concentraciones finales después de aplicar el biofloculante a base de cáscaras de Juglans regia.....</i>	<i>60</i>
<b>Tabla 12.....</b>	<b>62</b>
<i>Porcentaje de remoción de sulfatos .....</i>	<i>62</i>
<b>Tabla 13.....</b>	<b>63</b>
<i>Señales del espectro FTIR del extracto de Juglans regia (Figura 19) .....</i>	<i>63</i>
<b>Tabla 14.....</b>	<b>64</b>
<i>Señales del espectro FTIR del biofloculante de Juglans regia (Figura 20) .....</i>	<i>64</i>
<b>Tabla 15.....</b>	<b>64</b>
<i>Resultados del peso de la masa seca (Número de Stiasny).....</i>	<i>64</i>
<b>Tabla 16.....</b>	<b>65</b>
<i>Porcentaje de Taninos condensados .....</i>	<i>65</i>

## RESUMEN

Los iones sulfatos han sido un problema para su remoción en las plantas de tratamiento de aguas (PTAR), gracias a esta problemática se han desarrollado diversos métodos para su remoción, tales como el uso de policloruro de aluminio y sulfato de aluminio. Actualmente se han desarrollado diversos biofloculantes para la remoción de nitratos, sólidos suspendidos totales y otros parámetros. En la presente investigación se ha sintetizado un biofloculante, el cual fue sintetizado mediante la reacción de Mannich, por lo que incluye tres reactivos: un sustrato (extracto tánico de cáscaras de *Juglans regia*), formaldehído y un derivado de amina (cloruro de amonio). Se sintetizaron diez biofloculantes naturales, los cuales fueron evaluados en soluciones de sulfatos a 1600 ppm. A partir de los datos obtenidos, se realizó el análisis estadístico a través del software Minitab, lo cual encontró una remoción significativa de iones sulfatos, obteniendo un promedio de 98.78% de remoción de los iones sulfatos. Además se confirmó que la síntesis fue exitosa, puesto a que se encontró en el espectro infrarrojo la señal  $1466.80\text{ cm}^{-1}$ , la cual indica la torsión del grupo N-H, confirmando así una síntesis exitosa.

**Palabras clave:** biofloculante, coagulación/floculación, reacción de Mannich, taninos, sulfatos.

## ABSTRACT

Sulfate ions have always been a problem for their elimination in water treatment plants (WWTP). Thanks to this problem, various methods have been developed for their removal, such as the use of polyaluminum chloride and aluminum sulfate. Currently, various bioflocculants have been developed for the removal of nitrates, total suspended solids and other parameters. In the present investigation, a bioflocculant has been synthesized, which was synthesized through the Mannich reaction, so it includes three reagents: a substrate (tannic extract of *Juglans regia* peels), formaldehyde and an amine derivative (ammonium chloride). . Ten natural bioflocculants were synthesized, which were evaluated in sulfate solutions at 1600 ppm. From the data obtained, the statistical analysis was carried out through the Minitab software, which found a significant removal of sulfate ions, obtaining an average of 98.78% removal of sulfate ions. Furthermore, it was confirmed that the synthesis was successful, since the signal 1466.80  $\text{cm}^{-1}$  was found in the infrared spectrum, which indicates the twisting of the N-H group, thus confirming a successful synthesis.

**Keywords:** bioflocculant, coagulation/flocculation, Mannich reaction, tannins, sulfates.

## I. INTRODUCCIÓN

El agua ha sido y es un recurso necesario para el desarrollo del ser humano; sin embargo, la falta de conocimiento y el mal uso han causado su contaminación, el cual ha sido muy afectado por sustancias muy peligrosas y difíciles de tratar debido a su carácter químico (Samboni, 2007).

El sector minero ocasiona el mayor impacto ambiental con respecto a los recursos hídricos que utiliza en las zonas donde se desarrolla. Cabe destacar que el uso del agua en esas zonas es usado por actividades agrícolas, ganaderas y el consumo humano (Fernández et al., 2019).

Uno de los impactos ambientales que ocasiona este sector son los Drenajes Ácidos Mineros (DAM) los cuales son originados por la lixiviación, a partir de la oxidación de sulfuros metálicos, la causa más conocida es por la pirita ( $\text{FeS}_2$ ), la cual, en presencia del oxígeno proveniente del aire y agua, libera iones metálicos, hidrogeniones y sulfatos (INAP, 2014).

El sulfato, como anión común en el ambiente acuático, está ampliamente distribuido en varios ambientes y juega un papel importante en los ciclos biogeoquímicos. Sin embargo, como componente constante en el medio acuático, su problema de contaminación a menudo se descuida. En los últimos años, con el desarrollo de la industrialización y la urbanización, la contaminación por sulfatos en el medio acuático es más prominente, recibiendo cada vez más atención de los administradores e investigadores (Yang et al., 2016).

El aumento de concentración de iones sulfato al medio acuático no solo amenaza la salud humana y el equilibrio ecológico (Geurts et al., 2009), también pueden afectar la meteorización del carbonato, los procesos de erosión y la evolución del ciclo del carbono (Tostevin, 2014). Estudios previos han demostrado que, cuando el cuerpo humano ingiere sulfato, causará varias enfermedades, por ejemplo, diarrea, deshidratación y trastornos gastrointestinales, etc (Man et al., 2014). El sulfato en el ambiente acuático puede

transformarse en sustancias tóxicas bajo ciertas condiciones, lo que resulta en la pérdida de elementos metálicos esenciales en plantas acuáticas y cambios en la original función ecohidrológica, por consiguiente, se considera que una contaminación de las aguas subterráneas y superficiales (Johnson et al., 2020).

Debido a ese problema ocasionado por los DAM, los agentes reguladores en Perú (SEDAPAL, ANA, etc) y agentes reguladores en el mundo están preocupados sobre la elevada concentración de sulfatos en los cuerpos de agua, en consecuencia, se ha manifestado en normas más estrictas para estos aniones, Países como Estados Unidos, Australia, Canadá y África del Sur están investigando alguna forma para mitigar a los sulfatos (INAP, 2003).

En la tabla 1 se tiene referencia de concentraciones de sulfatos en aguas de Drenaje Minero, las cuales son conocidas como DAM o AMD (Vipiranta et al., 2022).

La industria minera ha invertido grandes cantidades de dinero para prevenir, controlar, mitigar y detener el lanzamiento de DAM utilizando las mejores tecnologías disponibles, pero los DAM siguen siendo uno de los mayores pasivos ambientales asociado a la minería (Neuman et al., 2008).

Entre las tecnologías empleadas para el tratamiento de aguas y aguas residuales, la coagulación y floculación son algunos de los tratamientos más utilizados, principalmente porque se tratan de procedimientos sencillos y de bajo costo. Además de que son fácilmente eliminados mediante técnicas simples, como la sedimentación y filtración (Hameed et al., 2016).

Actualmente se han desarrollado nuevas tecnologías para su eliminación, utilizando la precipitación y nanofiltración, con respecto a la precipitación se utiliza un producto llamado Multiflo y un reactor de mezcla Turbomix para la eliminación de sulfatos, dando como producto la sal Etringita (Wittmann et al., 2012), las cuales no promueven una economía circular, puesto a que se utiliza un floculante sintético.

**Tabla 1***Características del Drenaje Ácido Minero (DAM)*

<b>Analito</b>	<b>DAM</b>
<b>pH</b>	4.2
<b>DQO (ppm)</b>	23
<b>Cloruro (ppm)</b>	15
<b>Fluoruro (ppm)</b>	26
<b>Sulfato (ppm)</b>	1600
<b>Nitrato (ppm)</b>	66
<b>Nitrito (ppm)</b>	<7
<b>Amonio (ppm)</b>	0.62
<b>Fosfato (ppm)</b>	0.034
<b>Aluminio (ppm)</b>	68
<b>Antimonio (ppb)</b>	<0.5
<b>Arsénico (ppb)</b>	<0.5
<b>Cadmio (ppb)</b>	42
<b>Hierro (ppm)</b>	2
<b>Manganeso (ppm)</b>	9.5

Los productos a base de plantas se han utilizado por muchos siglos como agentes de purificación de agua (Morawetz, 1933). Los taninos, en el pasado, se han utilizado en calderas de aguas para evitar la formación de incrustaciones y además se usa como agentes reductores de viscosidad (Khanbabaee y Ree, 2001). Algunos sementales informaron que el uso de taninos o taninos modificados tienen propiedades como coagulantes (Grenda et al., 2018) para la

eliminación de partículas (Özacar y Şengil, 2003), o incluso en el tratamiento de aguas superficiales del río o efluentes contaminados con surfactantes (Beltrán-Heredia et al., 2010).

Se han realizado estudios, donde según Rusu et al. (2018), los taninos condensados provenientes de la cáscara de *Juglans regia* poseen valores comparables con las que se encuentran en la cáscara de nuez de pecana (do Prado et al., 2014), pero mucho superior a los resultados obtenidos de las almendras (Lin et al., 2016) o a la avellana y su piel (Price et al., 1978).

Este trabajo plantea modificar químicamente la estructura de los taninos mediante la reacción de Mannich para obtener un biofloculante (Beltrán et al, 2010), además estas estructuras adquieren un carácter anfótero facilitando la capacidad de eliminación de metales pesados ionizados, aniones y la disminución de diversos parámetros físicos y químicos (Beltrán y Sánchez, 2009). Logrando así la disminución de la concentración de sulfatos existentes en los sistemas acuosos.

## **1.1. Descripción y Formulación del Problema**

### ***1.1.1. Formulación del problema***

#### **1.1.1.1. Problema general**

- ¿Cuál es la capacidad del biofloculante sintetizado a partir de cáscaras de *Juglans regia* para la eliminación de sulfatos en sistemas acuosos?

#### **1.1.1.2. Problemas específicos**

- ¿Cómo se puede corroborar una correcta síntesis del biofloculante a base de cáscaras de *Juglans regia*?
- ¿Cómo se puede determinar la capacidad de remoción del biofloculante a base de cáscaras de *Juglans regia*?

## 1.2. Antecedentes

### 1.2.1. Investigaciones Internacionales

Existen diversos métodos para la remoción de iones sulfatos, por ejemplo, Zuo et al. (2018), tuvo como objetivo eliminar iones sulfatos a través de la deionización capacitiva (CDI), el cual utiliza electrodos de carbón activado con un delgado recubrimiento de alcohol vinílico funcionalizado con 24 aminas cuaternarias que contiene 25 partículas de resina selectivas de sulfatos. La capacidad total de adsorción de sal del electrodo fue de un 42%.

En China, Weixiao (2017), idearon un método de precipitación de sulfatos a través de la sal Etringita, inhibiendo la presencia de magnesio, el cual dio un resultado sumamente óptimo con un 99.7% de reducción, dando como relación de calcio- sulfato de 3.20.

No se han utilizado taninos para la eliminación de sulfatos, pero si se han desarrollado floculantes a base de extracto tánico para tratamiento de aguas residuales, un caso de ellos es en Portugal, Grenda (2018), usó extracto de taninos para ser modificados mediante una aminometilación de Mannich con formaldehído y dietanolamina.

Bello (2019), también desarrolló una aminometilación de Mannich donde exploró el potencial del uso del extracto tánico como coagulante, además extrajo los taninos con agua caliente y se pulverizaron mediante secado por aspersion y liofilización, los cuales se cationizaron mediante la reacción de Mannich con formaldehído y dietanolamina o etanolamina, este bioflocualnte sintetizado se utilizó en una prueba de jarras mejorando la sedimentación por cambio de pH.

Machado (2020) desarrolló una síntesis ecoamigable con el medio ambiente para el desarrollo de un biofloculante a base de taninos sin el uso de formaldehído y la optimización de este diseño a través de un Central Diseño Giratorio del Compuesto (CCRD), para esto utilizó hidróxido de amonio y taninos.

Amin et al. (2016) tenía como objetivo disminuir la turbidez, para ello utilizó cáscaras de *Prunus amygdalus* para eliminar la turbidez de las aguas, obteniendo así un 70% de remoción a una dosis de 0,5 gramos de extracto crudo por un tamaño de coagulante de 0,3 mm. El pH se ajustó mejor utilizando 2,0 gramos de coagulante extraído. Los coagulantes también se compararon con coagulantes inorgánicos como el alumbre. Se encontró que la actividad coagulante de la cáscara de nuez de *Prunus amygdalus* es aproximadamente (70%) igual a la de otros naturales coagulantes orgánicos. Este proceso de obtención de coagulantes naturales a partir de cáscara de *Prunus amygdalus* es muy comercial y respetuoso con el medio ambiente.

Además, Rusu et al. (2018), ha demostrado que los taninos condensados provenientes de la cáscara de *Juglans regia* tiene valores comparables a los que se encuentran en la cáscara de nuez de pecana (do Prado et al., 2014), pero mucho superior a las almendras y avellanas (Price et al., 1978).

Y también se ha demostrado que la cáscara de nuez es un material liviano, con cualidades de resistencia térmica, no es tóxico, además que requiere de un bajo nivel de tecnología y energía para su proceso, al ser un desecho presenta un bajo costo y puede ser útil dentro de la economía circular ya que es biodegradable, lo cual se considera muy útil para el desarrollo de productos innovadores (Parodi, 2016).

### ***1.2.2. Investigaciones Nacionales***

Castillo (2016) desarrolló un método el para la eliminación de sulfatos en aguas de mina, el cual utilizó cal ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) para la eliminación de algunos metales pesados y posteriormente usó hidróxido de aluminio ( $\text{Al(OH)}_3$ ) para la eliminación de sulfatos.

Morales (2016) utilizó cal ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) y policloruro de aluminio (PCA) para la remoción de iones sulfato en un medio básico, a la vez utilizó tecnologías como la celda de

flotación Denver. Además, determinó la tasa másica de PCA: sulfatos y la concentración de cal a utilizar (ppm), obteniendo una remoción de sulfatos de un 91.2%.

### **1.3. Objetivos de la investigación**

#### ***1.3.1. Objetivo General***

Sintetizar y evaluar la capacidad coagulante/floculante de los extractos tánicos de *Juglans regia* modificados químicamente para la eliminación de los iones sulfatos.

#### ***1.3.2. Objetivos Específicos***

- Sintetizar el biofloculante a base de extracto tánico de cáscaras de *Juglans regia* mediante la reacción de Mannich
- Caracterizar el biofloculante a base de extracto tánico de cáscaras de *Juglans regia* mediante la reacción de Mannich por Espectroscopia Infrarroja IR.
- Evaluar la eficiencia del biofloculante a base de extracto tánico de cáscaras de *Juglans regia* modificadas químicamente mediante la reacción de Mannich, a través del método turbidimétrico.

### **1.4. Justificación**

El presente tema de investigación pretende incentivar a la comunidad científica acerca del uso de desechos para mitigar impactos ambientales, además incentiva la economía circular.

Por otro lado, se pretende hacer un ahorro de costos tanto para el tratamiento de los sistemas acuosos contaminados con los iones sulfatos y aprovechar los desechos de dicha operación para otros usos, tales como la producción de biogás y abono.

Es por ello que afirmamos que el presente estudio radica en presentar información técnica para garantizar la eliminación de sulfatos en sistemas acuosos, los cuales darán

resultados relevantes para que este pueda ser puesto en la práctica industrial y además de contribuir con el saneamiento del medio ambiente.

## **1.5. Hipótesis**

El biofloculante sintetizado a base de taninos de la corteza de *Juglans regia* modificados mediante la reacción de Mannich permite remover los iones sulfato en soluciones acuosas.

### ***1.5.1. Hipótesis Específica***

Los valores obtenidos en la remoción de iones sulfatos a través del biofloculante sintetizado a base de cáscaras de *Juglans regia* modificado darán un valor mayor de 0.05 con respecto al *pvalue*.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Origen de los drenajes ácidos por sulfatos

#### 2.1.1. Drenaje ácido de mina (DAM)

Las aguas residuales ácidas ricas en azufre son los subproductos de una variedad de operaciones industriales como procesamiento galvanico y depuración de gases de combustión (Johnson, 2000).

El drenaje ácido (DAM) se produce cuando el material que contiene sulfuro está expuesto al oxígeno y agua, la producción de los DAM generalmente ocurre en rocas que contienen sulfuro de hierro o también conocido como la pirita ( $FeS_2$ ), por lo cual el potencial de los DAM puede ser desafiantes (Armstrong, 1994).

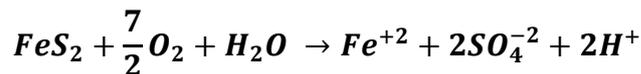
Se intuye que el proceso de oxidación de la pirita es la principal causa de la formación de aguas ácidas y estas reacciones se dan con mayor facilidad debido que el aire entra en contacto con los sulfuros provenientes de la pirita (Nordstrom y Alpers, 1999).

**2.1.1.1. Características de los DAM.** Los DAM son caracterizados por un pH bajo y alta concentración de metales pesados, los DAM pueden contaminar gravemente la superficie y el suelo (Peppas, 2000).

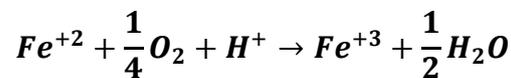
La contaminación por DAM es asociada al tipo y cantidad del mineral de sulfuro oxidado, así como el tipo de minerales de ganga en una roca. Los ingredientes principales para la generación de ácidos son los siguientes: (1) minerales de sulfuro; (2) agua o atmósfera húmeda; y (3) un oxidante (Akcil, 2006).

En los DAM los principales iones son los sulfatos y en los cationes son el hierro, manganeso y aluminio (Skousen y Ziemkiewics, 2002). Las características están descritas en la Tabla 1.

**2.1.1.2. Mecanismo de formación de los DAM.** Según Nordstrom (1999) dice que la producción de las aguas ácidas es producto de la oxidación de la pirita ( $FeS_2$ ) por ser uno de los minerales constituyentes de sulfuro más comunes en las minas, esta oxidación está acompañada de la siguiente reacción:

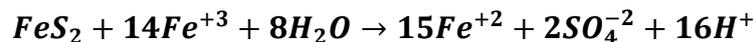


El  $Fe^{+2}$  y el  $SO_4^{-2}$  disueltos representan a la acidez del agua, pero gran parte del hierro se oxidará a  $Fe^{+3}$  con respecto a la siguiente reacción:

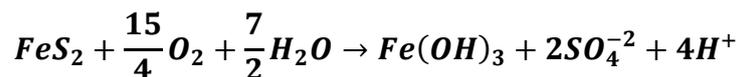


A un drenaje Tipo I (pH: 3,5 – 4,5) la bacteria *Metallogenium* captura el ión férrico y esta reacción es catalizada por la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans*. Además, como el ión férrico se encuentra en un sistema acuoso de tipo I, por una reacción de hidrólisis precipita como hidróxido férrico, lo cual provoca aún más una disminución del pH (Aduvire, 2006).

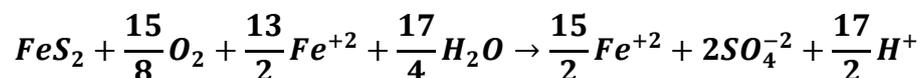
Mientras se va desarrollando la generación de ácido, el hierro en estado de oxidación +3 sirve como agente oxidante y genera la oxidación de minerales que contienen sulfuros, como en la siguiente reacción:



Debido a que la pirita está expuesta, puede precipitar en forma de hidróxido férrico, como en la siguiente reacción:



Como ecuación final tenemos:



Con el fin de estabilizar el catión férrico (Aduvire, 2006)

### ***2.1.2. Sulfatos procedentes de curtiembres***

El proceso de curtido tiene como objetivo transformar las pieles en estables y productos imputrescibles, a cuero. Existen cuatro grupos principales de subprocesos necesarios para realizar el trabajo terminado, el cuero, los cuales son: la explotación de ribera, procesos de curtiduría, recurtido y terminado (Cooman et al., 2003). Sin embargo, para cada producto final, el proceso es diferente, el tipo y cantidad de residuos producidos pueden variar en un amplio rango (Saravanabhavan, 2003).

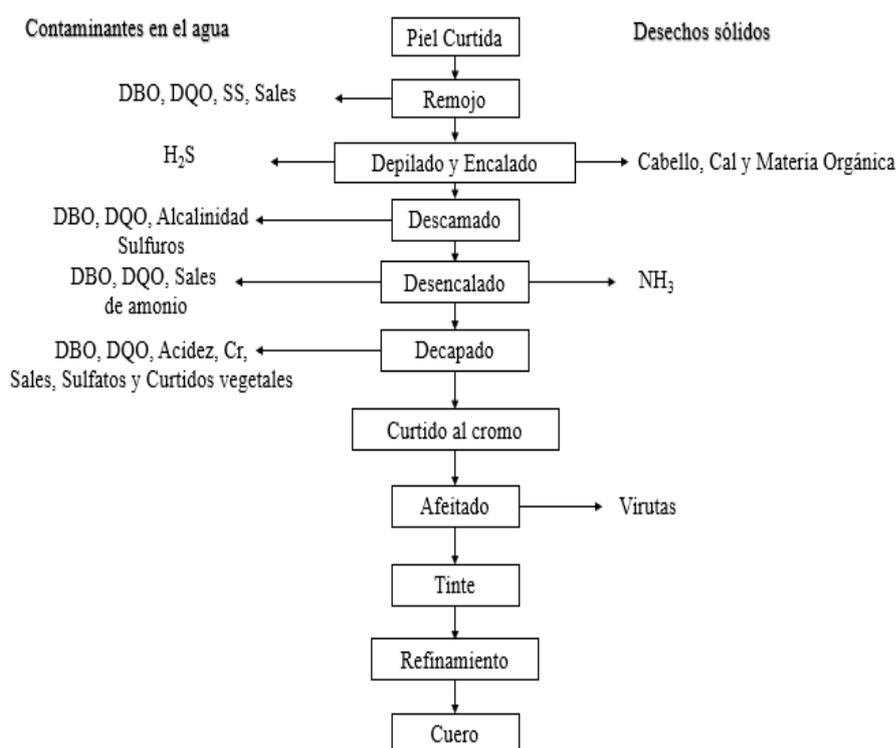
Tradicionalmente la mayor parte de las industrias de curtidurías procesan todo tipo de cueros, partiendo así de procesos de depilado hasta la recurtición. Sin embargo, en algunos casos sólo el cuero predecapado se procesa mediante un proceso de recurtición. Los ácidos, álcalis, sales de cromo, taninos, disolventes, sulfuros, colorantes y muchos otros compuestos que se utilizan en la transformación de pieles crudas o semidecapadas en productos comerciales. Por ejemplo, el actual curtido comercial da lugar a sólo alrededor del 50-70% de absorción de cromo. (Lofrano, 2008)

Una breve descripción de los residuos generados por una la industria de curtiembre y su impacto en el medio ambiente sería adecuada para entender el problema asociado (Fig. 1). Las operaciones de remojo, encalado y desencalado provocan una gran cantidad de sulfuros, cal, amonio, cloruros, sulfatos y proteínas en el efluente. En consecuencia, las aguas residuales se caracterizan por una elevada cantidad de DBO y DQO. El licor de remojo contiene sólidos en suspensión, suciedad, estiércol, sangre adherida a las pieles y cloruro, etc. Los licores de cal son altamente alcalinos, esta corriente contiene sólidos en suspensión, cal disuelta, sulfuro sódico, nitrógeno amoniacal y materia orgánica. Los efluentes de depilado y efluente de descarnado contiene materia grasa de descarnado en suspensión. Los licores de desencalado

llevan una carga significativa de DBO. Los licores de desbaste gastados, debido a la presencia de proteínas solubles de la piel y sales de amonio, contienen una carga significativa de DBO. Los licores de encurtido son ácidos y contienen una gran cantidad de sales. Los licores de cromo usados contienen una alta concentración de compuestos de cromo y sales neutras. Las aguas residuales de neutralización, recurtición, tintura y engrasado aportan poca carga de contaminantes (Rao et al., 2003).

### Figura 1

*Residuos generados por cada operación unitaria de una curtiduría*



Nota. La figura 1 representa el proceso de curtiduría y sus residuos generados en el proceso. Tomado de *Evaluación y Caracterización de Aguas Residuales de Curtiembres* (p. 142), por B.I. Islam, 2014, Research Publisher.

Por cada tonelada de cuero en bruto se produce una media de 30 a 35 m<sup>3</sup> de aguas residuales. Sin embargo, la producción de aguas residuales varía en un amplio rango (10–100

m<sup>3</sup> por tonelada de piel) dependiendo de la materia prima, el producto acabado y los procesos de producción (Tünay et al, 1995). Los contaminantes orgánicos (componentes proteicos y lipídicos) se originan en las pieles (se calcula que la piel cruda tiene un 30% de pérdida de materia orgánica durante el ciclo de trabajo) o se introducen durante los procesos. Se encontró que los parámetros del efluente de la curtiduría eran altos y excedían los rangos legales de parámetros seleccionados de descarga a aguas continentales y al alcantarillado (Tabla 2). (Springer, 1994).

**Tabla 2**

*Características de aguas contaminadas provenientes de curtiduría*

<b>Parámetro</b>	<b>Descarga al alcantarillado</b>
<b>pH</b>	5-10
<b>Temperatura (°C)</b>	30-40
<b>DBO (mg/L)</b>	125-1000
<b>DQO (mg/L)</b>	300-3000
<b>Sulfuro (mg/L)</b>	0-10
<b>Cr III</b>	1-10
<b>Cr VI (mg/L)</b>	0-1
<b>Aceites y grasas (mg/L)</b>	30-500
<b>Fenoles (mg/L)</b>	1-9
<b>Cloruros (mg/L)</b>	400-600
<b>Sulfatos (mg/L)</b>	300-400

## **2.2. Método Turbidimétrico y Espectroscopía Infrarroja**

### 2.2.1. Fundamentos de Turbidimetría

La turbidimetría es una técnica relacionada con la dispersión de luz provocadas por partículas coloidales (Fig. 2).

La afectación de radiación que se presenta en cualquier ángulo depende la cifra de partículas, de su tamaño y forma, de los índices de refracción relativos de las partículas, del medio y de la longitud de onda de la radiación incidente (Perez y Hernandez, 2004).

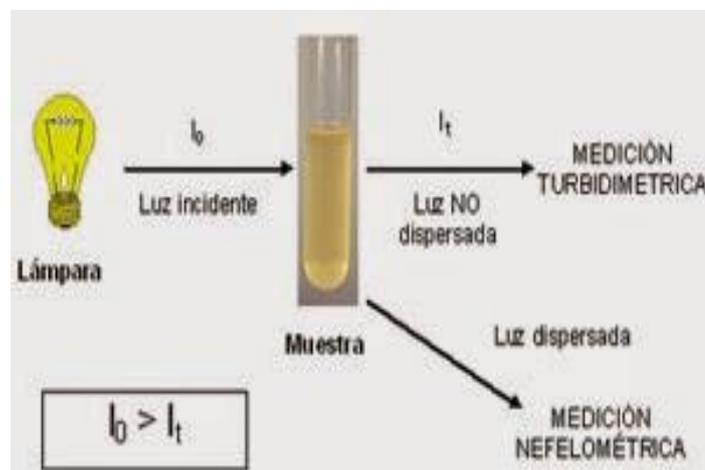
La turbidimetría es útil puesto a que define la cantidad de luz retenida por las partículas coloidales, es por ello que en un principio los espectrofotómetros UV-VIS pueden ser utilizados para este método. Además, para conseguir una mayor sensibilidad es imprescindible conseguir una longitud de onda que no sea fuertemente absorbida por ningún de los solutos presentes en la fase líquida (Perez y Hernandez, 2004).

Arias De Prada (2015) señala que para la determinación de sulfatos se basa en la formación de una pequeña suspensión de sulfato de bario, como éste es insoluble y tiende a precipitar, se hace uso de un coloide protector o estabilizador para evitar la precipitación.

### Figura 2

#### Turbidimetría

Nota. Tomado de Internet-Slideshare



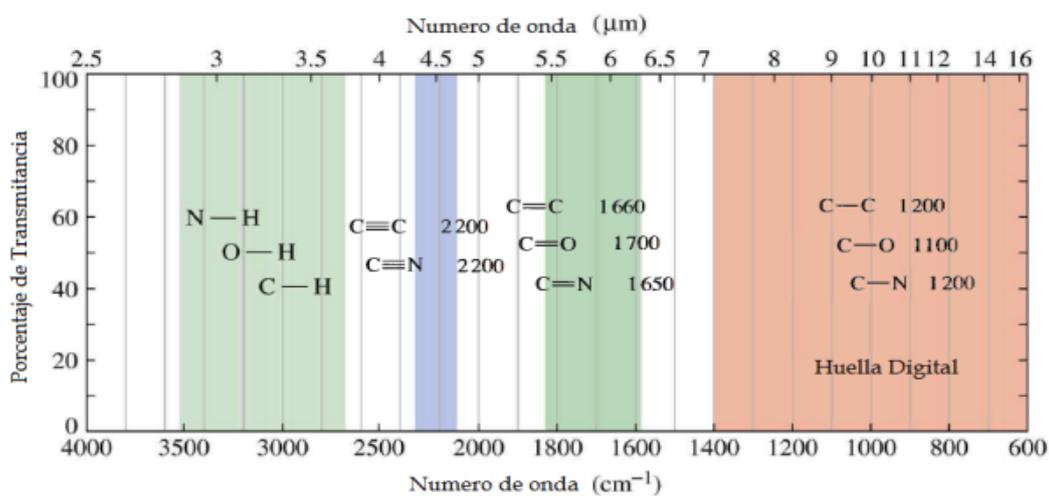
### 2.2.2. Fundamentos de Espectroscopía Infrarroja

La espectroscopía infrarroja es una técnica que se basa en la vibración de átomos de una molécula, la cual para que se muestre la absorción infrarroja es necesario que su momento dipolar cambie durante la vibración. Cabe destacar que el pico mostrado corresponde a la frecuencia de vibración de una determinada región de la molécula.

La espectroscopía infrarroja se usa para la identificación de enlaces de diferentes grupos funcionales, los cuales se encuentran ubicados en bandas características que son determinadas por su intensidad y posición en el espectro infrarrojo (Stuart, 2004). La posición de los enlaces se muestra en la Figura 3.

**Figura 3**

*Frecuencias vibracionales para algunos enlaces*



Con respecto a las especies homonucleares ( $H_2$ ,  $O_2$ ,  $N_2$ , ...) el momento dipolar no varía durante la vibración o rotación y por consiguiente no se absorben en el infrarrojo (Skoog et al., 2001).

Para los grupos de interés las frecuencias de vibración están comprendidas de 4000 a  $1000\text{ cm}^{-1}$ , además las regiones comprendidas entre los 1300 a  $4000\text{ cm}^{-1}$  son zonas donde las frecuencias vibracionales han sido afectadas a la molécula entera (Skoog et al., 2001).

## **2.3. Coagulación y Floculación**

### **2.3.1. Partículas Coloidales**

El agua como recurso hídrico contiene impurezas debido a que se encuentra en contacto con el suelo y por su mismo proceso hidrológico, pero dichas impurezas contienen sustancias insolubles que afectan su calidad, por lo que es imprescindible realizar un tratamiento antes de su uso. Sin embargo, estos tratamientos no son suficientes para lograr los objetivos, en la mayoría de los casos las partículas son de  $10^{-3}\text{ mm} - 10^{-6}\text{ mm}$ , lo que se conoce como una partícula coloidal (Vargas et al., 2004), en la figura 4 se aprecian los diferentes tamaños de partículas.

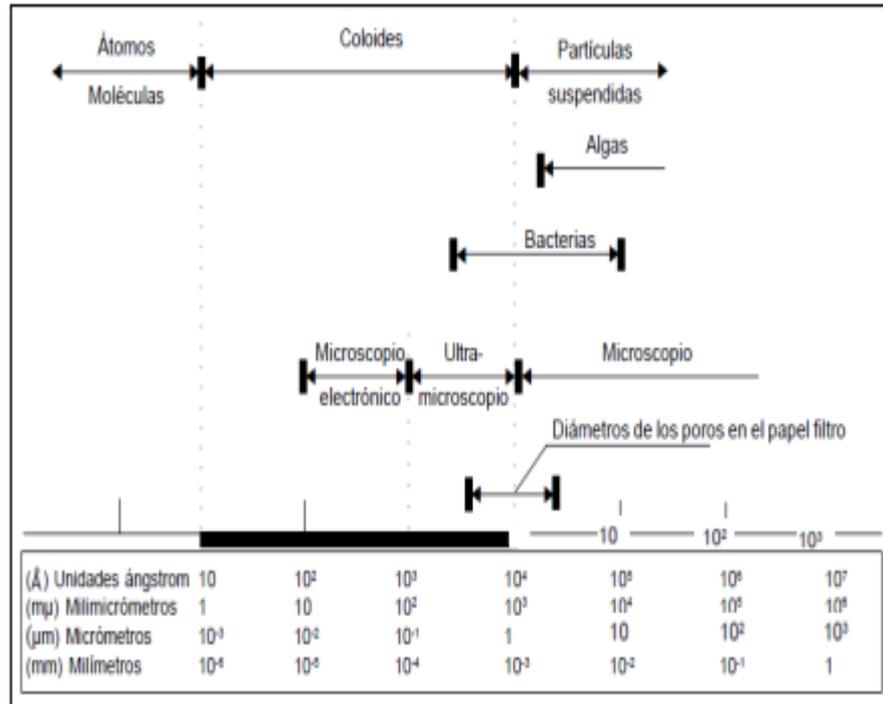
La estabilidad de los coloides se debe a las interacciones que presenta (Aguilar, 2002), como las siguientes:

- **Fuerzas de Van Der Waals:** Es una fuerza débil, es la principal fuerza entre los coloides, pero estas decrecen en la distancia, esto se debe a los dipolos inducidos.
- **Interacción eléctrica:** En los sistemas acuosos gran parte de las partículas y moléculas están cargadas eléctricamente, esto se puede dar por la ionización de grupos carboxilos, sulfatos, etc.

Para eliminar estas partículas es necesario añadir un coagulante de carga opuesta, por consecuencia esto altera la estabilidad del coloide provocando una sedimentación con velocidad lenta, necesitando posteriormente filtración (Fernández Alba et al., 2006).

**Figura 4**

*Distribución del tamaño de Partículas en el Agua*



*Nota.* Tomado de Cánepa de Vargas, Maldonado, Barrenechea y Aurazo (2004) p.7

### 2.3.2. Coagulación y Floculación

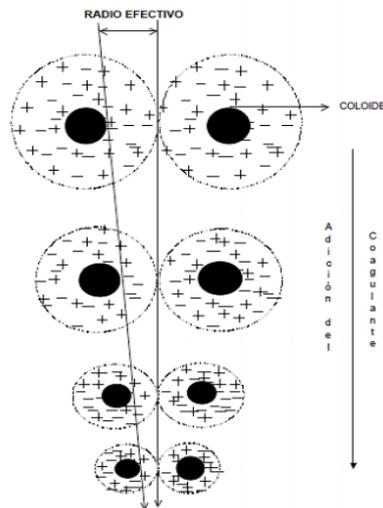
Se define como un proceso de desestabilización química de los coloides, esto es una neutralización de cargas gracias a la adición de coagulantes y la energía utilizada para mezclar, el coagulante debe contener una carga opuesta a la del coloide (Cárdenas, 2000).

En la figura 5, se aprecia la interacción entre el coloide y el coagulante, el cual neutraliza las cargas eléctricas permitiendo la aglomeración de las partículas para después dar lugar a la formación de flóculos; el cual se considera un método universal e indispensable para el tratamiento de aguas residuales o potables.

La floculación se define como la aglomeración de partículas desestabilizadas durante el proceso de coagulación con el objetivo de conformar partículas de mayor tamaño y peso, con la finalidad en que puedan sedimentar (Rodríguez, citado por López 2018; y Andía, 2000).

## Figura 5

### *Desestabilización de un coloide*



*Nota.* Cárdenas (2000) p.6

### **2.3.3. Etapas de Coagulación**

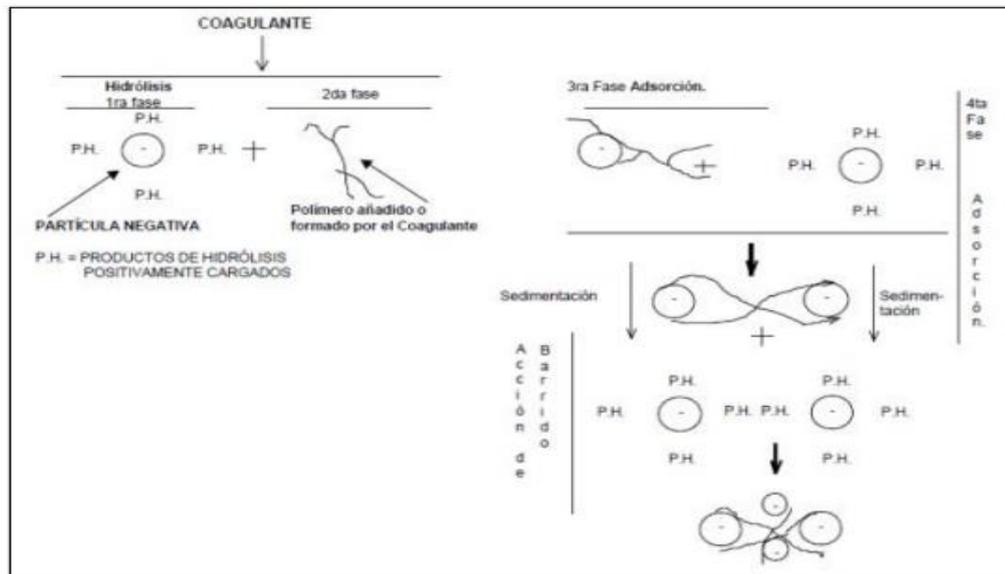
Según Crapper (1992), describe que el proceso de coagulación es casi instantáneo y se desarrolla en las siguientes etapas:

- Hidrólisis de los coagulantes y desestabilización de las partículas en suspensión.
- Formación de compuestos químicos poliméricos
- Adsorción mutua de coloides
- Acción de barrido.

En la figura 6 podemos apreciar las etapas de coagulación.

**Figura 6.**

*Etapas de coagulación*



*Nota.* Tomado de Romero 2002 p. 56

**2.3.4. Factores que afectan a la coagulación**

Pérez et al. (1977) insistía en que se deben de tener en cuenta los factores que influyen en el proceso de coagulación con el objetivo de optimizar y poder calcular las dosis adecuadas, entre los factores son:

**A. Temperatura.** Al incrementar la temperatura, la viscosidad aumenta; sin embargo, la reacción es más lenta cuando el agua es muy fría y como consecuencia la formación del flóculo es lento. Pero a mayor temperatura no favorece la coagulación (Barrenechea, 2006).

**B. pH.** Según Metclaf y Hedí (1997), aseveran que cada coagulante tiene un pH óptimo, por consiguiente, al encontrarse con su pH óptimo provoca la floculación en tiempo muy corto.

**C. Tamaño de las partículas.** Barrenechea (2006) señala que las partículas con diámetro de uno a cinco micras son utilizadas para ser núcleos de flóculo, sin embargo, los mayores a cinco micras son de mucho tamaño como para ser incorporados en el flóculo.

**D. Influencia de la Dosis del Coagulante.** La adición del coagulante influye directamente en la calidad del agua después del tratamiento, a una pequeña adición de coagulante, la formación de los flóculos es escasa y provoca mayor turbiedad; sin embargo, si se añade una gran cantidad de coagulante se forma una mayor cantidad de microfloculos con velocidades de sedimentación bajas (Andía, 2000).

### **2.3.5. Tipos de Coagulantes**

Los coagulantes más empleados eran clasificados como: inorgánicos y orgánicos sintéticos (Sharma, 2006) y últimamente se han incluido un nuevo ítem, los cuales son denominados biofloculantes (Xia, 2008).

**2.3.5.1. Coagulantes Inorgánicos.** Los más utilizados en la industria son: sulfato de aluminio, aluminato de sodio, sulfato férrico, sulfato ferroso, cloruro de aluminio, cloruro férrico y polielectrolitos (policloruro de aluminio) (Andía, 2000).

Su uso genera muchas desventajas como la posible intoxicación por aluminio, lo cual afecta a la salud humana, el cual es muy relacionado con la enfermedad del Alzheimer (Kawahara, 2005) y la obtención de lodos tóxicos (Banks, 2006).

**2.3.5.2. Coagulantes Orgánicos.** Normalmente se hace uso de polímeros lineales, estos están compuestos por monómeros de acrilamida y ácido acrílico, presentando una estructura lineal. Además, su uso es muy sugerido gracias a su solubilidad en el agua, también no afectan

el pH en el sistema, forman flóculos grandes y estables, mitigan casi por completo las cargas iónicas de los sistemas acuosos tratados y son eficaces en pequeñas dosis (Razali et al., 2012).

Son de gran utilidad en la industria puesto a que se usa muy a menudo para aguas procedentes de procesos industriales, pero presentan desventaja en el costo de tratamiento y post- tratamiento por la degradación de los productos después de ser aplicados, además, de posibles impactos cancerígenos que son derivados de sus subproductos, los cuales son procedentes de su descomposición (Sharma, 2006).

Según su monómero de partida y su carga pueden ser (Abia, 2002)

A. No iónicos:

- Poliacrilamidas
- Polímeros del óxido de etileno

B. Aniónicos:

- Copolímero de acrilamida-acrilato
- Poliacrilamida parcialmente hidrolizada
- Polisulfónicos

C. Catiónicos:

- Polietilenamina
- Polimetacrilato
- Copolímeros de acrilamida con grupos amonio cuaternario

**2.3.5.3. Biofloculantes.** En los últimos años, a medida que crece la preocupación sobre el medio ambiente, la búsqueda de nuevos materiales en el tratamiento de agua y aguas residuales continúan aumentando. Los biofloculantes han surgido como una alternativa prometedora en cuestión de materiales para reemplazar floculantes convencionales. Los floculantes a base de polisacáridos naturales son polímeros que pueden ser de gran interés porque son productos naturales y su comportamiento es ecológico. Comparado con floculantes

químicos convencionales, los biofloculantes son seguros y además son polímeros biodegradables bastante estables al cizallamiento, fácilmente disponible a partir de recursos agrícolas reproducibles (Bolto y Gregory, 2007, citado por García 2007).

Los biofloculantes pueden desestabilizar las partículas coloidales aumentando la fuerza iónica y dando alguna reducción en el potencial zeta y por lo tanto una disminución del grosor de la parte difusa de la doble capa eléctrica. O podrían adsorber específicamente contraiones para neutralizar la carga de las partículas porque tienen estructuras macromoleculares particulares con una variedad de grupos funcionales (por ejemplo, grupos carboxilo e hidroxilo) que puede interactuar con contaminantes (Özacar y Şengil, 2003) y cabe destacar que los biofloculantes basados en polímeros naturales como el quitosano, taninos, celulosa, alginato, gomas y mucílagos han ido atrayendo un gran interés de los investigadores.

El tanino es un polímero aniónico biodegradable (Özacar y Şengil, 2000) que proviene de metabolitos secundarios vegetales como corteza, frutos, hojas y otros (Beltrán Heredia y Sánchez Martín, 2009).

Su propiedad floculante ha sido probada en eliminación de materiales en suspensión y coloidales en el tratamiento de agua potable (Özacar y Şengil, 2003), eliminación de tintes, pigmentos y tintas de tintas que contienen aguas residuales (Roussy, 2005).

Los taninos están ampliamente distribuidos, pueden ser un agente eficaz en tratamiento de agua en países en desarrollo. Su uso presenta varias ventajas generales frente a los agentes coagulantes y floculantes tradicionales:

A. **Tecnológicamente.** Utilizar extractos modificados con taninos es mucho más fácil que el proceso tradicional de coagulación y floculación. A partir de investigaciones inéditas (Beltrán-Heredia y Sánchez-Martín, 2008) sabemos que utilizar taninos modificados para la eliminación de turbidez requiere dosis bajas (entre 1 y 10 ppm), el ajuste de pH no es necesario (como en los procesos de coagulación / floculación que involucran alumbre o sales

férricas) y otros agentes floculantes no son necesarios (como ocurre nuevamente con alumbre o sales férricas).

*B. Ambiental.* El origen de los taninos es completamente natural, por lo que se evitan varias desventajas relacionadas con el uso de  $Al_2(SO_4)_3$ , particularmente las que tienen que ver con la toma de aluminio (Flaten, 2001, citado por Beltrán-Heredia, 2008).

*C. Los taninos están disponibles y son fáciles de almacenar.* Puede ser un cambio social, ya que permite el tratamiento del agua sin dependencia exterior de coagulantes y floculantes (Wilderer, 2004, citando por Beltrán Heredia, 2008) sólo con una simple modificación química.

## **2.4. Taninos**

### **2.4.1. Definición**

Según Haslam (2005), Bate-Smith y Swain en 1962 dieron la definición de taninos admitida actualmente, ellos lo definen como “Compuestos fenólicos hidrosolubles, los cuales poseen una masa molecular comprendida entre 500 y 3 000 g/mol, que además presenten junto a las reacciones clásicas de los fenoles (Fresno, 1992).

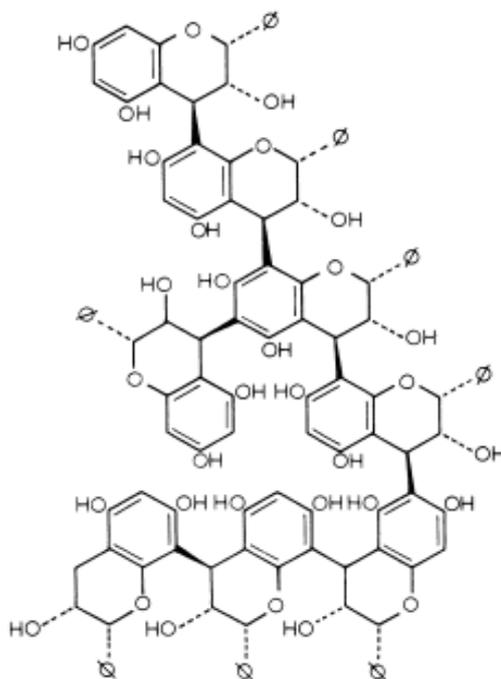
### **2.4.2. Clasificación**

**2.4.2.1. Proantocianidinas o taninos condensados.** Las proantocianidinas son oligómeros y polímeros que consisten en cadenas de unidades polihidroxi flavonas. Las unidades del monómero más comunes están hidroxiladas en C-3 (Porter, 1992a). Las unidades flavan-3-ol se enlazan carbono-carbono, polimerizándose entre las posiciones 4→8 o 4→6 (Ferreira, 2005). Así se producen copolímeros de procianidina/ prodelfinidina y profisetinidina/ prorobinetinidina, así como aquellos con unidades diastoméricas o enantioméricas (Porter,

1992b). En la figura 7 podemos observar una estructura representativa de un tanino condensado.

### Figura 7.

*Estructura representativa de un tanino condensado*

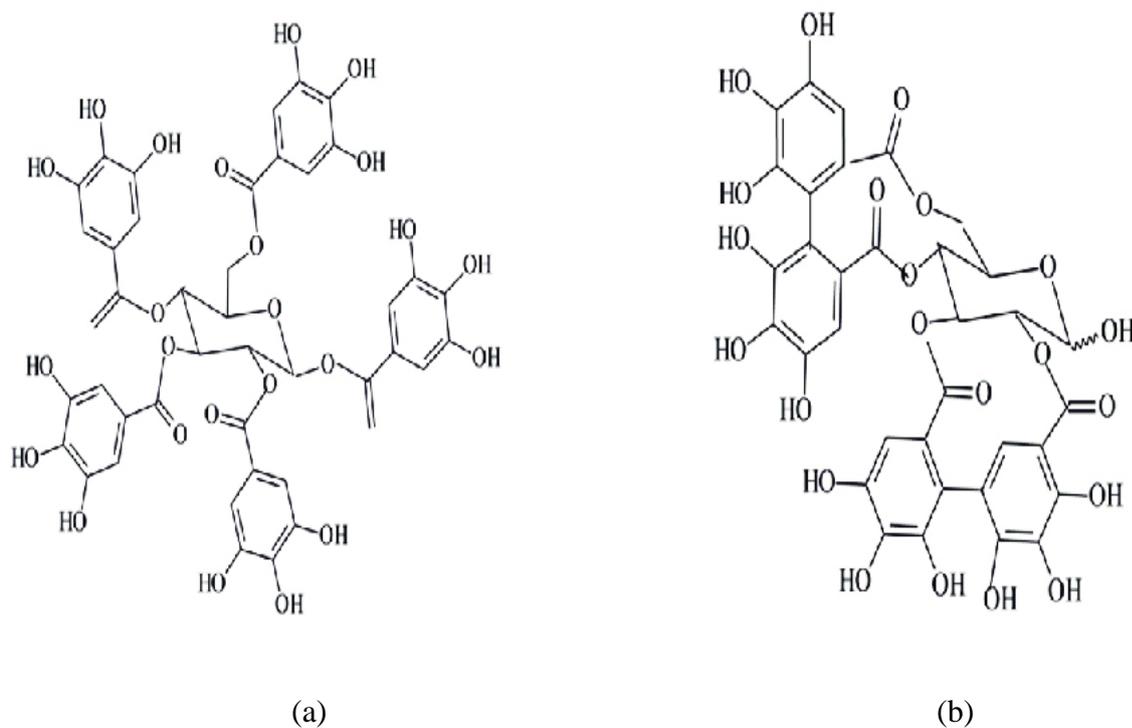


*Nota.* Adaptado de *Structure and Chemical Properties* (p. 245), por Porter, 1992, Basic Life Sciences.

**2.4.2.2. Taninos hidrolizables.** Son ésteres de ácidos fenólicos (ácido gálico y elágico) unido a un azúcar (comúnmente glucosa) o un policalcohol (Okuda et al., 2011). Todos ellos son derivados de la ruta de shikimato (Ossipov, 2003). En esta clase de taninos se encuentran los elagitaninos y galotaninos (Isaza, 2007) y en la figura 8 se muestran su estructura.

**Figura 8.**

*Taninos hidrolizables. (a) Galotaninos y (b) Elaginetaninos*



*Nota.* Tomado de Souza (2015) p. 186

## 2.5. Reacción de Mannich

La reacción de Mannich fue descubierta accidentalmente por Carl Mannich, la versatilidad de la reacción de aminometilación y la posibilidad de obtener una gran variedad de derivados mediante conversión adicional de bases de Mannich (Tramontini y Angiolini, 1994). Esta reacción consiste en la condensación con un hidrógeno activo (biofloculante – tanino condensado), formaldehído y un derivado de amina (Carey y Sundberg, 2007).

### 2.5.1 Ventajas de la reacción de Mannich

Entre las ventajas de esta reacción (Alvim et al., 2014) son:

- A. Alta selectividad
- B. Economía atómica
- C. Simplicidad operacional
- D. Ahorro de tiempo y energía
- E. Menor esfuerzo humano

### ***2.5.2. Principales reactantes para la aminometilación***

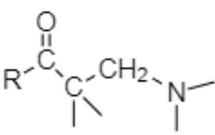
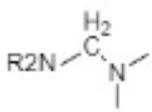
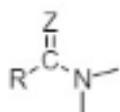
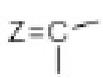
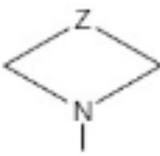
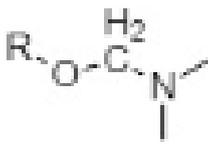
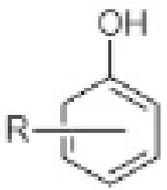
**2.5.2.1. Sustrato.** Los sustratos son generalmente XH compuestos que poseen propiedades nucleofílicas, donde X puede ser C, N u otros heteroátomos. En particular los compuestos CH son derivados saturados e insaturados adecuadamente activados por generar bases de Mannich (tabla 3) más estables, y los sustratos NH pueden ser aminas, heterociclos (Tramontini y Angliogini, 1994).

Las moléculas que contienen azufre y fósforos, sustratos que contienen derivados de XH que tienen el átomo de H unido al heteroátomo tales como los tioles, ácido sulfínico, respectivamente, derivados de fosfina y ácido de fósforo, han sido utilizados de forma muy exitosa y también se han utilizado con éxito compuestos de As y Se (Tramontini y Angliogini, 1994).

**2.5.2.2. Amina.** Es importante examinar la basicidad de la amina y su estructura puesto a que no es muy deseable tener productos muy voluminosos (Tramontini y Angliogini, 1994), y también debemos tener en cuenta en no usar aminas polifuncionales ya que puede generar centros activos y estos pueden reaccionar con el formaldehído (Shakhgel'diev 1987). Se muestran algunos ejemplos de aminas en la tabla 3 y tabla 5.

Tabla 3.

Clasificación general de las bases de Mannich

Bases de C-Mannich	Bases N-Mannich
	
	<p><b>Z= O, S</b></p> 
<p>Z= carboxi, N= heteroaril, grupo nitro</p> 	
<p><b>Z = R<sub>2</sub>C, R - N</b></p>	<hr/> <p><b>Bases de Mannich O-, S-</b></p>
	
	
<p>Anillo de benzeno activado por NH</p>	
<p>Z= N, O, etc heterocíclico</p>	
	

---

**Amina Molecular (continuación)**


---

Para amonio o  
generalmente  
amina primaria



(C<sub>1-4</sub>, *n, iso, sec, ter*)

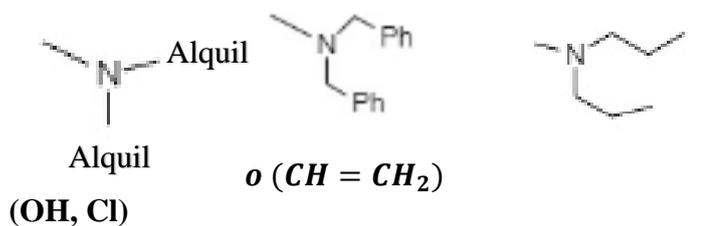


(OH, Ph)

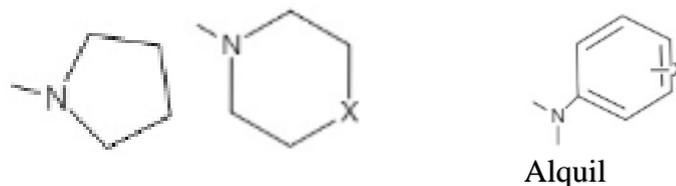
(H, OAlquil, Halo, etc)

---

Aminas  
Secundarias  
usuales



(OH, Cl)



(O, N-)

---

*Nota.* Tomado de Mannich Bases-Chemistry and Uses, Tramontini y Angliogino, 1994.

**2.5.2.3 Aldehído.** El formaldehído es el más empleado para la reacción de Mannich, otros tipos de aldehídos quizás puedan ser usados, en este caso podría ser generalmente más definido como en una aminoalquilación; han sido probadas cetonas, pero genera problemas quirales puesto a que puede dar resultado de diastéromeros en la base de Mannich (Tramontini y Angliogini, 1994).

Tabla 4.

Ejemplos de Selección de sustratos sujetos a una Aminometilación

Sustratos CH	Sustratos CH (Continúa)
	<b>Sustratos NH</b>
	<b>Sustratos OH-, PH-</b>

Nota. Tomada de Mannich Bases-Chemistry and Uses, Tramontini y Angliogini, 1994.



### 2.5.3. *Condiciones de Reacción.*

Según Tamontini y Anliogini (1994), las condiciones son las siguientes:

- El formaldehído es empleado en solución acuosa.
- La amina puede ser usada en forma de base libre o clorhidrato.
- Se hace uso comúnmente de solventes alcohólicos (etanol, metanol e isopropanol), agua o ácido acético.
- En algunos casos, se permite que la amina y el aldehído reaccionen primero y luego se combinan con el sustrato.

### 2.5.4. *Mecanismos de Reacción*

En esta reacción se puede dar en dos mecanismos (Tramontini y Angiolini, 1994):

**A. *Mecanismo A.*** Inicialmente se hace reaccionar al formaldehído con la amina para generar un aminometil que sea capaz de atacar al hidrógeno activo del sustrato.

**B. *Mecanismo B.*** Se produce un hidroximetil, el cual posteriormente reacciona con la amina generando una base de Mannich.

**C. *Las importancias de las reacciones A y B.*** El mecanismo A es el más usado comúnmente y preferido debido a que la amina es una especie nucleofílica presente en la reacción, puesto a que estas renuevan intermediarios activos como los iones iminio, mientras que el mecanismo B se presenta en algunas ocasiones cuando el sustrato reacciona con el formaldehído o aldehído (Tramontini y Angliogini, 1994).

La tabla 10 muestra algunas condiciones comunes para la reacción de aminometilación.

**Tabla 6***Condiciones comunes para la reacción de Aminometilación*

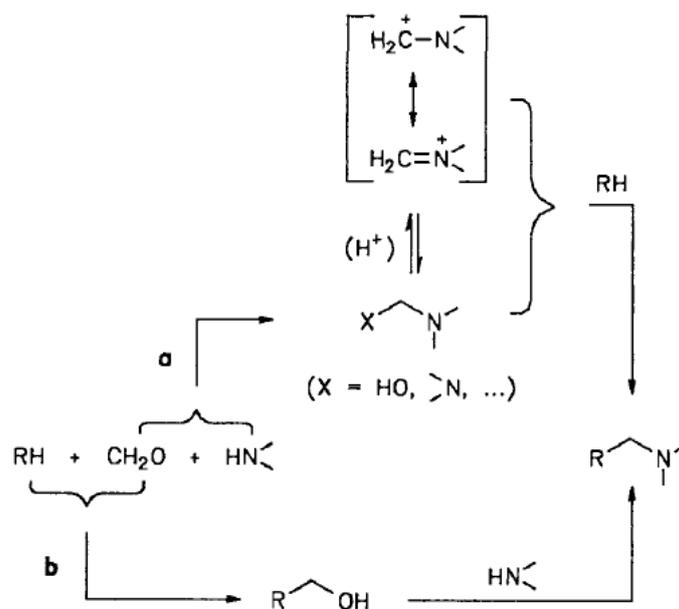
<b>Tipo (Sustrato)</b>	<b>Condición de Reacción</b>
<b>Aminometilación C</b>	
<b>Alquil Sustrato Alquilado</b>	
Alquil Cetona, Aldehído Alifático	A
Alquil Ester, Lactonas	E
Nitroalcanos	C
Derivados de N-Heteroatómicos	A, B, C
<b>Sustrato CH-Insaturado</b>	
Alquenos	A
Alquinos	D
Cianuro de hidrógeno	B, C
<b>Sustratos Aromáticos, Heteroaromáticos</b>	
<b>Fenoles</b>	C
<b>Furanos y Tiofenos</b>	C, E, A

<b>Condiciones de Reacción (continuación)</b>					
<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	
<b>Formaldehído</b>	Acuoso, paraformaldehído O trioxano	Acuoso	Acuoso	Algunos de A	Sal de iminio metileno

<b>Amina</b>	Clorhidrato	Hidroclorhidrato O base libre	Base Libre	Base libre	
<b>Solvente</b>	Alcohol, agua Ácido acético		Alcohol, agua	Dioxano	Anhidros $CH_3CN$ ( $CH_2Cl_2, CF_3COOH$ )
<b>pH/ Catálisis</b>	Ácido	Ácido	Neutro- Básico	Algunas sales de Cu	Sustrato activado
<b>Temperatura</b>	Reflujo	Temperatura ambiente durante muchas horas o pocas horas bajo calefacción.		Reflujo	Temperatura ambiente o fría
<b>Duración</b>	Horas, días			Horas	Horas

**Figura 9.**

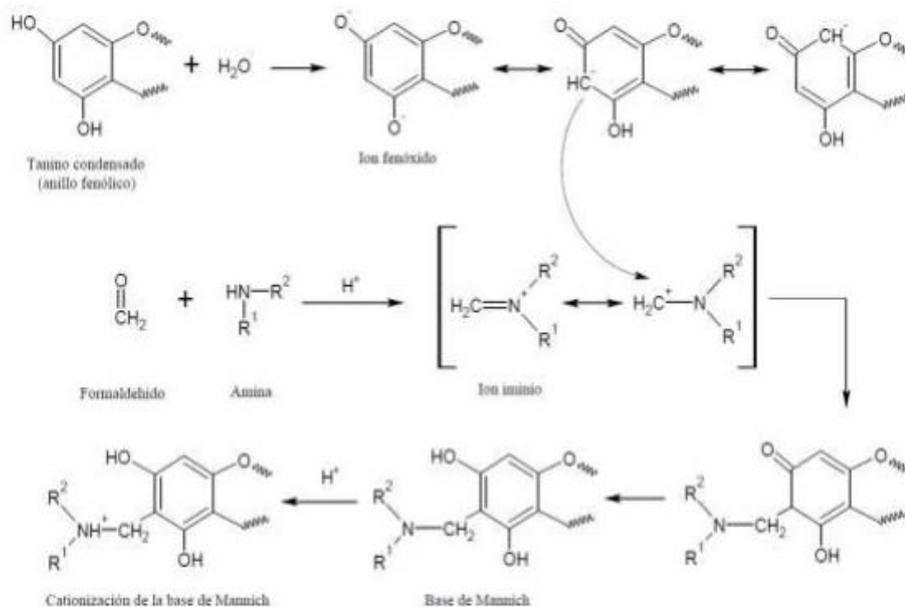
Mecanismo de reacción- *Reacción de Mannich*



*Nota.* Tomado de Tramontini y Angliogini (1994), p. 21

**Figura 10.**

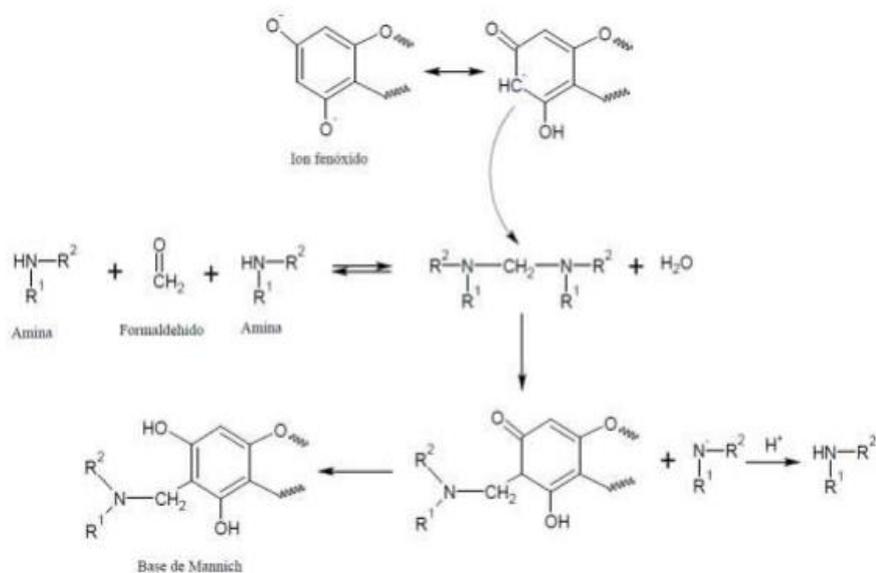
*Mecanismo de ataque electrofílico a un fenol presente en el extracto tánico.*



*Nota.* Tomado de Miller (2005) p.383, citado por Arismendi (2016) p. 39

**Figura 11.**

*Mecanismo de sustitución nucleofílica a un fenol presente en el extracto tánico.*



*Nota.* Tomado de Ionescu (2005) p.385, citado por Arismendi (2016) p. 39

## 2.6. Juglans regia

### 2.6.1. Clasificación Botánica

**Tabla 7**

*Clasificación botánica*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>Subreino</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Superdivisión</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Subclase</b>	<i>Hamamelidae</i>
<b>Orden</b>	<i>Juglandales</i>
<b>Familia</b>	<i>Juglandaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Juglans L.</i>
<b>Especie</b>	<i>Juglans regia L.</i>

*Nota.* Tomado de Husain et al. (2021) p. 122

### 2.6.2. Factores Edáficos

**2.6.2.1. Temperatura.** El nogal requiere de cierta cantidad de horas de frío acumuladas (aproximadamente entre 400 a 1.000 hr dependiendo de la variedad) para salir del receso y así fructificar normalmente en la temporada siguiente. A la vez, es exigente en calor durante su período vegetativo, requiriendo al menos de seis meses en que la temperatura media alcance los 10 °C. Las temperaturas demasiado elevadas (superiores a 40 °C) provocan quemaduras, deshidratación del fruto y defoliación parcial de la planta. Debido a estas exigencias algunos

autores señalan que la especie es sensible a los fríos primaverales tardíos, siendo catalogada como una especie adicta al calor. En cambio, otros autores la consideran resistente al frío.

En cuanto a la temperatura mínima de invierno generalmente soporta  $-20^{\circ}\text{C}$  sin presentar daños, siempre que estas temperaturas se alcancen en forma gradual. Algunas variedades californianas soportan temperaturas de  $-10$  a  $-11^{\circ}\text{C}$  (Loewe y Gonzáles, 2001).

**2.6.2.2. Suelo.** La bibliografía menciona que el nogal es uno de los frutales más exigentes. Requiere suelos profundos, con buen sostén, acertadamente drenados, ricos en sales minerales, provistos de calcio y aceptablemente aireados, visto que sus raíces penetran el suelo hasta una profundidad de 1,5 a 3,0 m dependiendo del distinción y textura del pavimento, alcanzando mayor aplanamiento en zonas de altas temperaturas y último en climas más suaves. Prefiere suelos de textura franca, no muy ácidos (pH 6,5 a 7,5 es lo óptimo) descartando aquellos suelos con  $\text{pH} < 6,0$ ; con pH superiores a 8,0 pueden asistir problemas de clorosis. Requiere de un subsuelo permeable (Loewe y Gonzáles, 2001).

### **2.6.3. Taninos condensados**

Los estudios realizados por Lock y Alvarez (1992) indican que la especie *Juglans regia* presenta taninos en su corteza, pero gracias al ensayo realizado por Ramos (2012) indica que la concentración de taninos condensados es de 20,16 ppm en 30 g/L.

### III. MÉTODO DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1. Tipo de Investigación

Exploratorio, Cuantitativo – Experimental

#### 3.2. Ámbito temporal y espacial

##### 3.2.1. *Espacial (Geográfica)*

Laboratorio de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas (UNFV)

##### 3.2.2. *Temporal*

El tiempo de desarrollo en esta investigación fue de 1 año, de los cuales se realizó la colecta de muestras, el desarrollo teórico, la aplicación de la metodología y análisis de resultados.

#### 3.3. Variables

##### 3.3.1 *Variable Independiente*

Taninos de la corteza de *Juglans regia* modificados químicamente.

##### 3.3.2. *Variable Dependiente*

Concentración de sulfatos en sistemas acuosos y/o DAM.

#### 3.4. Población y muestra

Se simuló diez muestras acuosas con concentraciones de 1 600 ppm de sulfatos en 500 mililitros de agua destilada.

#### 3.5. Instrumentos y Materiales

- Cáscaras de Nueces
- Formol 40%

- Cloruro de Amonio
- Agua Destilada
- Pipetas de 10 mL
- 6 Fiolas de 50 mL
- Vasos Precipitados de 250 mL, 500 mL y 1 L
- Balanza Analítica con agitador magnético
- pH metro
- Espectrofotómetro UV-VIS. Longitud de trabajo: 420 nm con celdas de 1cm de

paso óptico.

- Vasos Precipitados
- Pipetas y propipeta
- Cocina con agitador magnético
- Papel Filtro
- Alcohol Isopropílico
- Polietilenglicol
- Cloruro de Bario
- Sulfato de Sodio

### **3.6. Procedimiento**

#### ***3.6.1. Síntesis del Biofloculante***

***3.6.1.1. Extracción de taninos.*** Se tomó las cáscaras de *Juglans regia* (previamente trituradas), se colocó en un envase de color ámbar la siguiente proporción: cáscaras /agua en 1:10 (10% p/v), posteriormente se calentó a 85°C con agitación mecánica de 100 rpm. Gracias a Kemppainen (2012), informó que la mezcla debería ser calentada y agitada mecánicamente por dos horas, para una posterior filtración. Se concentró el extracto a sequedad.

**3.6.1.2. Síntesis de biofloculante.** Para esta síntesis se preparó dos soluciones (Quamme y Kemp, 1985).

**A. Primera solución.** Se disolvió 8,66 g de extracto tánico en 10,5 mL de agua destilada a 65-70 °C.

**B. Segunda solución.** Se añadió 30 mL de formaldehído a 3,8 g de cloruro de amonio. A esta solución se calentó 2 horas.

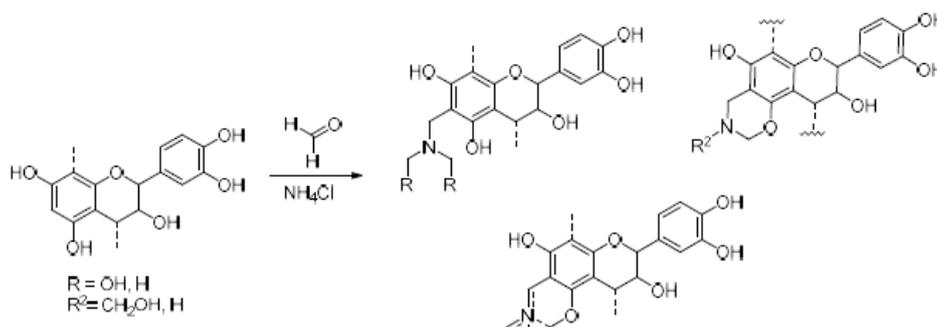
Luego se procedió a mezclar ambas soluciones y se agitó continuamente por 20 minutos.

Esta reacción se detiene con 5 mL de agua destilada y si se requiere se añade gotas de HCl al 37% hasta llegar a un pH de 2-3.

Ver diagrama de proceso en el anexo A.

## Figura 12

*Posible producto de la reacción de Mannich con los taninos condensados de Juglans regia.*



*Nota.* Tomado de Lugo et al. (2020) p.2

**3.6.1.4. Caracterización del biofloculante.** El análisis de infrarrojos se realizó en equipo de IR Nicolet 10 FTIR. Se colocó el extracto tánico antes y después de su modificación

sobre el cristal, luego de ello se analizó el espectro, para lo cual la longitud óptima es de  $4500 - 400 \text{ cm}^{-1}$ .

### **3.6.2. Preparación de la solución de sulfatos y adición del biofloculante**

**3.6.2.1. Preparación de la solución de sulfatos.** Se pesó 1.18 g de sulfato de sodio y se disolvió en 0.5 L de agua destilada, llevando así a 1600 ppm de iones sulfatos.

**3.6.2.2. Adición del biofloculante.** Después de haber sintetizado el biofloculante, este se añadió en su totalidad a la solución preparada en el ítem anterior e inmediatamente se colocó en agitación constante de 125 rpm de revolución por 2 minutos, luego a una revolución de 55 rpm por 15 minutos y finalmente se dispone un tiempo de 40 minutos para la etapa de coagulación-floculación.

### **3.6.3. Determinación de sulfatos**

**3.6.3.1. Método Turbidimétrico.** Para medir la eficiencia del biofloculante sintetizado, se usó el método turbidimétrico para medir la cantidad de sulfatos presentes. Este método es desarrollado y soportado por la SOCIEDAD AMERICANA PARA PRUEBAS Y MATERIALES (ASTM 1995) D 516-90.

**A. Recolección y almacenamiento.** Las muestras fueron elaboradas a una concentración de 1600 ppm de iones sulfatos, las cuales fueron guardadas en botellas de plástico a una temperatura de  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**B. Reactivos.** Se utilizó agua destilada para la preparación de reactivos, patrones y muestras.

**B.1. Solución patrón de sulfato.** Se preparó una solución patrón de sulfato, además se hizo uso de una solución trazable de  $100 - 1000 \text{ ppm}$ .

**B.2. Solución acondicionadora.** Se utilizó como forma de surfactante, con el fin de que los sulfatos se mantengan en suspensión al momento de ser leídos en el espectrofotómetro, ya que, si no se hace uso de esta solución, los analitos precipitarían con el cloruro de bario. Para su preparación se siguió los siguientes pasos:

Se mezcló 300 mL de agua, 30 mL de ácido clorhídrico, 100 mL de alcohol isopropílico y 75 g de cloruro de sodio. Luego se añadió 50 mL de glicerol, se mezcló todo y aforó a 500 mL con agua. Cabe resaltar que esta solución es estable seis meses, la cual debe ser almacenada a temperatura ambiente y en un frasco de vidrio ámbar (ASTM, 1955).

### **C. Procedimiento**

#### **C.1. Preparación de la curva de calibración.**

**C.1.1.** Se preparó soluciones en volúmenes crecientes con el patrón de sulfato, hasta obtener al menos seis concentraciones comprendidas en los intervalos de 0 a 40 ppm.

**C.1.2.** Se traspasó las soluciones a vasos precipitados de 50 mL y se añadió 2.5 mL de la solución acondicionadora e inmediatamente se removió con una varilla de vidrio para luego adicionarle una pequeña cuchara con cristales de cloruro de bario.

**C.1.3.** Se realizó la lectura de la muestra antes de 5 minutos en el espectrofotómetro UV-VIS a 420 nm con celdas de 1cm de paso óptico.

**C.1.4.** En función a las absorbancias obtenidas en el espectrofotómetro, se realizó una curva de calibración.

### **D. Determinación de Sulfatos.**

Se tomó una alícuota de 50 mL del sobrenadante (en caso presente turbiedad, se deberá centrifugar o filtrar) a un vaso precipitado, se adicionó 2.5 mL de solución acondicionadora,

adicional a ello, luego se adicionó una cuchara pequeña con cristales de cloruro de bario y se removió de forma vigorosa.

Se procedió a leer antes de 5 minutos en el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 420 nm con celdas de 1 cm de paso óptico. En caso la absorbancia sea mayor a la curva, se procederá a hacer máximo hasta dos diluciones sucesivas de la muestra y posterior a ello hacer la lectura en el equipo (ASTM, 1995).

Los datos obtenidos se evaluaron a través de Minitab para evaluar el *p value*.

Para la cuantificación de sulfatos se hizo una curva de calibración para la cuantificación de sulfatos. Se preparó estándares diluciones con agua destilada de 0.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 30.0 y 40.0 mL de la solución estándar de sulfato a volúmenes de 100 mL en matraces volumétricos.

Se preparó la solución de sulfato, estándar (1 ml = 0,100 mg  $SO_4^-$ ), se disolvió 0,1479 g de sulfato de sodio anhidro ( $Na_2SO_4$ ) en agua, y se procedió a diluir con agua a 1 L en un matraz volumétrico.

#### **3.6.4. Cuantificación de Taninos Condensados**

La cuantificación de taninos condensados se realizó por triplicado usando el método Número de Stiasny (Rosales et al., 2016).

Para la determinación de taninos condensados, se pesó 0.1 g de la muestra concentrada en un Erlenmeyer de 125 mL y se disolvió en 10 mL de metanol. A la solución resultante se añadió 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y posteriormente añadió 2 mL de formaldehído al 37%. La mezcla total se calentó a ebullición durante 30 minutos.

Ver proceso en el anexo B.

### 3.7 Análisis de Resultados

Se realizó la prueba de hipótesis con t-student a través del software Minitab para evaluar los porcentajes de remoción obtenidos a través del *p value* con un nivel de confianza del 95%.

Se plantearon las siguientes hipótesis:

$H_0$ : *El biofloculante sintetizado a partir de Juglans regia remueven los iones sulfatos en un porcentaje repetitivo.*

$H_1$ : *El biofloculante a partir de Juglans regia no remueven los iones sulfatos en un porcentaje no repetitivo.*

#### T de una muestra: REMOCIÓN DE SULFATOS

**Tabla 8**

*Valores Obtenidos con respecto a la estadística descriptiva*

N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para $\mu$
10	98.776	0.655	0.207	(98.307; 99.245)

$\mu$ : *media de REMOCIÓN*

**Tabla 9**

*Valores obtenidos del p value*

Hipótesis nula  $H_0: \mu = 98.776$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu \neq 98.776$

Valor T	Valor p
0.00	1.000

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Remoción de Sulfatos

Para la cuantificación de sulfatos presentes en sistemas acuosos, se utilizó el método turbidimétrico, cual tuvo como curva de calibración la siguiente ecuación (tabla 8), cada punto se encuentra con su respectiva desviación estándar.

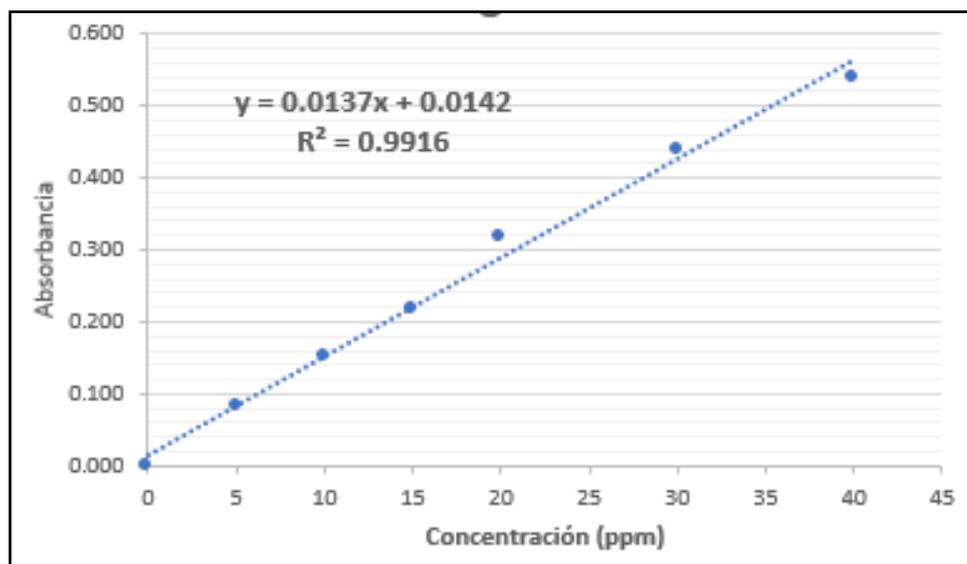
**Tabla 10**

*Curva de Calibración*

Concentración (ppm)	Absorbancia
0	0.000 ± 0.000
5	0.081 ± 0.008
10	0.151 ± 0.017
15	0.217 ± 0.007
20	0.319 ± 0.008
30	0.440 ± 0.013
40	0.539 ± 0.016

**Figura 13**

*Representación de la Curva de Calibración*



Se obtiene la siguiente ecuación:

$$y = 0.0137x + 0.0142$$

Se sintetizaron 10 muestras a partir extracto de *Juglans regia*, para obtener biofloculantes naturales para la remover sulfatos (Ver proceso en el Anexo A). En la tabla 7 se muestra la concentración inicial, absorbancia y concentración final de sulfatos.

Las figuras 14 y 15 muestran las absorbancias de las muestras 6 y 8 respectivamente.

#### Figura 14

*Absorbancia de la muestra 6*



#### Figura 15

*Absorbancia de la muestra 8*



**Tabla 11**

*Resultados de Absorbancias y concentraciones finales después de aplicar el biofloculante a base de cáscaras de Juglans regia*

<b>Número de muestra</b>	<b>Concentración Inicial (ppm)</b>	<b>Absorbancia</b>	<b>Concentración Final (ppm)</b>
<b>1</b>	1600	0.196	13.27
<b>2</b>	1600	0.189	12.76
<b>3</b>	1600	0.486	34.44
<b>4</b>	1600	0.496	35.17
<b>5</b>	1600	0.475	33.64
<b>6</b>	1600	0.146	9.62
<b>7</b>	1600	0.201	13.64
<b>8</b>	1600	0.162	10.79
<b>9</b>	1600	0.267	18.45
<b>10</b>	1600	0.202	13.71

Las figuras 16, 17 y 18 señalan el proceso de floculación de los iones sulfatos y el biofloculante a base de cáscaras de *Juglans regia*.

**Figura 16**

*Aplicación del biofloculante.*



**Figura 17**

*Proceso de floculación*

**Figura 18**

*Sedimentación del biofloculante y los iones sulfatos.*



La tabla 12 expone el porcentaje de remoción de los iones sulfatos.

**Tabla 12**

*Porcentaje de remoción de sulfatos*

Número de muestra	Concentración Inicial (ppm)	Concentración final (ppm)	Porcentaje de Remoción
1	1600	13.27	99.17%
2	1600	12.76	99.20%
3	1600	34.44	97.85%
4	1600	35.17	97.80%
5	1600	33.64	97.90%
6	1600	9.62	99.40%
7	1600	13.64	99.15%
8	1600	10.79	99.33%
9	1600	18.45	98.85%
10	1600	13.71	99.14%

#### 4.2 Caracterización del biofloculante

Se ha realizado la lectura por Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) a los extractos (antes de la síntesis) y biofloculantes (después de la síntesis) para verificar si ha existido alguna modificación de los taninos condensados, se obtuvo lo siguiente:

**Figura 19.**

*Espectro FTIR del Extracto de la muestra 6.*

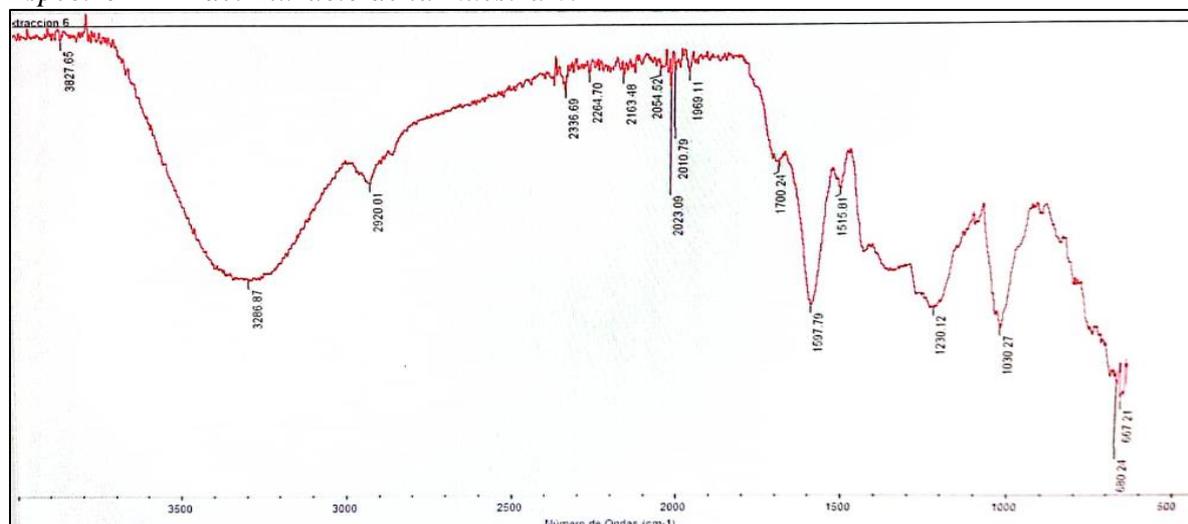


Figura 20.

*Espectro FTIR del biofloculante de la muestra 6*

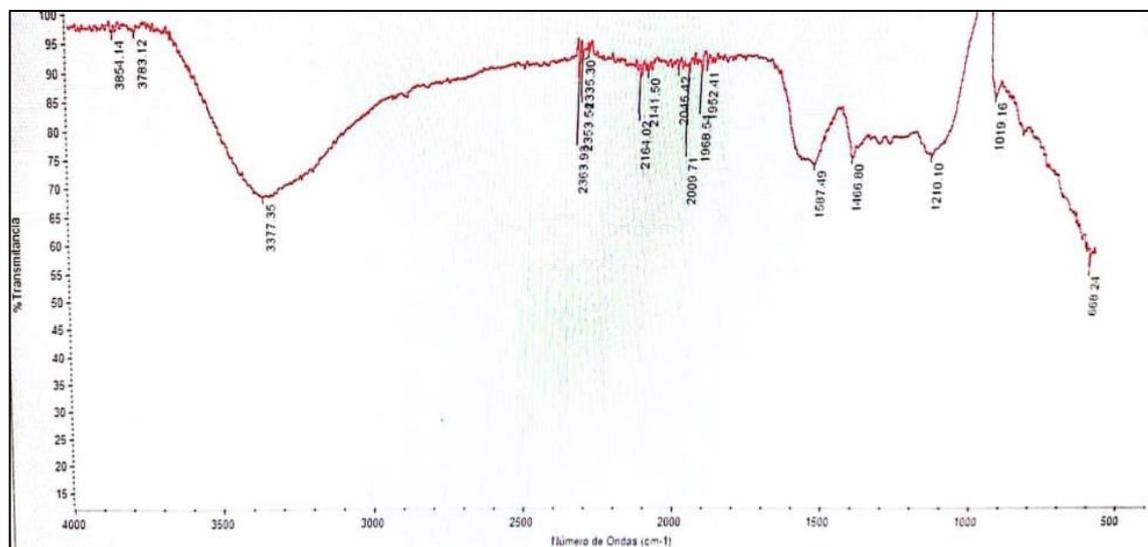


Tabla 13

*Señales del espectro FTIR del extracto de Juglans regia (Figura 19)*

Número de onda ( $cm^{-1}$ )	Asignación
3286.87	Tensión O-H de sistema con enlace de H intermolecular
2920.01	Tensión C-H anillos aromáticos
1700.24	Tensión aldehído conjugado
1597.79	Tensión C=C
1230.12	Tensión C-O, alquil aril éter
1067	Tensión C-O alcohol 1°
1030.27	Flexión en el plano aromático
680.24	Balaceo C-O-H

**Tabla 14**

*Señales del espectro FTIR del biofloculante de Juglans regia (Figura 20)*

<b>Número de onda (<math>cm^{-1}</math>)</b>	<b>Asignación</b>
<b>3377.35</b>	Tensión O-H de sistema con enlace de H intermolecular
<b>1587.49</b>	Flexión N-H aromáticos
<b>1466.80</b>	Vibración de torsión de probables grupos N-H
<b>1210.10</b>	Tensión C-O, alquil aril éter
<b>680.24</b>	Balanceo C-O-H

#### **4.3 Número de Stiasny**

Se obtuvo valores por triplicado con respecto a la cuantificación del número de Stiasny (Ver proceso en el Anexo B), los cuales fueron:

**Tabla 15**

*Resultados del peso de la masa seca (Número de Stiasny)*

<b>Número de muestra</b>	<b>Peso del papel filtro (g)</b>	<b>Peso de masa seca (g)</b>
<b>1</b>	0.2	0.009
<b>2</b>	0.2	0.008
<b>3</b>	0.2	0.009

**Tabla 16**

*Porcentaje de Taninos condensados*

<b>Número de muestra</b>	<b>Peso inicial de masa seca (g)</b>	<b>Pocentaje (%)</b>
<b>1</b>	0.1	9
<b>2</b>	0.1	8
<b>3</b>	0.1	9

**Figura 21**

*Extracto seco de tanino condensado*



## V. DISCUSIONES

### 5.1 Remoción de Sulfatos

Los biofloculantes obtenidos han reducido más de un 97% los sulfatos presentes en las aguas sintéticas realizadas en el laboratorio de Investigación de la UNFV. Acorde a lo reportado por Arismendi (2016) que removió entre un 90 -94% la turbidez y un 92- 100% el color procedentes de aguas de lavadora, río y agua sintética a través de un biofloculante a base de Accacia, donde empleo cloruro de amonio como amina para la síntesis de Mannich.

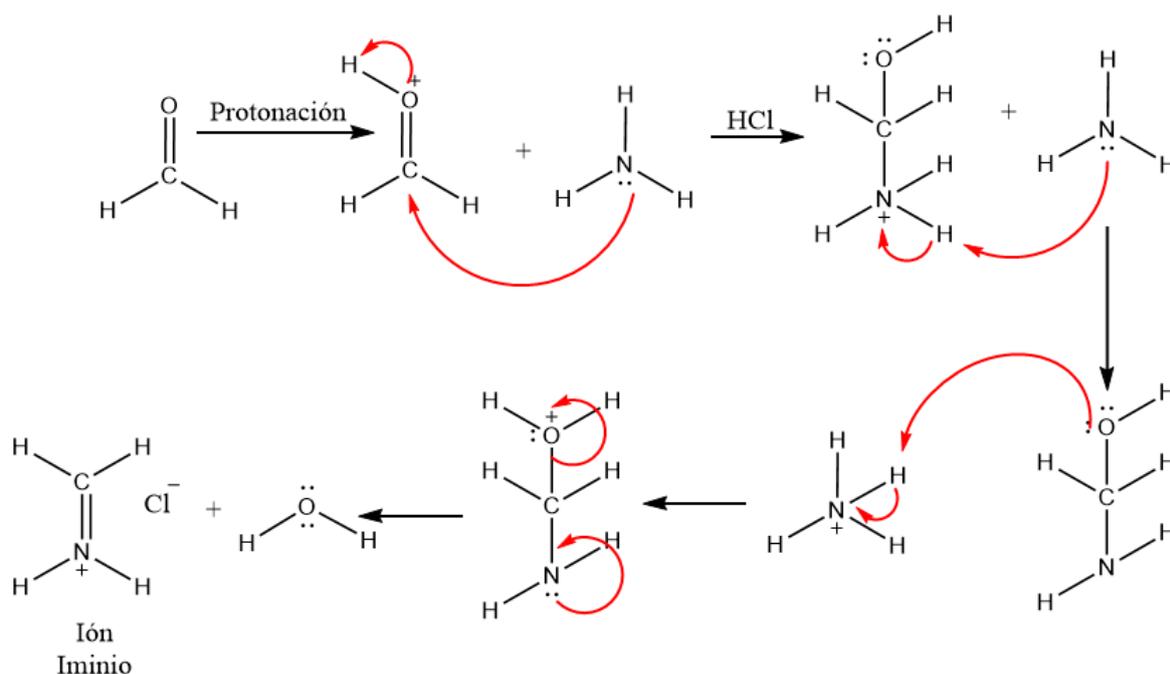
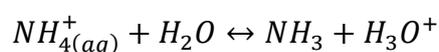
Igualmente, Carneiro (2019), utilizó como floculante el mucílago y el polvo de quimbombó como floculante en prueba de jarras, por lo que obtuvo un 76 y 88% de remoción de turbidez respectivamente.

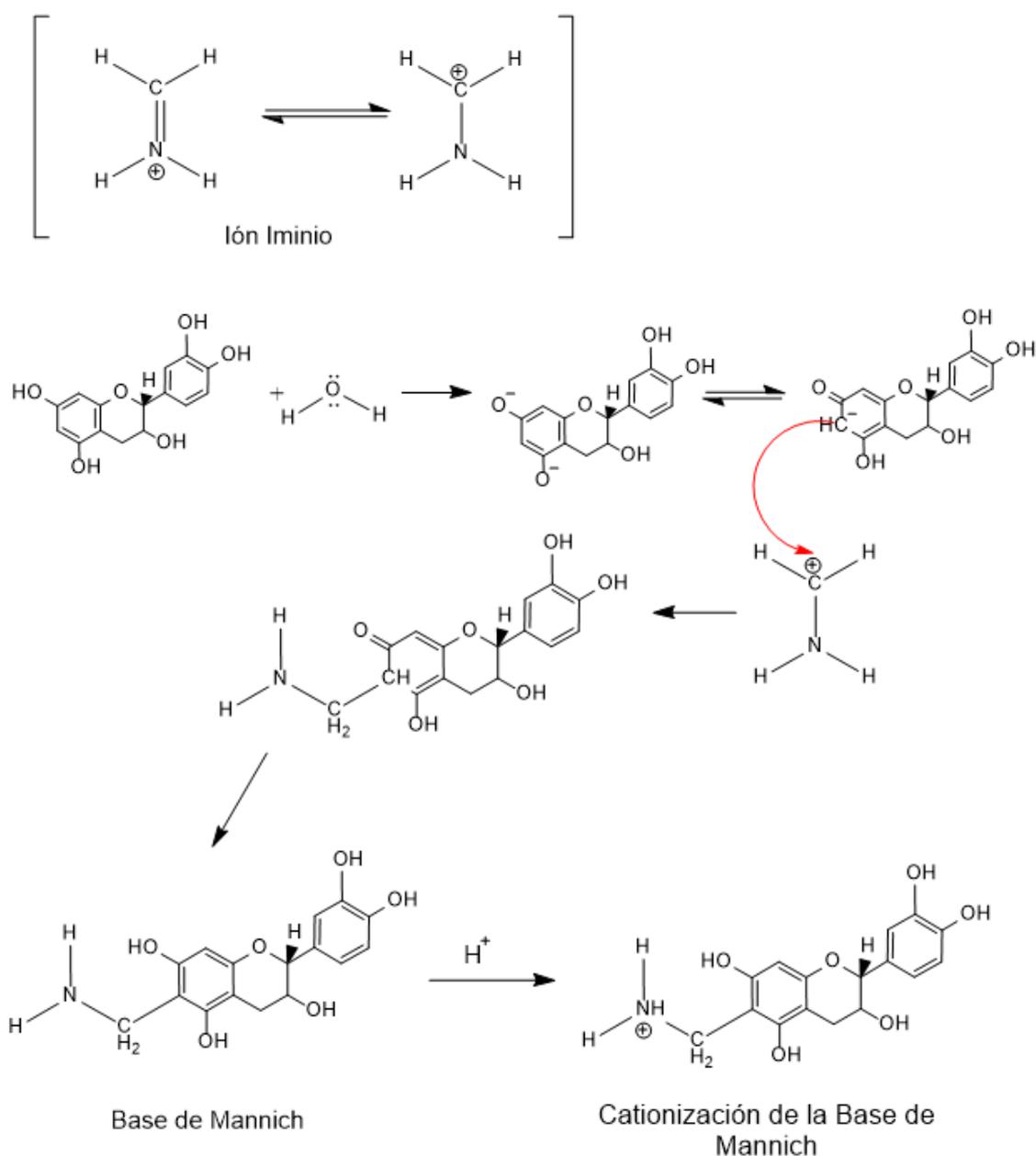
Al obtener un valor de  $p > 0.05$ , nosotros concluimos que la hipótesis nula es aceptada; además obtenemos que para un nivel de confianza del 95%, el límite inferior es de 98.307% y el límite superior es de 99.245% con respecto a la remoción de iones sulfatos.

### 5.2 Modificación química de taninos condensados de *Juglans regia*

Según estudios anteriores con respecto a la reacción de Mannich, Tramontini y Angiolini (1994) aseveraron que se pueden emplear gran variedad de aminas y sustratos, sin embargo, existen patentes como las de Quamme et al. (1985) y Shirrato et al. (1992), las cuales no se considera una secuencia de adición porque consideraban que no era de suma relevancia, sin embargo, Arismendi (2016), evidencia la afectación química en las estructuras de los taninos si no se tiene en cuenta el orden de la reacción, por lo cual denotó aspectos totalmente diferentes entre los procesos de adición y reacción previa entre la amina y el formaldehído, lo cual contradice a Quamme y Shirrato .

Como primer paso sabemos que se ha utilizado formol al 40%, por lo cual se obtiene una disociación de la sal de cloruro de amonio, la solución se vuelve fuertemente ácida debido a la liberación de cloruro de hidrógeno (Werner, 1917). Como se sabe en primera instancia, el uso de formaldehído (compuesto no enolizable) y de cloruro de amonio, es un ejemplo de adición nucleofílica, seguida de la eliminación de agua, a través de este mecanismo obtenemos la base de Schiff o ión iminio (ecuación 1). Sin embargo, la presencia del ácido clorhídrico formado impide la polimerización de la base (ión iminio) (Werner, 1917).





(2)

Según Werner (1917), al tener condiciones de catálisis ácidas, el ión iminio es un buen electrófilo que reacciona a través de un ataque electrofílico con el tanino condensado (ecuación 2), obteniendo así la base de Mannich, como paso final se fuerza a una cationización de la base de Mannich (Tramontini, 1973), es por ello que al final de la síntesis nos cercioramos el pH del biofloculante.

Al obtener la cationización de la base de Mannich, una de las explicaciones por las cuales los iones sulfatos precipitan se debe a que estos polifenoles sufren una modificación estructural, según lo descrito anteriormente, obteniéndose regiones catiónicas, que posteriormente interactúan con la carga superficial negativa de partículas en suspensión, provocando la precipitación. Además, otro posible mecanismo es la interacción electrostática que podría ocurrir entre la carga negativa de los sulfatos con los centros catiónicos que presentan las modificaciones químicas de los taninos condensados (Reacción de Mannich).

Según lo descrito anteriormente, en la presente investigación se realizó una reacción previa entre cloruro de amonio y formaldehído para luego ser mezclada con la solución acuosa de taninos condensados, gracias a ello se ha evidenciado que la aminometilación ha sido exitosa, puesto a que se evidencia en el espectro IR en la longitud de onda  $1466\text{ cm}^{-1}$ .

### **5.3 Caracterización de los taninos condensados de *Juglans regia* antes y después de la modificación química a través de la reacción de Mannich**

Tal como se describe en la tabla N° 13, la cual es correspondiente a la figura 19, el análisis IR ha detectado bandas intensas en  $3286.87\text{ cm}^{-1}$ , la cual es correspondiente al grupo hidroxilo. La señal  $2920.01\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la tensión C-H de los anillos aromáticos y la señal  $1597.79\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la tensión de C=C.

Con respecto al espectro IR del biofloculante (figura 20), se ha detectado la modificación química de los taninos condensados para evidenciar la presencia de la adición del grupo nitrogenado, para lo cual Wang et al. (2013) asignó vibraciones de torsión probables de grupos N-H en picos situados en  $1466$  y  $1305\text{ cm}^{-1}$ . Gracias a ello en la figura 20 aparece la señal  $1466.80\text{ cm}^{-1}$ , la cual señala la presencia del grupo N-H.

#### **5.4 Número de Stiasny de las cáscaras de *Juglans regia***

El porcentaje de taninos condensados en las cáscaras de *Juglans regia* fue un promedio de 8.67%, puesto a que según Rosales et al. (2002) considera que cuyos rendimientos superen al 8.0%, se considera rentable su extracción.

## VI. CONCLUSIONES

- 6.1 La remoción de los iones sulfatos ha sido exitosa, puesto a que se obtuvo una remoción mayor al 95%, lo cual indica que la síntesis del biofloculante a partir de cáscaras de *Juglans regia* ha sido exitoso. Además, el valor del *p value* confirma que nuestra hipótesis es verdadera.
- 6.2 La modificación de taninos condensados ha sido adecuada, puesto a que la reacción preliminar entre el formaldehído y el cloruro de amonio produce iones iminio, las cuales son estructuras electrofílicamente activas, por lo cual genera la aminoalquilación esperada. Estas reacciones se confirman gracias al espectro IR en la señal 1466.80  $cm^{-1}$ , la cual señala la presencia del grupo N-H.
- 6.3 Actualmente se conoce en el sector industrial que para la remoción de iones sulfatos suele utilizarse policloruro de aluminio por su bajo costo, sin embargo, para la remoción de los residuos generados (sal etringita) suele ser un costo elevado y difícil en las PTAR. Sin embargo, el costo y tiempo de síntesis del biofloculante a partir de cáscaras de *Juglans regia* son elevados, sin embargo, los residuos que generan son de fácil remoción y pueden ser utilizados para el compostaje, lo cual genera una economía circular.

## VII. RECOMENDACIONES

- 7.1 Se hace la recomendación del uso de cáscaras de *Juglans regia* puesto a que presenta un valor aceptable de taninos condensados, por consiguiente, va a permitir que la reacción de Mannich se realice de manera exitosa.
- 7.2 Se debe de tener en cuenta el orden de la reacción de Mannich durante la síntesis, puesto a que se ha demostrado a través de las referencias la importancia del orden de los sustratos.

## VIII. REFERENCIAS

- Abia, L., Rodríguez, M. (2002). *Tratamiento Físicoquímico de aguas residuales de las industrias Lácteas*. Ingeniería Química. Pp. 100-104
- Akcil, A., & Koldas, S. (2006). Acid Mine Drainage (AMD): causes, treatment and case studies. *Journal of Cleaner Production*, 14(12-13), 1139-1145. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2004.09.006>
- Álvarez-Ayuso, E., & Nugteren, H. W. (2005). Synthesis of ettringite: a way to deal with the acid wastewaters of aluminium anodising industry. *Water Research*, 39(1), 65-72. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.07.029>
- Alvim, H. G. O., da Silva Júnior, E. N., & Neto, B. A. D. (2014). What do we know about multicomponent reactions? Mechanisms and trends for the Biginelli, Hantzsch, Mannich, Passerini and Ugi MCRs. *RSC Adv.*, 4(97), 54282-54299. <https://doi.org/10.1039/c4ra10651b>
- Amin, Muhammad & Ullah, Asad & Najam Khan, Muahammad & Zeeshan, Muhammad. (2016). EFFECT OF COAGULANT EXTRACTED FROM ALMOND NUTSHELL (*Prunus Amygdalus*) ON SYNTHETIC TURBID WATER.
- Arbenz, A., & Avérous, L. (2015). Chemical modification of tannins to elaborate aromatic biobased macromolecular architectures. *Green Chemistry*, 17(5), 2626-2646. <https://doi.org/10.1039/c5gc00282f>
- Arias De Prada, E. (2015). *Determinación de bario en agua tratada proveniente de la perforación de pozos de petróleo por espectroscopía visible (turbidimetría)* (Tesis de licenciatura). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito. Recuperado de:

<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/9254/Determinaci%3%b3n%20de%20bario%20en%20agua%20tratada%20proveniente%20de%20pozos%20petroleros%20por%20espectroscop%3%ada%20visible%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Arismendi Espinosa, W. A. (2016). *Evaluación y comparación de la capacidad floculante de taninos modificados (quebracho, acacia, castaño) y su aplicación en el tratamiento de aguas residuales* (Tesis de Maestría). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Recuperado de: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/34503/ArismendiEspinosaWilliamAndres2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Armstrong, D., & Fanning, M. (1994). Acid mine drainage—Community perceptions. *Mine Water and the Environment*, 13(1), 41-50. <https://doi.org/10.1007/bf02919607>

ASTM. (1995). Test Method for Sulfate Ion in Water. *Standard Test Method for Sulfate Ion in Water*, 1(1), 1-4. <https://doi.org/10.1520/d0516-02>

Banks, W. A., Niehoff, M. L., Drago, D., & Zatta, P. (2006). Aluminum complexing enhances amyloid  $\beta$  protein penetration of blood–brain barrier. *Brain Research*, 1116(1), 215-221. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.112>

Bello, A., Virtanen, V., Salminen, J.-P., & Leiviskä, T. (2020). Aminomethylation of spruce tannins and their application as coagulants for water clarification. *Separation and Purification Technology*, 242, 116765. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.116765>

- Beltrán Heredia, J., & Sánchez Martín, J. (2009). Removing heavy metals from polluted surface water with a tannin-based flocculant agent. *Journal of Hazardous Materials*, 165(1-3), 1215-1218. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.09.104>
- Beltrán-Heredia, J., & Sánchez Martín, J. (2008). Azo dye removal by Moringa oleifera seed extract coagulation. *Coloration Technology*, 124(5), 310-317. <https://doi.org/10.1111/j.1478-4408.2008.00158.x>
- Beltrán-Heredia, J., Sánchez-Martín, J., & Gómez-Muñoz, M. C. (2010). New coagulant agents from tannin extracts: Preliminary optimisation studies. *Chemical Engineering Journal*, 162(3), 1019-1025. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.07.011>
- Cárdenas, Y. A. (2000). *Tratamiento de agua coagulación y floculación*. Evaluación de Plantas y Desarrollo Tecnológico. Lima, Perú.
- Carey F, Sundberg R. (2007). *Advanced Organic Chemistry Part B: Reactions and Synthesis*, Springer US, fifth edition, pp 140-145.
- Castillo López, V. M. (2016). *Influencia del ph y dosis de hidróxido de aluminio sobre el porcentaje de eliminación de sulfatos en agua de mina artificial mediante tratamiento por precipitación mineral* (tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Trujillo, Perú. Recuperado de: <http://www.dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2552>
- Cooman, K., Gajardo, M., Nieto, J. M., Bornhardt, C., & Vidal, G. (2003). Tannery wastewater characterization and toxicity effects on Daphnia Spp. *Environmental Toxicology*, 18(1), 45-51. <https://doi.org/10.1002/tox.10094>

- Do Prado, A. C. P., da Silva, H. S., da Silveira, S. M., Barreto, P. L. M., Vieira, C. R. W., Maraschin, M., Ferreira, S. R. S., & Block, J. M. (2014). Effect of the extraction process on the phenolic compounds profile and the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell. *Industrial Crops and Products*, 52, 552-561. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.031>
- Dou, W., Zhou, Z., Jiang, L.-M., Jiang, A., Huang, R., Tian, X., Zhang, W., & Chen, D. (2017). Sulfate removal from wastewater using ettringite precipitation: Magnesium ion inhibition and process optimization. *Journal of Environmental Management*, 196, 518-526. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.03.054>
- E. Wittmann, J. Biel, T. Leleyter, B. Mack, B. Forissier (2012). 16 years of experience in mine water sulphate removal by nanofiltration. *En Waterinmining 2012, 3rd International Congress on Water Management in the Mining Industry*. 6-8 Junio 2012, Santiago, Chile
- Fernández Prado, J. M., Manzanares Cáceres, D., Velázquez Díaz, F., & Taya Acosta, E. (2019). Gua, minería y comunidades campesinas en la región Tacna. *Ciencia y Desarrollo*, 73-80.
- Ferreira, D., Marais, J. P. J., & Slade, D. (2005). Heterogeneity of the interflavanyl bond in proanthocyanidins from natural sources lacking C-4 (C-ring) deoxy flavonoid nucleophiles. *Phytochemistry*, 66(18), 2216-2237. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.01.014>
- Fresno (editor), A. M. Villar del. (1999). Farmacognosia general (Síntesis farmacia) (1.a ed.). *Editorial Síntesis*, S. A.

- García, B. 2007. *Metodología de extracciones in situ de coagulantes naturales para la clarificación de agua superficial. Aplicación en países en vías de desarrollo* (Tesis de Maestría). Seguridad industrial y medioambiente. Universidad Politécnica de Valencia. 120p.
- Geurts, J. J., Sarneel, J. M., Willers, B. J., Roelofs, J. G., Verhoeven, J. T., & Lamers, L. P. (2009). Interacting effects of sulphate pollution, sulphide toxicity and eutrophication on vegetation development in fens: A mesocosm experiment. *Environmental Pollution*, 157(7), 2072–2081. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.02.024>
- Grenda K, Arnold J, Hunkeler D et al (2018) Tannin-based coagulants from laboratory to pilot plant scales for coloured wastewater treatment. *BioResources* 13:2727–2747. <https://doi.org/10.15376/biores.13.2.2727-2747>
- Hameed, Y. T., Idris, A., Hussain, S. A., & Abdullah, N. (2016). A tannin-based agent for coagulation and flocculation of municipal wastewater: Chemical composition, performance assessment compared to Polyaluminum chloride, and application in a pilot plant. *Journal of Environmental Management*, 184, 494-503. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.10.033>
- Haslam, E. (2005). *Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action* (Revised ed. ed.). Cambridge University Press.
- Hussain, S. Z., Naseer, B., Qadri, T., Fatima, T., & Bhat, T. A. (2021). *Fruits Grown in Highland Regions of the Himalayas: Nutritional and Health Benefits*. Springer Nature.
- INAP. (s. f.). Nothing found for Public\_Downloads Research\_Projects Treatment\_Of\_Sulphate. *The International Network for Acid Prevention*.

Recuperado 4 de octubre de 2020, de  
[https://www.inap.com.au/public\\_downloads/Research\\_Projects/Treatment\\_of\\_Sulphate\\_](https://www.inap.com.au/public_downloads/Research_Projects/Treatment_of_Sulphate_)

Isaza M., José Hipólito (2007). Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia Et Technica*, XIII(33),13-18.[fecha de Consulta 16 de Septiembre de 2020]. ISSN: 0122-1701.

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=849/84903303>

Johnson, B., & Santos, A. L. (2020). Biological removal of sulfurous compounds and metals from inorganic wastewaters. En IWA Publishing eBooks (pp. 215-246).

[https://doi.org/10.2166/9781789060966\\_0215](https://doi.org/10.2166/9781789060966_0215)

Johnson, D. (2000). Biological removal of sulfurous compounds from inorganic wastewaters. In: Lens P, Hulshoff Pol L, editors. *Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering*. London7 International Association on Water Quality; 2000. p. 175 – 206.

Kawahara, M. (2005). Effects of aluminum on the nervous system and its possible link with neurodegenerative diseases. *Journal of Alzheimer's Disease*, 8(2), 171-182.

<https://doi.org/10.3233/jad-2005-8210>

Kemppainen, K., Inkinen, J., Uusitalo, J., Nakari-Setälä, T., & Siika-aho, M. (2012). Hot water extraction and steam explosion as pretreatments for ethanol production from spruce bark. *Bioresource Technology*, 117, 131-139.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.080>

Khanbabaee K, van Ree T (2001) Tannins: classification and definition. *Nat Prod Rep* 18:641–649. <https://doi.org/10.1039/b1010611>

- Lin, J.-T., Liu, S.-C., Hu, C.-C., Shyu, Y.-S., Hsu, C.-Y., & Yang, D.-J. (2016). Effects of roasting temperature and duration on fatty acid composition, phenolic composition, Maillard reaction degree and antioxidant attribute of almond (*Prunus dulcis*) kernel. *Food Chemistry*, 190, 520-528. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.004>
- Lock Sing de Ugaz, O., & Alvarez, C. (1992). Taninos. *Revista De Química*, (Vo. VI. N° 1), 53. Recuperado de <file:///C:/Users/pC/Downloads/4619-Texto%20del%20art%C3%ADculo-17683-1-10-20130221.pdf>
- Loewe, V., & Gonzáles, M. (2001). Nogal común (*Juglans regia*) (1.a ed., Vol. 1). *Unidad de Diseño FUCOA*, Ministerio de Agricultura.
- Lofrano, G., Aydın, E., Russo, F., Guida, M., Belgiorno, V., & Meriç, S. (2008). Characterization, fluxes and toxicity of leather tanning bath chemicals in a large Tanning District Area (IT). *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*, 8(5-6), 529-542. <https://doi.org/10.1007/s11267-008-9177-7>
- Lugo, L., Martín, A., Diaz, J., Pérez-Flórez, A., & Celis, C. (2020). Implementation of Modified Acacia Tannin by Mannich Reaction for Removal of Heavy Metals (Cu, Cr and Hg). *Water*, 12(2), 352. <https://doi.org/10.3390/w12020352>
- Machado, G., dos Santos, C. A. B., Gomes, J., Faria, D., Santos, F., & Lourega, R. (2020). Chemical modification of tannins from *Acacia mearnsii* to produce formaldehyde free flocculant. *Science of The Total Environment*, 745, 140875. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140875>

- Man, K., Ma, Z. M., & Xu, X. J. (2014). Research on the Mechanism of Sulfate Pollution of Groundwater in Jiaozuo Area. *Applied Mechanics and Materials*, 665, 436–439. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amm.665.436>
- Metcalf L. y Hedí H. (1997). Tratamiento y Depuración de Las Aguas Residuales. *Editorial Labor*. España.
- Miller, M. (2005). *Polymers in Cementitious Materials*. Smithers Rapra Technology.
- Morales Escalante, J. E. (2016). *Remoción de sulfatos del efluente del sistema de refrigeración de una central termoeléctrica de ciclo combinado mediante la precipitación química de la Etringita* (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Ingeniería, Perú.
- Morawetz, H. (1993). *Polyelectrolytes, science and technology*, Hara Masanori, ed., Marcel Dekker, New York, 1993, 416 pp. price: \$150.00. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 31(9), 2413. <https://doi.org/10.1002/pola.1993.080310927>
- Nordstrom, D. K., & Alpers, C. N. (1999). *Negative pH, efflorescent mineralogy, and consequences for environmental restoration at the Iron Mountain Superfund site, California*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(7), 3455-3462. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.3455>
- Okuda, T., & Ito, H. (2011). *Tannins of Constant Structure in Medicinal and Food Plants—Hydrolyzable Tannins and Polyphenols Related to Tannins*. *Molecules*, 16(3), 2191-2217. <https://doi.org/10.3390/molecules16032191>
- Ossipov, V., Salminen, J.-P., Ossipova, S., Haukioja, E., & Pihlaja, K. (2003). *Gallic acid and hydrolysable tannins are formed in birch leaves from an intermediate*

- compound of the shikimate pathway*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(1), 3-16. [https://doi.org/10.1016/s0305-1978\(02\)00081-9](https://doi.org/10.1016/s0305-1978(02)00081-9)
- Özacar, M. (2000). Effectiveness of tannins obtained from valonia as a coagulant aid for dewatering of sludge. *Water Research*, 34(4), 1407-1412. [https://doi.org/10.1016/s0043-1354\(99\)00276-6](https://doi.org/10.1016/s0043-1354(99)00276-6)
- Özacar, M., & Şengil, İ. a. (2003). *Evaluation of tannin biopolymer as a coagulant aid for coagulation of colloidal particles*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 229(1-3), 85-96. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2003.07.006>
- Parodi Miranda, D (2016). “*DESARROLLO DE UN MATERIAL COMPUESTO BIODEGRADABLE A PARTIR DE LA UTILIZACIÓN DEL RESIDUO CÁSCARA DE NUEZ*” (Tesis de licenciatura). Universidad de Chile, Chile. Recuperado de: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/143532>
- Peppas, A., Komnitsas, K., & Halikia, I. (2000). Use of organic covers for acid mine drainage control. *Minerals Engineering*, 13(5), 563-574. [https://doi.org/10.1016/s0892-6875\(00\)00036-4](https://doi.org/10.1016/s0892-6875(00)00036-4)
- Perez, G. C., & Hernandez, H. L. (2004). *Introduccion Al Analisis Instrumental* (Spanish Edition). Ariel Publications.
- Pérez, J. 1977. *Estado del arte – Coagulación*. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS). PE.
- Porter, L. J. (1992). *Structure and Chemical Properties of the Condensed Tannins*. *Plant Polyphenols*, 245-258. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_14)

- Porter, L. J. (1992b). *Structure and Chemical Properties of the Condensed Tannins*. Plant Polyphenols, 245-258. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-3476-1_14)
- Price, M. L., Van Scoyoc, S., & Butler, L. G. (1978). *A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 26(5), 1214-1218. <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>
- Quamme J, Kemp A. (1985), Condensed Tannins for Adhesives, Patent: 4,558,080
- Rao, J. R., Chandrababu, N. K., Muralidharan, C., Nair, B. U., Rao, P. G., & Ramasami, T. (2003). Recouping the wastewater: A way forward for cleaner leather processing. *Journal of Cleaner Production*, 11(5), 591-599. [https://doi.org/10.1016/s0959-6526\(02\)00095-1](https://doi.org/10.1016/s0959-6526(02)00095-1)
- Razali, M., Ahmad, Z., Ahmad, M., & Ariffin, A. (2011). Treatment of pulp and paper mill wastewater with various molecular weight of polyDADMAC induced flocculation. *Chemical Engineering Journal*, 166(2), 529-535. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.11.011>
- Reclamation Research Group, LLC, Bozeman, Montana, 2020. *Acid Mine Drainage And Effects On Fish Health And Ecology: A Review*. [online] Alaska, p.22. Available at: <<https://www.earthworks.org/cms/assets/uploads/2018/12/55-S.R.-Jenning-et-al.-2008.-Acid-Mine-Drainage-and-Effects-on-Fish-Health-and-Ecology-A-Review.pdf>> [Accessed 15 September 2020].
- Rodríguez, L. 2006. Estabilidad de los Sistemas Coloidales. Departamento de Química Física- Universidad de Salamanca. ES.

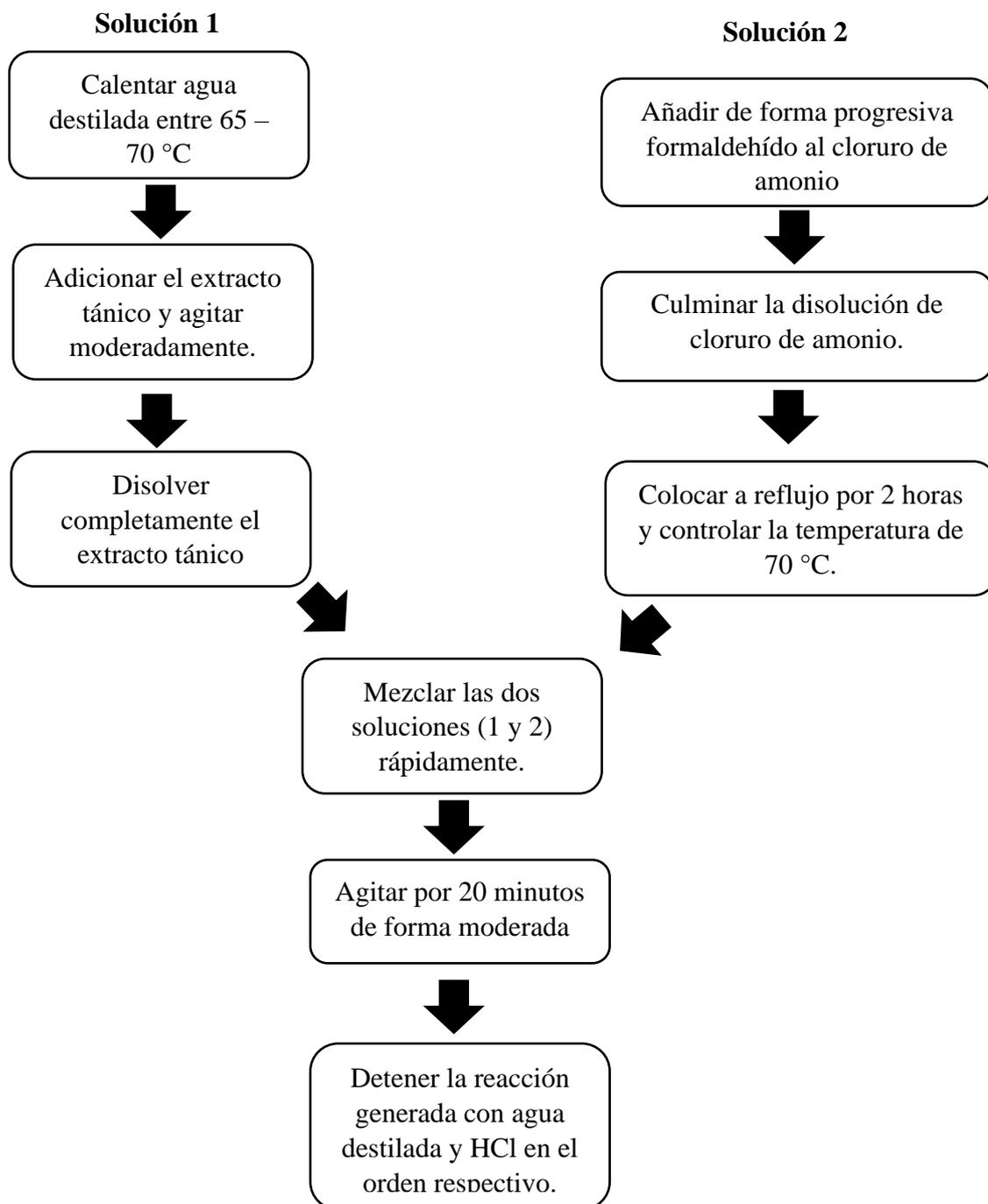
- Rosales Castro, M., & González Laredo, R. F. (2016). Comparación del contenido de compuestos fenólicos en la corteza de ocho especies de pino. *Madera y Bosques*, 9(2), 41–49. <https://doi.org/10.21829/myb.2003.921285>
- Rosales M., A. Galindo y R.F. Gonzales. (2002). *Taninos condensados en la corteza de Pinus chihuahuana y Pinus durangensis*. Información tecnológica. 13 (1):39-42
- Roussy, J., Van Vooren, M., Dempsey, B. A., & Guibal, E. (2005). Influence of chitosan characteristics on the coagulation and the flocculation of bentonite suspensions. *Water Research*, 39(14), 3247-3258. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.05.039>
- Rusu, M., Gheldiu, A.-M., Mocan, A., Moldovan, C., Popa, D.-S., Tomuta, I., & Vlase, L. (2018). *Process Optimization for Improved Phenolic Compounds Recovery from Walnut (Juglans regia L.) Septum: Phytochemical Profile and Biological Activities*. *Molecules*, 23(11), 2814. <https://doi.org/10.3390/molecules23112814>
- Samboni Ruiz, N. E. (2007). *Revisión de par-metros físicoquímicos como evisión de par-metros físicoquímicos como indicadores de calidad y contaminación del agua*. *REVISTA INGENIERÍA E INVESTIGACIÓN*, 27(3), 172-181. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/28869/14858-44740-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Saravanabhavan, S., Thanikaivelan, P., Rao, J. R., Nair, B. U., & Ramasami, T. (2003). Natural leathers from natural materials: Progressing toward a new arena in leather processing. *Environmental Science & Technology*, 38(3), 871-879. <https://doi.org/10.1021/es034554o>

- Sharma, B. R., Dhuldhoya, N. C., & Merchant, U. C. (2006). Flocculants—an Ecofriendly Approach. *Journal of Polymers and the Environment*, 14(2), 195-202.  
<https://doi.org/10.1007/s10924-006-0011-x>
- Shirato W, Kamei Y (1992), Insoluble tannin preparation process, waste treatment process employing insoluble tannin and adsorption process using tannin, Patent Number: 5,158,711.
- Skoog, D.A., West D. M., Holler F.J. y Crouch S.R.(2001).*Principios de análisis instrumental*. 5° ed., McGraw-Hill.
- Skousen, J., Simmons, J., McDonald, L. M., & Ziemkiewicz, P. (2002). *Acid-Base Accounting to Predict Post-Mining Drainage Quality on Surface Mines*. *Journal of Environmental Quality*, 31(6), 2034-2044.  
<https://doi.org/10.2134/jeq2002.2034>
- Souza, R. D., Nunes, C. R., Pereira, S. M. F., Oliveira, R. R., & Oliveira, D. B. (2015). Antioxidant activity and content of tannins, phenols, ascorbic acid and sugar in *Cereus fernambucensis*. *Revista Vértices*, 17(1), 183-201.  
<https://doi.org/10.5935/1809-2667.20150012>
- Springer, H. (1994). The 1994 John Arthur Wilson Memorial Lecture: treatment of industrial wastes of the leather-industry: is it still a major problem? *Journal of the American Leather Chemists Association* 89(6): 153-186.  
<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9552139>
- Stuart, B. H. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*: 14 (Illustrated ed.). Wiley.

- Tait, S., Clarke, W. P., Keller, J., & Batstone, D. J. (2009). *Removal of sulfate from high-strength wastewater by crystallisation*. *Water Research*, 43(3), 762-772.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.008>
- Tostevin, R., Turchyn, A. V., Farquhar, J., Johnston, D. T., Eldridge, D. L., Bishop, J. K., & McIlvin, M. (2014). Multiple sulfur isotope constraints on the modern sulfur cycle. *Earth and Planetary Science Letters*, 396, 14–21.  
<https://doi.org/10.1016/j.epsl.2014.03.057>
- Tramontini, M., & Angiolini, L. (1994). Mannich Bases-Chemistry and Uses.
- Tremblay, G. (s. f.). *INAP: The International Network for Acid Prevention*. INAP.  
Recuperado 8 de septiembre de 2020, de  
[http://www.gardguide.com/index.php?title=Main\\_Page](http://www.gardguide.com/index.php?title=Main_Page)
- Tünay, O., Kabdaşlı, I., Orhon, D., & Ateş, E. (1995). Characterization and pollution profile of leather tanning industry in Turkey. *Water Science and Technology*, 32(12). [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(96\)00132-1](https://doi.org/10.1016/0273-1223(96)00132-1)
- Virpiranta, H., Sotaniemi, V., Leiviskä, T., Taskila, S., Rämö, J., Johnson, D. R., & Tanskanen, J. (2022). Continuous removal of sulfate and metals from acidic mining-impacted waters at low temperature using a sulfate-reducing bacterial consortium. *Chemical Engineering Journal*, 427, 132050.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.132050>
- Wang, Y., Xu, Z., Bach, S., & McAllister, T. A. (2009). Sensitivity of *Escherichia coli* to seaweed (*Ascophyllum nodosum*) phlorotannins and terrestrial tannins. *Asian-australasian Journal of Animal Sciences*, 22(2), 238-245.  
<https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80213>

- Werner, E. A. (1917). LXXII.—Methylation by means of formaldehyde. Part I. The mechanism of the interaction of formaldehyde and ammonium chloride; the preparation of methylamine and of dimethylamine. *Journal of the Chemical Society*, 111(0), 844-853. <https://doi.org/10.1039/ct9171100844>
- Xia, S., Zhang, Z., Wang, X., Yang, A., Chen, L., Zhao, J., Leonard, D., & Jaffrezicrenault, N. (2008). Production and characterization of a bioflocculant by *Proteus mirabilis* TJ-1. *Bioresource Technology*, 99(14), 6520-6527. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.031>
- Yang, Q., Wang, L., Ma, H., Yu, K., & Martín, J. D. (2016). Hydrochemical characterization and pollution sources identification of groundwater in Salawusu aquifer system of Ordos Basin, China. *Environmental Pollution*, 216, 340–349. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.076>
- Zuo, K., Kim, J., Jain, A., Wang, T., Verduzco, R., Long, M., & Li, Q. (2018). Novel composite electrodes for selective removal of sulfate by the capacitive deionization process. *Environmental Science & Technology*, 52(16), 9486-9494. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01868>

## ANEXO A



**ANEXO B**