

Caracterización de carbones activados granulados obtenidos a partir de residuos agroindustriales y mejorados con agentes antimicrobianos para su aplicación en el tratamiento complementario de agua potable, Tumbes, 2014

Gerardo Cruz Cerro⁽¹⁾, Liliana Solís Castro ⁽²⁾, Víctor Guzmán Tripul⁽²⁾, Riitakeiski⁽³⁾, José Cruz Martínez⁽⁴⁾, Mónica Gómez León⁽⁵⁾, José Solís Veliz⁽⁵⁾, José Silva Chávez⁽¹⁾

Resumen

Se impregnaron carbones activados producidos de residuos agroindustriales con nanopartículas de óxido de zinc y quitosano. Los carbones activados se produjeron vía activación química con ZnCl_2 y la impregnación se llevó a cabo por impregnación húmeda y carbonización en el caso de ZnO (usando acetato de zinc como precursor) y solo por impregnación húmeda para el quitosano. A pesar de utilizarse un amplio rango de residuos agroindustriales, pruebas preliminares determinaron que los mejores materiales para realizarse en el presente estudio fueron los residuos de coronta de maíz y cascara de cacao.

Se comprobó mediante fotografías de microscopia electrónica y difracción de rayos X, la presencia de las nanopartículas impregnadas en las correspondientes muestras, mostrando una alta capacidad de adsorción de azul de metileno, metales pesados y adicionalmente una alta capacidad antibacterial contra bacterias *Gram* negativas.

Se probó la eficiencia de un filtro a base de carbón activado generado a partir de coronta de maíz e impregnado con quitosano, para el tratamiento complementario del agua potable producido en la ciudad de Tumbes. El filtro construido logró reducir eficientemente los niveles de concentración de turbidez, cloro residual en el agua potable llegando a valores entre 46.9 y 68.9 % y entre 87.5 hasta 100 % respectivamente. La cantidad inicial de bacterias heterótrofas en el agua también se logró reducir en niveles de 32.8 y 66.7 % en los primeros 50 min del experimento. El caudal promedio de agua tratada por el filtro fue de 0.20 l/min y la capacidad máxima de tratamiento de agua, teniendo como variable limitante la eficiencia en la reducción de bacterias heterótrofas, fue de 0.3 l de agua por cada g. de carbón impregnado con quitosano puesto en el filtro (0.3 l/g).

Palabras clave: carbón activado, residuos agroindustriales, nanopartículas antimicrobianas, tratamiento de agua

1 Departamento de Ingeniería Forestal y Gestión Ambiental, Universidad Nacional de Tumbes

2 Departamento de Biología y Bioquímica, Universidad Nacional de Tumbes

3 Laboratorio de Transferencia de Masa y Calor, Universidad de Oulu - Finlandia

4 Departamento de Química y Física, Universidad Nacional de Tumbes

5 Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería

Characterization of activated of Agro-industrial based-activated carbons improved with antimicrobial agents for drinking water treatment application, Tumbes - 2014

Abstract

Activated carbons prepared from agro-industrial residues were impregnated with zinc oxide nanoparticles and chitosan. Activated carbon samples were produced by chemical activation with ZnCl_2 and then impregnated via wet impregnation and carbonization in the case of ZnO and via wet impregnation.

Perhaps a wide range of agro-industrial wastes were used, preliminary tests indicated that corncob and red mombin seed were the best materials to use in the research.

X ray diffraction and SEM micrographics proved the presence of the nanoparticles in the surface of the activated carbon samples. The samples exhibited a high level of methylene blue, As and Pb removal capacity and additionally high antibacterial capacity against Gram negative bacteria.

The efficiency of a filter based on activated carbon impregnated with chitosan was tested in the complementary treatment of potable water in Tumbes.

An efficient reduction of the levels of turbidity and residual chlorine were achieved with the filter, between 46.9 - 68.9 % and 87.5 - 100 % respectively. The same behavior was observed in the case of heterotrophs bacteria, reaching reduction between 32.8 and 66.7 % in the first 50 min.

The measured average potable water flow that was treated in the filter was 0.20 l/min and the maximum treatment capacity, taking the heterotrophs bacteria as the limiting parameter, was 0.3 l of water per each g. of carbon impregnated with chitosan put into the filter (0.3 l/g)

Keywords: activated carbon, agro-industrial wastes, antibacterial nanoparticles, water treatment

1.- Introducción

Los episodios de contaminación de agua a nivel de región Tumbes son diversos, siendo el más saltante la contaminación del río Tumbes por metales pesados como cadmio (Cd), plomo (Pb) y arsénico (As) generados de la minería artesanal y la carga orgánica y microbiana producto de la actividad urbana en la parte alta de la cuenca (Puño, 2010). Esta contaminación ha generado una serie de impactos negativos sobre los ecosistemas circundantes (Bermejo y Cruz, 2006; Carril y Feijoo 2008), además de la potencial afectación a la salud de las poblaciones rurales cercanas a la cuenca, debido al consumo de esta agua de forma directa o parcialmente tratada.

Así mismo, en la propia ciudad de Tumbes existe el riesgo latente de contaminación de agua potable debido al mal estado de gran parte de las redes del sistema de distribución de agua de la ciudad. Rimaycuna y Celi (2012) encontraron diversos contaminantes en muestras de agua potable tomadas de los grifos de viviendas en la ciudad de Tumbes que superan los límites máximos permisibles (MINSA, 2010). Entre sus resultados encontraron valores de bacterias heterotróficas desde 520 UFC/ml hasta 612 UFC/ml. Otro de las sustancias presentes en el agua es el cloro residual, el cual si bien es cierto es un agente antimicrobiano efectivo, podría cambiar a bajas concentraciones el sabor y aroma del agua y además permitiría la generación de Trihalometanos, sustancias potencialmente cancerígenas.

A pesar de ello no se establecen hasta el momento medidas concretas y de aplicación real que puedan servir para mitigar los efectos de los episodios descritos, dejando a la población expuesta a los efectos negativos sobre la salud.

La agricultura es una de las actividades económicas más importantes en el Perú, teniendo como algunos de los cultivos sembrados el arroz, banano, mango, cacao, café, entre otros. Producto del procesamiento de los mismos en los niveles primarios y secundarios se generan una serie de residuos que en las condiciones actuales de manejo causan diversos impactos negativos sobre el ambiente. La cantidad de residuos agrícolas y agroindustriales generados es importante; en el caso de café, la cáscara representa el 12 % del grano seco; para el mango, la cáscara representa el 23.5 % y la pepa 16.2 %; y para el cacao, la cáscara de la vaina representa entre el 70 al 75 %. Considerando esta información y tomando como base la producción de 2012 (MINAGRI, 2013) las cantidades de residuos producidos en ese año fueron de 37 740 ton de cáscara de café, 43 522 ton de cáscara y 30 000 ton de pepas de mango y 43 750 ton de cáscaras de vaina de cacao.

Una de las alternativas para el reciclaje de estos materiales es su potencial utilización para la elaboración de carbón activado, un material de alta área superficial que tiene múltiples aplicaciones en los campos del tratamiento de agua y aire contaminados y en diversas actividades productivas como agrícola, pecuaria, agroindustrial, médica, etc. Dos de los principales inconvenientes de la producción de carbón activado es el costo de la materia prima y el hecho de que son materias primas no renovables. La principal característica que deben cumplir estas materias primas es la presencia dentro de su composición de importantes cantidades de material carbonáceo tal como celulosa, hemicelulosa y lignina, por lo que pueden ser utilizados como una materia prima continúa para la producción de carbón activado de alta calidad. Actualmente y con la finalidad de reducir estos costos se están investigando diversos materiales residuales de la agricultura y agroindustria (Cruz *et al.* 2012), cáscara de arroz (Adekola y Adegoke, 2005; 2009; Khanet al., 2010), cáscara de palma aceitera (Aik y Qipeng, 2007), cáscara de semillas de palma (Gueuet al., 2006), semillas de guayaba (Rahman y Saad, 2003), residuos de la molienda de olivo (Moreno et al., 2001) entre otros.

A través del presente proyecto se permitiría la solución de problemas ambientales actuales tales como los generados por la mala disposición de residuos agroindustriales. Estos recursos renovables son de bajo costo y permitiría la producción de carbones activados que pueden ser combinados con agentes antimicrobianos tales como quitosano para potenciar su capacidad descontaminadora y lograr productos de alto valor agregado.

Los sistemas de tratamiento de agua basados en materiales adsorbentes son costosos, lo que dificulta su empleo generalizado por la población. Esta desventaja podría superarse con el uso de materiales de bajo costo que permitan hacer rentable la utilización de los mismos a mayor escala. Adicionalmente constituye una alternativa para el remplazo o complemento del tratamiento convencional de potabilización de agua o tratamiento de aguas residuales domésticas, de tal forma que permitiría la reducción de contaminantes específicos difíciles de eliminar con los tratamientos convencionales.

Los experimentos que se realizan normalmente a nivel de laboratorio son tipo *batch*, los cuales utilizan soluciones sintéticas de concentraciones conocidas en condiciones que difieren de la realidad (en la que el agua contiene los contaminantes de interés interactuando con otros contaminantes y otros componentes del agua, creando condiciones particulares que tienen que superarse durante el tratamiento)

En esta coyuntura se planteó el presente trabajo de investigación cuyos objetivos fueron:

- ❖ Producir carbones activados granulados a partir de residuos agroindustriales y mejorados con agentes antimicrobianos
- ❖ Caracterizar carbones activados granulados producidos a partir de residuos agroindustriales y mejorados con agentes antimicrobianos.
- ❖ Diseñar un prototipo de filtro para tratamiento complementario de agua potable a nivel domiciliario en la ciudad de Tumbes.

2.- Antecedentes

Específicamente los miembros del grupo de investigación que ejecuto la presente investigación, ha desarrollado y se encuentra desarrollando proyectos individuales y en conjunto en la temática. Cruz et al. (2012), en un trabajo en conjunto entre el Departamento Académico de Ingeniería Forestal y Medio Ambiente de la Universidad Nacional de Tumbes, dentro del proyecto ProEnv2 financiado por el Programa CIMO N-S-S, produjeron carbón activado de buena calidad a partir de la cáscara de cacao procedente del valle de Zarumilla – Tumbes con buenos resultados en la adsorción de arsénico a partir de soluciones acuosas. La activación utilizada en la obtención de los carbones activados fue utilizando tres agentes químicos cloruro de zinc, hidróxido de sodio y carbonato de potasio, obteniéndose mejores resultados en cuanto a área superficial con el cloruro de zinc cuando la carbonización se llevó entre los 650 y 800 °C. En 2011 se desarrolló el proyecto “Síntesis e impregnación de nanopartículas basados en TiO₂ sobre carbón activado usando sonoquímica.”(PROCYT 344-2011) en donde se obtuvo carbones activados hechos de cascara de cacao impregnado con TiO₂, probándose con resultados positivos en la adsorción de arsénico en medio acuoso.

El 2013 la Universidad Nacional de Tumbes financió el proyecto “Producción de Carbones activados a partir de residuos agroindustriales de las regiones Piura y Tumbes” donde se produjo carbones activados granulados y particulados de diversos residuos agrícolas y agroindustriales, tales como cascara de cacao, cascara de mango (parte interna y externa), cascara de café, obteniendo carbones activados con áreas superficiales cercanas a 1000 m²/g con capacidad adsorbente de arsénico. De este trabajo hay un artículo publicado en la Revista Manglar (Cruz et al. 2013)

Entre 2013 y 2014 se desarrolló el proyecto “*Design of adsorption materials for water treatment for Peruvian rural areas*” (Contrato de subvención 083-2013-CONCYTEC-OAJ), la cual soportó intercambios de investigación con la

República Checa para caracterización de carbones activados granulares y particulados, caracterizándose carbones obtenidos de cascara de cacao, cascara de mango, cascara de café, tuza de maíz, pepa de ciruela, pepa de pacay, entre otros.

La Universidad Nacional de Tumbes en conjunto con la Universidad Nacional de ingeniería y la Universidad de Oulu – Finlandia desarrollaron el proyecto “Diseño de materiales adsorbentes y unidades de tratamiento para potabilización de agua en zonas rurales de Perú”, proyecto financiado por la Academia de Ciencias de Finlandia. Producto del trabajo conjunto entre las universidades mencionadas y el Instituto de Procesos Químicos Fundamentales de la Academia de Ciencias de la Rep. Checa se presentó en la 2^{da} Conferencia SkyPro–Finlandia el tema “*Towards low-cost activated carbons*” (Pirila et al., 2013), donde se hace una comparación entre los carbones activados elaborados con residuos de cacao y los elaborados con desechos de la pirolisis y gasificación de madera, comprobando mejores características en los carbones hechos de los residuos de cacao.

Investigadores ligados al grupo de investigación que desarrolló la presente investigación, han estudiado también las propiedades antimicrobianas de nanopartículas como las de ZnO₂ (Colonia et al., 2014; Colonia et al., 2013^a; Colonia et al., 2013^b; Colonia et al., 2010) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, encontrando un efecto inhibitorio.

Otras nanopartículas como dióxido de titanio y el quitosano también han sido utilizados de forma directa o soportado en diversos materiales (cerámicos, vidrio, etc) como agentes antimicrobianos sobre *E. Coli* y otros microorganismos en el tratamiento de aguas (Li et al., 2008; Bonnett et al, 2006; Salehi et al., 2010; Miretzky y Cirelli, 2009; Tao et al., 2009)

3.- Material y métodos

3.1.- Producción de carbón activado e impregnación con quitosano

Los materiales utilizados inicialmente para la preparación de carbón activado fueron residuos de coronta de maíz, pepa de ciruela, pepa de mango, cascara de café y cáscara de la vaina del cacao; las cuales fueron recolectadas en los diferentes fundos y empresas agroindustriales de las regiones Piura y Tumbes.

Las muestras tomadas fueron muestras compuestas de 50 Kg de masa, una por tipo de materia prima seleccionada en los sitios de mayor producción de acuerdo al tipo de residuos. El muestreo fue manual y de tipo dirigido, dado que se escogieron las submuestras acorde a los siguientes criterios: frescura del material, ausencia de insectos y actividad microbiana intensa y ausencia de reacciones de oxidación en el material.

Las materias primas fueron sometidas a un proceso de activación química utilizando cloruro de zinc. En líneas generales el procedimiento comenzó con el secado del material en una estufa a una temperatura de entre 80 y 100 °C hasta alcanzar peso constante. El material seco fue molido y tamizado para obtener tres fracciones menor de 0.5 mm, entre 0.5 y 1 mm y mayor de 1 mm (sin embargo la fracción utilizada fue la de entre 0.5 y 1 mm). Luego se tuvo una etapa de mezcla con el agente activador en una proporción de 1/1 (materia prima/agente activador). Seguidamente las muestras fueron colocadas en un reactor con inyección de nitrógeno a 150 ml/min, y este dentro de un horno horizontal a 600 °C, durante dos 2 horas y utilizando una rampa de temperatura de 10 °C/min. Luego el reactor con el material fue enfriado con aire frío proveniente de un compresor, para luego ser lavado secuencialmente con agua destilada fría y caliente y una solución 0.15 N de ácido clorhídrico. Finalmente el material fue secado durante 12 horas a una temperatura de 100 °C. Esta metodología se encuentra acorde a los carbones activados de mejor calidad obtenidos a partir de la cáscara de cacao en el estudio desarrollado por Cruz et al.(2012).

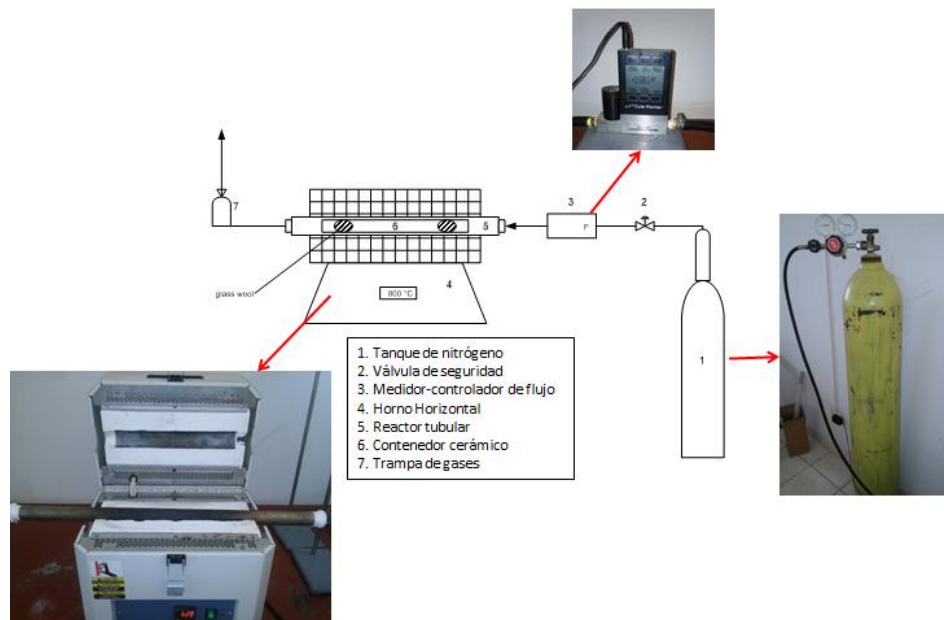


Figura 1. Equipo de carbonización utilizado en la preparación de carbón activado

Los carbones obtenidos fueron molidos a un tamaño de partícula entre 0.5 y 1 mm para ser posteriormente impregnados con quitosano.

3.2.- Producción de carbones impregnados con ZnO

Se prepararon pellets de carbón activado impregnados con ZnO utilizando la siguiente técnica: una combinación de materia prima, ZnCl_2 , agua y acetato de zinc, un agente precursor de nanopartículas de ZnO, fueron mezclados y moldeados como pellets haciendo uso de jeringas de 10 cm³. Estos pellets se pusieron a secar en una estufa a una temperatura de 80 °C durante un período de 12 horas. Luego los pellets secos se introdujeron en un horno horizontal y fueron activados durante 2 h. a una temperatura de 600 °C. Luego los pellets fueron enfriados y lavados con agua destilada y una solución de ácido clorhídrico 0.5 N y enjuagados nuevamente con abundante agua destilada. Al tener solo pequeñas cantidades de los pellets, estos tuvieron que molerse para realizar la caracterización y las diferentes pruebas de adsorción.

3.3.- Producción de carbones impregnados con quitosano

Para la impregnación del quitosano sobre el carbón activado, el carbón granular (0.5-1 mm) fue sumergido en una solución al 1 % ácido acético con 1% de quitosano. Esta mezcla fue sometida a una presión de 1 bar para mejor contacto entre las partículas de

quitosano y la superficie de los carbones activados. Luego los carbones impregnados se escurrieron y fueron secados a la temperatura de 45 °C hasta peso constante.

3.4.- Caracterización de los materiales producidos

Se hizo un tamizaje preliminar para ver cuáles eran los materiales más adecuados para la impregnación de quitosano y ZnO, para lo cual se analizó las muestras utilizando difracción de rayos X. De estas pruebas preliminares se eligió a la coronta de maíz y la pepa de ciruela como los mejores materiales por lo que se hicieron todas las pruebas con estas muestras.

Se determinaron diferentes propiedades morfológicas y estructurales de los materiales preparados mediante técnicas de microscopía electrónica, difracción de rayos X, espectroscopia RAMAN. Estos análisis se realizaron en el laboratorio de Transferencia de Masa y Energía de la Universidad de Oulu – Finlandia y en la Universidad Nacional de Ingeniería a través de diferentes proyectos de investigación conjuntos.

Se midió la capacidad adsorbente de los materiales mediante *tests* de cinética de adsorción con azul de metileno, As y Pb; y también pruebas de equilibrio con azul de metileno. Para las muestras impregnadas con ZnO se probó la capacidad de adsorción y fotocatalítica de las mismas.

Para evaluar la cinética de remoción del azul de metileno adsorbido por las muestras impregnadas con quitosano se aplicó un modelo de *pseudo*-segundo orden. La forma integrada del modelo se escribe de la siguiente manera:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (2)$$

donde t es el tiempo de adsorción (h), q_t es la cantidad adsorbida en el tiempo t (mg de contaminante / g de carbón activado granulado mejorado), k_2 es la constante de velocidad de *pseudo*-segundo orden ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) y q_e es la capacidad de adsorción calculada para el equilibrio (mg de contaminante/ g de carbón activado granulado mejorado). La cantidad de contaminante adsorbido fue calculada aplicando el siguiente balance de materia:

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m_{AC}} \quad (3)$$

donde C_0 y C_t son la concentración inicial y la concentración en solución en el tiempo t de contaminante (mg/l), respectivamente. V es el volumen total de la solución (l) y m_{AC} es la masa de carbón activado granulado mejorado (g).

Para determinar la actividad antimicrobiana se utilizará el carbón particulado impregnado con los agentes antimicrobianos y las cepas de *E. Coli*, *Salmonella* y *Shigella* utilizando el Método de Kirby Bauer. Para la aplicación del método se empleará una turbidez del medio conteniendo a cada una las bacterias de 0.5 unidades (10^8 cel/mL) según el patrón de *Mc Farland*, y se verificará su absorbancia a 580 nm. (Koneman et al. 1994). Cada muestra conteniendo el inóculo será sembrada en toda la superficie de una placa Petri conteniendo agar *Muller-Hinton*, y se colocarán los materiales obtenidos (carbones activados mejorados con agentes antimicrobianos). Las placas serán incubadas invertidas a $35 \pm 2^\circ$ C por 18 horas. Posteriormente, se realizará la medición de los halos de inhibición.

3.5. Pruebas de carbones en filtro

Se colocaron 30 gramos del carbón activado impregnado con quitosano en un soporte de plástico de 1.5" de diámetro y se dispuso en un arreglo de tuberías y accesorios tal como se muestra en la figura 2. El sistema diseñado y construido simuló las condiciones en la que es transportada el agua potable a nivel casero. No se esterilizó y/o desinfectó el sistema previamente a las pruebas realizadas. El sistema contó con una conexión de recirculación para el agua que no pasaba a través del filtro, retornando el agua sin tratar al tanque de almacenamiento de agua potable.

La muestra de agua potable se colectó del sector "El Milagro" en base a los resultados de calidad de agua encontrados por Rimaycuna y Celi (2002). Esta muestra de agua se almacenó en un balde de plástico tapado herméticamente durante un período de 35 horas que es el tiempo de almacenamiento de agua que las familias utilizan en zonas donde el flujo de agua no es constante.

Inicialmente se lavó el sistema con el agua potable muestreada durante 10 minutos sin que esta pase por el filtro de carbón con la finalidad de eliminar posibles rezagos de agua y sólidos dentro del sistema y saturar el sistema acorde a las condiciones de calidad del agua potable inicial.

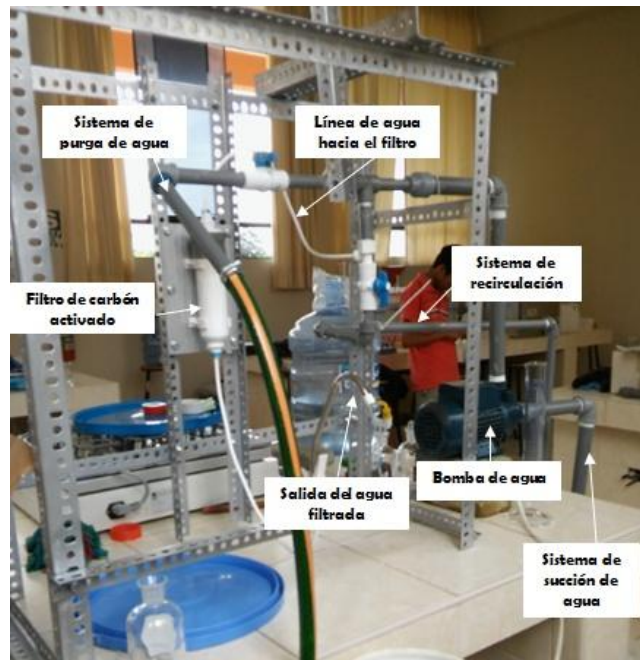


Figura 2. Arreglo de accesorios utilizado para las pruebas de tratamiento de agua potable complementario

Los parámetros físico-químicos y microbiológicos analizados fueron: pH, concentración de cloro residual (mg/l), turbidez (NTU), fosfatos (mg/l), nitritos (mg/l) y contenido total de bacterias heterótrofas (UFC/ml) utilizando el método de placa fluida (APHA. AWWA. WEF. Part 9215 B. 21th Ed. 2005.). Las muestras fueron tomadas a distintos tiempos desde el inicio del experimento hasta 130 minutos después. Adicionalmente el caudal de agua después de pasar por el filtro fue medido y registrado de acuerdo al avance del experimento.

El pH, concentración de cloro residual (mg/l), turbidez (NTU) fueron medidos de forma instrumental para lo cual se utilizó un potenciómetro WTW pH3210 – Merck, un medidor de cloro total y residual Hanna HI96711C y un turbidímetro Lovibond Turbichack.

Para la determinación de fosfatos se utilizó para su determinación el método de referencia indicado en *Standard Method for The Examination of Water and Wastewater, 20th edition 2005*; método del ácido ascórbico; en el cual se midieron 50 ml de muestra, luego se agregó 5 ml de reactivo de color se homogenizó y se dejó en reposo por 15 min luego se realizó la lectura en el espectrofotómetro *SpectroquantPharo 300 – Merck* a 643 nm de longitud de onda.

En el caso de los nitritos se utilizó el método Colorimétrico, de acuerdo a lo indicado en el *Standard Method for The Examination of Water and Wastewater, 20th edition 2005*; para

el cual se midieron 50 ml de muestra, luego se agregó 2 ml de reactivo de color se homogenizo y se dejó en reposo por 15 min luego se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 543 nm de longitud de onda.

4.- Resultados y discusión

4.1. Caracterización de los carbones impregnados con nanopartículas de óxidos de zinc

La figura 3 y 4 muestra los difractogramas de las muestras de carbón activado producido de coronta de maíz y de pepa de ciruela impregnados con nanopartículas de óxidos de zinc, así como los difractogramas para las muestras sin impregnación. Visiblemente se pueden identificar para las muestras impregnadas (RMS-mod y CC-mod) los picos de flexión para las nanopartículas de ZnO.

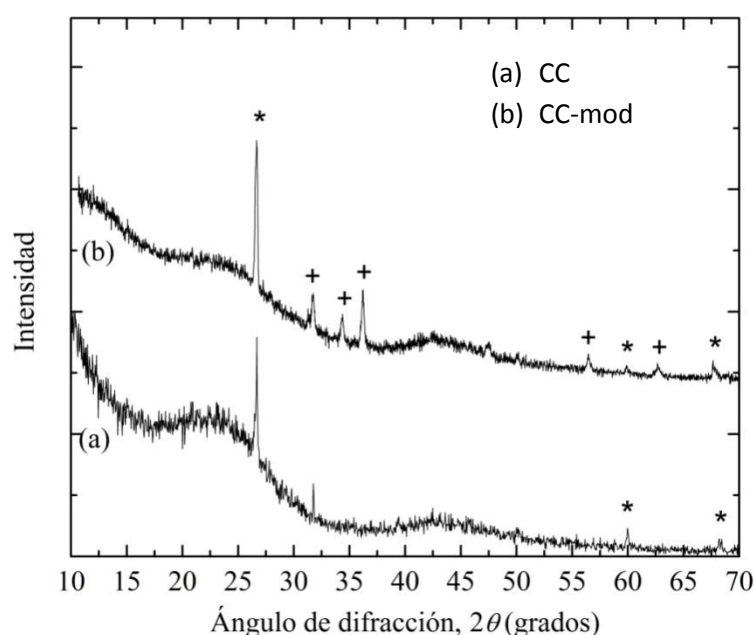


Figura 4. Difractogramas de rayos X para los carbones activados procedentes de tuza de choclo (a) y carbón de tuza de choclo impregnado con nanopartículas de ZnO(b). Los picos señalados se asignan a reflexiones de los compuestos: (*) SiO_2 y (+) al ZnO.

Sin embargo en las muestras de carbón sin y con impregnar se muestran picos de flexión para el SiO_2 , componente que ha evolucionado del Silicio (Si) que originalmente tienen estos tipos de muestras de residuos agroindustriales. Es posible evitar la influencia de este componente mediante un lavado previo de la materia prima con una solución acida para eliminarlo.

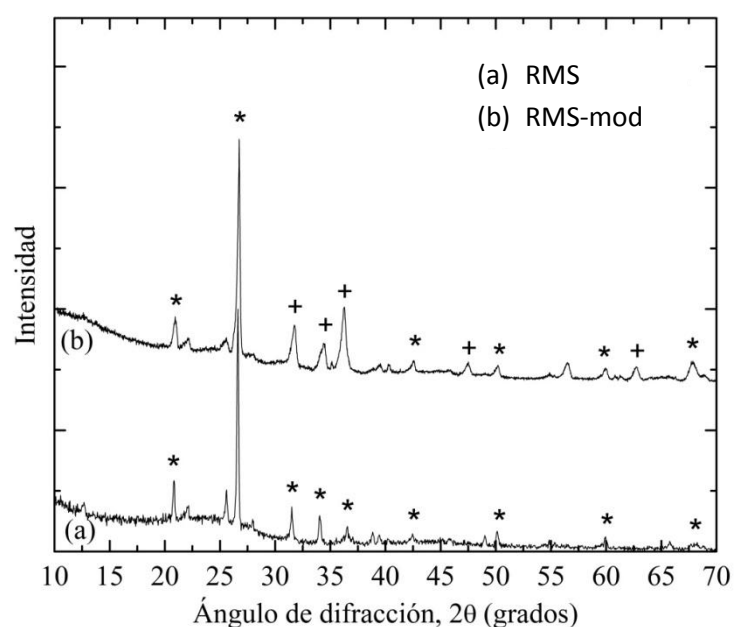


Figura 3. Difractogramas de rayos X para los carbones activados procedentes de pepas de ciruela (a) y carbón de pepas de ciruela impregnado con nanopartículas de ZnO (b). Los picos señalados se asignan a reflexiones de los compuestos: (*) SiO_2 y (+) al ZnO.

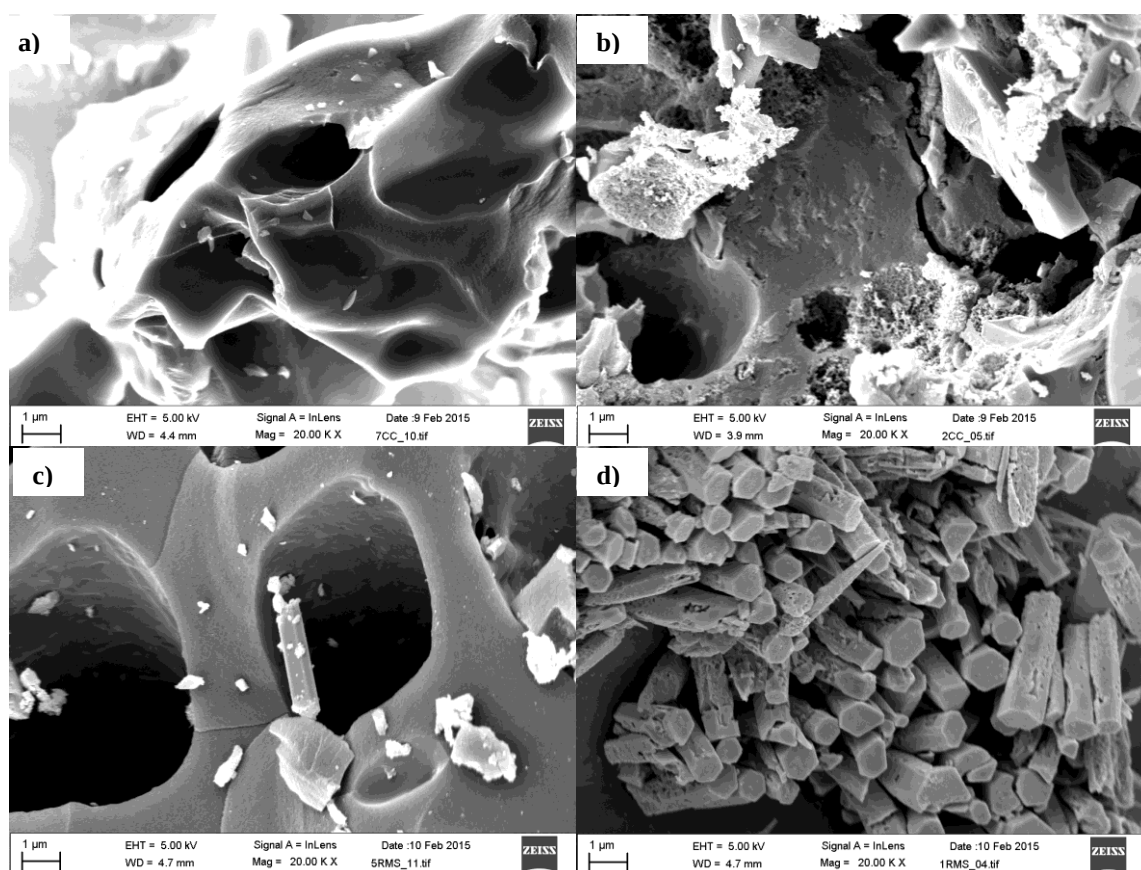


Figura 5. Micrografías de microscopia electrónica de las muestras CC (a), CC-mod (b), RMS (c) and RMS-mod

Las imágenes de microscopia electrónica (Figura 5) muestran las superficies de los carbones activados sin impregnación de ZnO y muestras con impregnación. Se aprecia claramente que las muestras de carbón activado impregnadas soportan las nanopartículas de óxidos de zinc en diferentes morfologías. En las muestras de carbón activado derivado de coronta de maíz se aprecia las formas tetraédricas de los óxidos de zinc, mientras que en las muestras derivadas de pepa de ciruela también se muestra este tipo de morfología pero dispuestas de forma desordenada.

Las pruebas de adsorción con azul de metileno de estas muestras (RMSmod y CCmod) fue evaluada con presencia de luz UV y sin presencia de luz UV con la finalidad de verificar las propiedades fotocatalíticas de las muestras impregnadas con ZnO. Se aprecia en la figura siguiente que para las dos muestras el nivel de remoción en presencia de luz UV es superior a la remoción de las muestras sin presencia de luz. Esto evidencia las propiedades combinadas de adsorción y degradación fotocatalítica del azul de metileno por las muestras producidas.

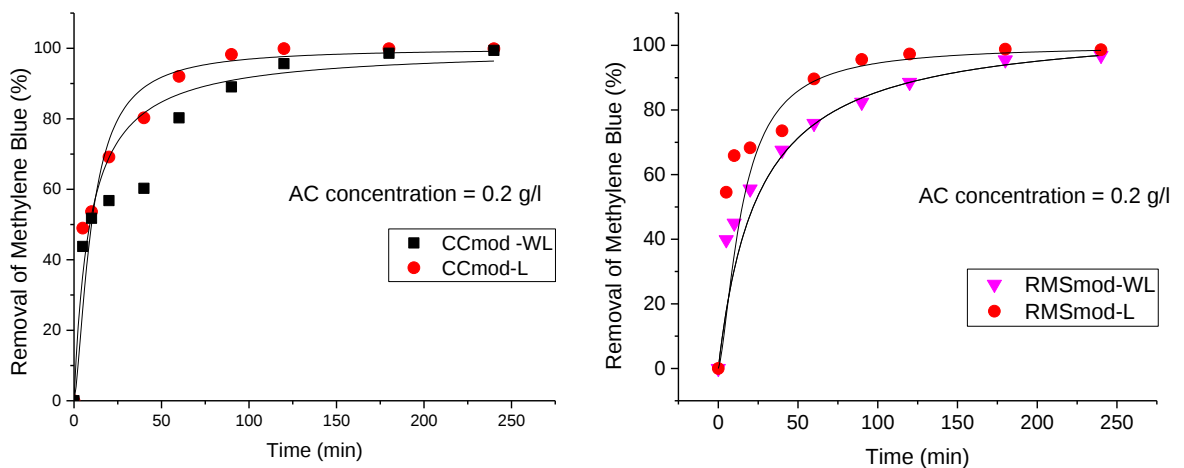


Figura 6. Remoción del azul de metileno para los carbones activados procedentes de pepa de ciruelas impregnado con ZnO (RMSmod) y de coronta de maíz impregnado con ZnO (CCmod). Evaluados en presencia de luz (L) y en oscuridad (WL).

La adsorción de As y Pb disueltos en el agua contaminada del río Tumbes se muestra en la figura 7. Adicionalmente la concentración de metales pesados inicial en el agua del río Tumbes se muestra en la tabla 1.

Tabla 1.Contenido de metales pesados en el agua del rio
Tumbes (muestra tomada en época de estiaje)

Elemento (µg/l)	Contenido en el agua	ECA(*) (µg/l)
Al	1750	200
As	56.7	10
B	93	500
Ba	72	700
Be	<0.1	4
Cd	2.2	3
Cr	2.9	50
Cu	207	2000
Fe	2920	1000
Hg	<0.2	2
Mn	229	400
Ni	4	25
Pb	224	50
Se	1.7	50
U	0.25	20
V	4.8	100
Zn	272	5000

(*) Estándares de Calidad de aguas

En la tabla 7 se hace una comparación de capacidad de adsorción entre los carbones activados impregnados y sin impregnar. Para el caso de la adsorción de As las muestras impregnadas como sin impregnar presentan una alta capacidad de remoción, llegando a capacidades de remoción cercanos al 100 % en los 5 primeros minutos. Es preciso mencionar que bajo las condiciones de pH del agua contaminada (6-6.5) sustenta la existencia de As como oxianiones.

Por otro lado la remoción del catión Pb (bajo las condiciones del agua contaminada con valencia +2) también muestra ser alta, mayor de 85 %, sin embargo es menor que el nivel de remoción de As. Más aún si se compara entre materiales, las muestras de carbón

activado derivado de pepa de ciruela presentan menor adsorción que las muestras derivadas de coronta de maíz; y comparando los dos materiales derivados de la pepa de ciruela, el impregnado con nanopartículas de ZnO presenta mejor adsorción que el carbón sin impregnar.

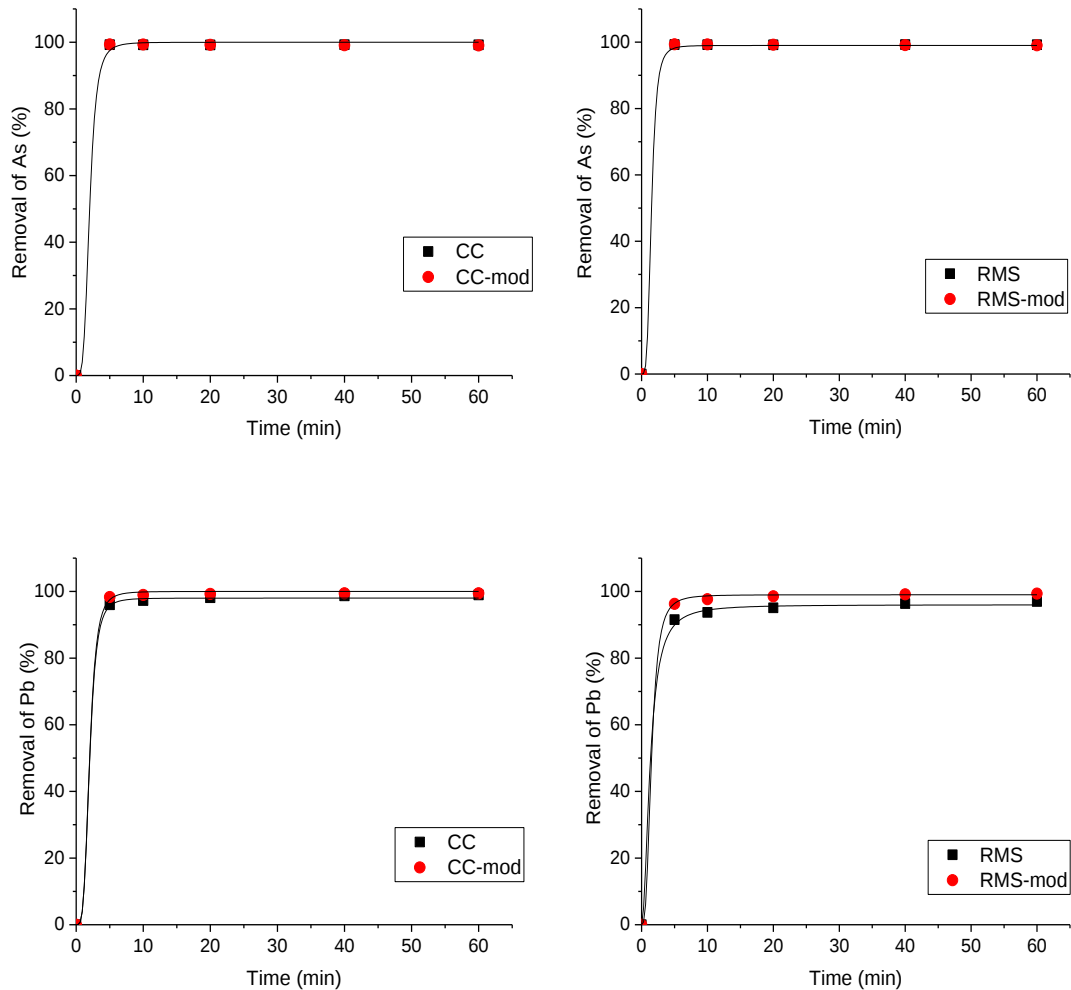


Figura 7. Remoción de arsénico y plomo disueltos en las aguas del río Tumbes por los carbones activados impregnados con ZnO

La capacidad antibacteriana de los materiales obtenidos fue evaluada con bacterias gram negativas *E. coli* y *Salmonella*, las cuales son coliformes termotolerantes que podrían ser encontradas en aguas potables contaminadas. Todos los carbones activados incluidos los carbones que no han sido impregnados con el precursor mostraron capacidad antibacteriana, sin embargo fueron las muestras impregnadas con

nanopartículas de óxidos de zinc las que mostraron una mayor capacidad que aquellas muestras de carbón que no estuvieron impregnadas.

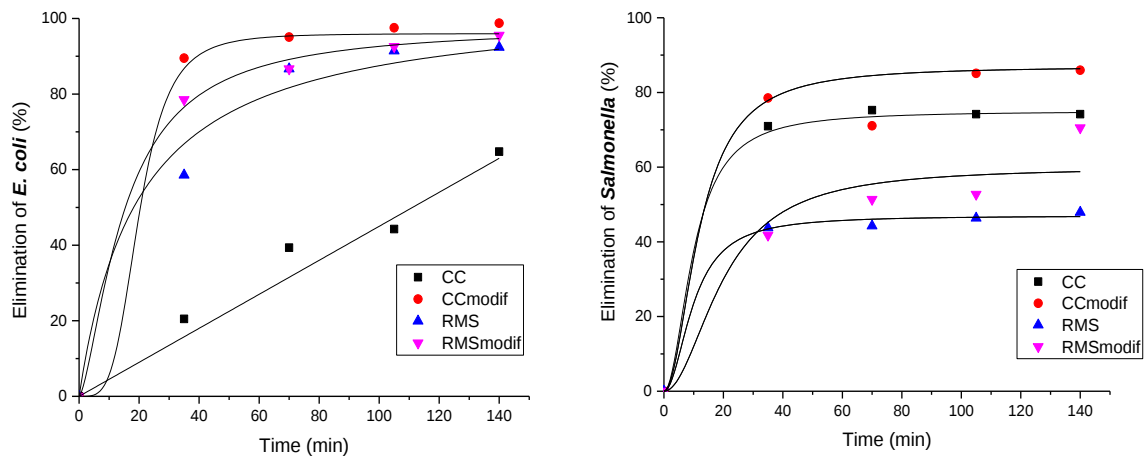


Figura 8. Capacidad antibacteriana contra *E.coli* y *Salmonella* de los materiales impregnados con ZnO

Si se comparan entre las muestras impregnadas, el material derivado de la coronta del maíz presenta una mayor capacidad antibacterial que la muestra derivada de la pepa de ciruela para las dos bacterias probadas.

4.2. Caracterización de los carbones impregnados con quitosano

En la figura 9 se parecían las muestras de carbones activados producidos de coronta de maíz y pepa de ciruela impregnadas con nanopartículas de quitosano. Se nota las nanopartículas de quitosano con morfologías tubulares irregulares para el caso del carbón activado derivado de coronta y morfologías tipo dona enteras y fraccionadas para el caso de la muestra derivada de pepa de ciruela.

En la figura 10 se hace una comparación entre la muestra de carbón activado derivado de coronta de maíz sin impregnación y la muestra con impregnación. La estructura porosa del carbón activado derivado de coronta de maíz impregnada con quitosano está altamente organizada, observándose poros definidos e incluso poros de menor tamaño dentro de poros de mayor tamaño, indicando una buena organización de la estructura porosa. Así mismo es posible observar la presencia de nanopartículas de quitosano adheridas a la superficie del carbón activado. Comparando las fotografías de

los carbones sin impregnar se nota claramente que las partículas presentes en el carbón impregnado corresponde a quitosano.

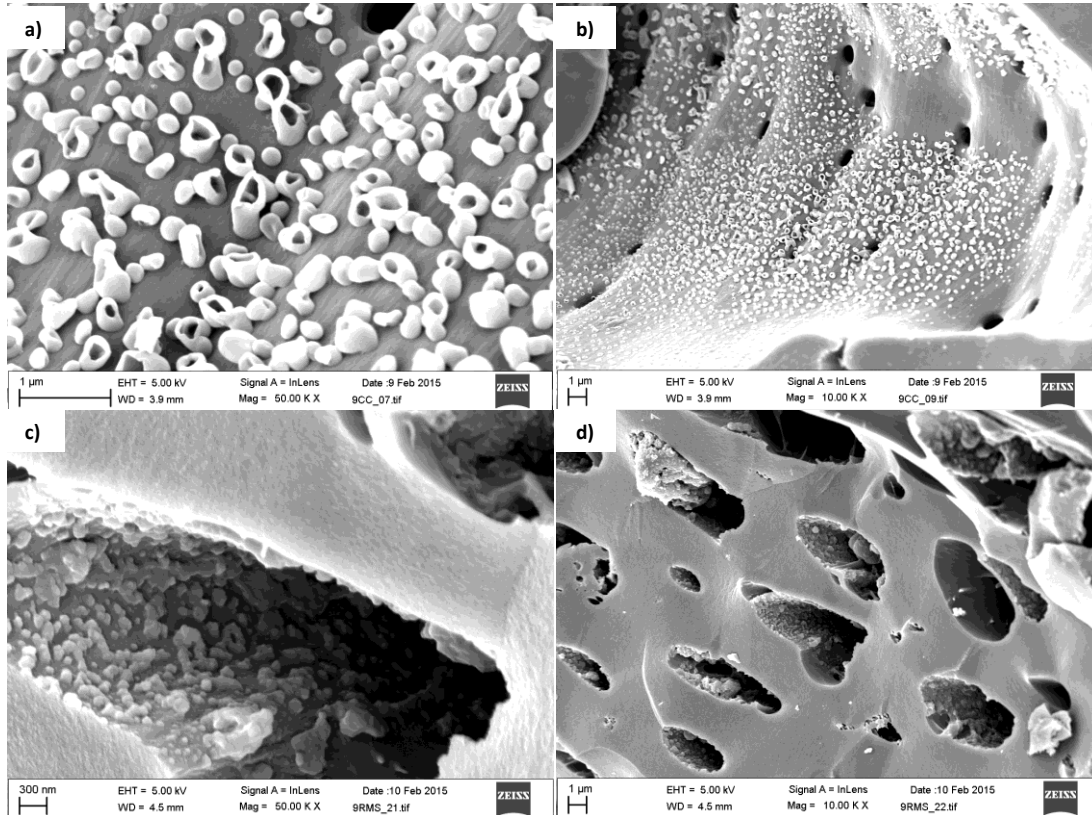


Figura 9. Fotografías de microscopía electrónica de los carbones activados impregnados con quitosano. Carbón de coronta de maíz (a,b) impregnada y de pepa de ciruela impregnada (c,d)

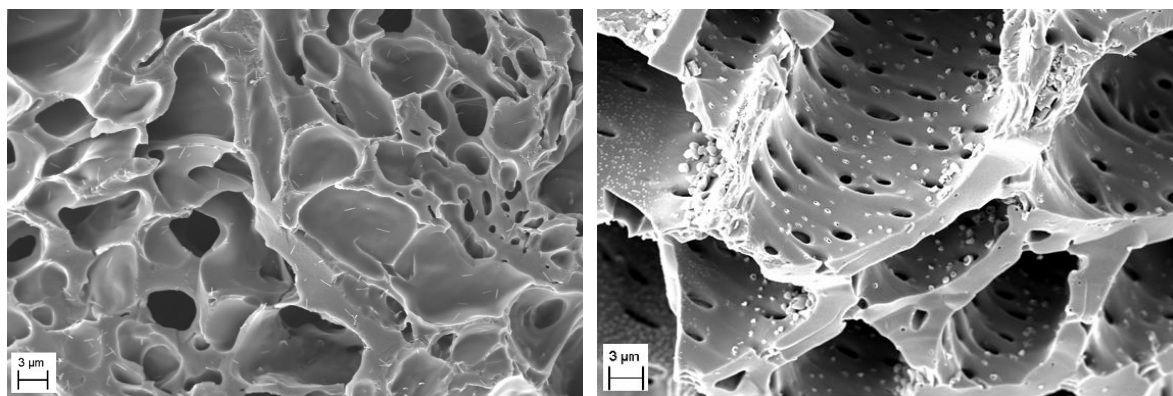


Figura 10. Micrografía de microscopía electrónica con campo de emisión del carbón activado sin impregnar (izquierda) e impregnado con quitosano (derecha)

Se identificaron dos bandas centradas, para la muestra de carbón activado de coronta de maíz impregnada con quitosano, ubicadas en 1361 cm^{-1} (que corresponde a la banda D) y 1585 cm^{-1} (que corresponde a la banda G); mientras que para el carbón activado de pepa de ciruela impregnada con quitosano estas se ubicaron en 1355 cm^{-1} y 1597 cm^{-1} (figura 11). Estos resultados y el hecho de que los materiales fueron activados a relativas bajas temperaturas ($600\text{ }^{\circ}\text{C}$) hacen suponer el carácter amorfo de los carbones activados impregnados con quitosano por encima de las formas nanocristalinas.

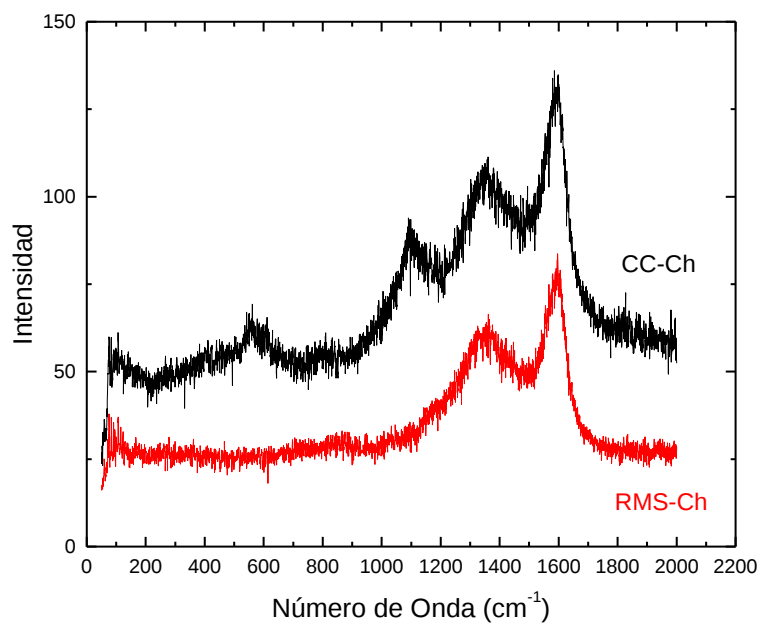


Figura 11. Espectro RAMAN de las muestras de carbones impregnadas con quitosano: la muestra derivada de coronta de maíz (CC-Ch) y la derivada de pepa de ciruela (RMS-Ch)

En el difractograma de rayos X (Figura 12) para las dos muestra se muestra dos bandas asimétricas correspondientes a $2\theta \approx 21.52^{\circ}$ y $2\theta \approx 43^{\circ}$ para la muestra CC-Ch y $2\theta \approx 21.36^{\circ}$ y $2\theta \approx 42.48^{\circ}$ para la RMS-Ch. Esas dos bandas asimétricas serían asignadas a la estructura gráfica desordenada en el plano 002 y en el plano 10 respectivamente, la cual es común para los carbones activados ($2\theta \approx 24^{\circ}$ y $2\theta \approx 42^{\circ}$) (Acharya et al., 2009). A pesar de que el quitosano usualmente exhibe dos picos amplios correspondientes a

$2\theta \gg 10^\circ$ and $2\theta \gg 20^\circ$ (Qi et al., 2004; Wang et al., 2004), estos picos no son visibles para los carbones activados impregnados, sugiriendo que por su tamaño nanoparticulado y su pequeña cantidad en la superficie no ha podido ser detectado.

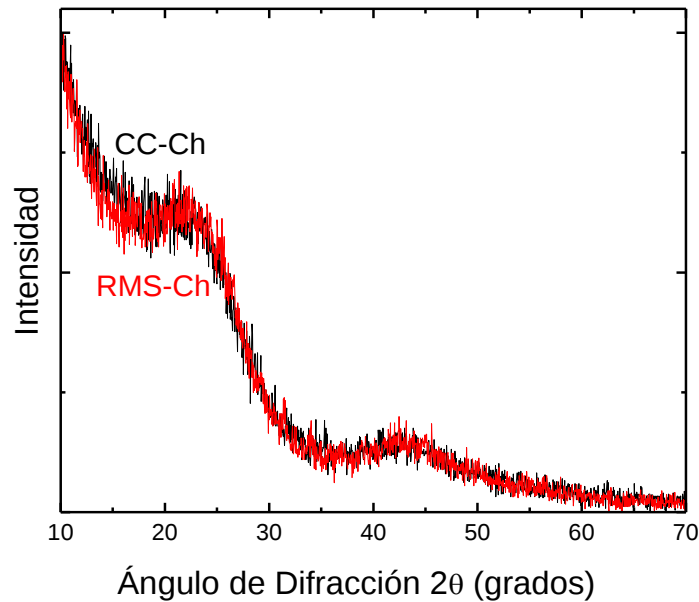


Figura 12. Espectro de difracción de rayos X de las muestras de carbones impregnados con quitosano: la muestra derivada de coronta de maíz (CC-Ch) y la derivada de pepa de ciruela (RMS-Ch)

En cuanto a los niveles de adsorción de azul de metileno adsorbidos por las muestras, se aprecia en la Figura 13 que las dos muestras presentan similar capacidad de adsorción utilizando una concentración inicial del colorante. Ambos llegan a valores de remoción cercanos a 100 % después de 4 horas de experimentos.

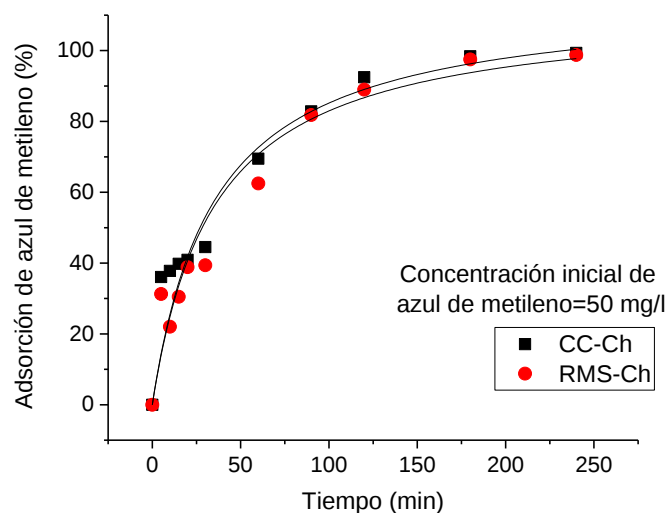


Figura13.Capacidad cinética de adsorción de los carbones activados impregnados con quitosano

Basados en los amplios valores de R^2 , los valores de cinética de adsorción se ajustan a un modelo cinético de *pseudo* segundo orden, sugiriendo una interacción química entre el adsorbente y el sorbato. Los valores de adsorción de azul de metileno en el equilibrio fueron de 111.1 y 114.9 mg de azul de metileno por cada gramo de carbón impregnado para el caso de las muestras CC-Ch y RMS-Ch respectivamente, valores muy similares.

Tabla 2. Parámetros cinéticos del modelo de *pseudo* segundo orden

AC	q_e [mg/g]	k_2 [g/(mg·min)]	R^2
CC-Ch	92.5	0.0337	0.9703
RMS-Ch	99.2	0.0320	0.9674

En cuanto a la adsorción de As y Pb, ambas muestras presentan alto nivel de remoción de As, sin embargo la adsorción de Pb es más baja. Como se analizó líneas arriba el As se encontraría como oxianiones y el plomo como catión positivo (II), esto hace suponer que la superficie del carbón es ligeramente positiva en las condiciones del experimento, favoreciendo la adsorción de los aniones.

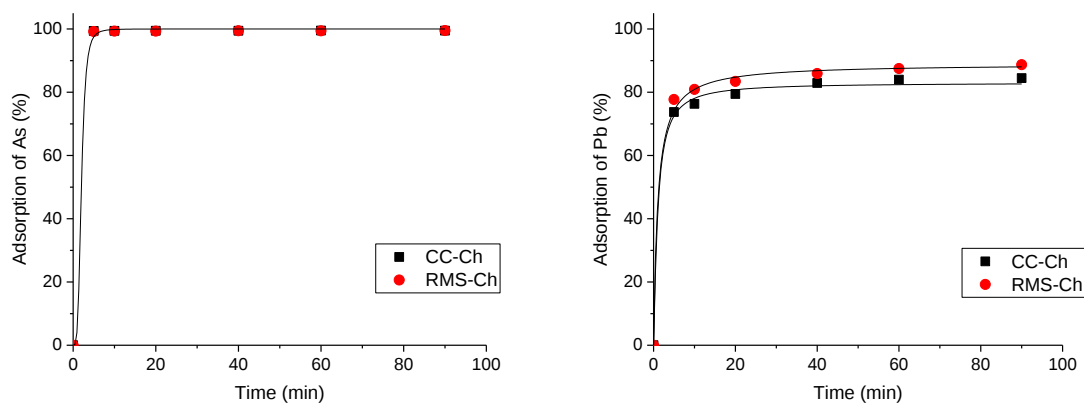


Figura 14. Remoción de arsénico y plomo disueltos en las aguas del río Tumbes por los carbones activados impregnados con quitosano

Para investigar la capacidad antibacterial de las muestras de carbón impregnadas con quitosano se utilizaron las bacterias Gram negativas *E. coli* y *Shigella*. Para el caso de la eliminación de *E. coli* la muestra CC-Ch llega rápidamente a su porcentaje de eliminación máxima, apenas en los primeros 25 minutos de contacto, sin embargo la muestra RMS-Ch llega después, casi en el doble del tiempo, sin embargo su porcentaje de eliminación resulta ser mayor que para el caso de CC-Ch. En el caso de *Shigella* la muestra CC-Ch muestra una mayor capacidad de eliminación en todo el periodo experimental.

La capacidad antibacteriana del quitosano contra las bacterias Gram negativas como la *E. coli* ha sido estudiada por varios autores (Fernandez et al.2009; Kong et al. 2010) y coincide con lo encontrado en el presente estudio.

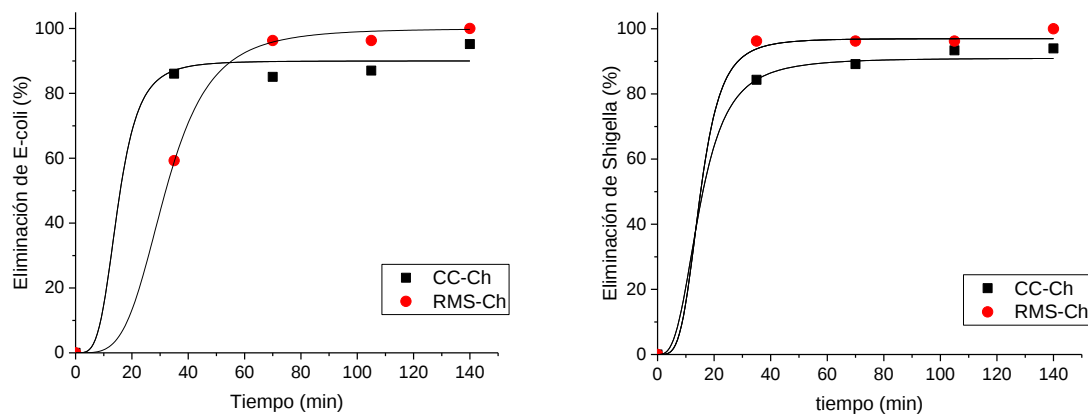


Figura 15. Capacidad Antibacterial de los carbones activados impregnados con quitosano

4.3. Filtro de carbón activado impregnado con quitosano

En la figura 16 se aprecia el comportamiento del nivel de caudal (l/min) durante el desarrollo del experimento. Se identifica una variabilidad del caudal que va desde valores de 0.09 a 0.33 l/min., sin embargo en la mayoría de los casos se precia que este nivel estuvo en el rango de 0.15 a 0.25 l/min. Se pudo constatar que luego del periodo de duración del experimento, la cantidad de agua filtrada fue de 26 l en promedio, lo que supone un caudal promedio de 0.20 l/min durante todo el experimento.

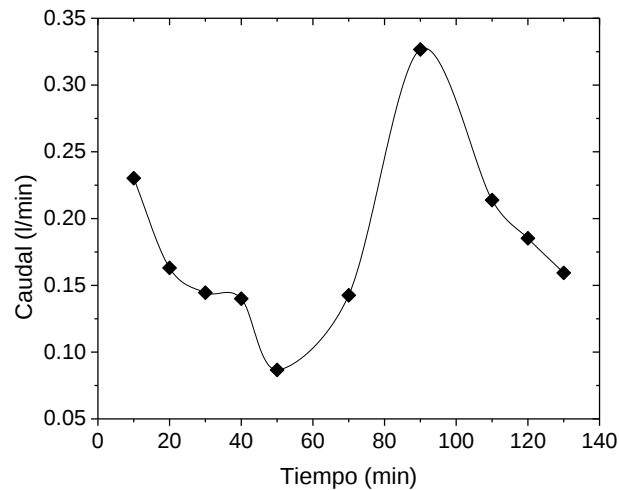


Figura 16.Comportamiento del caudal durante la toma de muestras

La evolución del pH (figura 17 a) hace notar una tendencia definida a aumentar en función del tiempo. Sin embargo en ningún momento el valor del pH medido en las muestras en función del tiempo superaron al valor de pH del agua inicial.

Los valores del cloro residual durante todo el periodo de tiempo experimental (figura 17 b) estuvieron por debajo del valor de 0.1 mg/l para todos los casos, incluso llegando a valores de 0 mg/l a los 120 minutos, valores muy lejanos al valor del agua inicial de 0.64 mg/l.

Los niveles de turbidez se redujeron durante todo el período de tiempo de duración del experimento (figura 17 c) hasta por niveles muy por debajo del valor de turbidez del agua inicial de 6.14 NTU.

Los valores de fosfatos y nitritos (figura 17 d y e) fueron muy bajos en el agua inicial y en el agua tratada, prácticamente la concentración es la misma en las diferentes muestras tomadas a través del tiempo comparadas con la muestra inicial.

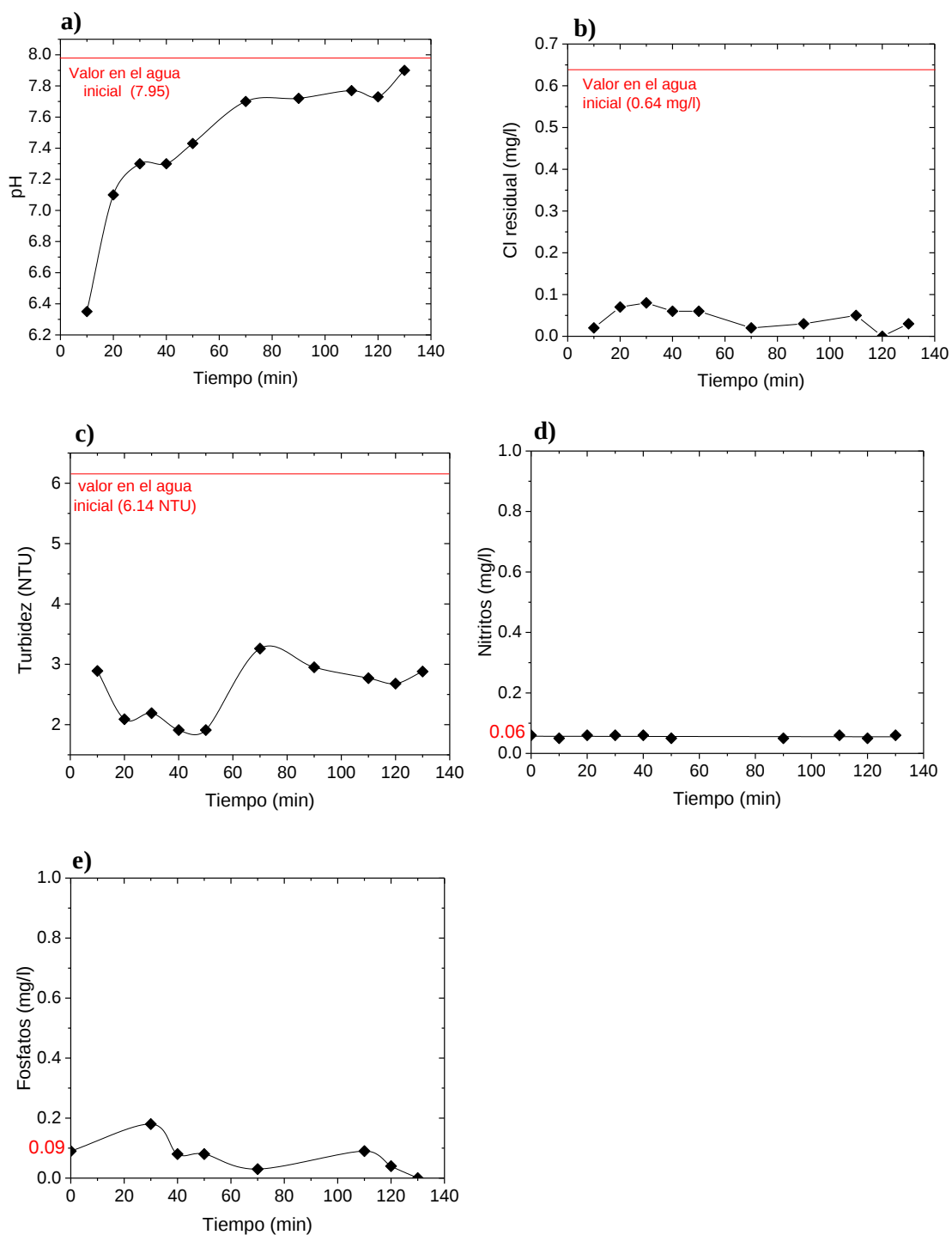


Figura 17. Evolución de la concentración de los diferentes parámetros físico-químicos analizados durante los experimentos

Finalmente el comportamiento de la concentración de bacterias heterótrofas tiende a reducir en concentración a través del tiempo en los primeros 50 minutos del experimento, sin embargo luego de ello se observa un aumento de la concentración de este indicador microbiológico.

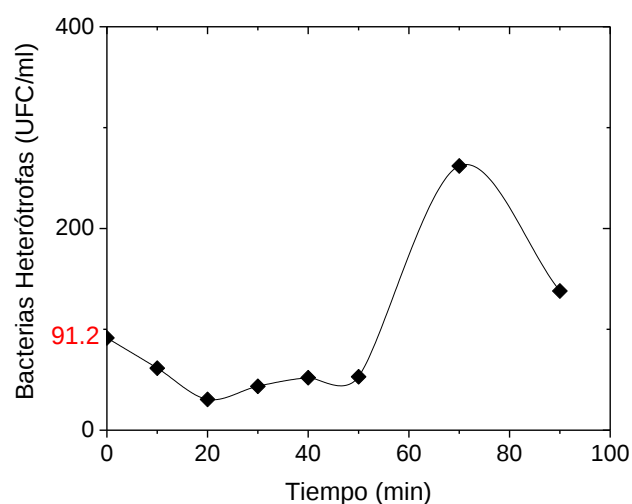


Figura 18. Evolución de la concentración de bacterias heterótrofas durante la filtración de agua

De acuerdo a los límites máximos permisibles estipulados en el Decreto Legislativo Supremo N° 031-2010-SA - Reglamento de la calidad de Agua para consumo humano y considerando solo los parámetros considerados en el presente estudio, el valor de pH en el agua potable deberá ser de entre 6.5 – 8.5, la turbidez de máximo 5 NTU, la cantidad máxima de bacterias heterótrofas de 500 UFC/ml, la cantidad de cloro residual de 5 mg/l como máximo y la concentración máxima de nitritos de 3 mg/l. Si comparamos estos valores con los niveles encontrados en el agua inicial solo el valor de turbidez (6.14 NTU) estaría por encima del límite máximo permisible. El resto de valores medidos en el experimento cumpliría con la normatividad, discrepando con lo encontrado por Rimaycuna y Celi (2012).

Es importante resaltar la efectividad del filtro de carbón durante todo el periodo de duración del experimento (130 minutos), en cuanto a la reducción del contenido de turbidez y el de cloro residual. La cantidad de sólidos suspendidos reflejada como turbidez fue eliminada por el filtro en cantidades que oscilaron entre 46.9 y 68.9 %, mientras que la concentración de cloro residual fue eliminada en proporciones de 87.5 hasta 100 %. El cloro residual es un parámetro importante durante el transporte de agua potable de la planta de tratamiento a los hogares, sin embargo al ser un compuesto potencialmente formador de agentes cancerígenos (King y Marrett, 1996; Drogui y Daghrir, 2015) en altos niveles sería importante eliminarlo del agua antes de beberla, dado que adicionalmente cambia las propiedades organolépticas del agua potable.

A pesar de que los niveles de bacterias heterótrofas no superaron el límite máximo permisible establecido en la legislación peruana vigente, el filtro demostró ser efectivo en su reducción durante los primeros 50 minutos del experimento, alcanzando niveles de reducción de estas bacterias de entre 32.8 y 66.7 %. A pesar de que se conoce la efectividad del quitosano como agente antibacteriano (Kong *et al.*, 2010) no se podría inferir si esta reducción de bacterias se debe a retención de las mismas en el filtro o a su eliminación.

Si se toma como referencia el caudal promedio calculado de 0.20 l/min, la cantidad de carbón utilizada de 30 g y el hecho de que el filtro haya sido efectivo durante los primeros 50 min. para el caso de bacterias heterótrofas se podría calcular la cantidad de agua máxima que se podría tratar con el filtro utilizado. La cantidad de agua máxima a tratar sería de 10 l de agua con esa calidad inicial y la cantidad de agua a tratar por g. de carbón activado utilizado sería de 0.3 l/g. De hecho es importante mencionar que la cantidad de sólidos suspendidos causantes de la turbidez del agua estarían disminuyendo drásticamente la vida útil del filtro, por lo que será importante considerar para el diseño de estos sistemas la inclusión de un filtro de sólidos previo al ingreso del agua al filtro de carbón activado.

5.- Conclusiones

Se produjeron carbones activados de diferentes residuos agroindustriales vía activación química con ZnCl_2 , los cuales fueron impregnados con nanopartículas de óxidos de zinc y quitosano utilizando los métodos de impregnación sol-gel acompañado de carbonización y presión en cada uno de los casos.

Basados en el análisis de difracción de rayos X, los materiales residuales con mejores características para ser utilizados en el presente estudio fueron la coronta de maíz y la pepa de ciruela.

Los análisis de microscopia electrónica y de difracción de rayos X confirman la presencia de las nanopartículas. Adicionalmente la difracción de rayos X muestra la presencia de algunos compuestos con SiO_2 , derivados de la composición inicial de las materias primas.

Los carbones impregnados con ZnO presentaron en general mejores características de adsorción que los carbones impregnados con quitosano tanto para adsorción de azul de metileno como para adsorción de metales pesados.

Las pruebas antimicrobianas mostraron que todos los materiales presentaban capacidades antimicrobianas, sin embargo los carbones impregnados con quitosano muestran mayor capacidad (mayor a 80 %) que los impregnados con ZnO (entre 60 y 80 %) para las bacterias analizadas.

El filtro construido logró reducir satisfactoriamente los niveles iniciales en el agua potable de concentración de turbidez, cloro residual hasta niveles que llegaron entre 46.9 y 68.9 % y entre 87.5 hasta 100 % respectivamente. La cantidad inicial de bacterias heterótrofas en el agua también se logró reducir satisfactoriamente en niveles de 32.8 y 66.7 %, pero solo considerando los primeros 50 min de desarrollo del experimento.

El caudal promedio de agua que fue tratada por el filtro fue de 0.20 l/min y la capacidad máxima de tratamiento de agua, teniendo como variable limitante la cantidad de bacterias heterótrofas, fue de 0.3 l de agua por cada g de carbón impregnado con quitosano puesto en el filtro (0.3 l/g)

6.- Recomendaciones

En el presente estudio se han encontrado diferentes materiales con características híbridas de adsorción y fotocatalisis, así como de adsorción y capacidad antibacteriana, sin embargo debería estudiarse más a profundidad la utilización de estos materiales a una escala de filtro, así como la posibilidad de efectos negativos en el caso de los carbones impregnados con ZnO.

Agradecimiento

Los investigadores agradecen el apoyo económico de la Universidad Nacional de Tumbes (Proyecto Canon Resolución N° 0722-2014/UNT-R), al Programa Nacional de innovación para la competitividad y productividad-INNOVATE Perú (Contrato N° 356-PNCP-PIAP-2014). A la Academia de Finlandia también se le agradece por el financiamiento a través del proyecto AdMatU (DNo: 269631). El agradecimiento también para el Dr. Julio Santiago Contreras de la Universidad Mayor de San Marcos, quien apoyo con la impregnación de quitosano.

Referencias bibliográficas

1. Acharya, J., Sahu, J. N., Mohanty, C. R., &Meikap, B. C. 2009. Removal of lead (II) from wastewater by activated carbon developed from Tamarind wood by zinc chloride activation. *ChemicalEngineeringJournal*, 149(1), 249-262.

2. Adekola F. A. &Adegoke H. I., 2005. Adsorption of blue-dye on activated carbons produced from rice husk, coconut shell and coconut coirpith. *Zfe Journal of Science*, 7(1), 151 - 157
3. Aik C. L. &Qipeng J., 2007. Adsorption of phenol by oil-palm-shell activated carbons. *Adsorption*, 13, 129-137
4. Allen M. 1996. La importancia para la salud pública de los indicadores bacterianos que se encuentran en el agua potable. Reunión sobre la calidad del agua potable. CEPIS. OPS. OMS. Lima, Perú.
5. American Public Health Association. Standard Methods for water and wastewater. 20^o ed. Washington DC: APHA, AWW and WEF.; 1998.
6. Bermejo L, Cruz G. 2006. Heavy metals in grain of rice, agricultural soil, drainage water, watering water and sludge in left side of Tumbes River. *RevistaManglar* ISSN 1816-7667. 4(1).
7. Bonnett, R., Krysteva, M. A., Lalov, I. G., &Artarsky, S. V. (2006). Water disinfection using photosensitizers immobilized on chitosan. *Water research*,40(6), 1269-1275.
8. Carril V, Feijoo C. 2008. Determinación de metales pesados en el cultivo de banano en los valles de Tumbes. *Revista Manglar*,6(1).
9. Chu, P. K., & Li, L. 2006. Characterization of amorphous and nanocrystalline carbon films. *Materials Chemistry and Physics*, 96(2), 253-277.
10. Colonia R., J.L. Solís and M.M. Gómez. 2014. Bactericidal, structural and morphological properties of ZnO₂ nanoparticles synthesized under UV or ultrasound irradiation, *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 5 (2014) 015008.
11. Colonia R., V. Martinez, J.L. Solís y M.M. 2013a.Gómez, Síntesis y caracterización estructural y morfológica de nanopartículas de ZnO₂ asistido con UV para aplicaciones bactericidas, *TECNIA*, 23(1), 17.
12. Colonia R., V. Martinez, J.L. Solís y M.M. Gómez. 2013b. Síntesis de nanopartículas de ZnO₂ empleando ultrasonido: caracterización estructural y morfológica para aplicaciones bactericidas, *Rev Soc. Quím. Perú*, 79(2).
13. Colonia R.S., M.M. Gómez L., K. León, J.L. Solís V. 2010. Síntesis y caracterización de nanopartículas de peróxido de Zinc (ZnO₂) obtenidas mediante la técnica de sol-gel, *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* 13(2), 52-56.
14. Cruz G, Pirilä M, Huuhtanen M, Carrión L, Alvarenga E, et al. 2012. Production of Activated Carbon from Cocoa (*Theobroma cacao*) Pod Husk. *J Civil Environment Engg* 2:109. doi:10.4172/2165-784X.1000109

15. Cruz G., Canepa C., Aguirre D. 2014. Producción y caracterización de carbones activados a partir de residuos agroindustriales. *Revista Manglar* 10(2), 17-25
16. Fernandez-Saiz P, Lagaron JM, Ocio MJ. 2009. Optimization of the biocide properties of chitosan for its application in the design of active films of interest in the food area. *Food Hydrocolloids*, 23, 913–921.
17. Gueu S., Yao., Adouby & Ado G., 2006. Heavy metals removal in aqueous solution by Activated carbon prepared from coconut shell and seed shell of the palm tree. *Journal of applied Science*, 6(13), 2789 – 2793
18. Khan N., Faizal M., Abustan I. & Azmier M., 2010. Effect of preparation conditions of activated carbon prepared from rice husk by ZnCl_2 activation for removal of Cu (II) from aqueous solution. *International Journal of Engineering & Technology*, 10(6), 27 - 31
19. Koneman E., S. Allen, W. Janda, P. Schreckenberger, W. Winn. 1994. Introduction to diagnostic microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
20. Kong M, Guang Chen X, Xing K, Jin Park H. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;144:51–63.
21. Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D., & Alvarez, P. J. 2008. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. *Water research*, 42(18), 4591-4602.
22. MINAGRI. 2013. Dinámica agropecuaria 2003 – 2012. Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos – Ministerio de Agricultura y Riego – Perú.
23. MINSA. 2010. Reglamento de la calidad de Agua para consumo humano. Ministerio de Salud - Decreto Legislativo Supremo N° 031-2010-SA.
24. Miretzky, P., & Cirelli, A. F. 2009. Hg (II) removal from water by chitosan and chitosan derivatives: a review. *Journal of hazardous materials*, 167(1), 10-23.
25. Moreno C., Carrasco F., Lopez M. V. & Alvarez M. A., 2001. Chemical and physical activation of olive-mill waste water to produce activated carbons. *Carbon*, 39, pp. 1415–1420.
26. Pirilä M, Cruz G, Matejova L, Ainassaari K, Sois J, Solcova O, Keiski R. Towards low-cost activated carbons as promising adsorbents. In Proceedinds of the 2nd SkyPro, November 12th 2013, University of Oulu, Finland.
27. Puño N. 2010. Plan de Manejo Ambiental para la Cuenca del río Puyango Tumbes. Tesis Doctoral – Universidad Nacional de Piura.

28. Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., & Zou, X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research*, 339(16), 2693-2700.
29. Rahman I.A &Saad B., 2003. Utilisation of Guava seeds as a source of activated carbon for removal of Methylene blue from aqueous solution. *Malaysian Journal of Chemistry*, 5(1), 8 - 14
30. Rimaycuna J, Celi E. 2012. Calidad del Agua Potable en el Distrito de Tumbes por Parámetros Físicos Químicos y Microbiológicos. Tesis para optar el grado de Ingeniero Forestal y del Medio Ambiente – Facultad de Ciencias Agrarias – Universidad Nacional de Tumbes.
31. Salehi, R., Arami, M., Mahmoodi, N. M., Bahrami, H., &Khorramfar, S. 2010. Novel biocompatible composite (chitosan–zinc oxide nanoparticle): preparation, characterization and dye adsorption properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 80(1), 86-93.
32. Tao, Y., Ye, L., Pan, J., Wang, Y., & Tang, B. 2009. Removal of Pb (II) from aqueous solution on chitosan/TiO₂ hybrid film. *Journal of hazardous materials*, 161(2) 718-722.
33. Wang, X., Du, Y., & Liu, H. 2004. Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan–Zn complex. *Carbohydrate Polymers*, 56(1), 21-26.