

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA



"OPERACION DE UN REACTOR DE LECHO
EMPACADO PARA LA ELIMINACION DE
CLOROFENOLES EN AGUAS RESIDUALES"

TESIS

QUE PRESENTA:
ALEJANDRO SALINAS POLANCO
PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERO QUIMICO

MEXICO, D.F.

JULIO 2000

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

RESUMEN

PREFACIO

i

INTRODUCCIÓN

1

CAPITULO 1 ANTECEDENTES

8

1 1 Generalidades

9

1 2 Generalidades sobre el tratamiento de aguas residuales

13

1.2 1 Tratamiento preliminar

13

1 2.2 Tratamiento primario

13

1 2.3 Tratamiento secundario

14

1 2.4 Tratamiento terciario

15

1 3 Moléculas recalcitrantes y no biodegradables

15

1.4 La participación microbiana en la degradación

18

1 5 Materiales recalcitrantes naturales

20

1.6 Compuestos recalcitrantes sintéticos

21

1 7 Efectos de la sustitución

23

1.8 Mecanismos de recalcitrancia	25
1.9 Justificación de la utilización de los procesos biológicos	27
1.10 Antecedentes en México	29
1.11 Antecedentes de la eliminación de los clorofenoles	31
1.12 Tipos de inmovilización	33
1.13 Criterios de evaluación	35
1.14 Principios de la adsorción	38
1.15 Material usado para la inmovilización	40
1.16 Generalidades sobre <i>Pseudomonas fluorescens</i>	42
1.17 Mecanismo de biodegradación de fenoles	45
1.18 Sumario de trabajos de biodegradación de clorofenoles a diferentes concentraciones	47
CAPITULO 2 TÉCNICAS	49
2.1 Determinación de fenoles	50
2.2 Medios de cultivo	51
2.2.1 Medio YPG	51
2.2.2 Medio mínimo de crecimiento	51
2.2.3 Medio King-B	52

2.3 Procedimiento de esterilización	52
2.4 Técnica para la cuantificación de biomasa	53
2.5 Procedimiento de inmovilización	54
2.6 Determinación de carbono orgánico total (COT)	54
CAPITULO 3 METODOLOGÍAS	56
3.1 Inmovilización de los microorganismos en la columna	57
3.2 Arranque y operación de la columna empacada	64
CAPITULO 4 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	73
4.1 Biodegradación de 2,4,6-Triclorofenol	74
4.2 Biodegradación de 2-clorofenol	80
4.3 Biodegradación de 2,4-diclorofenol	82
4.4 Biodegradación de pentaclorofenol	84
4.5 Análisis de los resultados de biodegradación de los clorofenoles individuales	86
4.6 Biodegradación de la mezcla binaria	90
4.7 Biodegradación de la mezcla ternaria	92
4.8 Biodegradación de las mezclas cuaternarias	93

4 9 Análisis de los resultados de biodegradación de las mezclas	
a 400 mg/l	104
4 10 Análisis de los resultados de la biodegradación de las mezclas	
cuaternarias	106
CAPITULO 5 CONCLUSIONES	123
BIBLIOGRAFÍA	128
ANEXOS	132

ÍNDICE DE TABLAS

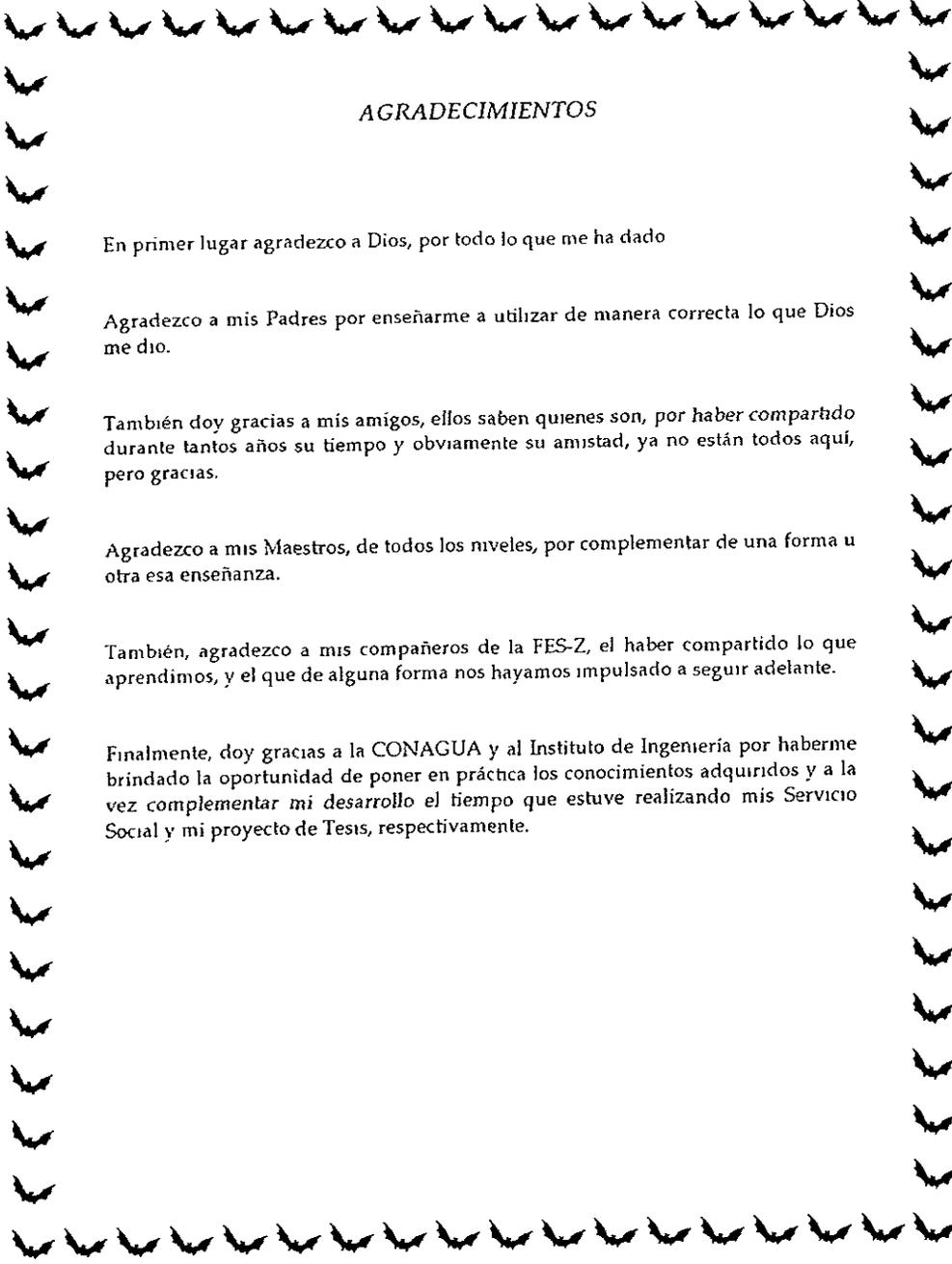
Tabla	Título	Página
1 1	Composición aproximada del tezontle	41
1 2	Características fisico-químicas del tezontle	42
1 3	Comparación de los diversos sistemas de degradación por medio de inmovilización	48
3 1	Conteo de la biomasa contenida en la columna empacada	60
3 2	Etapas de operación de la columna empacada con clorofenoles individuales	68
3 3	Etapas de operación de la columna empacada con clorofenoles mezclados	70
4 1	Resultado de la remoción de los clorofenoles contenidos en la mezcla cuaternaria de 400 mg/l	111
4 2	Resultado de la remoción de los clorofenoles contenidos en la mezcla cuaternaria de 400 mg/l (Resumen)	112
4 3	Resultado de la remoción de los clorofenoles contenidos en la mezcla cuaternaria de 600 mg/l	115
4 4	Resultado de la remoción de los clorofenoles contenidos en la mezcla cuaternaria de 600 mg/l (Resumen)	116
4 5	Resultado de la remoción de los clorofenoles contenidos en la mezcla cuaternaria de 200 mg/l	119
4 6	Resultado de la remoción de los clorofenoles contenidos en la mezcla cuaternaria de 200 mg/l (Resumen)	120
4 7	Carga de los microorganismos y su actividad ante las mezclas de clorofenoles	121

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
3 1	Comparación del crecimiento de las <i>Pseudomonas fluorescens</i> en dos fermentaciones de 3.0 litros	57
3 2	Tiempo vs Densidad Óptica de la 2ª fermentación de 3 0 litros	58
3 3	Resultados de la fermentación de 15.0 litros, densidad óptica vs UFC/ml	58
3 4	Comportamiento de la cantidad de células contenidas en la columna empacada Cuantificación de la biomasa en medios YPG y King-B	61
3 5	Comportamiento de la cantidad de células contenidas en la columna empacada Cuantificación de la biomasa, promedio	62
3 6	Relación de las temperaturas máximas y mínimas durante la operación de la columna empacada	62
3 7	Comportamiento de las <i>Pseudomonas</i> con respecto a la temperatura	63
3 8	Etapas de trabajo de la columna empacada con clorofenoles individuales	69
3 9	Etapas de trabajo de la columna empacada con clorofenoles mezclados	70
3 10	Esquema de la columna empacada utilizada en este trabajo	72
4 1	Tiempo de residencia vs. % de remoción de 2,4,6-triclorofenol a 500 mg/l	74
4 2	Tiempo de residencia vs % de remoción de 2,4,6-triclorofenol a 300 mg/l	76
4 3	Tiempo de residencia vs. % de remoción de 2,4,6-triclorofenol a 100 mg/l	77
4.4	Tiempo de residencia vs. % de remoción de 2,4,6-triclorofenol a diferentes concentraciones	79
4 5	Tiempo de residencia vs % de remoción del 2-clorofenol a 500 mg/l	80
4 6	Tiempo de residencia vs % de remoción del 2,4-diclorofenol a 500 mg/l	83
4 7	Tiempo de residencia vs % de remoción del pentaclorofenol a 200 mg/l	85

4 8	Tiempo de residencia vs % de remoción del 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol a 500 mg/l	87
4 9	Tiempo de residencia vs % de remoción de clorofenoles individuales	88
4 10	Tiempo de residencia vs % de remoción de clorofenoles de la mezcla binaria a 400 mg/l	91
4 11	Tiempo de residencia vs % de remoción de clorofenoles de la mezcla ternaria a 400 mg/l	92
4 12	Tiempo de residencia vs % de remoción de COT de la mezcla cuaternaria a 400 mg/l	94
4 13	Tiempo de residencia vs % de remoción de clorofenoles de la mezcla cuaternaria a 400 mg/l.	95
4 14	Comparación entre las remociones de clorofenoles y de COT de la mezcla cuaternaria a 400 mg/l	96
4 15	Tiempo de residencia vs. % de remoción de COT de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l	98
4 16	Tiempo de residencia vs % de remoción de clorofenoles de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l.	99
4 17	Comparación entre las remociones de clorofenoles y de COT de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l	100
4 18	Tiempo de residencia vs. % de remoción de COT de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l	101
4 19	Tiempo de residencia vs % de remoción de clorofenoles de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l.	102
4 20	Comparación entre las remociones de clorofenoles y de COT de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l	103
4 21	Comparación entre las remociones de clorofenoles y de COT de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l	104
4 22	Comparación del % de remoción de clorofenoles entre las mezclas binaria-ternaria-cuaternaria a 400 mg/l	105
4.23	Comparación del % de remoción de COT de las mezclas cuaternarias	107

4 24	Comparación de las remociones de los clorofenoles de las tres mezclas cuaternarias	108
4 25	Tiempo de residencia vs % de remoción de la mezcla cuaternaria a 400 mg/l y sus componentes de forma individual	113
4 26	Tiempo de residencia vs % de remoción de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l y sus componentes de forma individual	117
4 27	Tiempo de residencia vs % de remoción de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l y sus componentes de forma individual	120



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a Dios, por todo lo que me ha dado

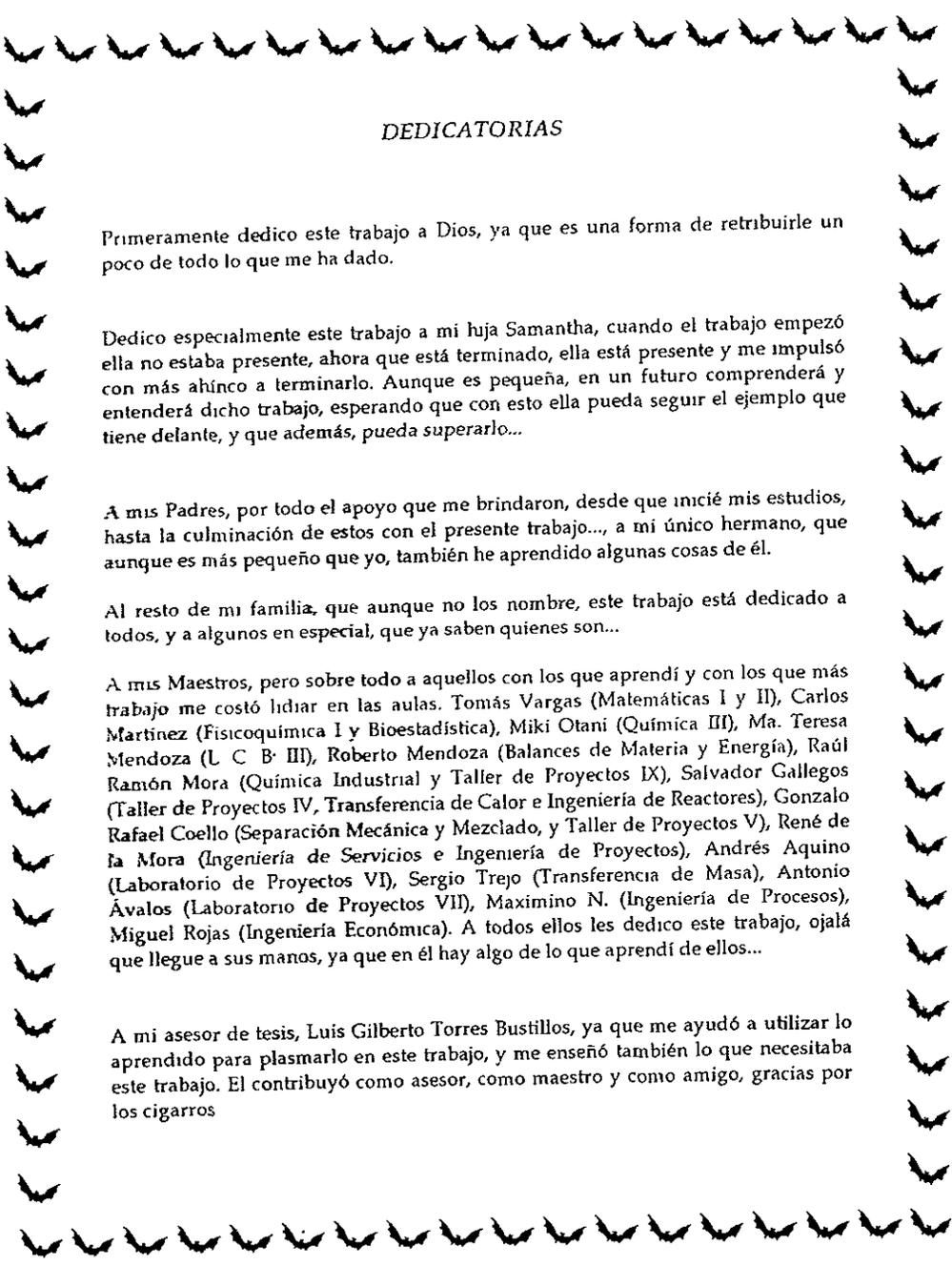
Agradezco a mis Padres por enseñarme a utilizar de manera correcta lo que Dios me dio.

También doy gracias a mis amigos, ellos saben quienes son, por haber compartido durante tantos años su tiempo y obviamente su amistad, ya no están todos aquí, pero gracias.

Agradezco a mis Maestros, de todos los niveles, por complementar de una forma u otra esa enseñanza.

También, agradezco a mis compañeros de la FES-Z, el haber compartido lo que aprendimos, y el que de alguna forma nos hayamos impulsado a seguir adelante.

Finalmente, doy gracias a la CONAGUA y al Instituto de Ingeniería por haberme brindado la oportunidad de poner en práctica los conocimientos adquiridos y a la vez complementar mi desarrollo el tiempo que estuve realizando mis Servicio Social y mi proyecto de Tesis, respectivamente.



DEDICATORIAS

Primeramente dedico este trabajo a Dios, ya que es una forma de retribuirle un poco de todo lo que me ha dado.

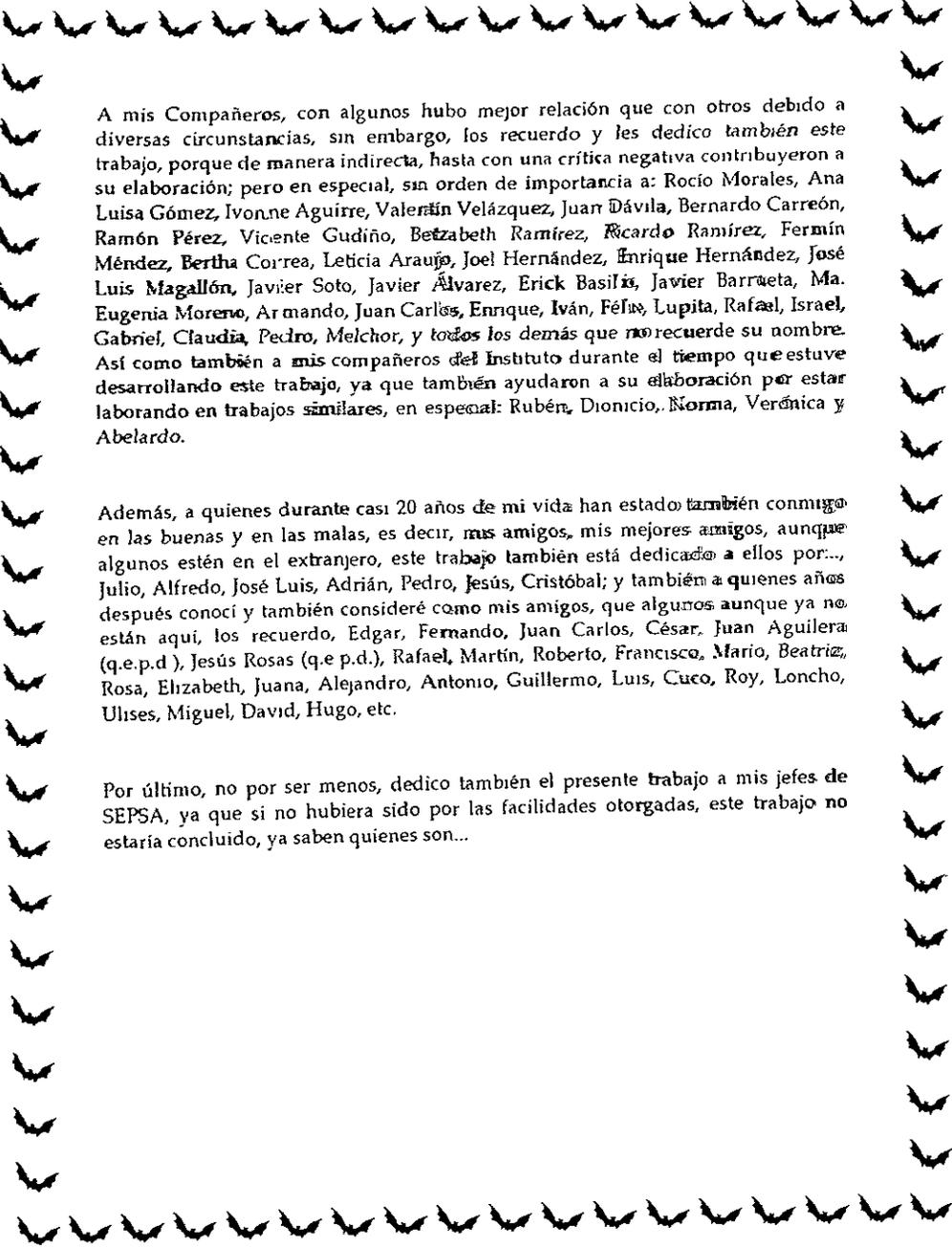
Dedico especialmente este trabajo a mi hija Samantha, cuando el trabajo empezó ella no estaba presente, ahora que está terminado, ella está presente y me impulsó con más ahínco a terminarlo. Aunque es pequeña, en un futuro comprenderá y entenderá dicho trabajo, esperando que con esto ella pueda seguir el ejemplo que tiene delante, y que además, pueda superarlo...

A mis Padres, por todo el apoyo que me brindaron, desde que inicié mis estudios, hasta la culminación de estos con el presente trabajo..., a mi único hermano, que aunque es más pequeño que yo, también he aprendido algunas cosas de él.

Al resto de mi familia, que aunque no los nombre, este trabajo está dedicado a todos, y a algunos en especial, que ya saben quienes son...

A mis Maestros, pero sobre todo a aquellos con los que aprendí y con los que más trabajo me costó lidiar en las aulas. Tomás Vargas (Matemáticas I y II), Carlos Martínez (Fisicoquímica I y Bioestadística), Miki Otani (Química III), Ma. Teresa Mendoza (L C B III), Roberto Mendoza (Balances de Materia y Energía), Raúl Ramón Mora (Química Industrial y Taller de Proyectos IX), Salvador Gallegos (Taller de Proyectos IV, Transferencia de Calor e Ingeniería de Reactores), Gonzalo Rafael Coello (Separación Mecánica y Mezclado, y Taller de Proyectos V), René de la Mora (Ingeniería de Servicios e Ingeniería de Proyectos), Andrés Aquino (Laboratorio de Proyectos VI), Sergio Trejo (Transferencia de Masa), Antonio Ávalos (Laboratorio de Proyectos VII), Maximino N. (Ingeniería de Procesos), Miguel Rojas (Ingeniería Económica). A todos ellos les dedico este trabajo, ojalá que llegue a sus manos, ya que en él hay algo de lo que aprendí de ellos...

A mi asesor de tesis, Luis Gilberto Torres Bustillos, ya que me ayudó a utilizar lo aprendido para plasmarlo en este trabajo, y me enseñó también lo que necesitaba este trabajo. El contribuyó como asesor, como maestro y como amigo, gracias por los cigarrillos



A mis Compañeros, con algunos hubo mejor relación que con otros debido a diversas circunstancias, sin embargo, los recuerdo y les dedico también este trabajo, porque de manera indirecta, hasta con una crítica negativa contribuyeron a su elaboración; pero en especial, sin orden de importancia a: Rocío Morales, Ana Luisa Gómez, Ivonne Aguirre, Valentín Velázquez, Juan Dávila, Bernardo Carreón, Ramón Pérez, Vicente Gudiño, Betzabeth Ramírez, Ricardo Ramírez, Fermín Méndez, Bertha Correa, Leticia Araujo, Joel Hernández, Enrique Hernández, José Luis Magallón, Javier Soto, Javier Álvarez, Erick Basfís, Javier Barraeta, Ma. Eugenia Moreno, Armando, Juan Carlos, Enrique, Iván, Félix, Lupita, Rafael, Israel, Gabriel, Claudia, Pedro, Melchor, y todos los demás que no recuerde su nombre. Así como también a mis compañeros del Instituto durante el tiempo que estuve desarrollando este trabajo, ya que también ayudaron a su elaboración por estar laborando en trabajos similares, en especial: Rubén, Dionicio, Norma, Verónica y Abelardo.

Además, a quienes durante casi 20 años de mi vida han estado también conmigo en las buenas y en las malas, es decir, mis amigos, mis mejores amigos, aunque algunos estén en el extranjero, este trabajo también está dedicado a ellos por..., Julio, Alfredo, José Luis, Adrián, Pedro, Jesús, Cristóbal; y también a quienes años después conocí y también consideré como mis amigos, que algunos aunque ya no están aquí, los recuerdo, Edgar, Fernando, Juan Carlos, César, Juan Aguilera (q.e.p.d.), Jesús Rosas (q.e.p.d.), Rafael, Martín, Roberto, Francisco, Mario, Beatriz, Rosa, Elizabeth, Juana, Alejandro, Antonio, Guillermo, Luis, Cuelo, Roy, Loncho, Ulises, Miguel, David, Hugo, etc.

Por último, no por ser menos, dedico también el presente trabajo a mis jefes de SEPSA, ya que si no hubiera sido por las facilidades otorgadas, este trabajo no estaría concluido, ya saben quienes son...

RESUMEN

Para este trabajo, se utilizó una columna de acrílico transparente de 45 cm de altura por aproximadamente 12 cm de ancho montada sobre una base de madera. En la parte baja de la columna se colocó una cama de arena de 10 cm de ancho, sobre la cual posteriormente se colocó una mezcla de tezontle rojo mallas 12, 14 y 16. Luego, la columna fue inoculada con *Pseudomonas fluorescens* durante 24 horas, inmediatamente después de haber realizado la inoculación, se procedió a alimentar la columna con diversos clorofenoles (2,4,6-triclorofenol, 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol y pentaclorofenol) disueltos en agua destilada a diferentes concentraciones. No se efectuó ningún control de temperatura ni tampoco la columna estuvo aislada o encaquetada.

Posteriormente, se alimentaron mezclas de clorofenoles a la columna igualmente a diferentes concentraciones con base en los resultados primeramente obtenidos. Durante todo el tiempo que la columna fue operada, la temperatura osciló desde 13 °C hasta 27 °C, lo cual repercutió sobre la actividad degradadora de los microorganismos. El único compuesto adicional que se añadió, y en una proporción bastante pequeña fue el medio mínimo de crecimiento mezclado junto con la solución de clorofenol que se alimentaba.

La solución fue alimentada por la parte superior del reactor por medio de una bomba peristáltica, de modo que al estar el nivel de la solución alimentada por encima del nivel del soporte de tezontle, una válvula ubicada en la parte inferior se abría de manera tal que el flujo de entrada era igual al de salida. De este modo se evitaba que el nivel se desbordara y pudiera derramarse por la parte superior o que bajara dejando al descubierto una parte del soporte ocasionando que los microorganismos ahí ubicados carecieran de alimento, nunca se llevó a cabo la recirculación. Cabe señalar, que nunca se sometió a los microorganismos a ningún período de adaptación o aclimatación antes de ponerlos a trabajar degradando los clorofenoles simples y mezclados.

En este trabajo, se encuentran reportadas las temperaturas que se presentaron durante el período de operación del reactor de lecho empacado, y también se detalla cada una de las etapas así como el clorofenol o clorofenoles alimentados y su respectivo tiempo de residencia. El tiempo de residencia fue la única variable que se manipuló, fijándolo de manera arbitraria, ya que no se siguió ningún patrón para establecerlo durante todas las etapas de operación.

En ningún momento se inyectó aire a la columna empacada, de modo que los microorganismos no estuvieron sometidos a la aireación, lo cual puede representar un ahorro al escalarlo a niveles industriales.

En la bibliografía consultada, se encontró que algunos autores reportan la aclimatación del microorganismo o microorganismos (Buitrón [1996], en Kuppasamy y Briones, [1996]), o el reporte de que el sistema que se trabajó con sustancias similares, no se le fijaba algún tiempo de residencia, sino que se continuaba trabajando con él hasta lograr un alto grado de

degradación del compuesto o en dado caso, hasta que fuera notorio que el sistema no podía degradar más tóxico (Buitrón [1996], Torres y Jiménez [1996], en Kuppusamy y Briones, [1996]), (Fava, 1993), (Puhakka, J A et al ; 1995), (Silva y Campos; 1996), (Tsuno, 1996).

En este trabajo se obtuvieron resultados muy alentadores, a los cuales se les puede dar seguimiento en experimentos similares o en escala piloto, para poder llevarlos hasta la escala industrial. En los resultados presentados se analiza el por qué de ellos, además de comparar un poco con lo citado en la literatura consultada. Este trabajo presenta muy buenos resultados, nunca antes obtenidos en México con algún equipo similar por lo menos hasta la fecha en que dicho trabajo fue terminado.

PREFACIO

En los últimos años, debido principalmente a la expansión, al crecimiento y a la entrada de industrias a México, en las descargas de aguas residuales de algunas de estas industrias se ha detectado la presencia de clorofenoles. Estas descargas provienen de industrias de refinación y rectificación de petróleo; de fabricación de material y equipo eléctrico presentes junto con bifenilos policlorados (BPC's o PCB's), en la industria farmacéutica y de productos químicos orgánicos; en industrias de medicamentos homeopáticos y veterinarios, y en industrias que producen resinas y adhesivos. Estas descargas han sido localizadas en los estados de Aguascalientes, Coahuila, Chihuahua, Durango, Guerrero, Guanajuato, Jalisco, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz, localizándose en mayor abundancia en el Estado de México y en el Distrito Federal, debido a que en esas dos entidades hay una gran concentración de industrias.

Anteriormente se le ha prestado más atención a otro tipo de compuestos tóxicos que se han encontrado en las descargas industriales, principalmente, situación que ha derivado en una normatividad sobre ese tipo de compuestos; sin embargo, los clorofenoles no están plenamente normados en México como lo están en los Estados Unidos de América, en Canadá, en Japón y en la Unión Europea. Los clorofenoles, cuando se mencionan, se consideran como fenoles, a excepción del pentaclorofenol que es un pesticida, basándose principalmente en las propiedades ampliamente conocidas del fenol, y que no reflejan lo que son en sí los clorofenoles.

Este trabajo presenta la labor de casi un año en la operación de un pequeño reactor de lecho empacado, compuesto por una columna de acrílico, tezontle y microorganismos, y arrojó resultados muy positivos con respecto a la eliminación de clorofenoles en agua, tomando como base datos e información procedente principalmente del extranjero, junto con trabajos referentes al mismo tema de México. Por lo cual, este trabajo es una contribución más a lo que ya se ha hecho en México, específicamente en el Instituto de Ingeniería de la UNAM, y que quizás sirva de apoyo y de base para otros trabajos que se desarrollen en un futuro próximo.

Espero que con este trabajo, pueda contribuir a ampliar aun más los campos en donde pueda desenvolverse la Ingeniería Química, y por ende los Ingenieros Químicos; así como también quizás espero que alguien pueda darle continuidad.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la sociedad depende para casi todo, de los productos químicos, y cada vez es mayor el número de estos productos de los cuales depende. Por consiguiente, estos productos químicos llegan a estar presentes en los cuerpos de agua que rodean a la sociedad misma, ya sea por ser descargados en dichos cuerpos, o cuando ya no son útiles a la sociedad son desechados de forma directa o indirecta en los cuerpos de agua. En Jiménez, B et al (1995), se le da prioridad al estudio del agua en México, debido a que el agua es el solvente universal, y uno de los principales receptores de todo tipo de descargas por parte de las industrias, por lo que contiene mayor concentración de tóxicos que otros medios de disposición, como el aire.

De acuerdo con Arévila (1996), una sustancia tóxica es una sustancia que puede producir algún efecto nocivo sobre un organismo vivo, hasta en pequeñas dosis, a mediano y largo plazo. Con referencia a la conservación y utilización de los cuerpos de agua, se define que una sustancia química se vuelve contaminante cuando se presenta en concentraciones que interfieren con el uso deseable del agua, debido a su impacto negativo sobre la salud humana o sobre el ecosistema circundante.

El acta Clean Water Act, emitida en 1977 por la Environmental Protection Agency de los Estados Unidos de América (USEPA), consigna a 129 sustancias químicas, que son consideradas perjudiciales en forma preponderante para el agua, de las cuales después se eliminaron tres. Esta lista se elaboró basándose en criterios tales como el conocimiento de la presencia de dichas sustancias en efluentes, peces y agua de abastecimiento, así como por

la evaluación ponderada de factores como la carcinogenicidad, la mutagenicidad, la teratogenicidad, la bioacumulación y la persistencia.

Por otra parte, también la Organización Mundial de la Salud (OMS) desarrolló un Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas para la Región de las Américas (PISSQRA), ejecutado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) por medio de su Programa de Salud Ambiental, denominado Programa Regional de Seguridad de las Sustancias Químicas (PRSSQ). En este programa, se incluyeron 88 sustancias químicas que la OMS considera de gran importancia.

La Comisión Internacional para la Protección del Río Rin contra la contaminación (CIPR), desarrolló en 1980 otro listado de 89 sustancias consideradas de importancia en el agua. Esta comisión está conformada por los países circundantes del Río Rin, y emplearon como base de su listado un trabajo previo elaborado por una Comisión perteneciente a la Comunidad Europea sobre 1,500 sustancias potencialmente tóxicas y ampliamente usadas.

Canadá, junto con la participación de asociaciones industriales como la Canadian Chemical Producers Association (CCPA), presentó una lista de 111 productos químicos, elaborada a partir de las sustancias inventariadas por el National Pollutant Release Inventory (NPRI) y la CCPA. La lista de sustancias seleccionadas, se efectuó sobre la base de la persistencia, la bioacumulación y la toxicidad.

En México, aunque la legislación no es muy completa en comparación con las anteriores, la norma oficial mexicana, NOM-052-ECOL-1993 publicada en el Diario Oficial de la Federación el 18 de octubre de 1993; *QUE ESTABLECE LAS CARACTERISTICAS DE LOS RESIDUOS PELIGROSOS, EL LISTADO DE LOS MISMOS Y LOS LIMITES QUE HACEN A UN RESIDUO PELIGROSO POR SU TOXICIDAD AL AMBIENTE*. Incluye a los siguientes clorofenoles: 2,4-diclorofenol, 2,6-diclorofenol, 2,4,5-triclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, 2,3,4,6-tetraclorofenol y pentaclorofenol. Estos clorofenoles están considerados como residuos peligrosos debido principalmente a su toxicidad. En el Anexo 2 del presente trabajo, se incluyen los anexos de la mencionada norma oficial mexicana donde están clasificados los clorofenoles

Por otro lado, existen pocos estudios que analizan y proponen soluciones a este tipo de *problemática* en el país; generalmente se quedan en el análisis. Sin embargo, los sistemas biológicos tradicionales como son los lodos activados, lagunas aireadas, filtros rociadores, etc., que han sido utilizados para dar solución a este tipo de problema, presentan severos problemas cuando se someten a aguas que contienen tóxicos, algunos de estos problemas son

1. Solamente pueden degradar bajas concentraciones, que son establecidas como máximas permisibles.
2. Alta generación de lodos residuales que contienen trazas del compuesto tóxico, lo cual generaría una gran *problemática* en la disposición final de estos
3. Los microorganismos presentan periodos de adaptación de hasta 100 días

- 4 Baja especificidad, en presencia de otras fuentes carbonosas, hacia los compuestos de interés, en este caso hacia los plaguicidas

En la actualidad se trabaja con procesos biológicos que permiten la remoción o degradación de los compuestos tóxicos en agua, son procesos aerobios y anaerobios. En los aerobios la presencia de oxígeno es fundamental, ya que permite la oxidación de los compuestos orgánicos, los que son usados como fuente de carbono y energía para el crecimiento biológico. Los productos que resultan del proceso de degradación son el CO_2 y el agua, energía y el material celular principalmente.

En los procesos anaerobios la degradación de compuestos orgánicos se lleva a cabo en ausencia de oxígeno (disuelto o combinado), resultando de esta degradación el metano, CO_2 y otros compuestos inorgánicos, células y energía. Las bacterias que degradan estos compuestos orgánicos, los utilizan como fuente de carbón y energía.

Actualmente se trabaja con tecnologías para la eliminación de tóxicos (fenoles y clorofenoles) en el agua, de las cuales el uso de microorganismos específicos inmovilizados ha resultado la más conveniente. La inmovilización debe entenderse como la transferencia a un estado insoluble (inmóvil) sin pérdida de su actividad de un material biológico, microorganismo o enzima en su estado soluble (móvil). Los microorganismos se retienen por medio de métodos: atrapamiento en polímeros y adsorción natural en soportes porosos y materiales inertes.

Debido a la gran variedad de materiales de inmovilización, así como de los microorganismos empleados, es difícil comparar la efectividad de los sistemas de inmovilización. Esto es porque son muchas las ventajas que, en general, ofrece la inmovilización de microorganismos que degradan tóxicos:

- 1 Al inmovilizar los microorganismos se obtienen catalizadores con altas actividades que puedan ser mantenidos hasta por meses, inclusive con la factibilidad de ser almacenados conservando su actividad
2. Los microorganismos inmovilizados son capaces de degradar los compuestos de interés a bajas y altas concentraciones, lo que los hace adecuados para el tratamiento de aguas residuales que contienen dichos compuestos.
- 3 El atrapamiento evita el crecimiento excesivo del material celular, evitando la acumulación de un lodo contaminado, como sucede en los sistemas convencionales
- 4 El proceso de inmovilización particularmente cuando se emplea la técnica de atrapamiento en un polímero confiere una protección al microorganismo contra el efecto inhibitorio del tóxico, permitiendo al alcanzar altas tasas de biodegradación; si se comparan con la de los mismos microorganismos en sistemas libres.

Hoy en día, en el mundo, se emplean una gran variedad de microorganismos que permiten degradar compuestos tóxicos en el agua, principalmente los fenoles y clorofenoles

En México, en el Instituto de Ingeniería de la UNAM, se ha empleado la bacteria *Pseudomonas fluorescens* para la degradación de compuestos fenólicos, la cual degradó diferentes concentraciones de dichos compuestos

En el mismo Instituto de Ingeniería, se han realizado pruebas de crecimiento de la cepa *Pseudomonas fluorescens* en presencia de clorofenoles en medio líquido (medio Dapaah) y de los resultados se desprende que la bacteria se desarrolló favorablemente

El presente proyecto de investigación pretende asimilar las pocas experiencias hasta hoy llevadas a cabo, con la finalidad de establecer nuevas posibilidades de degradación de plaguicidas en el agua y tratar de resolver esta grave problemática del país.

CAPÍTULO 1
ANTECEDENTES

1.1 GENERALIDADES

La generación de residuos es un problema que el mundo tiene, y que se ha agravado con el tiempo. Por ejemplo, dentro de la biotecnología un lecho fijo de microorganismos que degradan los productos residuales que pasan a través de ellos, es un hecho real y relativamente sencillo de una de las variadas aplicaciones de la biotecnología al problema de la contaminación. Existen otras formas de residuos que con la tecnología adecuada no sólo se eliminarían, sino quizás podrían ser convertidos en productos útiles. Ejemplo de esto, la producción de queso comienza con la coagulación de la leche para formar la cuajada (sólida) y el suero (líquido); y se tiene la tendencia de no consumir el suero y eliminarlo. Una fábrica de queso de tamaño medio puede producir miles de litros de suero al día y tirarlo al drenaje, este hecho no sólo significa pérdida económica sino también problemas de contaminación. El suero está compuesto de pocas proteínas, minerales y alrededor de 4 % de lactosa, ésta tiene alguna aplicación en la fabricación de helados, sopas preparadas y algunos postres, pero se podría ampliar su uso si su molécula se rompiera en los dos azúcares que la componen: glucosa y galactosa. Se han desarrollado procesos basados en la utilización de la enzima β -D-galactosidasa para catalizar esta hidrólisis.

La celulosa es otro material residual abundante. Por lo regular se le quemaba. En teoría los residuos de celulosa podrían degradarse y utilizarse como materia prima para la producción de proteína microbiana.

Otros productos como los herbicidas, insecticidas, desperdicios de combustibles, aceites varios y desechos industriales de todo tipo, una vez utilizados se convierten en materiales residuales muy problemáticos en el ambiente. Aquí también es posible desarrollar métodos biotecnológicos para conseguir su eliminación, detoxificación, o remoción del medio donde se encuentren.

La purificación de aguas industriales y aguas negras municipales ha ido adquiriendo gran importancia al comprenderse y entenderse mejor los efectos ecológicos negativos que se producen al arrojar contaminantes al agua

Los drenajes locales e industriales llevan muchas sustancias disueltas de diversas características, que aunque se arrojen a grandes cuerpos de agua como océanos, mares, ríos y lagunas, no se reduce el efecto contaminantes y/o a veces tóxico, además de que desgraciadamente aceleran la extinción de estos cuerpos de agua y agrandan las consecuencias que ocasiona el fenómeno de nitrificación artificial.

La contaminación de aguas causa que la duración de los cuerpos de agua sea menor. Esto es algo muy grave, ya que afecta a la vida en general (humana, animal y vegetal), y escasearía este líquido vital y lo encarecería. Debido a estos problemas y a otros más, todos los países han tenido que legislar sobre la contaminación del agua y afrontar este problema tan grave que ya se tiene. El daño que se ha hecho no ha sido fácil reparar y será aún difícil si no se tiene conciencia de lo que se ha provocado y lo que todavía se podría provocar al hacer caso omiso de las advertencias ya hechas hace algunos años atrás. Todos estos daños

ocasionados por el crecimiento urbano e industrial en el mundo, hacen muy necesario e importante tratar las aguas residuales de cualquier índole con una tecnología adecuada; tecnología que se ha ido tratando de mejorar y abaratar conforme transcurre el tiempo para evitar agrandar el problema que persiste aún

Entre los contaminantes que puede contener una corriente que se descargan aguas negras, *desperdicios industriales*, *desechos químicos*, o *agrícolas*, se encuentran.

- ∇ **Materia orgánica biodegradable** La demanda de oxígeno para la descomposición de estos materiales se satisface con el oxígeno disuelto en el agua en que se descargaron, mismo que es necesario para el mantenimiento de la flora y la fauna; además esta disminución de oxígeno disuelto marca condiciones anaerobias que en el mejor de los casos causan molestias.
- ∇ **Otros nutrientes (nitratos, amoniacos, fosfatos):** Por ser esenciales para la vida el nitrógeno y el fósforo, en exceso provoca un efecto de nitrificación artificial que intensifica la producción de formas de vida improductivas (como algunas algas, lirios, etc.), y estos consumen los nutrientes del agua con una rapidez mayor que las especies productivas (peces, plancton, etc.) y llevan al sistema a una rápida extinción
- ∇ **Elementos tóxicos:** Variadas concentraciones de *plomo*, *cadmio*, *zinc*, *fierro*, *cobalto*, *mercurio*, *cobre*, *aluminio*, *níquel*, *sodio*, *calcio*, *cloro*, *azufre*, *estroncio*, *zirconio*, *antimonio*, *litio*, *magnesio*, *molibdeno*, *manganeso*, *vanadio*, *plata*, *yodo*, *bromo*, *boro*,

berilio, galio, germanio, uranio, estaño, selenio, talio, niobio, iridio, rubidio, vanadio, bismuto, cesio, potasio, silicio, escandio, paladio, lantano, flúor, iterbio y otros; algunos de estos en forma pura o en formas de sales

∇ Derivados del petróleo: Solventes y otros productos derivados del carbono tóxicos, (fenoles, anilinas, amidas, xilenos, aceites, ácidos orgánicos, aldehídos, cetonas, alcoholes, nitrilos, clorofenoles, etc.).

∇ Otros insecticidas: Herbicidas, pesticidas, fungicidas, plaguicidas, detergentes, jabones, limpiadores en general, ácidos inorgánicos, etc.

Para poder eliminar todos y cada uno de estos contaminantes es necesario emplear métodos específicos, que dependen en cierta forma del agua a tratarse. Es fácil comprender los problemas prácticos presentes para poder desarrollar un tratamiento de aguas. En primer lugar la composición del agua es variable e indeterminada, los volúmenes que deben tratarse varían, que por lo regular son casi siempre grandes; el grado de descontaminación no está establecido de una manera definitiva, pues a medida que se estudian los contaminantes resulta necesario disminuir todavía más las concentraciones de los mismos; pero no existe por lo menos aquí en México una conciencia bien cimentada a nivel individual y menos a nivel empresarial que justifique los gastos del tratamiento de las aguas para poder descontaminarlas. Se trata de un problema no bien definido que requiere una solución urgente

Los contaminantes de aguas pueden ser clasificados de acuerdo a su estado (sólido, líquido o gaseoso), a la forma en que se encuentran (disueltos, suspendidos, agregados o formando *coloides*) y a su naturaleza (orgánica, inorgánica, organismos vivos). Para un tratamiento primario y secundario que se le puede hacer al agua, la cantidad de sólidos suspendidos y de materia orgánica soluble son los valores más importantes

1.2 GENERALIDADES SOBRE EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

Existen varias formas y procedimientos de tratamiento de aguas, en resumen es como sigue.

1.2.1 Tratamiento Preliminar

Tiene por objetivo eliminar los sólidos de tamaño considerable como piedras, papeles, plásticos, madera, lodos, arena, etc. Se efectúa por medio de un desarenador, que es un canal de velocidad constante. Los sólidos grandes que no han quedado detenidos por medio de rejillas así como las arenas y lodos se sedimentan

1.2.2 Tratamiento primario

Consiste en la separación de los sólidos suspendidos más pesados que el agua. Se realiza por lo regular en tanques circulares o rectangulares

- ∇ Sedimentación
- ∇ Coagulación (agregando hidróxido de fierro III, sulfato de aluminio o polielectrolitos)
- ∇ Floculación

∇ Precipitación química (agregando carbonato de calcio, sulfato de sodio, o fosfato de aluminio)

1.2.3 Tratamiento Secundario

Elimina la materia orgánica disuelta en el agua, aquí se puede emplear el método químico o el método biológico.

La oxidación biológica es sin duda el método preferido y consiste en la oxidación de la materia orgánica por medio de microorganismos en condiciones aeróbicas y en algunos casos anaeróbicas

Esta oxidación se puede realizar en general de tres formas

- ∇ En lagunas de oxidación
- ∇ En sistemas de lodos activados
- ∇ En filtros biológicos o biofiltros

Los biofiltros se construyen de algún material poroso como soporte, sobre el cual crece una película de microorganismo, a ese filtro se le añade de forma continua o intermitente el agua a tratar por medio de un mecanismo distribuidor

1.2.4 Tratamiento Terciario

Aquí en este último paso implica la purificación del agua para volverla a utilizar, el tratamiento se selecciona de acuerdo al uso que se le vaya a dar al agua.

1.3 MOLÉCULAS RECALCITRANTES Y NO BIODEGRADABLES

En los años recientes se ha incrementado en forma dramática la producción de una gran variedad de compuestos químicos organo-sintéticos que son liberados hacia el ambiente, frecuentemente en pequeñas cantidades pero a veces en grandes cantidades. Un número significativo de estos materiales es destruido por las actividades biodegradativas de los microorganismos del agua y del suelo. La biodegradación considerada como la conversión por agentes biológicos de material orgánico complejo en una o más sustancias más simples. Cuando la biodegradación es completa, los elementos de los cuales está compuesta la molécula son liberados en forma inorgánica. Un número sorpresivamente grande de compuestos sintéticos no está sujeto a la biodegradación, o son destruidos a velocidades demasiado lentas para poder prevenir significativamente las acumulaciones indeseables de estas sustancias en el ambiente. Estos compuestos no biodegradables o descompuestos lentamente son los que están atrayendo mucho más atención debido a los problemas que causan.

Los compuestos orgánicos de larga vida tienen múltiples aplicaciones para diferentes propósitos. Los insecticidas persistentes son ampliamente usados en las zonas templadas para la producción de comida y en los trópicos para el control de insectos portadores de

patógenos humanos, y como herbicidas que permanecen en el suelo por varios años y que son importantes en la agricultura de los países donde los costos de labores son altos.

Los materiales plásticos para empaquetar han frecuentemente desplazado al vidrio y a los contenedores metálicos

Incontables compuestos organo-sintéticos derivados de las fábricas e industrias son descargados en las trayectorias de las aguas, donde persisten y contaminan ríos, lagos y océanos

La persistencia o la no biodegradabilidad es frecuentemente una característica deseable de un compuesto sintético. Ciertos insecticidas de larga vida son todavía la elección en los países en vías de desarrollo para el control de insectos como el que transmite la malaria. Debido a su bajo costo y toxicidad para el hombre y que se tiene que aplicar muy pocas veces, por lo cual estos productos son ampliamente utilizados. Esto permite producir alimentos a bajos costos y abaratar su transportación, debido a que el insecticida sigue actuando aún durante el proceso de transporte y distribución. Similarmente, la resistencia a la biodeterioración de los materiales de empaque es una característica deseable durante su periodo de empleo

Por otro lado, la resistencia a la biodegradación es frecuentemente una propiedad indeseable. Por ejemplo, los componentes de los efluentes residuales industriales descargados a los cuerpos de agua, si no actúan sobre la microflora, pueden afectar la vida

silvestre, reducir la calidad del agua potable, o ser responsables de acumulaciones tóxicas. Un insecticida de larga vida puede ser concentrado a partir del suelo por gusanos de tierra y luego estos son devorados por los pájaros, o se pueden mover por el suelo hasta llegar a cuerpos de agua, donde podrían intoxicar a seres vivos acuáticos. Pocos insecticidas son encontrados en las superficies de las raíces debido a que no son destruidos mientras éstas crecen por los microorganismos encontrados en el suelo. Se ha reportado la fitotoxicidad en muchas áreas donde fue aplicado un herbicida de larga vida a una cosecha resistente que no fue degradado al tiempo que fue sembrada exitosamente una planta en el campo, y los granjeros y campesinos han tenido pérdidas sustanciales debido a la toxicidad residual de los herbicidas usados en la rotación de la cosecha. La magnificación de los pesticidas como el DDT, en las cadenas alimenticias es una característica de ciertos contaminantes no biodegradables, en contraste, un compuesto menos refractario podría haber sido destruido antes de moverse a través de los niveles tróficos de una cadena.

La resistencia al ataque microbiano es también vista de forma objetable cuando ésta resulta en la presencia de surfactantes, DDT, aldrin, bifenilos policlorados, o-cloronitrobenzeno, y otras sustancias en ríos y agua potable, que pueden resultar peligrosas para la salud humana.

El daño ocasionado a la salud humana puede variar dependiendo del tiempo de exposición al contaminante. Además, los estudios toxicológicos avanzan y cambian en una forma que a veces es difícil tener la información necesaria o la más actualizada sobre ese tipo de

contaminante, ya que algunos efectos sobre la salud humana pueden hacerse evidentes después de varios años de la introducción o de la exposición del o los contaminantes

Si el compuesto es biodegradable y se sigue adicionando al ambiente, pronto desaparecerá de los ecosistemas naturales, así como de las reservas en los suelos y en el agua por medio de la acción biológica. Por el contrario, si el compuesto es degradado lentamente o es no-biodegradable, la exposición hacia el hombre continuaría por meses, años o incluso décadas, debido a la ausencia de un medio efectivo de eliminación rápida de los ecosistemas naturales.

Incluso algunos compuestos que se creía que eran rápidamente biodegradados pueden poseer alto riesgo para la salud. Este hecho ha propiciado que casi en todo el mundo se proponga reemplazar los insecticidas organoclorados altamente tóxicos por pesticidas organofosfatados que por lo regular no son persistentes.

1.4 LA PARTICIPACIÓN MICROBIANA EN LA DEGRADACIÓN

Muchos microbiólogos siguen insistiendo que las microfloras del agua y suelo son catabólicamente omnipotentes, y que estas comunidades contienen una o más poblaciones capaces de degradar todo compuesto orgánico. La reducción de la acumulación de productos biológicos en hábitats aireados es *a priori* una evidencia de que ellos pueden ser descompuestos bajo tales circunstancias, y la ausencia del aumento de los compuestos orgánicos refractarios derivados de los desechos de animales y plantas son testimonio de la

versatilidad catabólica de las comunidades microbianas aerobias. Por otro lado, la acumulación en la naturaleza de algunos de los productos sintetizados por el hombre, su resistencia aparente a la biodegradación apreciables, y la frecuente inhabilidad de mostrar descomposición biológica en las pruebas de laboratorio argumentan por la innata resistencia de muchos productos sintéticos. Si estos son intrínsecamente no biodegradables, y si permanecen eternamente no pueden ser inmediatamente determinados, debido a la dificultad en proveer una prueba de duración y a la inhabilidad de examinar todos los ambientes bajo todas las condiciones que podrían ser juzgadas apropiadas.

La cuestión que ha sido frecuentemente discutida, es si la biodegradación es de hecho necesaria para los contaminantes y otros compuestos de importancia ambiental para ser eliminados de un ecosistema o de la biósfera en general. La fotoquímica y otras reacciones de efecto no enzimático son probablemente muy comunes en la naturaleza, y estas reacciones indudablemente causan cambios en muchas sustancias formadas o introducidas al suelo o al agua. Sin embargo, en contraste con las reacciones degradativas catalizadas por comunidades microbianas naturales en la presencia de oxígeno molecular -el cual usualmente resulta agotado en la conversión del sustrato en CO_2 , agua y otros productos inorgánicos- procesos no microbianos que raramente llegan a la conversión total de un compuesto complejo al estado inorgánico. Posiblemente eso nunca pase. Obviamente, el peligro de un tóxico en comparación a especies individuales es frecuentemente abolido cuando el tóxico está sujeto a un cambio no enzimático, pero el peligro a las otras especies de los productos de la reacción puede no ser evidente por algún tiempo o hasta que la concentración haya excedido algún límite. Las comunidades microbianas en hábitats

aerobios, cuando actúan sobre sustratos compatibles bajo condiciones no extremas, funcionan como incineradores biológicos, eliminando restos animales, residuos de plantas, y de productos fabricados. Por el contrario, cuando un desecho industrial, material de empaque, surfactante o pesticida perdura por años, es posible que ocurra una falla microbiana.

1.5 MATERIALES RECALCITRANTES NATURALES

El catálogo de compuestos orgánicos sujetos a una rápida y extensiva descomposición microbiana es enorme, pero está creciendo el número de químicos conocidos que resisten por varios períodos de tiempo la conversión biológica a compuestos químicos más simples o productos inorgánicos. Las categorías de materiales probados los cuales permanecen en cada o en todos los hábitats, incluyen sustancias a veces llamadas paleobioquímicos, hidrocarburos, componentes de humus, poliaromáticos, constituyentes superficiales de restos de bacterias y hongos, insecticidas hidroclorados, varios herbicidas, bifenilos policlorados, un diverso grupo de polímeros sintéticos, surfactantes, fertilizantes nitrogenados, y una gran lista de compuestos usados en las fábricas

De estos compuestos recalcitrantes naturales, los más persistentes y resistentes a la degradación son. la piel curtida, la madera, el barro, esporas de hongos, aminoácidos enlazados, ácido succínico, resinas terpenoides, ácidos grasos, alcanos y porfirinas; los cuales tienen períodos de vida desde 1900 años hasta unos 500 millones de años.

1.6 COMPUESTOS RECALCITRANTES SINTÉTICOS

Dentro de los compuestos recalcitrantes naturales, los que tienen mayor importancia debido a su efecto ambiental y a su relativa peligrosidad son los pesticidas. La peligrosidad de los pesticidas depende en sí de cada tipo de pesticida, pero aún así puede causar alguna clase de problema, debido que a través de la erosión del suelo, o de las corrientes de agua o de aire, el pesticida puede ser transportado de un lugar a otro.

La mayoría de estos pesticidas persistentes son clorados, y estos son los más resistentes a la biodegradación y a su vez son los más peligrosos. Unos pocos llegan a ser modificados, pero el producto no es rápidamente degradado.

Los pesticidas son: aldrin, clordano, DDT, dicarbamato, diurón, ácido 2-(2,4-diclorofenoxi)propiónico, endrin, fenac, fluorometurón, heptacloro, lindano, monurón, paratión, picloramo, propazina, simazina, ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético, ácido 2,4,6-triclorobenzoico, toxafeno, trifluralina, y el *pentaclorofenol*; los cuales pueden tener un periodo de vida desde 4 meses hasta de 16 años.

El pentaclorofenol es ampliamente usado como un agente conservador de la madera, como biocida, fungicida, bactericida y herbicida para propósitos agrícolas e industriales y en una gran variedad de aplicaciones. Es utilizado también por los fabricantes de papel y celulosa para el control del limo y en algunos casos es producido por estas mismas fábricas cuando se realiza el blanqueado con cloro gaseoso. También el pentaclorofenol es usado en

solución al 5 % en los solventes de petróleo o como agente solubilizador de sales de sodio y potasio en agua

Aunque el *pentaclorofenol* ha demostrado ser resistente a la biodegradación, se han identificado varios métodos de degradación microbiana. Estos son la metilación, la deshalogenización reductiva u oxidativa, y la ruptura del anillo.

La posibilidad de biodegradación anaeróbica del *pentaclorofenol* fue demostrada por la observación de una acumulación de fenoles menos clorados que se presentaron con la desaparición del *pentaclorofenol* en suelo aerobio y en lodos anaerobios.

También debido a su uso como fungicida o bactericida, este clorofenol es metabolizable por una cierta variedad de microorganismos. Los reportes de descomposición del *pentaclorofenol* en los suelos de cultivo de arroz y en otros suelos o ambientes acuáticos fueron seguidos con experimentos con consorcios y cultivos puros de bacterias, las cuales mostraron la liberación de cloro y de $^{14}\text{CO}_2$ a partir del *pentaclorofenol*. Sin embargo, pocos estudios han identificado metabolitos provenientes del metabolismo de cultivos puros del *pentaclorofenol*.

La dechloración reductiva, o remoción directa de los átomos de cloro del anillo de compuestos aromáticos en un primer paso, es un proceso significativo, ya que los productos dechlorados son usualmente menos tóxicos y más rápidamente degradados aeróbica o anaeróbicamente.

El procedimiento estándar de la aplicación del *pentaclorofenol* en un solvente transportador para productos de madera, ha complicado los análisis subsecuentes de desaparición y biodegradabilidad. Un transportador que es demasiado volátil lleva consigo al pentaclorofenol conforme éste se evapora. Un transportador el cual tenga liquidez a temperatura ambiente se filtrará de la madera hasta que quede establecido un equilibrio. El pentaclorofenol en solución es transportado, desde la madera reduciendo su concentración hasta incrementarla en el ambiente circundante.

1.7 EFECTOS DE LA SUSTITUCIÓN

Unas insignificantes modificaciones en la estructura de muchas moléculas pequeñas y en al menos algunos polímeros, alteran grandemente su disponibilidad biológica. Un nutriente orgánico utilizable fácilmente puede llegar a carecer de valor por la sustitución de un átomo por otro, o una molécula la cual no es descompuesta rápidamente puede ser convertida a un excelente sustrato por remoción de un sustituyente. La búsqueda de reemplazos fácilmente biodegradables para los pesticidas, polímeros, surfactantes, y detergentes de larga vida requiere un total entendimiento de las características estructurales que impidan o favorezcan la descomposición. Tales datos deberían permitir un razonamiento en lugar de la utilización del método de prueba y error dentro de los programas de síntesis de muchas industrias.

El tipo, número y posición de los sustituyentes de las moléculas orgánicas simples influyen marcadamente su susceptibilidad a la destrucción. El efecto del tipo de

sustituyente es evidente por la resistencia impartida a: a) los ácidos mono y dicarboxílicos, alcoholes alifáticos, y sulfonatos de alquilbenzeno cuando el hidrógeno es reemplazado por uno, o mejor, por dos o más grupos metilo; b) los ácidos alifáticos cuando el hidrógeno es reemplazado por un cloro; c) las triazinas o los insecticidas metoxiclorados, cuando los metoxilos son reemplazados por cloros; d) los benzenos sustituidos cuando un grupo carboxilo o hidroxilo es sustituido por un grupo nitro, sulfonato o cloro; y e) las triazinas cuando el hidroxilo es reemplazado por un amino, o cuando un cloro es reemplazado por grupos metilo o metoxi. No se pueden generalizar los efectos individuales de los sustituyentes.

La influencia del número de sustituyentes es evidente en: a) la mayor resistencia de los ácidos di- y triclorobenzoicos en comparación con el ácido monoclorobenzoico; b) la mayor persistencia de los ácidos cloroacéticos, los ácidos propiónicos α -sustituidos, los N-fenil carbamatos isopropílicos, y los fenilcarbonatos isopropílicos conteniendo dos y a veces hasta tres cloros en lugar de uno, y c) la menor disponibilidad de los diaminobenzenos en comparación con los monoaminobenzenos.

La posición del sustituyente determina el grado de degradabilidad de una gran variedad de compuestos químicos. Por ejemplo, los mono-, di- y triclorofenoles con el átomo de cloro en la posición *meta*, los ácidos fenol-alcanoicos con un cloro en la posición *meta*, y los ácidos benzoicos con grupos amino, nitro y metoxi también en la posición *meta* son más difíciles de destruir en comparación a sus isómeros correspondientes con el sustituyente en la posición *orto* o en la posición *para*. Por el contrario, son más resistentes los isómeros

o de los nitrofenoles, las metilanilinas, los sulfonatos de 1-fenildodecano y los fenilcarbonatos isopropilicos clorados. La posición de un sustituyente también es de vital importancia entre los ácidos grasos, y una introducción de un fenil o de un halógeno en el carbono-alfa reduce marcadamente la velocidad de descomposición comparada si el fenil o el halogeno estuvieran en el carbono omega.

1.8 MECANISMOS DE RECALCITRANCIA

Es difícil establecer las razones de la resistencia de los compuestos naturales y sintéticos, particularmente aquellos compuestos químicos que no pueden ser degradados tan fácilmente en condiciones tales como *in vitro* e *in vivo*. No obstante las dificultades y poco atractivo de la investigación microbiológica que se ha dado con respecto a las sustancias pobremente metabolizadas, se han hecho algunos progresos en el razonamiento sobre la longevidad de tales compuestos, esto es, establecer los mecanismos de la recalcitrancia. Hay muchos datos respecto a eso, pero algunos mecanismos propuestos pueden servir de base para futuras investigaciones.

Cualquier tipo de mecanismo o de grupo de mecanismos debe estar dentro de las cuatro siguientes categorías de químicos: a) compuestos totalmente refractarios que no son atacados bajo ninguna circunstancia, b) aquellos compuestos que son degradados pero de forma lenta tanto en la naturaleza como *in vitro*; c) aquellos compuestos que son atacados rápidamente por cultivos de microorganismos, pero de los cuales sea conocido o no si pueden ser degradados en la naturaleza; y d) los químicos que son solo sustratos para las

poblaciones en cultivos axénicos o en uno o más hábitats microbianos y que ocasionalmente llegan a ser muy persistentes

Se deben tomar en cuenta ciertas condiciones para cada sustancia particular que se vaya a someter a la biodegradación a) debe existir el organismo que tenga el potencial para catabolizar el compuesto, b) tal microorganismo debe estar *presente en el ambiente* o sino, por lo menos su rastro, c) el compuesto debe ser accesible a las especies potencialmente activas, d) si las enzimas envueltas en las etapas iniciales son intracelulares, el sustrato debe penetrar hacia el interior de la célula, e) si las enzimas envueltas en la degradación no son constitutivas, entonces deben de ser inducidas; y f) el ambiente debe permitir la proliferación de los heterótrofos indispensables y el funcionamiento de las enzimas necesarias.

Tales consideraciones conforman una lista de quince mecanismos de recalcitrancia:

- 1 La inexistencia de un organismo activo.
- 2 La violación de la bioquímica comparativa
- 3 La violación de la especificidad enzimática.
- 4 La pérdida de la energía o el carbón suficiente para el crecimiento
5. La pérdida del nutriente esencial.
- 6 La excepción de la tolerancia microbiana a los factores ambientales
- 7 La toxicidad del sustrato o productos de su metabolismo.
- 8 La inhibición o desactivación de la enzima extracelular
- 9 La falla del químico para penetrar la célula.

- 10 La concentración del sustrato en solución acuosa es demasiado baja
- 11 La pérdida de la inducción de la enzimas necesarias
- 12 La necesidad de organismos diferentes.
- 13 La inaccesibilidad del sustrato.
- 14 La complejidad del sustrato con compuestos poliaromáticos u orgánicos resistentes.
- 15 La inaccesibilidad del sitio para el sustrato que actúa enzimáticamente.

1.9 JUSTIFICACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE LOS PROCESOS BIOLÓGICOS

El uso de procesos biológicos, es de particular interés para el tratamiento de efluentes procedentes de fuentes individuales, especialmente si son compuestos químicos bien definidos que han de ser degradados en lugar de contaminantes complejos o mezclas desconocidas de los mismos

Una gran variedad de compuestos recalcitrantes es producida a nivel mundial y liberada al ambiente. Grandes grupos de compuestos aromáticos que no son producidos por procesos generales tienen que ser completamente degradados y mineralizados debido a su alta persistencia. Esto puede ser llevado a cabo a través del desarrollo de soluciones técnicas para este problema ecológico particular. A la luz de ciertas advertencias y legislaciones para restringir las descargas no controladas de desperdicios, la mejor estrategia para el tratamiento de desperdicios altamente tóxicos y peligrosos es su tratamiento en el lugar de donde proceden.

Es bien conocido de todos que el uso de biomasa fija en el tratamiento de aguas residuales tiene algunas ventajas significativas en comparación con los cultivos en suspensión. La biopelícula bacteriana clásica de procesos de ingeniería incluye filtros percoladores, biodiscos, lechos biológicos de carbón activado y filtros sumergidos. En las últimas décadas, han sido diseñados diversos tipos de reactores avanzados y probados no solamente en la mayoría de los tratamientos comunes de aguas residuales domésticas e industriales, sino también en muchas otras áreas.

Para efluentes altamente contaminados con compuestos recalcitrantes y sus intermediarios, es muy conveniente un pretratamiento biológico con reactores de lecho fijo. Se puede diseñar un reactor de lecho fijo con biomasa adaptada para operar en el mismo lugar donde se generan dichos contaminantes. La principal ventaja de un reactor de lecho fijo conteniendo biomasa inmovilizada en lugar de los procesos biológicos convencionales, es que produce una baja cantidad de lodos, opera con cargas mayores, con gran rendimiento de purificación y consecuentemente un volumen de reactor menor, usando óptimamente mezclas selectas de bacterias o en forma individual para degradar compuestos químicos resistentes. Los cultivos microbianos inmovilizados tienen ventajas en el tratamiento de efluentes municipales y domésticos debido a su alto grado de eficiencia y a su estabilidad durante la operación.

Aunque la biodegradación de fenol ha sido objeto de muchas publicaciones durante años [(Kumaran y Paruchuri, 1977), (Lee y Chuang, 1994), (Silva y Campos, 1996)] el fenol

todavía permanece como uno de los contaminantes de aguas residuales más comunes, solo o en combinación con otros xenobióticos.

Diferentes tipos de *Pseudomonas* son capaces de degradar fenol y cianuro simultáneamente hasta un grado limitado, dependiendo de la adaptabilidad de la bacteria a estos sustratos.

1.10 ANTECEDENTES EN MÉXICO

El crecimiento de la población y de la industria observado en México a partir de la década de los cuarenta, derivó en un aumento considerable del consumo de agua y en consecuencia, en mayores volúmenes de aguas residuales. Estas aguas afectan en varias formas y determinados grados la calidad del agua donde se descargan, alterando el equilibrio ecológico y poniendo en peligro o destruyendo la flora y fauna de estos cuerpos de agua y alrededores.

Se considera que actualmente casi todos los cuerpos de agua del país, tanto los superficiales como los subterráneos, estuarios y marinos están contaminados en diversos grados.

Las prácticas asociadas con el manejo y disposición de las aguas residuales han traído consigo diversos efectos. Con la contaminación del agua se ha reducido su disponibilidad en la zona superficial, ocasionando una explotación mayor de los mantos acuíferos y la importación de fuentes cada vez más lejanas de los centros urbano-industriales, con el consecuente incremento en los costos de suministro. Por otra parte, el empleo de aguas

procedentes de cuerpos contaminados, eleva considerablemente los requerimientos y los costos de tratamiento para adecuar el agua a usos domésticos e industriales, aumentando además los riesgos de la salud sobretodo cuando ese uso es agrícola

En México, un 50 % de las aguas se usan en riego agrícola, un 25 % en la industria y el restante 25 % para el servicio municipal. El consumo de agua en la industria varía desde unos 3,000 m³ para refinar un barril de petróleo crudo, hasta 80 m³ para producir una tonelada de hule sintético.

Hasta 1988, la industria podía liberar agua contaminada sin tratamiento alguno; pero la legislación vigente a partir de entonces (Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente), obligó a instalar procesos de tratamiento de aguas residuales. En algunos casos, el tratamiento de agua permite su reciclaje dentro de la misma planta industrial, antes de desecharla al drenaje, con el debido control de las concentraciones de contaminantes que establecen los reglamentos

El marco jurídico que establece las bases para la protección del medio ambiente y que está relacionado con el procedimiento de impacto y del control ambiental, se encuentra plasmado en la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (Diario Oficial 28-I-1988), el Reglamento del Impacto Ambiental (Diario Oficial 6-VI-1988), el Reglamento para la Prevención y Control de la Contaminación Atmosférica (Diario Oficial 25-XI-1988), las leyes estatales del Equilibrio Ecológico, el Reglamento para el Control de Residuos Peligrosos (Diario Oficial 25-XI-1988), así como en las normas oficiales

mexicanas, como la NOM-052-ECOL-1993, la cual en sus listados de residuos peligrosos incluye a los clorofenoles

En México la producción de aguas residuales industriales es de aproximadamente 160 m³/s, de los cuales el 44 % corresponde a la industria química del papel y de la celulosa, del petróleo, textil, siderúrgica y eléctrica principalmente. Dentro del campo del tratamiento de aguas residuales industriales son bien reconocidas las potencialidades de los microorganismos para llevar a cabo la degradación de los compuestos químicos tóxicos presentes en dichas aguas, sin embargo, pocos procesos han dado buenos resultados. Esto quizá debido a la ineficiencia de la aplicación del proceso, o a lo complicado que resulta aplicarlo en determinadas condiciones.

Algunos procesos aerobios utilizados para la eliminación de compuestos orgánicos, requieren de grandes volúmenes de trabajo y eliminan estos compuestos a bajas concentraciones. En la mayoría de estos casos se emplean lodos activados.

1.11 ANTECEDENTES DE LA ELIMINACIÓN DE LOS CLOROFENOLES

Se han publicado diversos métodos para la eliminación de los clorofenoles en agua. Entre ellos se encuentran los métodos fisicoquímicos y los métodos biológicos tradicionales de biodegradación, además de sistemas novedosos entre los que se encuentra el uso de microorganismos inmovilizados.

Dentro de los sistemas fisicoquímicos reportados para la eliminación de clorofenoles podemos mencionar al arrastre por vapor, la oxidación química, la oxidación con aire húmedo, la oxidación fotocatalítica, la coagulación química, la polimerización y precipitación catalizada enzimáticamente, la adsorción en carbón activado y la ozonólisis (Torres, 1994) La mayoría de este tipo de procesos muestra altas eficiencias, pero sus costos de operación también son altos.

Dentro de los sistemas biológicos convencionales que se han mencionado para la biodegradación de clorofenoles en agua, están las lagunas airadas, los lodos activados, los biodiscos, los reactores de lecho fluidificado y los reactores anaerobios y anóxicos. Los inconvenientes que presentan los sistemas convencionales en la eliminación de los tóxicos son (Torres, 1994).

- a) Las concentraciones máximas permisibles del tóxico
- b) Generación de gran cantidad de lodos residuales que contienen el tóxico en altas concentraciones.
- c) Los microorganismos presentan largos periodos de adaptación.
- d) Existe poca afinidad por compuestos de interés frente a otras fuentes de carbón de más fácil degradación.
- e) Manejo complicado de los microorganismos

Actualmente, se han desarrollado nuevas tecnologías para la biodegradación de tóxicos, como son los sistemas de microorganismos inmovilizados en distintos tipos de soportes,

que pese a ser poco estudiados, muestran muy buenas eficiencias hasta con concentraciones altas de tóxicos. Los sistemas inmovilizados tienen las siguientes ventajas sobre los sistemas libres (Torres, 1994)

- a) Bajo costo de operación; no hay necesidad de volver a introducir microorganismos cada vez que se efectúe una operación de biodegradación
- b) Fácil preparación del sistema para la operación, no se requieren métodos sofisticados para su preparación
- c) No presenta problemas importantes de transferencia de masa, esto debido a que los microorganismos no son arrastrados por el efluente

Se pueden obtener sistemas de biocatalizadores con altas actividades que pueden ser mantenidas hasta por meses, teniendo la posibilidad de ser almacenados, conservando su actividad, además de lograr excelentes biodegradaciones de tóxicos a bajas y altas concentraciones. Los sistemas de inmovilización han sido estudiados y comparados como alternativa en muchos procesos biotecnológicos en diferentes áreas, y han obtenido buenas perspectivas de uso y desarrollo

1.12 TIPOS DE INMOVILIZACIÓN

La inmovilización es el proceso por el cual una célula, microorganismo o enzima se transfiere de un estado soluble móvil a un estado inmóvil o confinado. Para Katzbauer

(1995) y Torres (1994) la inmovilización puede llevarse a cabo mediante uno de los dos procedimientos siguientes:

- a) Atrapamiento o encapsulamiento de microorganismos en polímeros
- b) Adsorción en soportes porosos.

Cuando las bacterias son inmovilizadas por adsorción, la retención de las células se realiza debido a las fuerzas de Van der Waals, interacciones iónicas o covalentes. Este tipo de proceso se puede dividir en varias etapas según Katzbauer (1995), las cuales son:

- a) Adsorción de macromoléculas orgánicas extracelulares en la superficie.
- b) Transporte de células de la fase líquida a la superficie.
- c) Adhesión de células
- d) Biosíntesis de un polímero por las células para lograr la irreversibilidad de adhesión de los microorganismos a la superficie, causada por los enlaces iónicos y covalentes

La inmovilización de células por atrapamiento en polímeros orgánicos es una alternativa para células que son difíciles de inmovilizar por adsorción, confinándolas a un sistema cerrado y obteniendo una menor pérdida de células. Sin embargo la adsorción ha sido la preferida, por ser el sistema más simple de inmovilización, y por tener menores costos de operación en su realización.

1.13 CRITERIOS DE EVALUACIÓN

La caracterización del proceso de inmovilización es evaluada con los siguientes criterios

- a) Cantidad de biomasa retenida
- b) Retención de biomasa y fuerza de adhesión.
- c) Retención de la actividad enzimática del biocatalizador.
- d) Eficiencia de actividades de la biodegradación
- e) Estabilidad operacional

La cantidad de biomasa inmovilizada es función de las características del material utilizado y de la compatibilidad del microorganismo con el mismo. En el caso de la adsorción depende de lo siguiente

- a) Características físicas y químicas de la matriz de adsorción.
- b) Compatibilidad entre la superficie del material y la pared celular del microorganismo
- c) Composición y parámetros fisicoquímicos del fluido utilizado para la inmovilización

En el proceso de inmovilización por adsorción, son importantes y determinantes algunas de las variables para poder obtener mayor cantidad de biomasa inmovilizada, algunas de ellas son el flujo de la solución inoculada, el pH de la solución recirculada, el tipo de material de

soporte, entre otras. La adhesión de las células es gobernada principalmente por interacciones electrostáticas; en casos especiales se presenta la adhesión de células cargadas negativamente a soportes igualmente cargados. Esto es posible debido a que el microorganismo desarrolla macromoléculas extracelulares capaces de ayudar a la fijación en el soporte. En el caso de *Pseudomonas fluorescens*, la distancia entre la pared celular y la superficie del material de soporte llega a ser de hasta 100 nm (Torres, 1994)

Para obtener una mayor eficiencia en la inmovilización del microorganismo dentro del poro del material de soporte, se recomienda que el tamaño del diámetro del poro sea mayor de cuatro a cinco veces con respecto al tamaño del microorganismo (Messing, 1985)

La importancia de la elección del material utilizado como soporte para la inmovilización es trascendental. Para un proceso a nivel industrial con microorganismos inmovilizados, el soporte debe ser evaluado en función de los aspectos siguientes.

- a) Debe ser económico y muy abundante.
- b) Debe permitir que la inmovilización sea simple y sencilla, el biocatalizador debe presentar la capacidad de ser almacenado manteniendo su actividad.
- c) Debe tener capacidad de alta eficiencia de inmovilización
- d) Debe tener resistencia y facilidad de manejo y montaje en su uso.

El nivel de retención de biomasa o la fuerza de adhesión en un sistema de biodegradación depende de ciertos factores de operación, entre los cuales el flujo es el más importante.

Existe un flujo máximo posible, el cual es fácilmente detectable por el incremento en la turbiedad de la fase líquida (Slater H. y Somerville H. 1979).

Dentro de los sistemas de biodegradación que usan biocatalizadores están los siguientes tipos

- a) Reactor agitado
- b) Reactor tipo "air-lift"
- c) Columna de burbujeo
- d) Columna empacada
- e) Reactor de lecho fluidificado

Es importante evaluar el efecto de la inmovilización sobre la fisiología del microorganismo, ya que el proceso generalmente provoca un cambio en el metabolismo del microorganismo, presentando cambios en su producción enzimática, los cuales son fundamentales para el proceso de la biodegradación

La biodegradación se realiza por medio de reacciones bioquímicas, las cuales son llevadas a cabo por sistemas enzimáticos complejos, aún no bien caracterizados y comprendidos. La efectividad del biocatalizador es un parámetro importante. Se desea que por la inmovilización se alcancen eficiencias más altas en tiempos de operación más cortos.

Dentro de la evaluación de la efectividad de un biocatalizador es importante tomar en cuenta la estabilidad de operación. Además de obtener altas eficiencias, es importante tener una factibilidad y durabilidad del sistema manejado, con tiempos de vida largos (Lakhwala y Sofer, 1991).

La adsorción de los tóxicos es importante para el proceso de biodegradación, no solamente por el efecto de la remoción, sino porque hace más disponible el compuesto a los microorganismo, permitiendo una mayor y mejor biodegradación.

1.14 PRINCIPIOS DE LA ADSORCIÓN

El proceso de adsorción fue observado por primera vez en los gases en el año de 1773 por C. W. Scheele, y luego en las soluciones por Lowitz en 1785. Este proceso es reconocido como un fenómeno importante para la mayor parte de los procesos físicos, biológicos y químicos.

La adsorción implica la acumulación de la concentración de sustancias en una superficie o interfase, el material que se concentra en la superficie o se adsorbe se llama adsorbato y el que lo retiene adsorbente.

La adsorción es un proceso mediante el cual se extrae materia de una fase y se concentra en una superficie, y por esto se considera como un fenómeno superficial. La adsorción de una solución a un sólido se presenta como resultado de una de las dos propiedades

características de un sistema disolvente-soluto-sólido, o una combinación de las mismas. La fuerza impulsora primaria de la adsorción puede ser una consecuencia del carácter liofóbico, es decir, la falta de afinidad al disolvente por parte del soluto. En la mayoría de los sistemas encontrados en el tratamiento de aguas residuales, la adsorción tiene lugar debido a una acción combinada de las dos fuerzas.

El grado de solubilidad de una sustancia disuelta es, con mucho, el factor más importante para determinar la intensidad de la primera de las dos fuerzas impulsoras. Se considera al grado de solubilidad como el grado de compatibilidad entre un soluto y un disolvente. Cuanto mayor atracción tiene una sustancia por el disolvente (hidrofilica en el caso de soluciones acuosas), menos posibilidad tiene de trasladarse hacia una interfase para ser absorbida

La segunda fuerza impulsora para la adsorción proviene de la afinidad específica del soluto por el sólido. Este fenómeno superficial puede ser predominantemente de atracción eléctrica entre el soluto y el adsorbente, de atracción de Van der Waals, o una atracción de naturaleza química

La adsorción positiva en un sistema sólido-líquido proviene de la separación del soluto de la solución y de su concentración en la superficie de un sólido hasta que se establece un equilibrio dinámico en la misma, entre la concentración de soluto que permanece en solución y la concentración superficial del soluto.

La velocidad con que las sustancias orgánicas disueltas son eliminadas de las soluciones acuosas por los adsorbentes sólidos es un factor muy importante para la aplicación de este proceso en el control de la calidad del agua.

1.15 MATERIAL USADO PARA LA INMOVILIZACIÓN

Anteriormente se mencionó la importancia de la elección del material para inmovilizar a los microorganismos de acuerdo con sus propiedades físicas y químicas

En México existe una gran variedad de materiales volcánicos, que han servido desde antes de la Época Colonial para el embellecimiento de calles y casas. Entre los más utilizados se encuentran la piedra pómez, y materiales basálticos como gravas, lapilli, arenas y cenizas vesiculares, conocidos en México como “Tezontle”

Al tezontle se le define como una piedra porosa de origen volcánico, formada por las erupciones neumolíticas efectuadas en el periodo Jurásico de la era terciaria. Perteneció al tipo de rocas ígneas o magmáticas. Los cristales que forman al tezontle no siguen orientación alguna, sino que están entretrejidos, por esto es muy rugoso y ligero. A sus poros se les denomina vesículas.

La palabra tezontle tiene sus orígenes en las palabras náhuatl: *teht*, piedra; *tzontli*, cabellos; o *zonnetic*, cosa fofa, cabellos de piedra haciendo alusión a los poros que parecen una

maraña de cabellos. Recibe otros nombres, como son tesoncle, tesonclale, tezontli, tezontlate, tezontlelil

El tezontle se usa para adornar pisos, rellenos, paredes, el de mayor grosor como grava, y además actualmente en México se utiliza para la elaboración de concretos económicos, entre otros. Es un material de bajo costo, duro, resistente y de estructura porosa. Por su origen presenta interesantes posibilidades de aplicación en el tratamiento de aguas residuales. El tezontle se ha revelado como un empaque de interés para el tratamiento de aguas por medio de procesos biológicos, debido a su alta capacidad de adsorber microorganismos, Jiménez *et al.* (1990) y Torres L (1996).

Su composición exacta es desconocida porque depende del lugar de la extracción, varía su color según sea su estado de oxidación que va desde rojo hasta el negro. Su composición química aproximada es la de una roca basáltica que usualmente contiene entre 48 % y 52 % de sílice. Una composición típica del tezontle es:

Tabla 1.1

COMPOSICIÓN TÍPICA APROXIMADA DEL TEZONTLE

Compuesto	Composición %	Compuesto	Composición %
SiO ₂	49.20	CaO	9.47
TiO ₂	1.34	Na ₂ O	2.91
Al ₂ O ₃	15.02	K ₂ O	1.10
Fe ₂ O ₃	3.74	H ₂ O ⁺	0.95
FeO	7.13	H ₂ O	0.43
MgO	6.73	P ₂ O ₅	0.35

Fuente: Jiménez, B.; Adaptación de un empaque de origen volcánico para su empleo en el tratamiento del agua

Tabla 1.2

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL TEZONTLE

p_a (mg/l)	p_r (mg/l)	Porosidad (%)	Humedad (%)	Solubilidad HCl (%)	Solubilidad NaOH (%)	Pérdida por ignición (%)
0.77	2.60	65.09	0.0	3.23	1.36	0.73

Fuente: Torres L. (1996).

Según Messing (1982), la porosidad es sumamente importante en la inmovilización de células y como se observa en la tabla anterior el tezontle presenta una porosidad de 65 %, lo que le confiere cualidades favorables para la inmovilización de bacterias.

1.16 GENERALIDADES SOBRE *PSEUDOMONAS FLUORESCENS*

El género *Pseudomonas* es uno de los grupos más grandes de bacterias, comprende más de 150 especies conocidas. Son conocidas casualmente como *pseudomonáceas*, son ubicuas en cuanto a su distribución, y se encuentran en el suelo, el agua y en los medios marinos. Generalmente son organismos simples, y están un poco curvados o en forma de espiral, son células con un diámetro de 0.7 μm y longitudes de 8.0 μm . Su principal característica, es su versatilidad bioquímica. Se ha descubierto que utilizan una gran variedad de sustratos orgánicos; algunas cepas pueden utilizar más de 100 compuestos orgánicos como fuente de carbono única o principal. Debido a su diversidad bioquímica y a su hábitat, son importantes agentes en la mineralización de materia orgánica en los ambientes naturales. También se ha encontrado que este tipo de bacteria es uno de los instrumentos importantes dentro de la exploración de las diversas vías de degradación bioquímica. Esto debido a que

son organismos quimiorganótrofos porque utilizan compuestos orgánicos complejos como fuente de energía

La mayoría de las *Pseudomonas* son bacterias de vida libre, que crecen abundante y universalmente en agua, agua oceánica, pescado descompuesto, ciertas materias orgánicas en descomposición y suelo. Por suerte, muy pocas son patógenas para el hombre y los animales, e incluso tienen un potencial invasor limitado.

Los microorganismos del género *Pseudomonas* son bacilos aerobios estrictos, gram-negativos, generalmente rectos. La mayoría de las cepas son móviles por un único flagelo polar o por un penacho de flagelos polares, además no forman esporas. Las *Pseudomonas* no fermentan hidratos de carbono mediante metabolismo oxidativo. Muchas de las especies de *Pseudomonas* producen pigmentos, algunos de los cuales fluorescen cuando se exponen a la luz ultravioleta de onda corta

Delaat A (1983), menciona que entre sus características morfológicas y sus requerimientos de cultivo, las *Pseudomonas* se parecen mucho a las *Enterobacteriaceae*. Desde el punto de vista bioquímico difieren considerablemente ya que no fermentan a los carbohidratos y son positivas a la oxidasa. El microorganismo más común entre los patógenos, es *Pseudomonas aeruginosa*, este microorganismo es fácil de reconocer debido a su brillo metálico verde azulado y su olor a humedad. El reconocimiento de *Pseudomonas* no es problema en el laboratorio de diagnóstico ya que crece bien en la mayoría de los medios de cultivo sistemáticos.

Freeman B (1989), dice que el género *Pseudomonas* es uno de los mayores grupos de bacterias, comprende más de 80 especies reconocidas. El mismo autor menciona que quizá, la propiedad más característica de este grupo es su versatilidad bioquímica. Se ha descubierto que utilizan una gran variedad de sustratos orgánicos; algunas cepas pueden utilizar más de 100 compuestos orgánicos como fuente de carbono única o principal. Debido a su diversidad bioquímica y a su hábitat, son agentes importantes en la mineralización de materia orgánica en ambientes naturales. Los fisiólogos y genéticos microbianos han encontrado en estas bacterias un instrumento importante para la exploración de las diversas vías de degradación bioquímica.

Adelberg E. (1986), menciona que las *Pseudomonas fluorescens*, son miembros comunes de la micoflora del suelo y del agua y son altamente versátiles desde el punto de vista nutritivo, teniendo capacidad para utilizar de 60 a 80 compuestos orgánicos distintos como única fuente de carbono y energía. Por esta razón, han sido empleados con frecuencia como material biológico para averiguar las rutas metabólicas especiales involucradas en la degradación de las distintas clases de compuestos orgánicos.

Frobisher et al (1975), menciona que las *Pseudomonas fluorescens*, son una de las especies más comunes del género *Pseudomonas*. Produce una coloración amarillo verdosa, soluble en agua, pigmentos fluorescentes en medios de cultivo (color plata IV-A). *Pseudomonas fluorescens* se desarrolla adecuadamente a una temperatura de 22° C a 25° C. Existen numerosas especies similares, ampliamente distribuidas y muy importantes debido a que

degradan hidrocarburos, asfalto, residuos de alimentos y otras sustancias como los plaguicidas

Brock T y Madigan M (1991), afirma que algunos de los xenobióticos más ampliamente distribuidos son los plaguicidas que son componentes comunes de los desechos tóxicos. Los plaguicidas son una amplia variedad de tipos químicos, como el *pentaclorofenol*. Algunas de estas sustancias son adecuadas como fuentes de carbono y de energía para las *Pseudomonas fluorescens*

Es así como la gran diversidad de las bacterias, y en este caso la *Pseudomonas fluorescens*, son empleadas para la degradación de desechos tóxicos presentes en el suelo y agua.

1.17 MECANISMOS DE BIODEGRADACIÓN DE FENOLES

Se sabe relativamente poco, respecto a los aspectos bioquímicos de la biodegradación de los clorofenoles. Se han reportado que las reacciones de biodegradación se llevan a cabo mediante sistemas enzimáticos todavía no bien caracterizados. La secuencia sugerida para la biodegradación de un policlorado (pentaclorofenol) por *Rhodococcus chlorophenolicus* se presenta a continuación

Uotila (1993) hizo una exhaustiva revisión de los mecanismos de biodegradación reportados para los clorofenoles por diversas cepas microbianas

- a) Declaración del intermediario alifático después de la ruptura oxidativa del anillo aromático (*Pseudomonas*, *Arthrobacter* y *Rhodococcus*), aplicable a mono y diclorofenoles.
- b) Declaración vía hidroxilación (*Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Flavobacterium*), aplicable a pentaclorofenol y otros policlorados.
- c) Declaración reductiva (*Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Arthrobacter*, *Desulfomonile*, *Streptomyces* y *Flavobacterium*), aplicable a pentaclorofenol y otros policlorados

También Rochkin-Dubinsky *et al* (1987), reportan la metilación para el 2,4,6-triclorofenol que es llevada a cabo por la *Arthrobacter sp.* Además, existe la conversión de los monoclorofenoles a clorocatecoles por medio de *Nocardia sp*, *Alcaligenes eutrophus* y *Pseudomonas sp.*

Una cepa de *Pseudomonas cepacia* puede declarar en un periodo de alrededor de 3 horas a los siguientes clorofenoles. 2,3- , 2,4- y 2,5-diclorofenol, 2,3,4- y 2,4,5-triclorofenol, 2,3,4,6- y 2,3,5,6-tetraclorofenol, y pentaclorofenol, pero a muy bajas concentraciones. Esta misma cepa posee poca actividad en contra de los siguientes clorofenoles: 2,6- y 3,5-diclorofenol, 2,3,5- , 2,3,6- , 2,4,6- y 3,4,5-triclorofenol, 2,3,4,5-tetraclorofenol. También la metilación del 2,3,4,6-tetraclorofenol por medio de *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* y *Scopulariopsis spp.* La levadura de *Rhodotorula glutinis* metaboliza al 3-clorofenol a 4-

clorocatecol Las especies de *Aspergillus sydowi* y *Scopulariopsis brevicaulis*, también metabolizan a los clorofenoles.

De aquí, Rochkin-Dubinsky et al (1987), resumen que la mayoría de los compuestos clorofenólicos pueden ser metabolizados en diversas formas por cultivos puros o mixtos de microorganismos tanto aeróbica como anaeróbicamente. En ambos casos se presenta la mineralización completa, aunque con diferentes tiempos dependiendo del tiempo de aclimatación de los microorganismos a usar

1.18 SUMARIO DE TRABAJOS DE BIODEGRADACIÓN DE CLOROFENOLES A DIFERENTES CONCENTRACIONES

El nivel de degradación de fenoles y clorofenoles por medio de microorganismos inmovilizados es de gran importancia en la evaluación del sistema, se han reportado diferentes capacidades de eliminación de tóxicos según el tipo de microorganismos y del modo de operación del sistema. En la siguiente tabla se muestran algunos valores de trabajos reportados

Tabla 1.3

COMPARACIÓN DE LOS DIVERSOS SISTEMAS DE DEGRADACIÓN POR MEDIO DE INMOVILIZACIÓN

Microorganismos	Material de inmovilización	Tóxico biodegradado	Actividad de biodegradación (g/l.día)	Referencia
<i>Pseudomonas sp.</i>	poliacrilamida-hidrazida (PAAH)	Fenol Cresol	0.030 3.120	Bettman y Rehm (1985)
<i>Alcaligenes sp</i>	alginato de calcio	4-clorofenol	0 270-0 510	Westmeier y Rehm (1985)
<i>Alcaligenes sp.</i>	alginato de calcio	4-clorofenol	0.530	Zache y Rehm (1985)
<i>Pseudomonas y Cryptococcus</i>	carbón activado	Fenol	0.160	Morse y Rehm (1987)
<i>Pseudomonas putida y Cryptococcus elmovii</i>	alginato de calcio y quitina	Fenol	9.840	Zache y Rehm (1989)
Cultivos mixtos	carbón activado	Fenol	6,400	Morse y Rehm (1990)
<i>Fusarium flocciferum</i>	espuma de poliuretano	Fenol	2 400-5 760	Anselmo y Novais (1992)
Cultivos mixtos	kerapak	Fenol Antraquinona-2-sulfonato de sodio	0.0117 0.0074	Péringier, P., et al., (1993)
<i>Pseudomonas putida, Pseudomonas testosteroni y Acinetobacter</i>	alginato de sodio	Fenol 2-clorofenol 2,4-diclorofenol	0 1 0.001 0.008	Lee, C. M., et al (1994)
<i>Pseudomonas putida</i>	arena fina	Fenol	2.140-5.709	Silva y Campos (1996)
<i>Comamonas testosteroni</i>	mezclador estático de polipropileno	ácido p-toluensulfónico	2.400-4.800	Khlebnikov y Péringier (1996)

Fuente: Salinas, A.; Investigación propia

CAPITULO 2

TÉCNICAS

2.1 DETERMINACIÓN DE FENOLES

Según apartado 5530 de la 18ª edición del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater

Método fotométrico indirecto

La muestra de interés, el "blanco" y las muestras estándares son tratados de la siguiente manera

A una muestra de 100 μ l de cualquier fenol, se le añade agua desmineralizada hasta un aforo de 10 ml; después se agregan 250 ml de solución de hidróxido de amonio (NH_4OH) 0.5 M, inmediatamente se ajusta el pH a 7.9 ± 1 agregando 150 μ l de solución amortiguadora preparada con fosfato monobásico y dibásico de potasio. Después añadir 100 μ l de solución de 4-aminoantipirina al 2 % en peso, mezclar bien y finalmente agregar 100 μ l de solución de ferricianuro de potasio al 8 % en peso y volver a mezclar.

Se dejan pasar 15 minutos y después a cada muestra se le determina su absorbancia a 500 nm

Para la elaboración de la curva concentración de clorofenol vs. absorbancia, se procede a lo siguiente:

Se toman cinco alícuotas de una solución patrón de clorofenol de 1 g/l; las alícuotas son de 100, 80, 60, 40 y 20 ml cada una, y se les da el mismo tratamiento que a las muestras problema. Cada alícuota corresponde a 1.0, 0.8, 0.6, 0.4 y 0.2 g/l del fenol. La determinación de la absorbancia se determina igualmente a 500 nm.

2.2 MEDIOS DE CULTIVO

Se utilizó la cepa *Pseudomonas fluorescens* donada por el Instituto Cubano de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar (ICIDCA), La Habana, Cuba.

Para su cultivo en crecimiento líquido se utilizó medio YPG y el medio mínimo reportado por Dapaah y Hill (1992)

2.2.1 Medio YPG

10.0 g/l de extracto de levadura (yeast)

10.0 g/l de peptona de caseína (peptone)

10.0 g/l de glucosa (glucose)

18.0 g/l de agar para medio sólido

2.2.2 Medio mínimo de crecimiento (Dapaah y Hill, 1992)

0.840 g/l de KH_2PO_4

0 750 g/l de K_2HPO_4

0 488 g/l de $(NH_4)_2SO_4$

0.600 g/l de NaCl

0.600 g/l de $CaCl_2$

0 600 g/l de $MgSO_4$

0 006 g/l de $FeCl_2$

2.2.3 Medio King-B (medio específico para *Pseudomonas*)

20.0 g/l de polipeptona

10 0 g/l de glicerol

1.5 g/l de $MgSO_4$

0.9 g/l de K_2HPO_4

0.9 g/l de KH_2PO_4

15.0 g/l de agar para medio sólido

2.3 PROCEDIMIENTO DE ESTERILIZACIÓN

En un autoclave se coloca el material y/o reactivos o medios de cultivo a esterilizar, después se procede a cerrarlo firmemente, se enciende y cuando el manómetro indique 1.2 kgf/cm^2 y el termómetro 115 °C –120 °C se prosigue a mantenerlo en esas condiciones durante un lapso de 15 minutos; pasado este tiempo se procede a apagar el autoclave y a

dejar que la temperatura y la presión estén en condiciones normales (0 kgf/cm² (manométrico) y la temperatura ambiente 20 °C) antes de abrir el autoclave.

2.4 TÉCNICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BIOMASA

Se utiliza el método de conteo directo en placa, que consiste en sembrar 1 ml de muestra líquida conteniendo biomasa de las diluciones adecuadas en solución salina (KCl al 1 %), el sembrado se realiza en cajas Petri con medio YPG sólido. Después se realiza la incubación en un equipo de calentamiento, como una estufa con regulador de temperatura a una temperatura de 35 °C ± 1 °C durante 24 horas. El conteo visual de unidades formadoras de colonias (UFC) se obtiene después de ese tiempo observando en un área bien iluminada a través de la caja Petri.

Dependiendo de la cantidad de muestra de tezontle que se tome para el conteo, es decir, el peso de la muestra de tezontle en gramos que se tomó y se depositó en la solución de KCl, y que ambas forman la muestra líquida. El resultado del conteo, dependiendo de cuantas veces se haya disuelto la muestra líquida, será el número de unidades formadoras de colonias (UFC) dividido entre el peso de la muestra de tezontle tomada de la columna empacada; reportándose el conteo en unidades formadoras de colonias por gramo de soporte (UFC/g).

2.5 PROCEDIMIENTO DE INMOVILIZACIÓN

La inmovilización por adsorción de la bacteria en tezontle, se lleva a cabo en una columna empacada con un volumen conocido. Se hace circular a través de este soporte en forma descendente un volumen determinado de inóculo crecido en medio líquido YPG con una densidad óptica conocida durante 72 horas por medio de una bomba peristáltica con cabezal, a un flujo de 1,000 ml/min.

Después, para determinar aproximadamente la cantidad de bacterias en el soporte, se utiliza de nuevo la técnica de conteo directo en placa a partir de dos partículas sustraídas de la parte superior de la columna.

2.6 DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO TOTAL (COT)

Primeramente, encender el horno de carbono orgánico total, y revisar que esté a una temperatura de 950 °C, con un flujo de aire grado cero de 3.5 cm³/min - 4.0 cm³/min. Con una solución patrón de oxalato de sodio, se realiza la curva de calibración, que va desde 0 hasta 200 mg/l de COT. Las soluciones patrón están preparadas como sigue: 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 y 200 mg/l; y con estas es con las que se realiza la curva de calibración. Se inyecta de cada muestra 100 µl, y se lee el valor obtenido, empezando primeramente con la muestra de concentración máxima hasta finalizar con la muestra de 20 mg/l

Se toman de 2.0 ml a 3.0 ml de cada una de las muestras a las que se les va a determinar el contenido de COT, a dichas muestras se les agrega de 2 a 3 gotas de H_2SO_4 concentrado llevando la muestra a un $pH = 2$ y después esta muestra se burbujea con aire durante uno o dos minutos para eliminar el CO_2 que se llegara a formar. Posteriormente, de cada una de las muestras se inyectan 100 μl y se lee el valor obtenido en la escala; finalmente este valor se compara con alguno dentro de la curva para así determinar cual es el contenido de COT de las muestras.

CAPÍTULO 3
METODOLOGÍAS

3.1 INMOVILIZACION DE LOS MICROORGANISMOS EN LA COLUMNA

Se realizó una inoculación de la cepa de *Pseudomonas fluorescens* en medio YPG líquido para lograr su crecimiento durante 24 horas en agitación continua y a 35 °C, un volumen total de 300 ml. Después se procedió a inocular una fermentación de 30 litros llevada a cabo durante 25.5 horas. Primeramente, la cantidad de células crecidas durante esta fermentación no fue lo suficiente para poder utilizarla como inóculo, por lo cual se procedió a llevar a cabo nuevamente la fermentación a 30 litros, previamente teniendo los 300 ml de cultivo. Ahora el tiempo de fermentación fue de 22.5 horas, (tres horas menos), ya que a este tiempo ya había una buena cantidad de células para realizar el escalamiento a 150 litros. Los resultados de las fermentaciones se presentan en las gráficas siguientes.

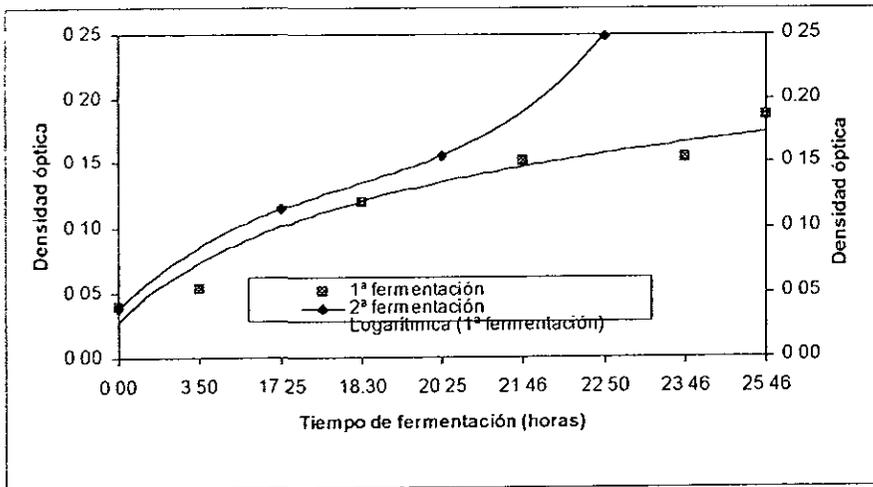


Figura 3.1.- Comparación del crecimiento de las *Pseudomonas fluorescens* en dos fermentaciones de tres litros.

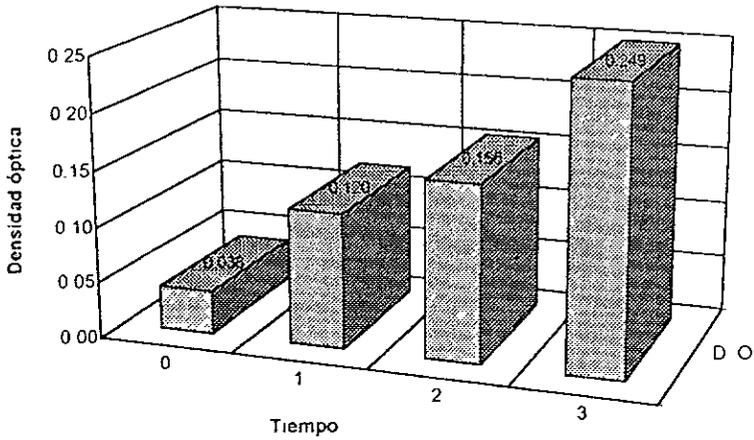


Figura 3.2.- Tiempo vs. Densidad óptica de la 2ª fermentación de 3.0 litros.

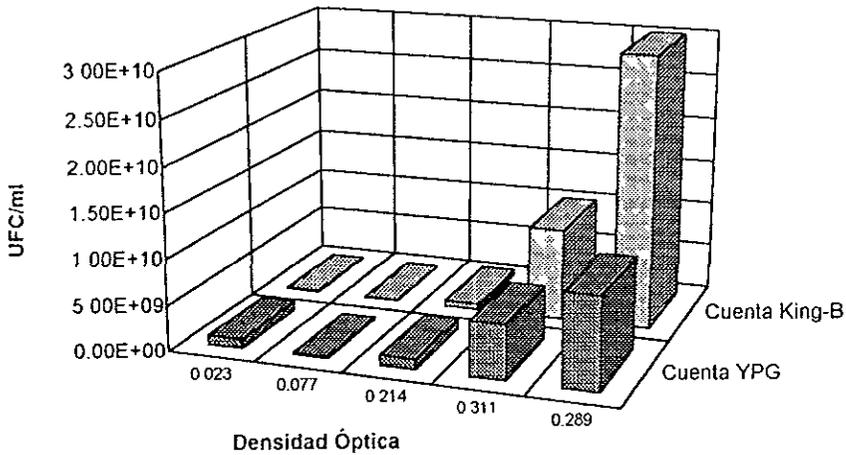


Figura 3.3.- Resultados de la fermentación a la escala de 15.0 litros. Densidad óptica vs. UFC/ml.

El sistema estuvo constituido por un reactor de 5.0 litros, formado por una columna de acrílico transparente de 45 cm de altura por 12 cm de diámetro, el sistema no contó con aireación ni con algún control de temperatura. Se empacó tezontle mallas 12, 14 y 16 (diámetros de 1.13 mm a 1.41 mm) sobre una base de arena de 10 cm de espesor dentro de una columna. El tezontle fue perfectamente mezclado hasta lograr una mezcla uniforme. Después se procedió a realizar el proceso de inmovilización en dicha columna. Para la inmovilización de la biomasa se utilizaron los quince litros obtenidos a partir de la fermentación.

Posterior a la inmovilización se procedió a realizar un conteo de la cantidad de biomasa contenida en el tezontle, que es el soporte de la biomasa en la columna empacada. Este procedimiento de conteo se realizó aproximadamente cada siete días o cada cambio de tóxico y de concentración. La tabla siguiente muestra los resultados de estos conteos y la gráfica que le sigue muestra como fue el comportamiento de la biomasa durante la operación de la columna empacada con diferentes tóxicos a diferentes concentraciones.

Los conteos se realizaron tanto en medio rico (YPG) como en medio específico para *Pseudomonas* (King-B). La razón de este doble conteo es el conocer si además de *Pseudomonas fluorescens*, podía haber otro tipo de microorganismo creciendo junto con las *Pseudomonas* en la columna empacada.

Como puede observarse, tanto en la tabla como en la gráfica, durante los meses de diciembre, enero, febrero y parte de marzo, la cantidad de unidades formadoras de colonias

por gramo de tezontle (UFC/g) disminuyó debido a la temperatura promedio de la estación del año (invierno) Esto es debido a que las *Pseudomonas fluorescens* crecen, como ya se mencionó a 28 °C - 35 °C En el transcurso del invierno la temperatura promedio osciló entre 12 °C y 16 °C, la cual es muy baja (menos de la mitad de la temperatura de crecimiento) para que los microorganismos puedan mantener su crecimiento sin que sea excesivo, y en la misma gráfica se puede apreciar como conforme transcurrió el invierno y aumentó la temperatura ambiente promedio, la cantidad de biomasa fue aumentando

Tabla 3.1

CONTEO DE LA BIOMASA RETENIDA EN LA COLUMNA EMPACADA

Fecha	UFC/g en YPG	UFC/g en KING-B	Promedio
09/10/96	1.60E+06	1.60E+06	1.60E+06
23/10/96	4.80E+06	3.90E+06	4.35E+06
29/10/96	4.00E+06	5.00E+05	2.25E+06
07/11/96	4.00E+05	2.80E+06	1.60E+06
13/11/96	3.40E+06	2.73E+06	3.07E+06
20/11/96	4.33E+06	5.33E+06	4.83E+06
26/11/96	9.66E+05	2.00E+06	1.48E+06
03/12/96	2.46E+06	1.66E+06	2.06E+06
06/12/96	6.00E+06	6.50E+06	6.25E+06
10/12/96	1.30E+06	1.20E+06	1.25E+06
17/12/96	1.00E+05	1.00E+05	1.00E+05
20/12/96	2.10E+05	2.80E+05	2.45E+05
27/12/96	3.80E+05	1.00E+06	6.90E+05
07/01/97	3.75E+06	2.90E+06	3.33E+06
10/01/97	3.30E+04	3.30E+04	3.30E+04
14/01/97	3.00E+04	2.00E+04	2.50E+04
23/01/97	3.20E+06	4.53E+06	3.87E+06
29/01/97	3.00E+04	6.25E+04	4.63E+04
31/01/97	8.90E+04	8.10E+04	8.50E+04
04/02/97	1.40E+05	3.00E+05	2.20E+05
07/02/97	1.71E+04	2.88E+04	2.29E+04
11/02/97	7.80E+04	1.00E+05	8.90E+04
18/02/97	2.00E+04	2.00E+04	2.00E+04
26/02/97	1.08E+04	2.50E+04	1.79E+04

Tabla 3.1 (continuación)

FECHA	UFC/g en YPG	UFC/g en KING-B	PROMEDIO
04/03/97	5.00E+04	5.16E+04	5.08E+04
11/03/97	4.40E+05	1.13E+05	2.77E+05
18/03/97	2.00E+05	1.91E+05	1.95E+05
01/04/97	2.56E+05	2.80E+05	2.68E+05
08/04/97	3.80E+05	2.14E+05	2.97E+05
15/04/97	3.20E+05	2.04E+05	2.62E+05
22/04/97	2.80E+05	9.50E+05	6.15E+05
29/04/97	3.30E+05	6.50E+05	4.90E+05
13/05/97	1.46E+06	1.00E+06	1.23E+06
20/05/97	2.85E+06	2.40E+06	2.63E+06
30/05/97	8.88E+05	8.88E+05	8.88E+05
05/06/97	2.60E+06	9.92E+06	6.26E+06
12/06/97	1.55E+06	2.10E+07	1.13E+07
19/06/97	6.60E+05	5.12E+06	2.89E+06
25/06/97	1.46E+05	3.00E+06	1.57E+06
02/07/97	4.15E+06	-----	4.15E+06

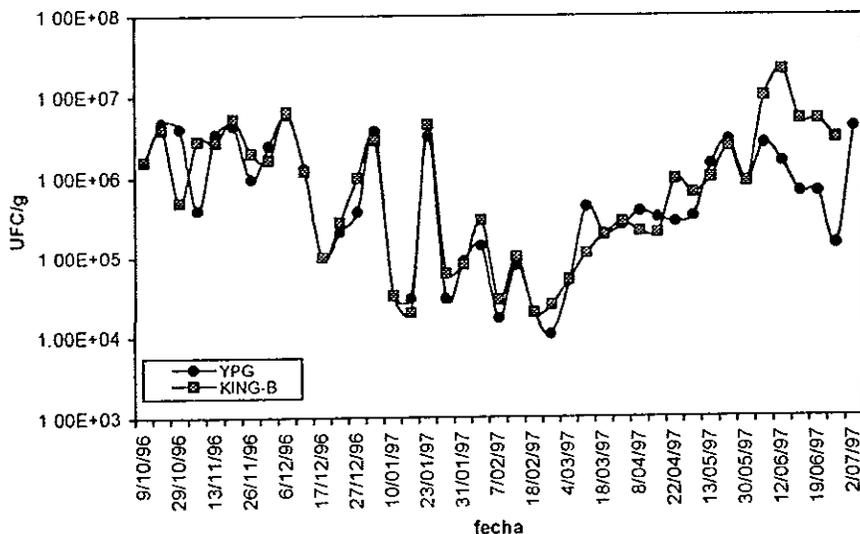


Figura 3.4.- Comportamiento de la cantidad de células contenidas en la columna empacada. Cuantificación de la biomasa en medio YPG y King-B.

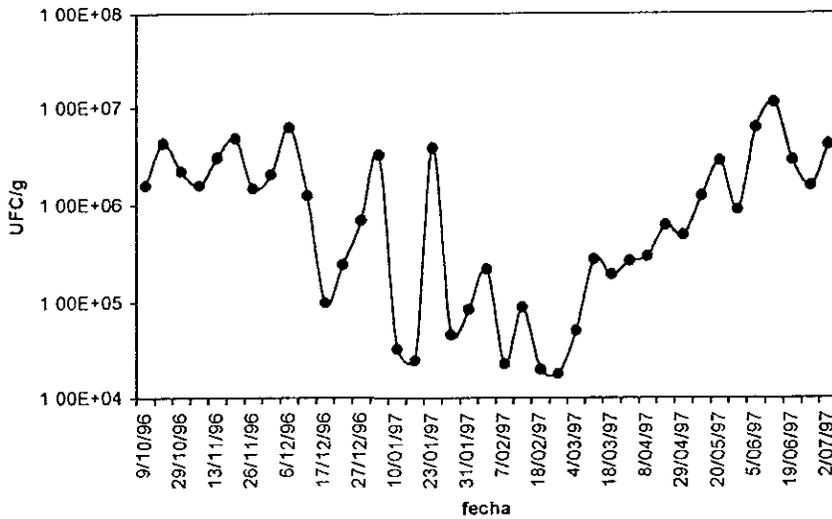


Figura 3.5.- Comportamiento de la cantidad de células contenidas en la columna empacada. Cuantificación de la biomasa, promedio.

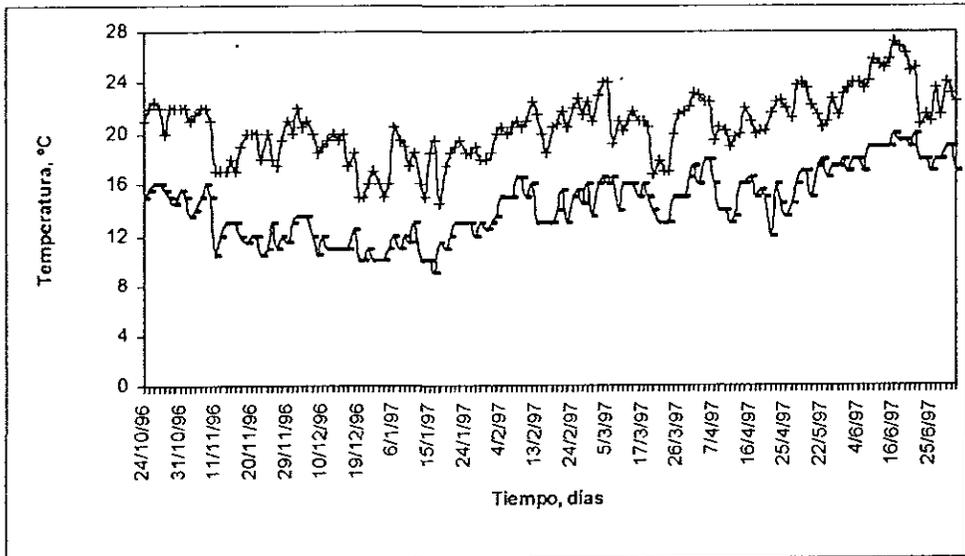


Figura 3.6.- Relación de las temperaturas máximas y mínimas durante la operación de la columna empacada.

Como se puede apreciar en la figura anterior, durante la temporada invernal el promedio de la temperatura ambiente disminuyó, y si esta gráfica se compara con los resultados de la cuantificación de biomasa en las mismas fechas, se podrá apreciar como la línea de la tendencia de la cantidad de biomasa se comporta de modo similar a las fluctuaciones de temperatura

Recordando la temperatura ideal para el crecimiento de las *Pseudomonas fluorescens*, y si se sobrepone la gráfica de la cantidad promedio de UFC/g con una gráfica de la temperatura promedio, se observaría como su comportamiento, es similar.

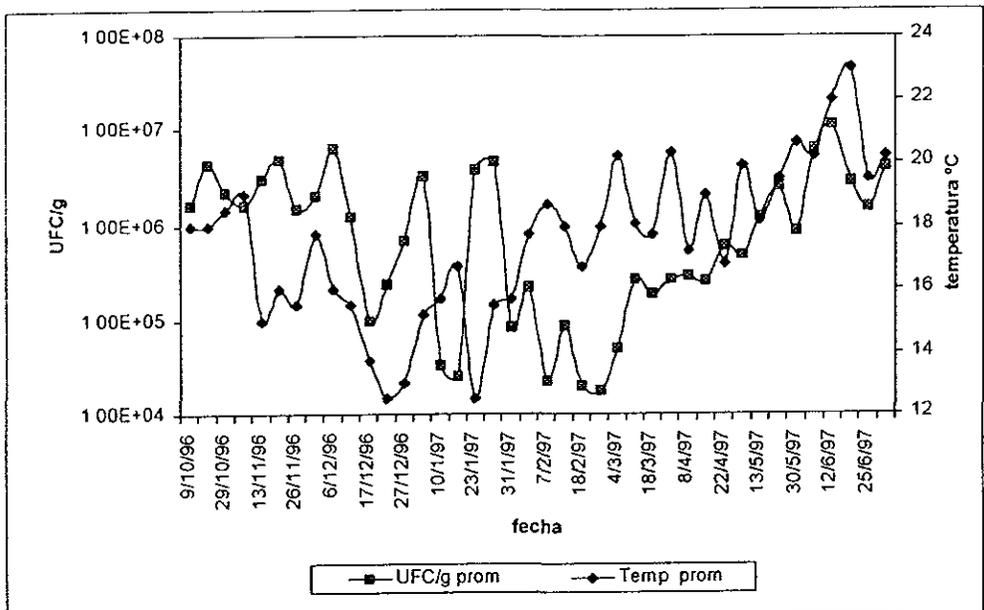


Figura 3.7.- Comportamiento de las *Pseudomonas* con respecto a la temperatura

En esta gráfica se puede apreciar muy bien el comportamiento de las *Pseudomonas* con respecto a la temperatura, y con esto se deduce que las *Pseudomonas* dependen en cierta

forma de la temperatura y a su vez ésta influye en su desempeño, es decir, en su capacidad de degradación

También a partir de la gráfica, se muestra como las *Pseudomonas* son dependientes de la temperatura, y también su capacidad de degradación, que precisamente cuando la temperatura fue disminuyendo también fue disminuyendo la actividad de las *Pseudomonas*, es decir, cuando hubo más frío, degradaron menor cantidad de clorofenoles, sobre todo el 2-clorofenol y 2,4-diclorofenol, que fueron los que se alimentaron a la columna durante la temporada de más frío.

3.2 ARRANQUE Y OPERACIÓN DE LA COLUMNA EMPACADA

La columna empacada con tezontle, previamente inoculada con *Pseudomonas fluorescens*, se operó en una serie de etapas: 35 en total. Cada etapa fue diferente de la otra ya que se varió tanto el tóxico, la concentración del mismo y el tiempo de residencia. Recordando que la temperatura de operación de la columna no se controló, y a raíz de esta situación se pudo observar cómo los cambios de temperatura afectaron la degradación de los clorofenoles alimentados a la columna. Cabe recalcar que no se siguió ningún patrón al alimentar el tipo de clorofenol a la columna, el tiempo de residencia se elegía al azar, procurando no repetir el mismo tiempo para la misma concentración del mismo clorofenol.

Primeramente, se comenzó a operar la columna con 2,4,6-triclorofenol a diferentes concentraciones variando el tiempo de residencia. Después se introdujo 2-clorofenol a una

sola concentración a diferentes tiempos de residencia, posteriormente se alimentó 2,4-diclorofenol a una sola concentración y también a diferentes tiempos de residencia Finalmente pentaclorofenol en iguales condiciones que el 2-clorofenol y el 2,4-diclorofenol

Terminando estas etapas (22 en total), se procedió a operar ahora con los mismos clorofenoles, excepto el 2-clorofenol, pero mezclados, y comparar los porcentajes de remoción de los mismos en forma individual con las mezclas Las etapas XXIII, XXIV, XXV y XXVI prácticamente fueron de preparación para posteriormente operar la columna con mezclas más complejas de clorofenoles. La columna reaccionó mejor a lo esperado con las mezclas complejas Esto claro, basándose en los resultados de la degradación de las mezclas binaria y ternaria, correspondientes a las etapas de preparación mencionadas anteriormente

Cada vez que se efectuaba el cambio de clorofenol o de mezcla, la columna se vaciaba e inmediatamente se introducía el siguiente compuesto a trabajar Las soluciones fueron preparadas en agua destilada, conteniendo un 10 % del medio mínimo como nutriente adicional

Como se observa en la tabla 3 2, en las primeras once etapas de operación de la columna, no se siguió un orden ascendente o descendente en la concentración del 2,4,6-triclorofenol o del tiempo de residencia, esto con el fin de observar el comportamiento de las *Pseudomonas fluorescens* al ser alimentadas con este clorofenol a distintas concentraciones

y tiempos de residencia variables; en otras palabras, de forma aleatoria se alimentó la columna con un clorofenol y a una cierta concentración, sin seguir orden alguno. Ya que con el clorofenol con el cual se empezó a trabajar, se inició alimentándolo a 500 mg/l con un tiempo de residencia de 155 horas, y se terminó alimentándolo a la misma concentración, pero ahora con un tiempo de residencia de 310 horas, se obtuvieron en ambos casos resultados diferentes

De la etapa XII a la etapa XVI, se operó la columna con 2-clorofenol a 500 mg/l únicamente, ya no se probó variar la concentración pero sí de tiempo de residencia, lo cual se realizó en cinco ocasiones. Con la alimentación de este clorofenol a la columna, se esperaba un mayor porcentaje de remoción, ya que es menos tóxico (en la bibliografía del presente trabajo se reporta que estos microorganismos y otros degradan mejor conforme el fenol tiene menos átomos de cloro, y aún mejor si es solamente fenol) Estos porcentajes de remoción se pueden observar en la misma tabla, pero cabe recordar que como no hubo control de la temperatura de operación, cuando se alimentó el 2-clorofenol a la columna, ya comenzaba la época de temperaturas más bajas (el término del otoño y el principio del invierno), y cuando se acabó de trabajar con este clorofenol, se midieron temperaturas más frías (13 °C en promedio).

Las etapas XVII, XVIII y XIX corresponden a la operación de la columna alimentada con 2,4-diclorofenol, también a 500 mg/l, a tres diferentes tiempos de residencia. Se observó un porcentaje de degradación mejor que el del 2-clorofenol pero no tan bueno como el observado como en el caso de 2,4,6-triclorofenol

Finalmente, durante las etapas XX, XXI y XXII, se alimentó pentaclorofenol, pero a una concentración de 200 mg/l a tres diferentes tiempos de residencia. Se operó con este clorofenol a dicha concentración, debido a que es el más tóxico de todos los clorofenoles con los que se trabajó, y además porque como aparece reportado en Torres et al (1996), es la concentración máxima que pudo degradar este tipo de microorganismo.

Después de trabajar con clorofenoles en forma individual, se procedió a trabajar ahora con los mismos clorofenoles pero esta vez mezclados Utilizando ahora 2,3,4,6-tetraclorofenol en lugar de 2-clorofenol, ya que para los análisis a realizar con cromatografía de gases era muy difícil detectar un clorofenol muy simple Como ya se mencionó, las etapas XXIII, XXIV, XXV y XXVI fueron preparatorias a la operación de las mezclas más complejas. Las mezclas de las etapas de preparación fueron: una binaria constituida por 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol a 400 mg/l, y una ternaria constituida por 2,4-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol y pentaclorofenol también a 400 mg/l.

Posteriormente, durante las etapas restantes se alimentó la mezcla cuaternaria constituida por 2,4-diclorofenol, 2,4,6-triclorofenol, 2,3,4,6-tetraclorofenol y pentaclorofenol a 400 mg/l, 600 mg/l y 200 mg/l Cada concentración fue alimentada durante tres etapas, a diferentes tiempos de residencia, los cuales fueron los mismos para estas tres concentraciones. Esta mezcla fue la más compleja que se manejó en la operación de la columna Además, suponiendo que la toxicidad de una mezcla es el resultado de la suma de sus componentes, entonces además de ser la mezcla más compleja podría ser la más tóxica

Tabla 3.2

ETAPAS DE OPERACIÓN DE LA COLUMNA EMPACADA CON CLOROFENOLES INDIVIDUALES

Etapa	Tóxico	Concentración del efluente (mg/l)	Concentración del influente (mg/l)	Tiempo de residencia (horas)	% de remoción
I	2,4,6-TCF	54.00	500	15.50	89.20
II	2,4,6-TCF	162.00	300	31.00	46.00
III	2,4,6-TCF	69.90	100	31.00	30.10
IV	2,4,6-TCF	81.50	100	11.00	18.50
V	2,4,6-TCF	72.70	100	22.00	27.30
VI	2,4,6-TCF	92.10	300	15.50	69.30
VII	2,4,6-TCF	77.70	300	6.20	74.10
VIII	2,4,6-TCF	45.70	100	62.00	54.30
IX	2,4,6-TCF	43.70	100	93.00	56.30
X	2,4,6-TCF	221.00	500	3.10	55.80
XI	2,4,6-TCF	130.50	500	31.00	73.90
XII	2-CF	370.00	500	12.40	26.00
XIII	2-CF	395.50	500	3.10	20.90
XIV	2-CF	357.25	500	31.00	28.55
XV	2-CF	469.97	500	15.50	6.01
XVI	2-CF	420.00	500	62.00	16.00
XVII	2,4-DCF	286.35	500	15.50	42.73
XVIII	2,4-DCF	332.50	500	62.00	33.50
XIX	2,4-DCF	348.75	500	31.00	30.25
XX	PCF	80.77	200	15.50	57.33
XXI	PCF	68.45	200	62.00	68.40
XXII	PCF	69.31	200	31.00	68.25

Nota: Tanto las concentraciones iniciales como finales fueron determinadas por el método de la 4-aminoantipirina.

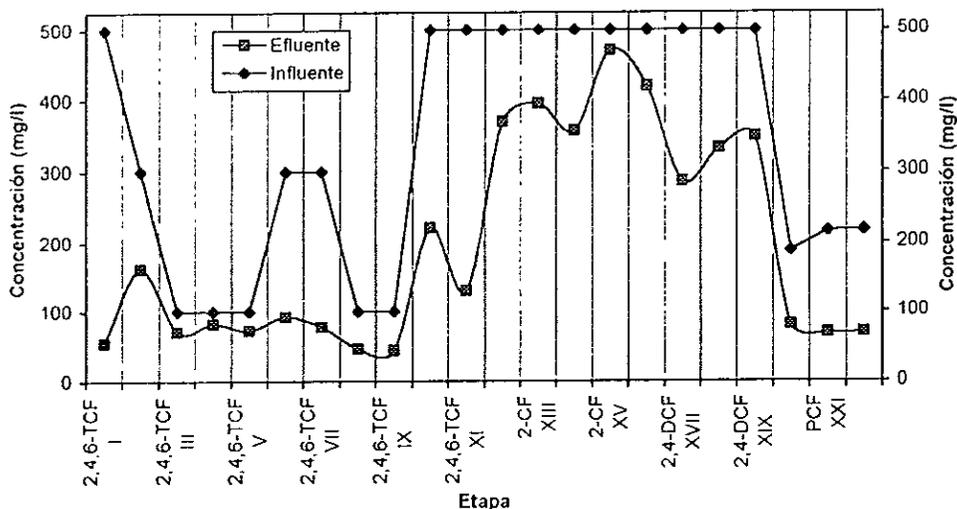


Figura 3.8.- Etapas de trabajo de la columna empacada con clorofenoles individuales

En la tabla y gráfica anteriores, se puede apreciar de forma resumida toda la operación de la columna empacada con 2,4,6-triclorofenol, 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol y pentaclorofenol, alimentados a la columna de forma individual. Los datos de la tabla, están distribuidos en las etapas I a la XXII, contra las concentraciones de entrada y de salida de cada uno de los clorofenoles dentro de sus etapas correspondientes.

Como se observa en la gráfica, en algunos casos las líneas de influente y efluente están demasiado cercanas, y en otros casos se encuentran lejanas; esto último es lo más deseable que ocurra en la columna. Porque, el objetivo es degradar la mayor cantidad de clorofenol, de modo que el efluente tenga una concentración baja.

Tabla 3.3

ETAPAS DE OPERACIÓN DE LA COLUMNA EMPACADA CON CLOROFENOLES MEZCLADOS

Etapa	Tóxico	Concentración del efluente (mg/l)	Concentración del influente (mg/l)	Tiempo de residencia (horas)	% de remoción
XXIII	Di-Tri	284.40	400	31.00	28.90
XIV	Di-Tri	285.84	400	15.50	28.54
XXV	Di-Tri-Penta	287.00	400	15.50	28.25
XXVI	Di-Tri-Penta	257.08	400	31.00	35.73
XXVII	Di-Tri-Tet-Penta	80.84	400	15.50	79.79
XXVIII	Di-Tri-Tet-Penta	97.68	400	31.00	75.58
XXIX	Di-Tri-Tet-Penta	93.96	400	62.00	76.51
XXX	Di-Tri-Tet-Penta	81.00	600	31.00	86.50
XXXI	Di-Tri-Tet-Penta	136.20	600	62.00	77.30
XXXII	Di-Tri-Tet-Penta	131.94	600	15.50	78.01
XXXIII	Di-Tri-Tet-Penta	82.50	200	15.50	58.75
XXXIV	Di-Tri-Tet-Penta	86.54	200	62.00	43.27
XXXV	Di-Tri-Tet-Penta	85.44	200	31.00	42.72

NOTA. Las concentraciones de las mezclas cuaternarias fueron determinadas por cromatografía de gases.

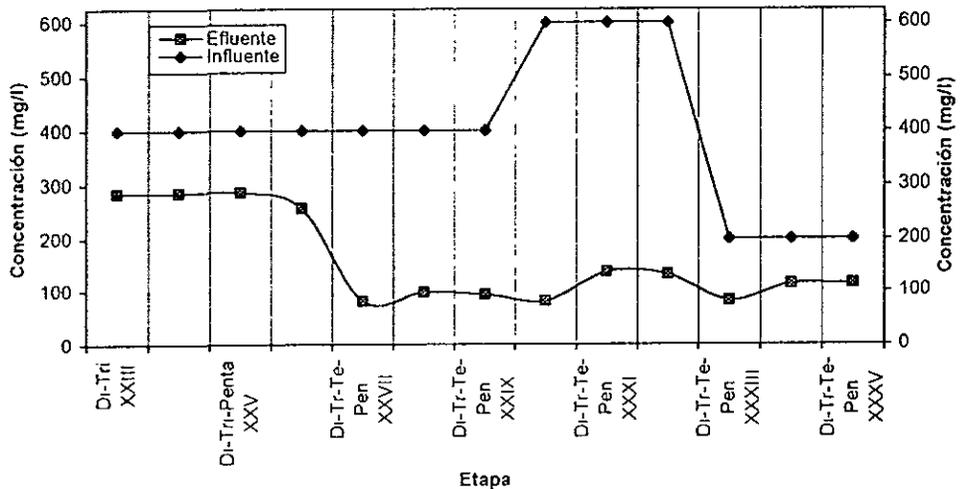
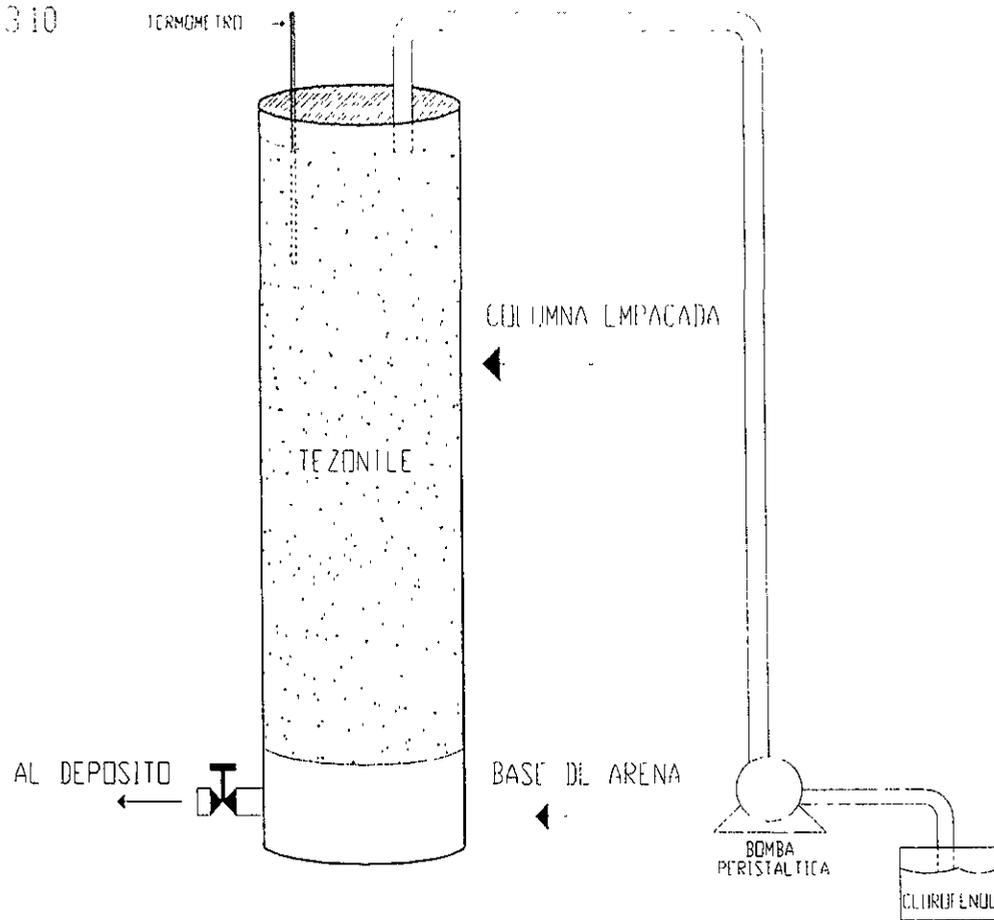


Figura 3.9.- Etapas de trabajo de la columna empacada con clorofenoles mezclados.

En la tabla 3 3 y la grafica 3 9, están reportados los valores obtenidos de forma resumida en la operacion de la columna con las mezclas de clorofenoles; primeramente con una mezcla binaria y después con una mezcla ternaria, como etapas de preparación antes de alimentar las mezclas cuaternarias que fueron las mezclas de mayor interés y de más importancia dentro de la operación de la columna con mezclas de clorofenoles Y, como puede apreciarse en ambas, tabla y gráfica, las *Pseudomonas fluorescens* respondieron de manera excelente ante la mezcla más compleja de clorofenoles.

FIGURA 310



CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE

RESULTADOS

4.1 BIODEGRADACIÓN DE 2,4,6-TRICLOROFENOL

Primeramente se empezó a trabajar con 2,4,6-triclorofenol a diferentes concentraciones y a diferentes tiempos de residencia. Como se puede apreciar en la siguiente gráfica, al aumentar el tiempo de residencia aumentó también el porcentaje de remoción, pero al seguir aumentándolo decayó la cantidad de tóxico removido. Al tiempo de residencia de 15.5 horas fue cuando se obtuvo la mayor remoción del tóxico, casi el 90 %

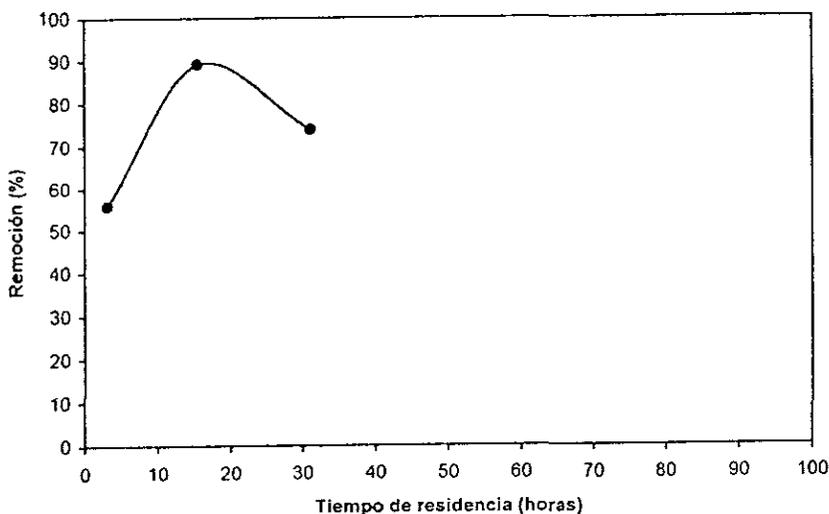


Figura 4.1.- Tiempo de residencia vs. % de remoción del 2,4,6-triclorofenol a 500 mg/l.

Esto quiere decir que conforme aumenta el tiempo de residencia se mejora la eficiencia en la degradación pero al seguir aumentando este tiempo dicha eficiencia disminuye. Como se describió en la metodología, la alimentación de 2,4,6-triclorofenol a 500 mg/l no se realizó en etapas continuas, sino en etapas discontinuas; primeramente a 15.5 horas, después a 31.0 horas y finalmente a 31.0 horas.

En este esquema, solamente está graficado el 2,4,6-triclorofenol a 500 mg/l contra el tiempo de residencia; los tres puntos mostrados en la gráfica presentan comportamiento distinto, debido a la variación de la temperatura ambiente, al comportamiento de las *Pseudomonas* contenidas en la columna, obviamente al cambio de tiempo de residencia, y quizá a que la columna operó intercaladamente con el mismo tóxico a concentraciones menores a 500 mg/l.

En la primera etapa, la temperatura promedio fue de 18 °C, mientras que en las otras dos fue de 15 °C y 14.5 °C. Si se relaciona el tiempo de residencia y la temperatura de estas tres etapas, se puede observar como influyeron en la degradación del clorofenol. Al descender la temperatura, la degradación también disminuye, igualmente si desciende el tiempo de residencia. Al aumentar, por ejemplo, el tiempo de residencia pero no la temperatura sí aumentó la degradación del tóxico. Eso se observa en la gráfica comparando las degradaciones obtenidas a un tiempo de residencia de 15.5 horas y 31.0 horas. Según lo reportado por Torres et al. (1994), entre mayor sea el tiempo de residencia mayor es la degradación del clorofenol. Cuando se alimentó el 2,4,6-triclorofenol a 500 mg/l, con un tiempo de residencia de 15.5 horas, éste fue degradado en mayor proporción que cuando el tiempo de residencia se duplicó. En el caso del punto donde el tiempo de residencia fue menor (3.1 horas), que sí cae dentro de las expectativas ya que su degradación fue de 55.8 % a una temperatura promedio de 15 °C.

Pasando ahora con el mismo tóxico pero con una concentración de 300 mg/l, se observa en la siguiente gráfica que su comportamiento fue totalmente inverso al esperado, es decir,

conforme aumentó el tiempo de residencia debía aumentar también la degradación, pero sucedió lo contrario.

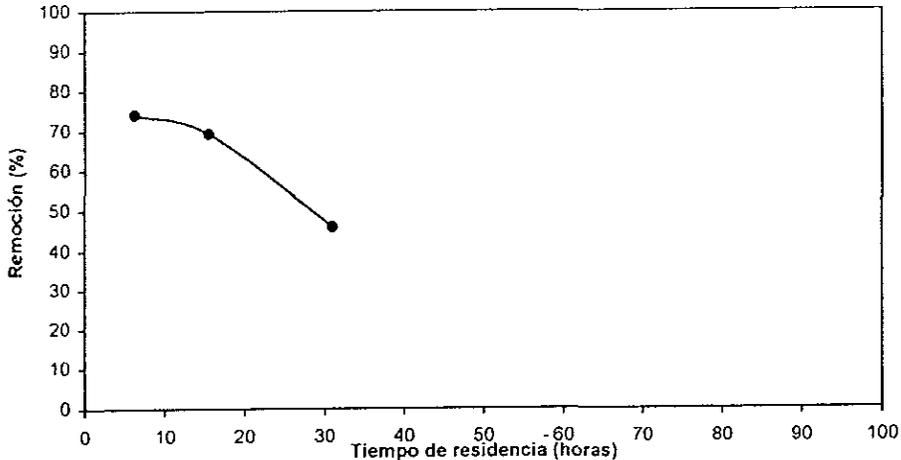


Figura 4.2.- Tiempo de residencia vs. % de remoción del 2,4,6-triclorofenol a 300 mg/l.

El 2,4,6-triclorofenol se alimentó a la columna con tiempos de residencia de 31.0 horas, 15.5 horas y 6.2 horas. En un principio la degradación fue de 46% (la degradación más baja), pero conforme en las otras etapas se disminuyó el tiempo de residencia, la degradación aumentó, (69.3% y 74.1%). La temperatura promedio en esas tres etapas fue de aproximadamente 18 °C. Cabría decir aquí que la temperatura no influyó en la degradación, sino alguna otra variable. La temperatura reportada es la temperatura promedio, lo que quiere decir que algunos días la temperatura estaba muy abajo del promedio y otros más arriba, y en ocasiones ocurrió que la diferencia de temperaturas entre la más baja y la más alta fue de hasta 7 °C, y en otros 2 °C y 3 °C.

Por lo anterior con respecto a la temperatura también se deduce que ésta sí influye en la degradación del tóxico, así como también la cantidad de células contenidas en la columna. Quizá en este caso, se podría decir que el tiempo de residencia no tuvo efecto alguno en la degradación del 2,4,6-triclorofenol a 300 mg/l. Esto se debe quizás a que la temperatura y las *Pseudomonas* jugaron un papel más importante en la degradación, dejando a un lado los efectos que hubiera podido causar la variación del tiempo de residencia

Cuando la columna se operó con el mismo clorofenol pero ahora a una concentración de 100 mg/l, el comportamiento fue el esperado: conforme aumentó el tiempo de residencia también aumentó la degradación. Lo anterior puede apreciarse en la figura 4.3.

Primeramente se alimentó durante tres etapas, a tiempos de residencia de 31.0 horas, 11.0 horas y 22.0 horas respectivamente. Después se volvió a alimentar a 62.0 horas y 93.0 horas de tiempo de residencia respectivamente.

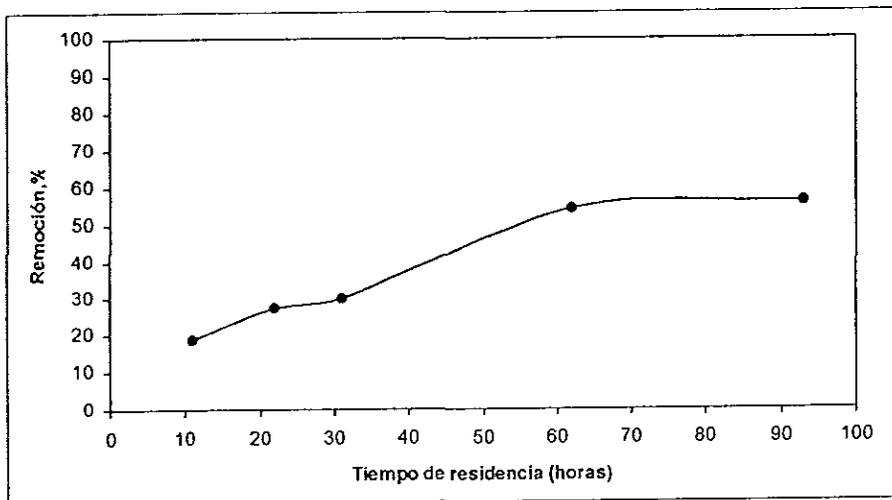


Figura 4.3.- Tiempo de residencia vs. % de remoción del 2,4,6-triclorofenol a 100 mg/l.

En las primeras tres etapas de trabajo, las temperaturas promedio fueron 17 °C, 18 °C y 18 °C respectivamente, y en las últimas dos, las temperaturas promedio fueron de 17 °C y 16 °C respectivamente. Durante esas cinco etapas de operación de la columna a dicha concentración inicial, estas temperaturas promedio estuvieron lo bastante cercanas. A pesar de no notarse una gran influencia de la temperatura como en los otros casos, no se descarta que sí pudo haber influido un poco en el proceso de degradación. Como se observa en esta gráfica, la degradación fue menor que en los casos anteriores, esto debido primeramente a que entre más tóxico haya mayor actividad tienen las *Pseudomonas*, y entre menos haya tienen menor actividad, es decir, que cuando el tóxico está más concentrado degradan más y cuando está menos concentrado degradan menos.

La degradación máxima obtenida trabajando con esta concentración fue del 56.3 % para el máximo tiempo de residencia (93.0 horas), y la degradación mínima obtenida fue del 18.5 % para el tiempo de residencia mínimo (11.0 horas).

En la figura 4.4 se puede observar el comportamiento del 2,4,6-triclorofenol alimentado a diferentes concentraciones a la columna empacada con distintos tiempos de residencia. Es notable como a una concentración inicial de 500 mg/l tuvo una mejor aceptación por parte de los microorganismos, ya que fue cuando la degradación fue mayor, sobre todo cuando se alimentó a un tiempo de residencia de 15.5 horas.

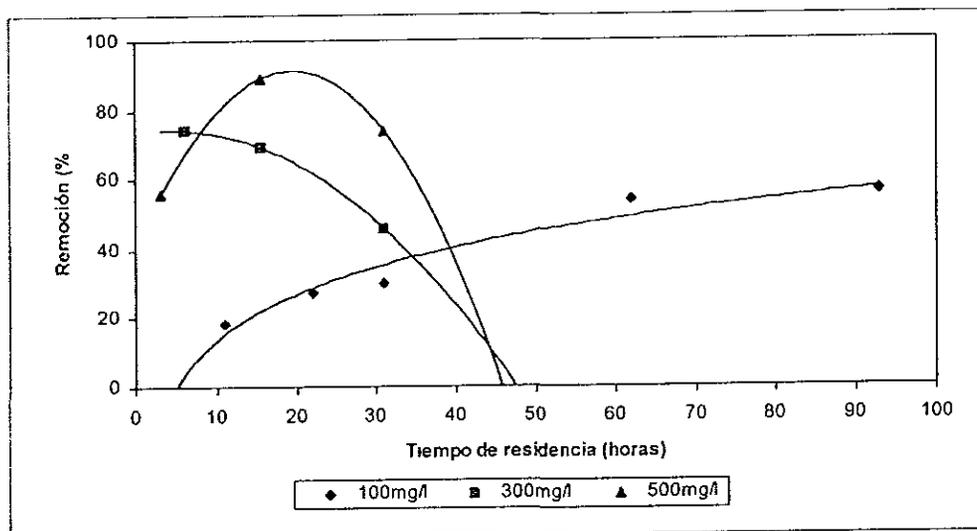


Figura 4.4.- Tiempo de residencia vs. % de remoción del 2,4,6-triclorofenol a diferentes concentraciones

Como ya se mencionó antes, una mayor concentración representó una mayor degradación, esto debido a que entre mayor cantidad de triclorofenol hay presente en la alimentación, los microorganismos poseen una mayor fuente de carbono de donde alimentarse y por lo cual tanto su crecimiento como la degradación son mayores. Cuando se hizo lo contrario, es decir, al alimentarse el triclorofenol a menores concentraciones a 500 mg/l, la degradación del tóxico fue menor, y como ya se observó gráficamente, el triclorofenol a 300 mg/l y a 100 mg/l mostraron un comportamiento inverso con respecto al tiempo de degradación pero si el esperado con respecto a la cantidad degradada debido a la reacción antes comentada de los microorganismos ante las diferentes concentraciones del 2,4,6-triclorofenol.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

4.2 BIODEGRADACIÓN DEL 2-CLOROFENOL

La alimentación del 2-clorofenol a 500 mg/l, fue el siguiente bloque de cinco etapas consecutivas con el que operó la columna empacada. Todas las operaciones llevadas a cabo se realizaron únicamente a la concentración de 500 mg/l, lo único que se varió, fue el tiempo de residencia. Este tiempo de residencia se manejó basándose en los valores anteriormente utilizados en las primeras once etapas. Dichos tiempos de residencia fueron 12.4 horas, 31 horas, 31.0 horas, 15.5 horas y 62.0 horas

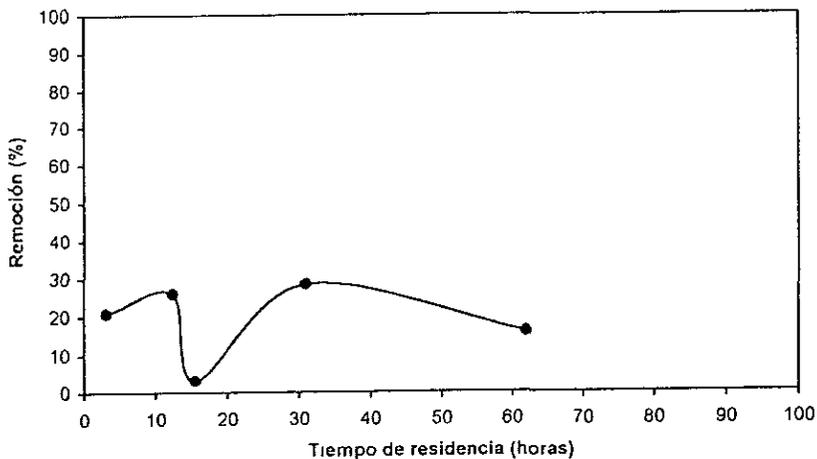


Figura 4.5.- Tiempo de residencia vs. % de remoción del 2-clorofenol a 500mg/l.

En la gráfica 4.5 se puede observar como al ir aumentando el tiempo de residencia, aumenta la degradación del 2-clorofenol. Llega un momento en que esa degradación empieza a disminuir, y esto sucede cuando el tiempo de residencia es mayor a 31.0 horas. A partir de 3.1 horas y hasta las 31.0 horas de tiempo de residencia, la actividad de los

microorganismos fue ascendiendo, exceptuando el caso del tiempo de residencia de 15.5 horas, donde la degradación fue de apenas un 6 %. Durante las etapas donde el tiempo de residencia fue de 12.4 horas, 31.1 horas y 31.0 horas la degradación del tóxico estuvo entre el 20 % y el 29 %; sólo en el caso del máximo tiempo de residencia (62.0 horas) la degradación disminuyó y fue del 16 %

Al comparar estos valores con los valores de la degradación del 2,4,6-triclorofenol a 500 mg/l con respecto a los tiempos de residencia de 3.1 horas, 15.5 horas y 31.0 horas, son muy bajos, y es bastante notoria la disminución de la actividad de los microorganismos. Por lo anterior, ya no se decidió continuar operando la columna con el 2-clorofenol a 300 mg/l y 100 mg/l, ya que la degradación podría haber sido bastante baja, quizá menor al 5 %. Durante la alimentación del 2-clorofenol a la columna empacada, la temperatura ambiente osciló entre 14 °C y 15.5 °C, y este factor también influyó importantemente en la actividad de los microorganismos. Como ya se discutió anteriormente, la temperatura afecta la actividad de los microorganismos. A esto hay que añadir que éste clorofenol es menos tóxico que el empleado al principio.

El punto bajo de la gráfica, correspondiente al tiempo de residencia de 15.5 horas, que resulta en una degradación del 6 %, operó con una temperatura promedio de 14.5 °C, y quizá más baja durante la noche. Además se puede agregar que esta temperatura no osciló demasiado, y como es notorio, afectó grandemente la actividad de las *Pseudomonas*, ya que si ese punto se ignorara, y se siguiera la tendencia de la línea, el punto teórico de 15.5 horas sería 27 % de degradación para el clorofenol.

Con este clorofenol, alimentado durante una temporada más fría, fue bastante notoria la influencia de la temperatura sobre la actividad de los microorganismos degradadores. Si en el caso del triclorofenol, fue notorio el factor temperatura ambiente, en este caso fue aún más. Además, si se observa en forma general el comportamiento del 2-clorofenol, entre un tiempo de residencia y otro, exceptuando el de 15.5 horas, fueron relativamente pocas las oscilaciones de la degradación, es decir, se podría trazar entre el punto del tiempo de residencia menor y el mayor una línea recta.

4.3 BIODEGRADACIÓN DEL 2,4-DICLOROFENOL

La alimentación del 2,4-diclorofenol se realizó a una concentración inicial de 500 mg/l en tres etapas. La temperatura ambiente osciló entre 13.5 °C y 14 °C, aún más fría que en las cinco etapas anteriores.

El 2,4-diclorofenol a pesar de ser más tóxico que el 2-clorofenol, fue degradado en una proporción un poco mayor que este último. Con un tiempo de residencia menor, 15.5 horas, la degradación fue del 42.7 %, unas siete veces mayor que la degradación del 2-clorofenol a este mismo tiempo de residencia, pero casi la mitad de la degradación del 2,4,6-triclorofenol a este mismo tiempo de residencia.

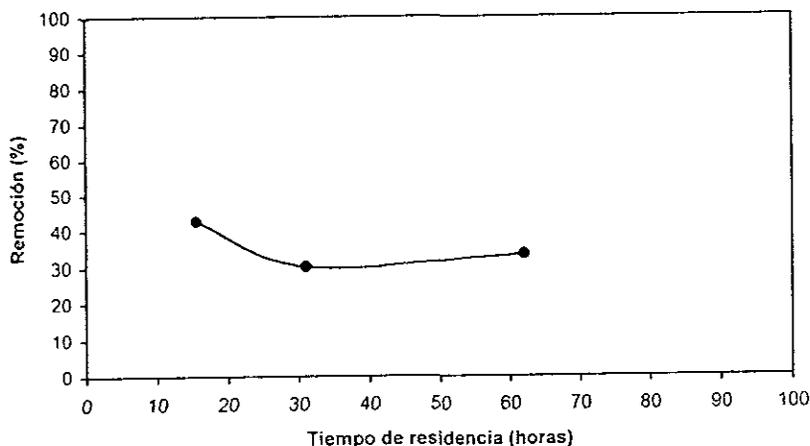


Figura 4.6.- Tiempo de residencia vs. % de remoción del 2,4-diclorofenol a 500 mg/l.

Como se observa en la gráfica 4.6, al aumentar el tiempo de residencia del 2,4-diclorofenol de 15.5 horas a 31.0 horas, la degradación descendió hasta 30.25 %, y al seguir aumentando el tiempo de residencia hasta 62.0 horas, esta degradación ascendió un poco hasta 33.5 %. Cabe decir, que después de alimentar el clorofenol a un tiempo de residencia de 15.5 horas, se procedió a alimentarlo a un tiempo de residencia de 62.0 horas, y finalmente a un tiempo de residencia de 31.0 horas. En la primera etapa de alimentación de 2,4-diclorofenol, la temperatura promedio fue de 14 °C, en la siguiente de 13.5 °C y finalmente otra vez de 14 °C. Nuevamente se nota la influencia de la temperatura sobre la actividad de los microorganismos; ya que al observar la gráfica, el punto de menor actividad es cuando el tiempo de residencia fue de 31.0 horas y, en este punto se presentó la temperatura promedio más baja, 13.5 °C.

Con este clorofenol, también se observa que la temperatura influyó más que el tiempo de residencia sobre la degradación del tóxico, ya que al disminuir esa en promedio, también disminuyó la degradación aunque el tiempo de residencia se aumentó, pero cuando esa temperatura promedio volvió a ser la misma, fue un poco más notorio la influencia del tiempo de residencia sobre la degradación del tóxico.

Durante este lapso de la operación de la columna con 2,4-diclorofenol, tampoco se trabajó a concentraciones menores a 500 mg/l, solamente con esta última, y únicamente con los tres tiempos de residencia más utilizados en las etapas anteriores. El motivo fue el mismo que en el caso anterior, aunque en este caso las degradaciones fueron un poco mayores.

4.4 BIODEGRADACIÓN DE PENTACLOROFENOL

Finalmente, el último clorofenol alimentado en forma individual a la columna empacada fue el pentaclorofenol. Este es el clorofenol más tóxico de todos, y, como su nombre lo indica, el más clorado de todos los clorofenoles. Tal como se mencionó en los antecedentes, este es uno de los clorofenoles más problemáticos de tratar y más peligrosos para el ambiente

Este clorofenol, solamente se alimentó a una concentración máxima inicial de 200 mg/l, debido a su alta toxicidad, y a que es el menos soluble en agua. Además, de que en la literatura se reporta que a concentraciones mayores de este clorofenol las *Pseudomonas* se inhiben y degradan menos

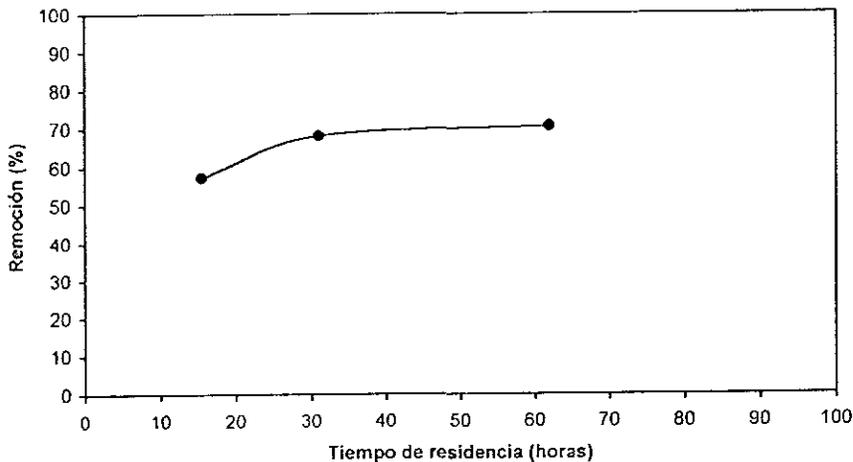


Figura 4.7.- Tiempo de residencia vs. % de remoción del pentaclorofenol a 200 mg/l.

También para este clorofenol, se emplearon los tiempos de residencia de 15.5 horas, 31.0 horas y 62.0 horas

La degradación del pentaclorofenol fue mucho mejor de lo esperado, ya que en la literatura se menciona que al ser el más tóxico de todos los clorofenoles y tener un mecanismo de degradación diferente al de los demás clorofenoles, su degradación es lenta y no muy efectiva, pero en este caso, durante estas tres etapas, la degradación estuvo entre 57 % y 68%. Durante la primera etapa la temperatura promedio fue de 16 °C, y en las dos restantes fue de 18 °C, así la influencia negativa de la temperatura sobre el tiempo de residencia no fue tan notoria. Al observar la gráfica, se nota muy bien la tendencia de aumento de la actividad al aumentar el tiempo de residencia, pero entre 31.0 horas y 62.0 horas de tiempo de residencia esa tendencia es poco marcada; ya que las degradaciones para esos tiempos de residencia fueron de 68.25 % y 68.40 % respectivamente, por lo cual se concluye que al

seguir aumentando el tiempo de residencia, no aumentará más la actividad degradadora de los microorganismos

4.5 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE BIODEGRADACIÓN DE LOS CLOROFENOLES INDIVIDUALES

La degradación del pentaclorofenol quedó situada entre la degradación del 2,4,6-triclorofenol y la del 2,4-diclorofenol. Teóricamente se dice que al ser más tóxico un clorofenol, se presenta una mayor actividad de las *Pseudomonas*, en presencia de una buena temperatura promedio, la degradación del pentaclorofenol debería haber sido la mejor de todos los clorofenoles, pero como ya ha sido mencionado en la literatura, el pentaclorofenol tiene un comportamiento distinto al de los demás clorofenoles. Sobre la base de experimentos ya antes realizados y reportados también en la literatura, estos resultados son bastante satisfactorios para una columna con alimentación en lote y sin temperatura controlada.

En la figura siguiente, se encuentran graficados los valores obtenidos de la degradación de 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol a una concentración inicial de 500 mg/l. Aquí se pueden observar más claramente las diferencias entre los primeros tres clorofenoles a una misma concentración. Como ya se discutió antes, el 2,4,6-triclorofenol, fue el tóxico más aceptado y mejor degradado por los microorganismos.

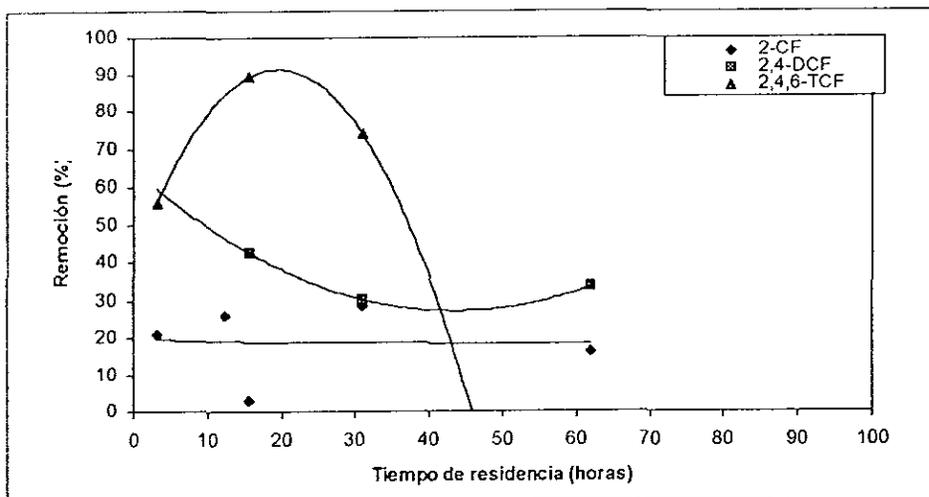


Figura 4.8.- Tiempo de residencia de 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol a 500 mg/l.

Se puede notar, que al tiempo de residencia de 15.5 horas, se presentó la mejor degradación del 2,4,6-triclorofenol. La degradación del 2,4-diclorofenol fue de casi de la mitad, y además se podría establecer teóricamente que, la degradación del 2-clorofenol puede ser cercana a la del 2,4-diclorofenol, ya que la tendencia de su comportamiento mostró ser casi lineal

Al comparar los comportamientos del 2,4-diclorofenol y del 2,4,6-triclorofenol, se observa que son casi contrarios, pero en el caso del primero es tan pronunciado cuando el tiempo de residencia fue de 15.5 horas. Cuando el tiempo de residencia fue menor a 15.5 horas, la degradación del 2,4-diclorofenol se vio favorecida mientras, la degradación del 2,4,6-triclorofenol no se vio favorecida. La degradación del 2-clorofenol, se podría considerar como la más baja, y se deduce que, la variación del tiempo de residencia para este último

no fue un factor relevante, aspecto que si fue claro con los otros dos clorofenoles primeramente comparados.

Debido a lo anterior, el 2,4,6-triclorofenol tuvo más aceptación por parte de los microorganismos, a las tres concentraciones a las que se alimentó, en comparación con el resto de los demás clorofenoles. Esto se puede apreciar muy bien en la figura 4.8, en donde se encuentran graficados los comportamientos de todos los clorofenoles alimentados a la columna

El simbolo del cuadro, representa al 2,4,6-triclorofenol alimentado a tres diferentes concentraciones, el rombo, representa al 2-clorofenol; el triángulo, representa al 2,4-diclorofenol, y el circulo, representa al pentaclorofenol

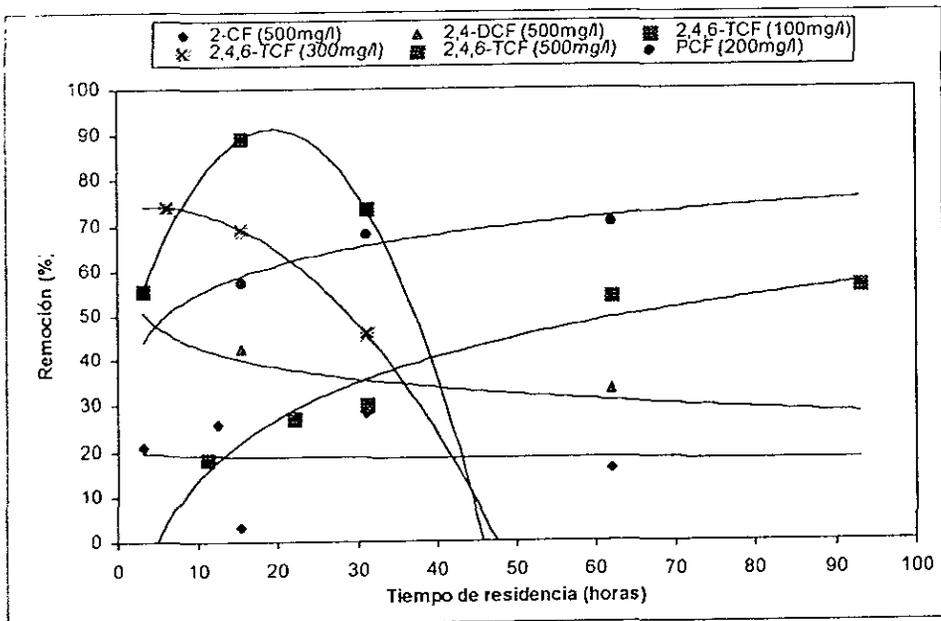


Figura 4.9.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de los clorofenoles individuales.

En esta figura, se observa como el tiempo de residencia de 15.5 horas, fue uno de los más empleados, sucediéndole los tiempos de residencia de 31.0 horas y 62.0 horas. Cuando se realizó la alimentación de los diferentes clorofenoles al tiempo de residencia de 15.5 horas, se observaron las mayores discrepancias entre las degradaciones de los mismos. El 2,4,6-triclorofenol fue uno de los que mostró un buen comportamiento y un buen porcentaje de degradación a las diferentes concentraciones a las que se alimentó.

El 2,4,6-triclorofenol mostró menos aceptación cuando fue alimentado a 300 mg/l y 500 mg/l, ya que la degradación disminuyó al aumentar el tiempo de residencia. Cuando se alimentó el 2,4,6-triclorofenol a la concentración de 100 mg/l, el comportamiento fue distinto al ir aumentando el tiempo de residencia, hubo también un aumento en la degradación del triclorofenol y la influencia de la temperatura no ocasionó los altibajos presentados en los casos del triclorofenol alimentado a la columna a 300 mg/l y 500 mg/l. En el caso de la concentración de 100 mg/l, la temperatura pudo haber influido de manera general la actividad de los microorganismos, la cual es menor a bajas concentraciones; además de ocasionar que sólo el tiempo de residencia tuviera más relevancia cuando la columna operó con el 2,4,6-triclorofenol a la concentración más baja.

Los puntos al tiempo de residencia de 62.0 horas, corresponden en forma descendente al 2,4,6-triclorofenol a 100 mg/l, pentaclorofenol a 200 mg/l, 2,4-diclorofenol a 500 mg/l y 2-clorofenol a 500 mg/l. Es bastante notable que tienden a una línea recta, es decir, a tener un comportamiento lineal. Como ya se comentó, el 2,4,6-triclorofenol fue el mejor degradado, seguido del pentaclorofenol. El 2,4,6-triclorofenol a 100 mg/l y el pentaclorofenol a 200

mg/l, alimentados a este tiempo de residencia fueron los únicos en mostrar una tendencia ascendente con respecto a la degradación, en comparación con los tiempos de residencia menores a 620 horas. La tendencia del 2,4-diclorofenol se puede considerar que fue descendente y luego ascendente, aunque de manera poco perceptible. Finalmente, del 2-clorofenol, podría decirse que su comportamiento es lineal, o casi lineal, debido a que, en los tiempos de residencia intermedios tuvo una pequeña tendencia a aumentar, pero después conforme este tiempo de residencia iba en aumento, la tendencia volvió a ser casi la inicial.

4.6 BIODEGRADACIÓN DE LA MEZCLA BINARIA

A partir de la etapa XXIII, se comenzó a alimentar a la columna empacada las mezclas de clorofenoles. Primeramente, se introdujo a la columna una mezcla binaria, compuesta por 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol a una concentración de 200 mg/l cada uno. Esta mezcla, con una concentración total de fenoles de 400 mg/l, se alimentó a dos tiempos de residencia diferentes: 155 horas y 310 horas. Durante estos tiempos de residencia, la degradación de esta mezcla fue casi la misma, es decir, no hubo influencia alguna del tiempo de residencia, ni tampoco por parte de la temperatura ambiente, ya que para ese entonces la temperatura en promedio ya oscilaba dentro de los mismos rangos, 17 °C - 18 °C.

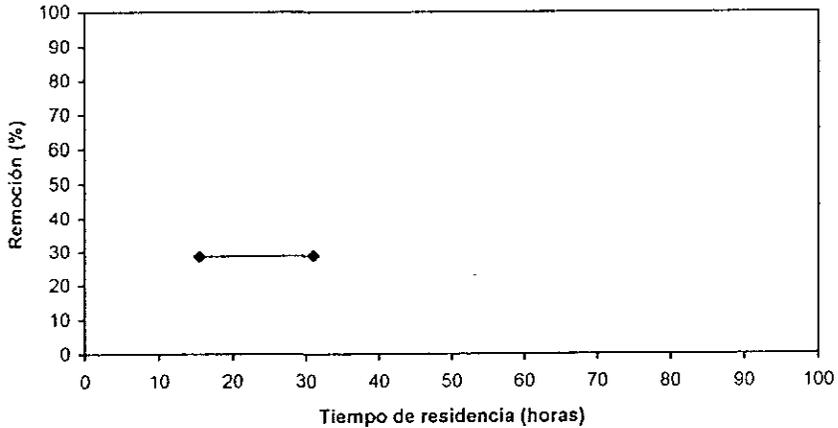


Figura 4.10.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de clorofenoles de la mezcla binaria a 400mg/l.

A partir de los resultados que se obtuvieron y se muestran en la figura 4.10, se decidió a no llevar a cabo la alimentación de la mezcla a un tiempo de residencia de 62.0 horas. Porque como la degradación durante 15.5 horas y 31.0 horas de tiempo de residencia, fue de 28.54 % y 28.90 %, no se consideró importante aumentar el tiempo de residencia.

Además, se puede decir que los microorganismos se comportan de manera distinta cuando reciben a los clorofenoles de forma individual o mezclados, como fue en este caso, la determinación de la concentración de las muestras de salida, se realizó conforme a lo ya descrito y citado del Standard Methods. Pudiera ser, que uno de ambos clorofenoles haya sido mejor degradado que el otro, pero por medio de este método, eso no puede determinarse, sólo se pudo determinar la concentración total de fenoles.

4.7 BIODEGRADACIÓN DE LA MEZCLA TERNARIA

Con esta mezcla, se operó bajo las mismas condiciones que con la binaria y, basándose en los resultados obtenidos, se decidió también alimentarla solamente con los mismos tiempos de residencia 15.5 horas y 31.0 horas. Esta mezcla se manejó a la misma concentración inicial, 400 mg/l, pero ahora añadiendo pentaclorofenol, quedando finalmente 133.33 mg/l de cada clorofenol en la mezcla

Durante la etapa con un tiempo de residencia de 15.5 horas, se obtuvo una remoción de la mezcla del 28.25 %, se podría decir que la misma que para la mezcla binaria al mismo tiempo de residencia. Cuando la alimentación fue llevada a cabo a 31.0 horas de tiempo de residencia, la degradación fue de 35.73 %, es decir, que para esta mezcla si hubo una influencia notable del tiempo de residencia sobre la remoción

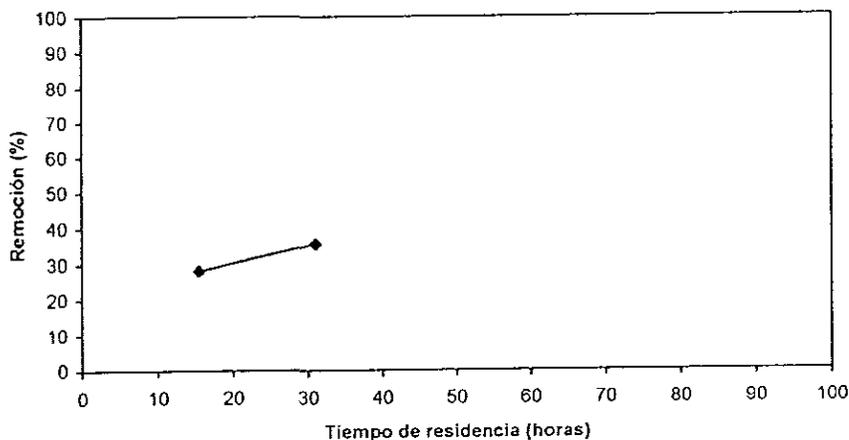


Figura 4.11.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de clorofenoles de la mezcla ternaria a 400 mg/l.

Aunque en este caso, también están graficados solamente dos puntos, se podría deducir que su comportamiento tiende a ser lineal y a no aumentar la degradación significativamente al aumentar el tiempo de residencia. Al igual que con la mezcla binaria, esta también fue pobremente degradada por los microorganismos, aunque mostrando una pequeña mejor aceptación por parte de los microorganismos durante las 310 horas de tiempo de residencia

4.8 BIODEGRADACIÓN DE LAS MEZCLAS CUATERNARIAS (ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES)

La introducción de las mezclas cuaternarias a la columna empacada se llevó a cabo a partir de la etapa XXVII, alimentando primeramente una mezcla cuaternaria con la misma concentración que las mezclas anteriores. El cuarto componente es el 2,3,4,6-tetraclorofenol, el cual fue seleccionado por los motivos descritos en el capítulo anterior. Cada uno de los clorofenoles utilizados en la mezcla ternaria más este último, estuvieron presentes en la mezcla a una concentración de 100 mg/l, dando un total de 400 mg/l de clorofenoles en la solución.

En la gráfica 4.12 se observa la remoción de COT de la mezcla en los tiempos de residencia de 15.5 horas, 310 horas y 62.0 horas. Este análisis de COT, se realizó en estas mezclas porque el método descrito para la determinación de fenoles por medio del reactivo de 4-aminoantipirina no fue apto como con los clorofenoles en forma individual y las mezclas binaria y ternaria

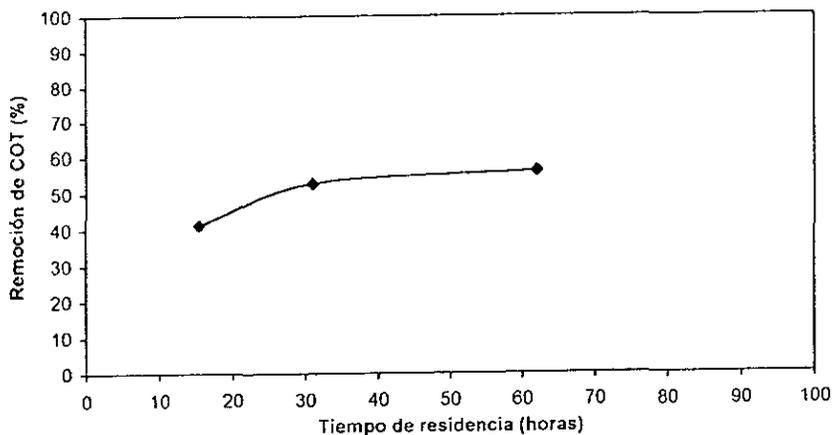


Figura 4.12.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de COT de la mezcla cuaternaria a 400 mg/l.

Como puede apreciarse en esta gráfica, el efecto del tiempo de residencia es notorio sobre todo, en el cambio de 15.5 horas a 31.0 horas del tiempo de residencia. Al aumentar dicho factor a 62.0 horas, es poco notable su efecto sobre la remoción de COT. La primera remoción fue de 41.3 %, la segunda de 52.8 %, y la tercera de 56.2 %.

Se habla de COT, porque como ya se explicó anteriormente, este tipo de microorganismos son capaces de mineralizar total o parcialmente los compuestos orgánicos que utiliza como fuente de carbono.

En la gráfica 4.13, están los resultados de la remoción de clorofenoles totales. Estos análisis fueron llevados a cabo por cromatografía de gases. Como puede notarse, al igual que en la gráfica anterior, hubo un efecto contrario pero apreciable por parte del tiempo de residencia sobre la remoción de los clorofenoles, ya que al aumentar el tiempo de residencia de 15.5

horas a 310 horas, se presentó una pequeña disminución de la actividad de los microorganismos. Al seguir aumentando este tiempo de residencia hasta 620 horas, apenas hubo un pequeño aumento de la actividad de degradación.

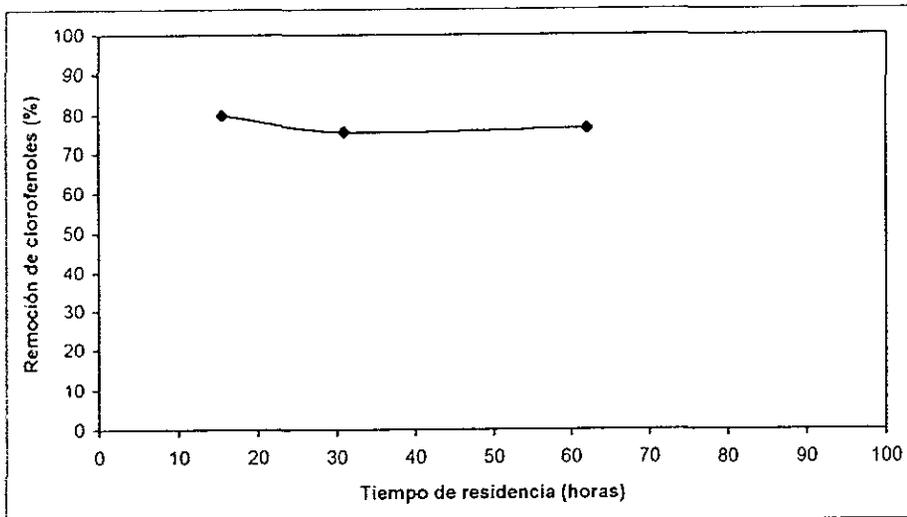


Figura 4.13.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de clorofenoles de la mezcla cuaternaria a 400 mg/l.

Para el caso de esta mezcla, las experiencias fueron llevadas a cabo de forma continua con respecto al tiempo de residencia, es decir, primeramente se comenzó con el tiempo de residencia más corto, 15.5 horas, y posteriormente a 31.0 horas y luego a 62.0 horas. Esta mezcla, en comparación con las mezclas binaria y ternaria, tuvo una mejor aceptación por parte de los microorganismos. Aunque estas tres últimas mezclas tenían la misma concentración total de clorofenoles, las *Pseudomonas* respondieron mejor al haber más componentes en la mezcla, es decir, de acuerdo a lo mencionado por Frobisher M, et al. (1975), las *Pseudomonas* utilizan compuestos orgánicos complejos como fuente de carbono.

En la siguiente gráfica, se muestran la cantidad de COT removida y los clorofenoles totales removidos. Si se observan bien ambas líneas, casi podría decirse que una es el inverso de la otra, comportamiento ya antes explicado.

Si se observa bien el primer punto, en donde el tiempo de residencia es de 15.5 horas, la remoción de clorofenoles totales fue casi el doble de la remoción de COT, es decir, a pesar de que los microorganismos consumieron casi el 80.0 % de los clorofenoles, solo la mitad de ellos fueron mineralizados.

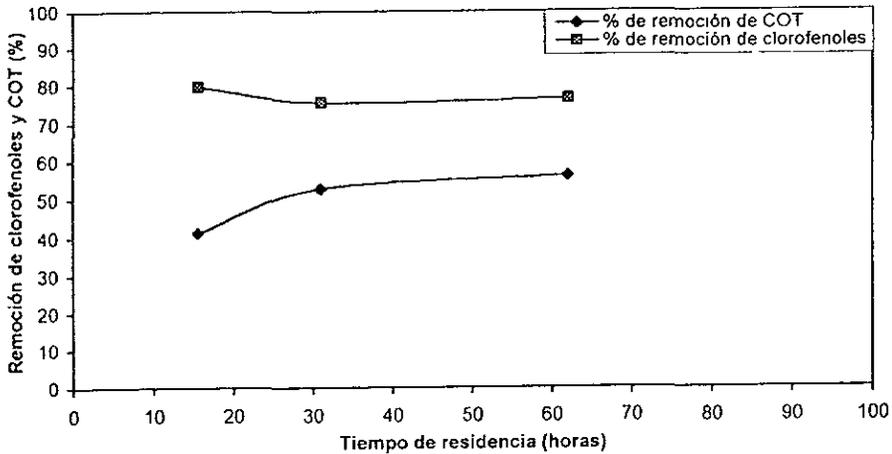


Figura 4.14.- Comparación entre las remociones de clorofenoles y de COT de la mezcla cuaternaria a 400 mg/l.

En el segundo punto, cuando el tiempo de residencia fue de 31.0 horas, la remoción de COT estuvo más cerca del punto de remoción de clorofenoles totales, esto quiere decir que los microorganismos consumieron un poco menos de clorofenoles, pero ahora la mineralización de estos últimos resultó ser mayor con respecto al caso anterior.

En el caso del tiempo de residencia de 620 horas (el tercer punto), se observa como casi no hubo cambios con respecto al punto anterior, el tiempo de residencia no influyó notablemente en las remociones de COT y clorofenoles

La degradación promedio de COT fue de 50.10 %, y la degradación de clorofenoles fue de 77.29 %, esto es, la degradación de clorofenoles fue 54.27 % mayor que la remoción de COT, concluyéndose que solamente el 64.82 % de los clorofenoles removidos fueron totalmente mineralizados.

En las etapas siguientes, se alimentó a la columna, la mezcla cuaternaria a una concentración total de 600 mg/l. La alimentación fue llevada a cabo bajo las mismas condiciones y a los mismos tiempos de residencia. En un principio se realizó la alimentación de esta mezcla a 31.0 horas, después en la etapa siguiente el tiempo de residencia se aumentó a 620 horas, y finalmente, la alimentación fue llevada a cabo a 15.5 horas de tiempo de residencia.

Igualmente, se realizaron los análisis de COT y de cromatografía de gases para así poder determinar el comportamiento de la mezcla introducida con respecto al tiempo de residencia y a la temperatura.

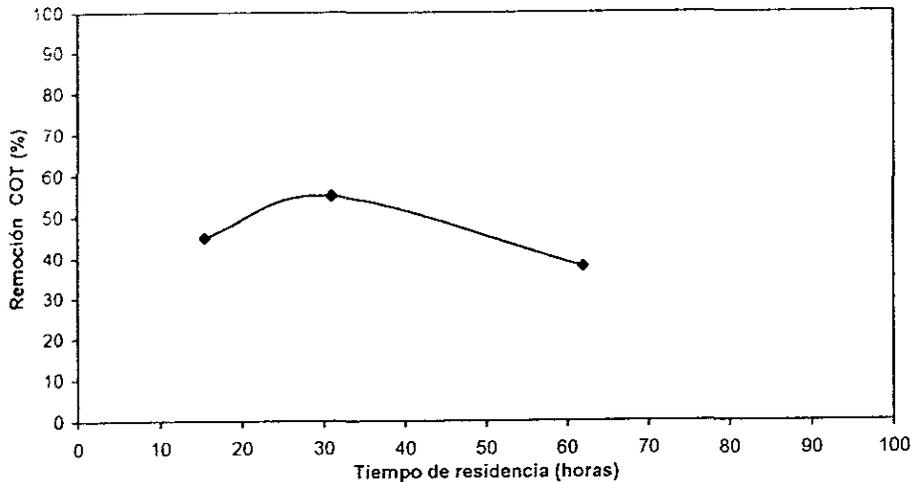


Figura 4.15.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de COT de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l.

En esta gráfica se muestra la remoción de COT de la mezcla a una concentración inicial de 600 mg/l. En el primer punto, la remoción de COT fue menor al 50 %, es decir, cuando el tiempo de residencia fue de 15.5 horas, la remoción fue del 45 %. En el segundo punto, al tiempo de residencia de 31.0 horas, esta remoción aumentó a un poco más del 50 %, es decir, el tiempo de residencia sí tuvo influencia positiva sobre mezcla con respecto a este parámetro, obteniéndose una remoción del 55.1 %. Por último, cuando el tiempo de residencia fue de 62.0 horas, el mayor de todos, es notable que la influencia de este aumento de tiempo de residencia fue negativa, ya que como puede apreciarse, la remoción de COT, fue de 37.9 %.

En la siguiente gráfica, está la línea que representa la remoción de los clorofenoles totales de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l. Se puede observar, que el comportamiento fue el

mismo que con la remoción de COT, pero en este caso, es notorio que la remoción de clorofenoles totales fue siempre mayor que la remoción de COT.

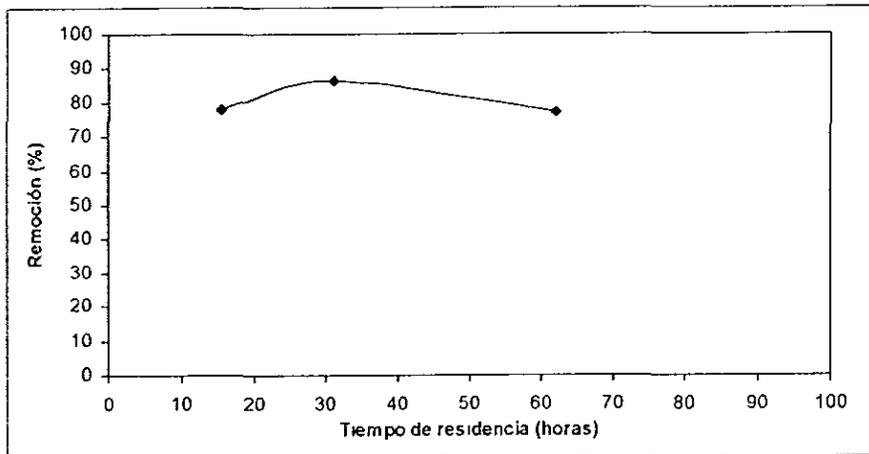


Figura 4.16.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de clorofenoles de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l.

Cuando el tiempo de residencia fue de 15.5 horas, la remoción fue del 78.01 %. Después, cuando el tiempo de residencia fue de 31.0 horas, la remoción aumentó hasta el 86.50 %, y finalmente, al ser de 62.0 horas el tiempo de residencia, la remoción decayó hasta 77.30 %. Para el caso de los clorofenoles totales las remociones estuvieron muy por encima del 50 %, aunque ambos parámetros tuvieron el mismo comportamiento.

En la gráfica siguiente, se puede apreciar muy bien como al tiempo de residencia de 31.0 horas, las remociones de clorofenoles totales y de COT alcanzaron su máximo valor; además puede deducirse que para el caso de esta mezcla, un tiempo de residencia corto y un tiempo de muy largo ocasionan que tanto la remoción de clorofenoles totales como la de

COT disminuyan sin haber una influencia significativa por parte de la temperatura ambiente

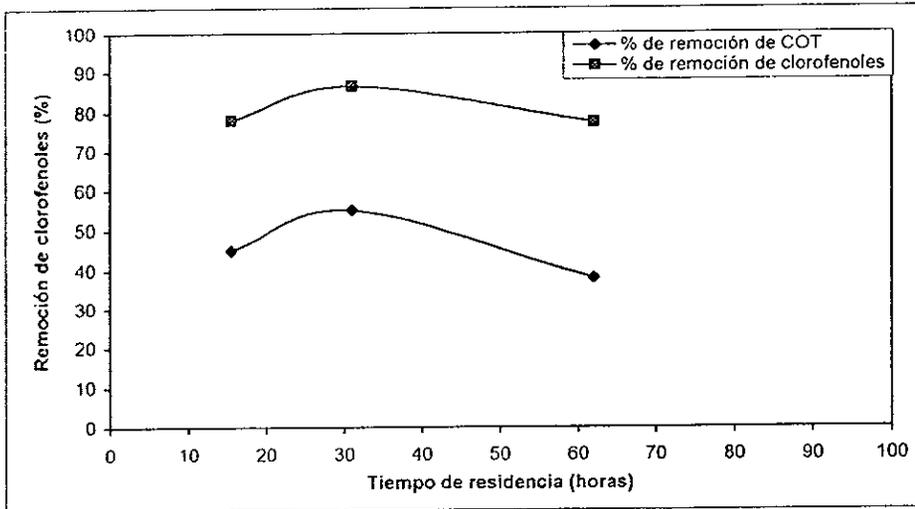


Figura 4.17.- Comparación entre las remociones de clorofenoles y COT de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l.

Además, es muy notorio como esta mezcla con una concentración 50 % mayor que la anterior fue mejor degradada por los microorganismos, es decir, estos últimos degradaron más cantidad de clorofenoles que en la mezcla anterior; la degradación promedio de COT fue de 46 %, y la de clorofenoles fue de 80.60 %. Se concluye que la degradación de clorofenoles totales fue un 75 % mayor que la degradación de COT, es decir, sólo el 57 % de los clorofenoles removidos fueron totalmente mineralizados.

Finalmente, en las tres últimas etapas de operación de la columna, se alimentó la mezcla cuaternaria a una concentración de 200 mg/l. Cuando esta mezcla fue alimentada a la columna, se inició primero con el tiempo de residencia menor, 15.5 horas; después la

operación fue llevada a cabo con el tiempo de residencia de 62.0 horas, y por último con el tiempo de residencia de 31.0 horas.

La gráfica 4.18 muestra la remoción de COT, que como puede verse, esta remoción estuvo por encima del 50 %.

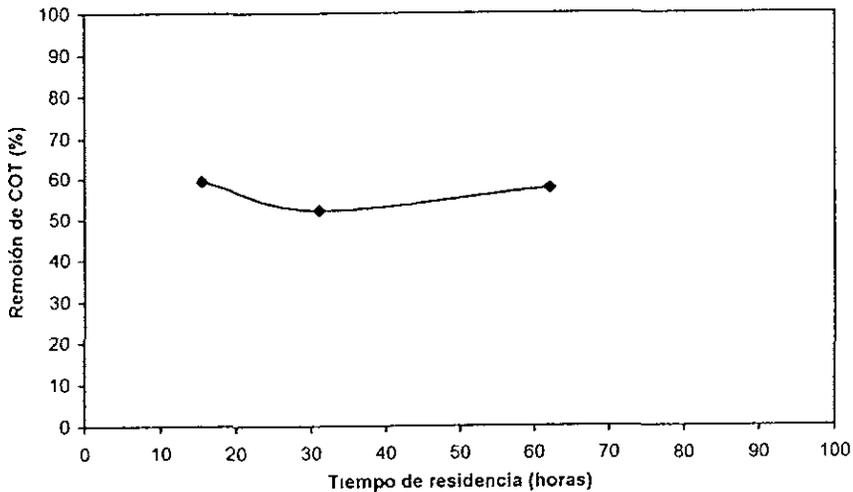


Figura 4.18.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de COT de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l.

La remoción de COT se vio favorecida cuando los tiempos de residencia fueron el más corto y el más largo, esto es, que a 15.5 horas y a 62.0 horas las remociones fueron 59.40 % y 57.70 %, respectivamente. Cuando ese tiempo de residencia fue de 31.0 horas la remoción fue de 52.3 %, un poco más baja que las antes mencionadas. En este caso es donde se presentó la remoción más alta de COT, un poco mayor que la remoción de las dos mezclas anteriores. Es significativo la influencia del tiempo de residencia sobre la remoción, aunque no marca una tendencia clara a disminuir o a aumentar.

En la gráfica 4.19, se presenta el comportamiento de la remoción de clorofenoles. Como puede apreciarse, durante su inicio, cuando el tiempo de residencia fue de 15.5 horas, la remoción resultó ser de 58.75 %, pero al ser aumentado el tiempo de residencia no se favoreció esta remoción, sino que ocasionó que disminuyera. La remoción de clorofenoles a la concentración más baja cuando los tiempos de residencia son largos, no alcanza el 50 %. A las 31.0 horas la remoción fue de 42.72% y a 62.0 horas del 43.27 %.

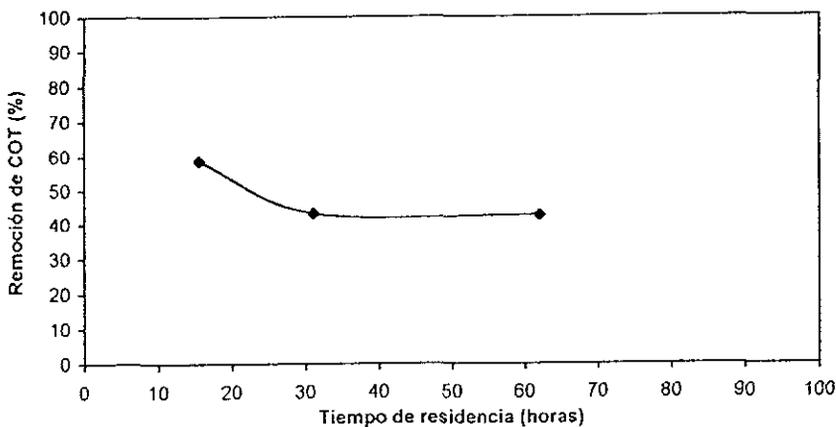


Figura 4.19.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de clorofenoles de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l.

Aquí se concluye, que el tiempo de residencia para una mezcla cuaternaria a una concentración relativamente baja, tiene un factor negativo sobre la remoción de los clorofenoles contenidos en la mezcla conforme dicho tiempo va en aumento.

En este caso el comportamiento de la remoción de clorofenoles no fue el mismo que el comportamiento de la remoción de COT, porque como se puede observar en la gráfica 4.20, la remoción de COT se podría considerar casi lineal.

También en la gráfica puede notarse como la mineralización total de los clorofenoles fue mayor que la remoción de los clorofenoles, la remoción promedio de COT resultó de 56.40 % mientras que la remoción promedio de clorofenoles fue de 48.25 %. Este comportamiento puede deberse a errores en las técnicas analíticas o bien a quizás a que cuando se obtienen los resultados no se toman en cuenta todos los decimales, es decir, puede ser un error de redondeo de los datos resultantes.

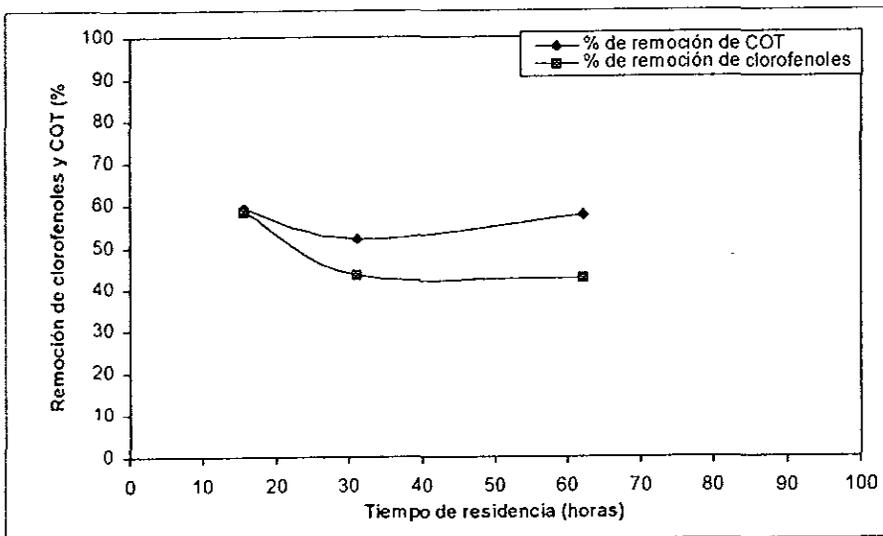


Figura 4.20.- Comparación entre las remociones de clorofenoles y de COT de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l.

Como puede apreciarse, esta gráfica presenta unos resultados imposibles, pero ya se explicó el motivo por el cual esta fue la gráfica resultante, sin embargo, apeándose a la realidad esta gráfica se podría presentar nuevamente como sigue

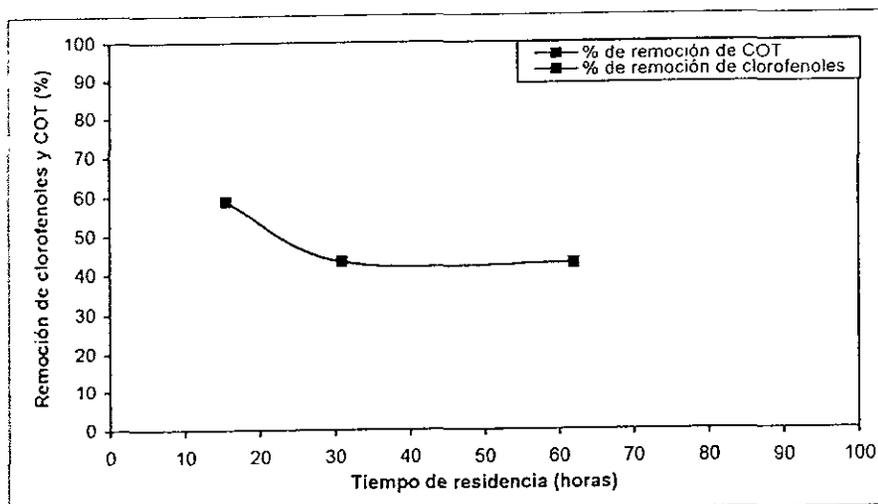


Figura 4.21.- Comparación entre las remociones de clorofenoles y de COT de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l.

Ahora si, se concluye aquí que toda la cantidad de clorofenoles removidos fueron totalmente mineralizados, por lo cual en la gráfica 4 21 sólo se aprecia una sola línea que representa tanto la remoción como la mineralización de los clorofenoles totales a una concentración inicial de 200 mg/l

4.9 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE BIODEGRADACIÓN DE LAS MEZCLAS A 400 mg/l

En la gráfica 4 22, se presentan nuevamente los resultados obtenidos de las tres primeras mezclas de clorofenoles alimentadas a la columna empacada. Dichas mezclas tienen la misma concentración (400 mg/l), por lo cual aquí se hace una comparación de la actividad de los microorganismos con respecto a las mezclas

Primeramente, se alimentó a la columna la mezcla binaria seguida de la operación de la columna con una mezcla ternaria, que es más compleja; ambas mezclas fueron alimentadas sólo durante dos etapas cada una, a los tiempos de residencia de 15.5 horas y 31.0 horas. Finalmente, dentro de este bloque, se operó la columna con una mezcla más compleja, una mezcla cuaternaria, a la misma concentración pero a los tres tiempos de residencia de 15.5 horas, 31.0 horas y 62.0 horas.

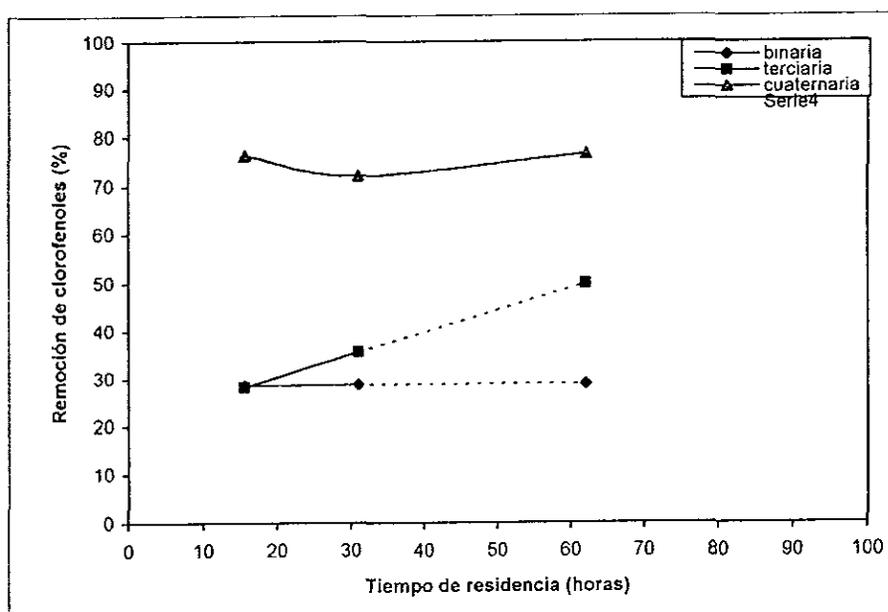


Figura 4.22.- Comparación del % de remoción de clorofenoles entre las mezclas: binaria-ternaria-cuaternaria a 400 mg/l.

Estas operaciones fueron llevadas a cabo de manera continua; la diferencia que hubo entre la mezcla cuaternaria y las dos anteriores es bastante significativa, ya que como puede apreciarse en la gráfica, la actividad de los microorganismos resultó ser muy alta con la mezcla más compleja; y con las mezclas binaria y terciaria esta actividad resultó ser casi la

misma, aunque solamente hayan sido alimentadas estas mezclas durante dos etapas. Si únicamente, se tomara en cuenta los dos primeros puntos (15.5 horas y 31.0 horas), la diferencia es mucho mayor. Por lo que la gráfica muestra, aunque la mezcla tenga la misma concentración, entre más compleja sea hay más actividad por parte de los microorganismos. Las diferencias entre las mezclas binaria y ternaria son menores, pero notorias.

Las líneas punteadas, que siguen a las líneas continuas de las mezclas binaria y terciaria, son una extrapolación de lo que podría haber resultado de haberse llevado a cabo la operación con estas mezclas al tiempo de residencia de 62.0 horas.

4.10 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA BIODEGRADACIÓN DE LAS MEZCLAS CUATERNARIAS

Se analizan primero los resultados obtenidos de las remociones de COT. Cuando fue alimentada a la columna empacada la mezcla cuaternaria de 200 mg/l, la mineralización fue equivalente a la cantidad de clorofenoles totales removidos, es decir, hubo una eficiencia de mineralización del 100 %. Si se observa bien la gráfica, a esta concentración fue donde se presentó la mayor remoción de COT en comparación con las otras dos mezclas. A las 15.5 horas de tiempo de residencia, es muy notorio una mayor remoción de COT de casi el 60 % de la mezcla a 200 mg/l que a concentraciones mayores. Cuando las concentraciones fueron de 400 mg/l y 600 mg/l, la remoción de COT fue casi la misma, un poco por arriba del 40 %. Cuando el tiempo de residencia fue de 31.0 horas, los valores de la remoción de COT para la mezcla cuaternaria a 200 mg/l, 400 mg/l y 600 mg/l, fueron casi idénticos, alrededor

del 54 %. Si los valores se analizan de forma individual y se obtiene un promedio de la remoción de COT para cada una de las diferentes concentraciones, a la menor concentración la remoción de COT fue de 56.40 %; a 400 mg/l la remoción de COT fue de 50.10 %, y a 600 mg/l esta remoción fue de 46 %.

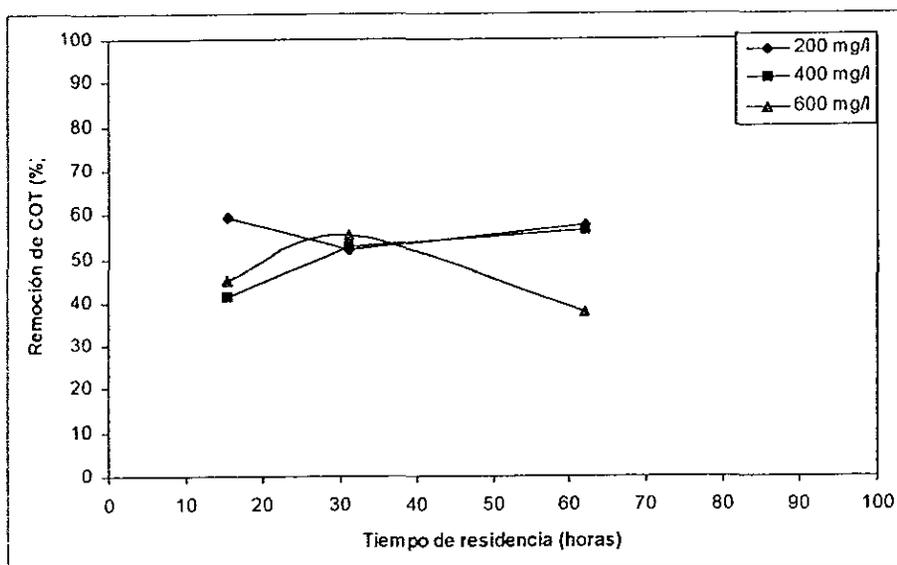


Figura 4.23.- Comparación del % de remoción de COT de las mezclas cuaternarias.

La eficiencia de remoción de COT fue más alta a la concentración más baja, y dicha eficiencia fue disminuyendo conforme se fue aumentando la concentración, es decir, la actividad de los microorganismos con respecto a la concentración mostró ser inversamente proporcional

En cuanto a las remociones de los clorofenoles totales de las tres diferentes concentraciones, como ya se discutió de forma individual, mostraron un comportamiento

diferente porque generalmente esta remoción fue mayor que la remoción de COT para estos mismos casos

Para las mezclas de concentraciones 400 mg/l y 600 mg/l, las remociones de clorofenoles totales estuvieron siempre alrededor del 80 %, y su comportamiento fue semejante; sobretodo, porque en el tiempo de residencia de 15.5 horas y en el de 62.0 horas, sus valores de remoción casi coinciden estando un poco por debajo del 80 %. Sólo en el punto donde el tiempo de residencia fue de 31.0 horas, estos valores no coinciden, para la concentración de 600 mg/l la remoción fue mayor al 80 %, mientras que para la concentración de 400 mg/l la remoción fue menor al 80 %

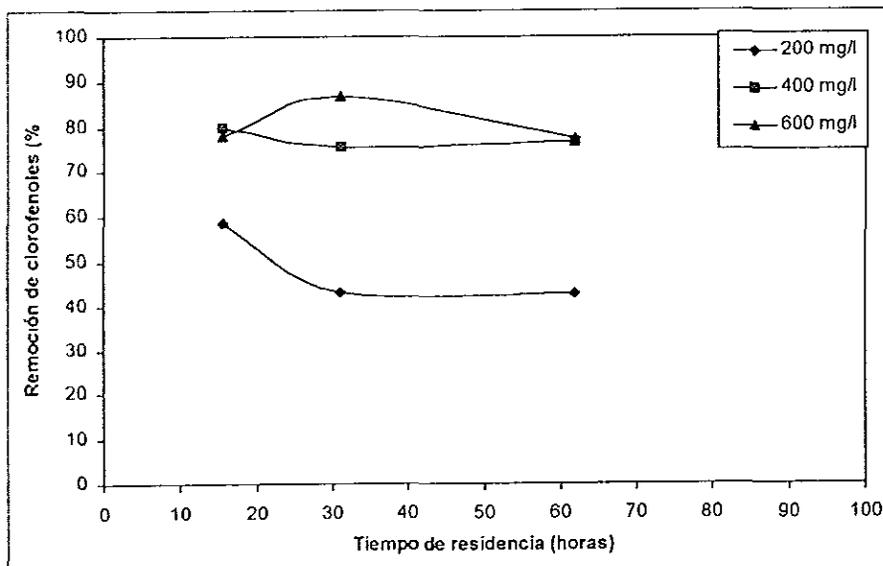


Figura 4.24.- Comparación de las remociones de los clorofenoles de las tres mezclas cuaternarias.

Con respecto a la concentración de la mezcla de 200 mg/l, los valores de la remoción de clorofenoles totales estuvieron en promedio alrededor del 41 %. Cuando el tiempo de residencia fue mayor a 15.5 horas, esta remoción estuvo apenas por encima del 40 %. En el caso del tiempo de residencia de 15.5 horas, esta remoción estuvo apenas por debajo del 60 %. Solo a este tiempo de residencia hubo una buena remoción de clorofenoles, pero aún así, menor a la remoción resultante de las concentraciones de 400 mg/l y 600 mg/l. En este tiempo de residencia es donde sólo hubo la menor diferencia, aproximadamente del 30 % entre la remoción de clorofenoles a una concentración inicial de 200 mg/l con respecto a cuando la concentración inicial fue el doble y el triple de ésta.

Cuando el tiempo de residencia se aumentó a 31.0 horas y a 62.0 horas, la diferencia entre los valores de la remoción de la mezcla a 200 mg/l, con respecto a las otras concentraciones fue mayor, con valores de remoción superiores en promedio al 80 %. De aquí que, como se ve en la gráfica, el comportamiento fuera opuesto al mostrado por los valores resultantes de la remoción de COT de estas mismas concentraciones.

De aquí se puede concluir que a mayor concentración, hay una mayor remoción de clorofenoles y una menor remoción de COT o una menor mineralización de los clorofenoles removidos. A una menor concentración (en este caso 200 mg/l), la remoción de clorofenoles es menor pero la remoción de COT, es decir, la mineralización de dichos clorofenoles es casi total.

Como ya fue mencionado, las etapas de la alimentación de las mezclas cuaternarias a la columna empacada, fueron más exitosas de lo esperado. Recapitulando, cuando la columna empacada fue alimentada con clorofenoles simples, hubo una mayor actividad por parte de los microorganismos contenidos en la columna con los dos clorofenoles más tóxicos el 2,4,6-triclorofenol y el pentaclorofenol. Cuando la columna fue alimentada con las mezclas cuaternarias que contenían a estos dos clorofenoles más 2,4-diclorofenol y 2,3,4,6-tetraclorofenol, la actividad de los microorganismos (sobretudo cuando la mezcla fue alimentada a las concentraciones iniciales de 400 mg/l y 600 mg/l), fue en algunos aspectos semejante a la actividad presentada durante la alimentación de 2,4,6-triclorofenol y pentaclorofenol solos

En las siguientes tablas y gráficas se muestran con detalle los resultados de la remoción de cada uno de los clorofenoles contenidos en la mezcla cuaternaria a sus tres diferentes concentraciones

A continuación se muestran los porcentajes de remoción de cada uno de los clorofenoles contenidos en la mezcla cuaternaria con una concentración inicial de 400 mg/l

Tabla 4.1

RESULTADOS DE REMOCIÓN DE LOS CLOROFENOLES CONTENIDOS EN LA MEZCLA CUATERNARIA DE 400 mg/l						
Conc. de clorofenoles totales (mg/l)	Tiempo de residencia (horas)	% de remoción 2,4-DCF	% de remoción 2,4,6-TCF	% de remoción 2,3,4,6-TeCF	% de remoción PCF	% de remoción mezcla
400	15.50	91.46	57.80	100.00	65.97	78.81
400	15.50	74.45	50.81	100.00	69.31	73.64
400	15.50	96.84	57.15	99.55	93.77	86.83
400	31.00	76.01	41.62	99.44	60.08	69.29
400	31.00	69.37	54.21	100.00	75.73	74.83
400	31.00	79.29	49.02	98.63	61.66	72.15
400	31.00	94.87	60.01	98.64	90.63	86.04
400	62.00	83.41	54.89	97.10	65.69	75.27
400	62.00	75.62	59.60	99.41	77.02	77.91
400	62.00	88.73	57.54	95.46	63.72	76.36

Las remociones en promedio presentadas por la mezcla cuaternaria a esta concentración oscilaron alrededor del 80 %, además aquí es bastante notoria la capacidad de degradación con el 2,4-diclorofenol de los microorganismos, ya que cuando el tiempo de residencia fue de 15.5 horas la remoción estuvo por arriba del 90 %, valor bastante diferente del obtenido cuando el mismo compuesto fue alimentado de manera individual a una concentración inicial de 500 mg/l (donde su remoción fue de 42.7 %).

El compuesto que resultó ser el menos degradado, fue el 2,4,6-triclorofenol. Este presentó una remoción opuesta a la esperada, ya que en general durante los tres tiempos de residencia la remoción obtenida osciló entre el 45 % y el 55 %, al ser alimentado de forma individual a tres diferentes concentraciones. Es posible, con base en los antecedentes, que como los mecanismos de degradación de cada uno de los clorofenoles no están completamente bien definidos, se presume que quizás el 2,3,4,6-tetraclorofenol y el

pentaclorofenol al ser degradados por las *Pseudomonas fluorescens*, hayan sido transformados en 2,4,6-triclorofenol y de ahí proceder a degradarlo hasta mineralización. Lo anterior se sustenta, porque como se observa en la tabla anterior, tanto el 2,3,4,6-tetraclorofenol como el pentaclorofenol fueron removidos en porcentajes muy superiores al 50 %, principalmente el 2,3,4,6-tetraclorofenol el cual llegó hasta ser degradado al 100 %.

Las *Pseudomonas fluorescens* tienen interesantes capacidades con los clorofenoles más tóxicos, y como en esta mezcla los más tóxicos son el 2,3,4,6-tetraclorofenol y el pentaclorofenol, se presume que estos clorofenoles fueron los primeros en ser atacados por los microorganismos, sobretodo el 2,3,4,6-tetraclorofenol.

A continuación, se presenta una tabla donde se resumen los datos presentados en la tabla anterior de los valores de remoción de los clorofenoles de modo individual

Tabla 4.2

RESULTADOS DE REMOCIÓN DE LOS CLOROFENOLES CONTENIDOS EN LA MEZCLA CUATERNARIA DE 400 mg/l (resumen)						
Conc. de clorofenoles totales (mg/l)	Tiempo de residencia (horas)	% de remoción 2,4-DCF	% de remoción 2,4,6-TCF	% de remoción 2,3,4,6-TeCF	% de remoción PCF	% de remoción mezcla
400	15.50	87.58	55.25	99.85	76.35	79.79
400	31.00	79.89	51.22	99.18	72.03	75.58
400	62.00	82.59	57.34	97.32	68.81	76.51

En la gráfica 4.25 se presentan los datos de esta tabla resumen. Como puede apreciarse en la gráfica, de manera general, la remoción de la mezcla y la de sus componentes mostró tener casi la misma tendencia con muy pocas variaciones. Se observa sobre todo, que las

líneas que representan el comportamiento del 2,4,6-triclorofenol y del 2,3,4,6-tetraclorofenol están un poco más separadas de la línea de la mezcla que las otras dos

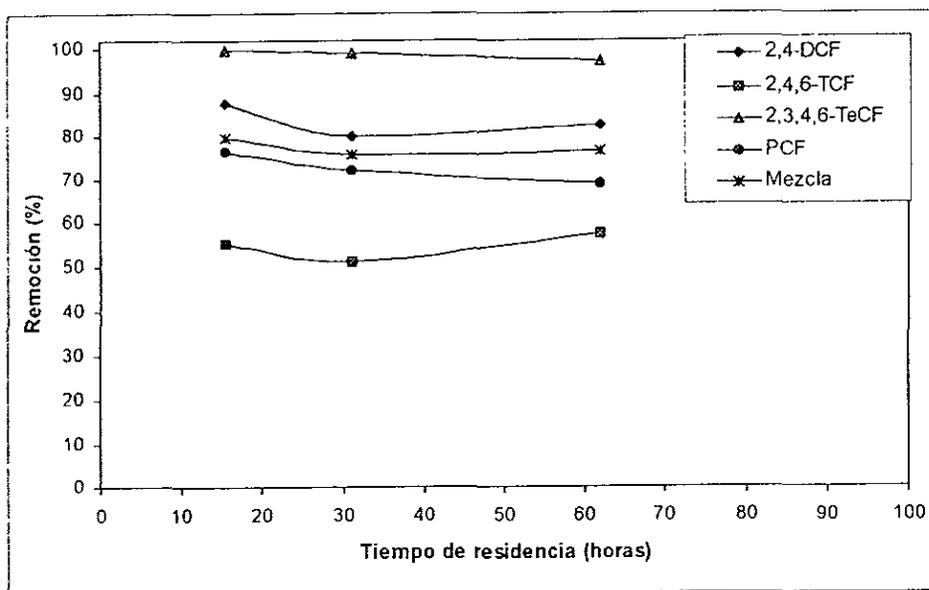


Figura 4.25.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de la mezcla cuaternaria a 400 mg/l y sus componentes de forma individual.

La línea que representa a la mezcla está situada en medio de las líneas que representan a cada uno de sus componentes. Como se aprecia, el 2,4,-diclorofenol y el 2,3,4,6-tetraclorofenol, tuvieron unas remociones muy altas y están por encima de la remoción global de la mezcla. La remoción del pentaclorofenol está apenas por debajo de la remoción de la mezcla, y la del 2,4,6-triclorofenol es la que se encuentra más separada y la más baja de la mezcla, o quizás una de las más altas si es que realmente la suposición hecha pudiera ser comprobada

En general la remoción de los clorofenoles componentes de la mezcla, excepto el triclorofenol, osciló entre 72 % y el 98 %. La remoción en promedio del 2,4,6-triclorofenol fue de alrededor de 54 %.

La tabla siguiente también muestra, los valores obtenidos de la remoción de cada uno de los clorofenoles contenidos en la mezcla, con una concentración inicial total de 600 mg/l, siendo de 150 mg/l para cada clorofenol

Empezando con el 2,4-diclorofenol, se observa que cuando el tiempo de residencia fue de 31 0 horas, las remociones fueron casi del 100 %, remociones mayores a las mostradas cuando este clorofenol estaba presente a una concentración individual de 100 mg/l.

Cuando el tiempo de residencia se aumentó a 62.0 horas, estas remociones fueron de alrededor del 80 %, valores similares a los resultantes de la concentración menor. Finalmente, cuando el tiempo de residencia fue de 15.5 horas, los valores de la remoción del 2,4-diclorofenol resultaron ser apenas un poco mayores a los del tiempo de residencia más largo pero menores de los del tiempo de residencia intermedio. En general, la remoción del 2,4-diclorofenol mejoró con respecto a la de la mezcla anterior, en donde la concentración del 2,4-diclorofenol era de 100 mg/l. Estos valores fueron también superiores comparados con los obtenidos de la alimentación de este clorofenol de forma individual.

Con respecto al 2,4,6-triclorofenol, a 31 0 horas de tiempo de residencia sus porcentajes de remoción resultaron ser más altos con respecto a los de la mezcla anterior, ya que estuvieron por encima del 55 % de forma clara. Cuando el tiempo de residencia fue de 62.0

horas, estas remociones ni siquiera fueron mayores al 50 %, valores similares a los obtenidos cuando el tiempo de residencia fue de 15.5 horas.

Es notorio que cuando los valores de las remociones del 2,4,6-triclorofenol son bajos, los valores de las remociones del 2,3,4,6-tetraclorofenol y los del pentaclorofenol son altos, esto es, al haber mayor remoción de estos dos últimos clorofenoles, la remoción del triclorofenol es menor, posiblemente debido a la suposición anteriormente hecha.

La remoción del 2,4-diclorofenol y del pentaclorofenol fue mayor con respecto a la mezcla anterior

La remoción del 2,3,4,6-tetraclorofenol mostró una pequeña tendencia a la baja, siendo en promedio del 95 %, pero aún así se mantuvo como la más alta de todos los clorofenoles.

Tabla 4.3

RESULTADOS DE REMOCIÓN DE LOS CLOROFENOLES CONTENIDOS EN LA MEZCLA CUATERNARIA DE 600 mg/l						
Conc. De clorofenoles totales (mg/l)	Tiempo de residencia (horas)	% de remoción 2,4-DCF	% de remoción 2,4,6-TCF	% de remoción 2,3,4,6-TeCF	% de remoción PCF	% de remoción mezcla
600	31.00	96.28	83.09	92.38	87.22	89.74
600	31.00	93.76	74.49	89.49	82.64	85.10
600	31.00	97.22	60.08	100.00	82.21	84.88
600	62.00	86.84	37.26	96.61	70.27	72.75
600	62.00	75.67	46.04	100.00	98.68	80.10
600	62.00	79.43	42.65	100.00	94.20	79.07
600	15.50	80.85	36.77	100.00	97.03	78.66
600	15.50	95.07	47.70	90.34	82.05	78.79
600	15.50	81.73	35.81	100.00	88.75	76.57

En la siguiente tabla, se presentan los mismos resultados de la tabla anterior de manera resumida, partiendo de esta tabla se elaboró la gráfica que más adelante se muestra.

Tabla 4.4

RESULTADOS DE REMOCIÓN DE LOS CLOROFENOLES CONTENIDOS EN LA MEZCLA CUATERNARIA DE 600 mg/l (resumen)						
Conc. De clorofenoles totales (mg/l)	Tiempo de residencia (horas)	% de remoción 2,4-DCF	% de remoción 2,4,6-TCF	% de remoción 2,3,4,6-TeCF	% de remoción PCF	% de remoción mezcla
600	15.50	85.88	40.09	96.78	89.28	78.01
600	31.00	95.75	72.55	93.96	84.02	86.50
600	62.00	80.65	41.98	98.87	87.72	77.30

En la gráfica 4 26, se presentan los datos de la tabla anterior; y se puede observar, como las líneas que representan al 2,3,4,6-tetraclorofenol y al pentaclorofenol, están en la parte más alta y que siguen la misma tendencia, mostrando muy altas remociones, sobre todo a los tiempos de residencia más corto y más largo. Cuando el tiempo de residencia fue de 31.0 horas, el punto correspondiente a los mismos clorofenoles está más bajo que los otros dos, y al tiempo de residencia pero de la línea del 2,4,6-triclorofenol es máximo, y de este mismo clorofenol en los otros dos tiempos de residencia son mínimos.

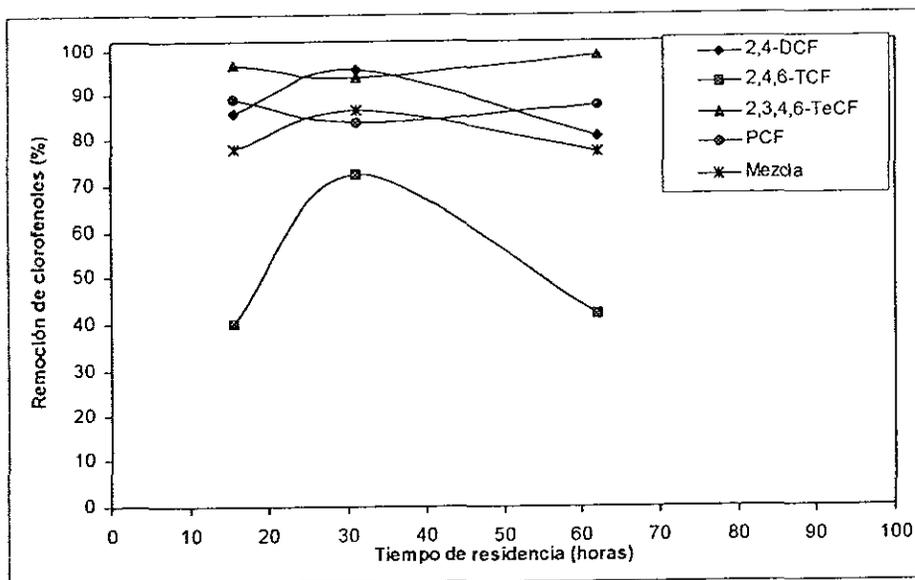


Figura 4.26.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de la mezcla cuaternaria a 600 mg/l y sus componentes de forma individual.

Las líneas que representan a la mezcla y al 2,4-diclorofenol muestran una misma tendencia, pero como puede apreciarse, su comportamiento es casi opuesto al mostrado por el 2,3,4,6-tetraclorofenol y el pentaclorofenol, presentándose su máximo cuando el tiempo de residencia fue de 31.0 horas, y sus mínimos durante los otros dos tiempos de residencia (15.5 horas y 62.0 horas). En general, la remoción de los clorofenoles componentes de la mezcla, exceptuando el 2,4,6-triclorofenol, osciló entre el 85 % y el 95 %

La línea que representa el comportamiento de la mezcla estuvo por debajo de las líneas de 2,4-diclorofenol, 2,3,4,6-tetraclorofenol y pentaclorofenol, debido a que la línea del 2,4,6-triclorofenol estuvo sobre todo en los puntos extremos por debajo de la línea de la mezcla

La remoción del 2,4,6-triclorofenol fue casi la misma que la de la mezcla anterior, sólo que en este caso varió más en su comportamiento

Finalmente, en la tabla 4.5 se presentan las remociones obtenidas de los componentes de la mezcla cuaternaria a una concentración total inicial de 200 mg/l, esto es, una concentración de 50 mg/l de cada uno de los clorofenoles contenidos en dicha mezcla.

Empezando con los valores del 2,4-diclorofenol a 15.5 horas de tiempo de residencia, estas remociones fueron las más bajas de las tres diferentes concentraciones de la mezcla cuaternaria; además en este tiempo de residencia, es donde se presentaron las remociones más altas para este componente a esta concentración. Cuando el tiempo de residencia fue de 31.0 horas y 62.0 horas estos valores disminuyeron todavía un poco comparándolos con los anteriores.

El que tuvo las peores remociones y en donde no hubo remoción alguna (sobre todo cuando el tiempo de residencia fue mayor a las 31.0 horas), fue el 2,4,6-triclorofenol. En esta mezcla estuvo presente a una concentración parcial de 50 mg/l, la más baja a la que se trabajó la mezcla cuaternaria. Claro que también aquí se podría suponer que las degradaciones de 2,3,4,6-tetraclorofenol y de pentaclorofenol produjeron también 2,4,6-triclorofenol, y los microorganismos lo dejaron a un lado dándole la preferencia al consumo de 2,4-diclorofenol, 2,3,4,6-tetraclorofenol y pentaclorofenol.

Las remociones de 2,3,4,6-tetraclorofenol continuaron siendo las más altas, aunque en este caso, resultaron ser las más bajas en comparación con las otras dos concentraciones, manteniéndose alrededor del 75 %

Las remociones presentadas por el pentaclorofenol también disminuyeron con respecto a las anteriores, pero se mantuvieron apenas un poco por encima del 50 %.

Tabla 4.5

RESULTADOS DE REMOCIÓN DE LOS CLOROFENOLES CONTENIDOS EN LA MEZCLA CUATERNARIA DE 200 mg/l						
Conc. De clorofenoles totales (mg/l)	Tiempo de residencia (horas)	% de remoción 2,4-DCF	% de remoción 2,4,6-TCF	% de remoción 2,3,4,6-TeCF	% de remoción PCF	% de remoción mezcla
200	15 50	54.73	28.93	88.07	70.47	60.55
200	15 50	59.15	15.91	68.25	54.91	49.55
200	15 50	69.88	32.76	71.34	60.61	58.65
200	62.00	66.84	11.87	58.45	46.24	45.85
200	62 00	47.51	2.87	70.30	56.72	44.35
200	62 00	46.72	0.00	62.11	42.98	37.95
200	31 00	42.27	0.00	73.39	52.98	42.16
200	31 00	46.45	0.00	67.71	43.15	39.33
200	31.00	51.29	3.26	68.48	48.57	42.90
200	31 00	72.01	19.08	56.12	47.56	48.69

A continuación se resumen los datos de la tabla anterior, ordenándolos conforme se aumentó el tiempo de residencia, partiendo de esta tabla se elaboró la gráfica 4.27.

Tabla 4.6

RESULTADOS DE REMOCIÓN DE LOS CLOROFENOLES CONTENIDOS EN LA MEZCLA CUATERNARIA DE 200 mg/l (resumen)						
Conc. De clorofenoles totales (mg/l)	Tiempo de residencia (horas)	% de remoción 2,4-DCF	% de remoción 2,4,6-TCF	% de remoción 2,3,4,6-TeCF	% de remoción PCF	% de remoción mezcla
200	15.50	61.25	35.87	75.89	62.00	58.75
200	31.00	53.01	5.59	66.43	48.07	43.27
200	62.00	53.69	4.91	63.62	48.65	42.72

En la gráfica 4.27 están esquematizados los datos presentados, en donde puede apreciarse como, conforme se aumentó el tiempo de residencia, las remociones de los clorofenoles en forma individual disminuyeron, ocasionando además, que también la línea que representa a la mezcla mostrara una fuerte disminución, fortaleciéndose debido a los bajos valores de remoción mostrados por el triclorofenol

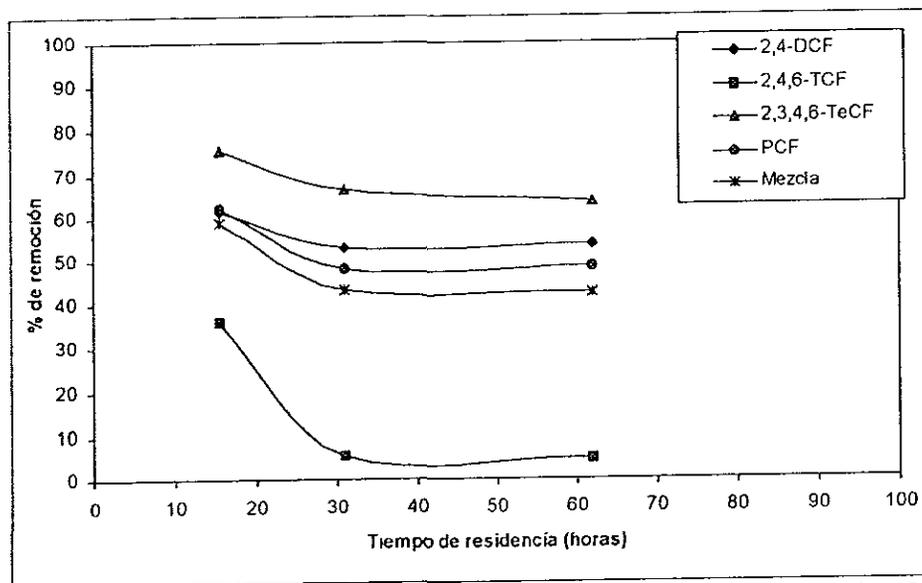


Figura 4.27.- Tiempo de residencia vs. % de remoción de la mezcla cuaternaria a 200 mg/l y de sus componentes de forma individual.

En general, las líneas que representan a los clorofenoles y a la mezcla muestran la misma tendencia a la baja, y en algunos casos no hubo cambio alguno después de las 31.0 horas de tiempo de residencia

Además, es bastante notable que cuando la mezcla cuaternaria fue alimentada a la concentración mínima, la actividad disminuyó, es decir. al alimentar una mezcla compleja a baja concentración las remociones fueron en general menores al 50 %, mientras que a concentraciones más altas (400 mg/l y 600 mg/l), dicha actividad resultó ser más alta.

En la tabla 4.6 se resumen los resultados de la operación de la columna empacada con la mezcla cuaternaria a las tres diferentes concentraciones, incluyendo la carga de microorganismos y la temperatura promedio durante esas etapas

Tabla 4.7

CARGA DE LOS MICROORGANISMOS Y SU ACTIVIDAD ANTE LAS MEZCLAS DE LOS CLOROFENOLES

Tiempo de residencia (horas)	Concentración de la mezcla (mg/l)	% remoción de COT	% remoción de clorofenoles	UFC/g de soporte	Temperatura promedio (°C)
15.5	400	41.29	79.79	2.77 E+05	19.0
31.0	400	52.84	75.58	1.95 E+05	18.5
62.0	400	56.23	76.51	1.95 E+05	17.5
15.5	600	45.00	78.01	2.68 E+05	20.0
31.0	600	55.13	86.57	2.68 E+05	18.0
62.0	600	37.90	77.30	2.68 E+05	19.2
15.5	200	59.46	58.75	2.97 E+05	21.0
31.0	200	52.13	43.27	2.97 E+05	17.0
62.0	200	57.67	42.72	2.97 E+05	17.5

Como puede apreciarse la tabla anterior, la cantidad de microorganismos presentes durante la alimentación de la columna por mezclas clorofenólicas, se mantuvo en promedio entre 2.00×10^5 UFC/g y 3.00×10^5 UFC/g de soporte, esto es, entre 200,000 y 300,000 unidades formadoras de colonias por gramo de soporte. La temperatura estuvo oscilando entre 17 °C y 21 °C, que como ya se discutió parece que con las mezclas no tuvo una influencia muy marcada. El factor que influyó más que ningún otro sobre la remoción e inherentemente sobre la actividad de los microorganismos fue la concentración del tóxico. Esta influencia fue sobre todo notoria en la mezcla cuaternaria, que fue alimentada a la columna a tres diferentes concentraciones.

Por otro lado, las mezclas de clorofenoles, entre más complejas fueran, mayor fue la actividad de los microorganismos. Esto estuvo claro al observar las comparaciones de las remociones entre las mezclas binaria, ternaria y cuaternaria. Sin embargo, no hay que olvidar que si la concentración se aumenta aún más, la actividad de los microorganismos se inhibe, ya que aunque presentaron degradaciones superiores a las reportadas en diversas publicaciones, igualmente tienen un límite, pero aún así se considera que su rendimiento fue excelente

CAPÍTULO 5
CONCLUSIONES

- 1 Se demostró que la bacteria *Pseudomonas fluorescens* es capaz de degradar clorofenoles, tanto simples, hasta una concentración de 500 mg/l, como mezclados, hasta una concentración máxima de 600 mg/l sin haber controlado la temperatura y tampoco sin haber seguido un patrón de operación de la columna.
- 2 Las *Pseudomonas fluorescens* si son capaces de llevar a cabo la degradación a temperatura ambiente, entre 18 °C y 20 °C, cuando en la literatura se menciona que idealmente trabajan a alrededor de 25 °C
- 3 La temperatura influye en la degradación de los clorofenoles simples, ya que a menor temperatura menor degradación y a mayor temperatura mayor degradación
- 4 La concentración también influye en la degradación de los clorofenoles mezclados, ya que a mayor concentración mayor degradación y a menor concentración menor degradación; sin embargo, no hay que olvidar que llega un momento que dicha degradación se inhibe debido al exceso de toxicidad
- 5 Se observó que los clorofenoles más tóxicos (2,3,6-triclorofenol y pentaclorofenol) fueron los mejor degradados de forma individual. Es decir, al ser alimentados cada uno por separado a concentraciones máximas de 500 mg/l y 200 mg/l, las *Pseudomonas fluorescens* realizaron una degradación superior al 80 %, que es cuando mucho un excelente trabajo de remoción, ya que Buitrón (1996) en Kuppusamy y Briones, editores (1996), reporta remociones inferiores utilizando un consorcio de bacterias, previamente aclimatadas Hay que hacer hincapié en que las *Pseudomonas* nunca

fueron aclimatadas en la columna empacada antes de ponerlas a trabajar degradando clorofenoles simples y mezclados

- 6 Los clorofenoles mezclados a altas concentraciones fueron mejor degradados que a bajas concentraciones
- 7 La degradación de los clorofenoles simples fue muy diferente de la degradación de los clorofenoles mezclados, porque como se discutió en el análisis de resultados, algunos clorofenoles, como el 2,4,6-triclorofenol, fueron mejor aceptados por los microorganismos cuando fueron alimentados de forma individual que cuando fueron alimentados en mezclas. Con otros clorofenoles el comportamiento fue totalmente inverso, como el 2,4-diclorofenol
- 8 La carga de microorganismos varió con respecto a la temperatura, a temperaturas frías, la carga disminuyó, a temperaturas calientes, la carga aumentó. Este hecho respondió a las características de los microorganismos reportadas en la literatura; resaltando el hecho de que en varias ocasiones la temperatura osciló hasta 9 °C abajo del límite inferior de temperatura ideal reportada para su desarrollo.
- 9 También conforme se alimentaron los clorofenoles a concentraciones más altas, influyó también en que la carga de microorganismos aumentara; esto debido a que a mayor fuente de carbono (el cual está contenido en los clorofenoles), significa que hay más alimento para el desarrollo y crecimiento de los microorganismos.

- 10 Se observó que no siempre el aumento del tiempo de residencia ayudó a mejorar la degradación de los clorofenoles, quizás a las influencias destacadas en algunos casos de la temperatura así como de la concentración alimentada a la columna
- 11 Se dispuso de Tezontle como material de empaque, el cual resultó ser excelente como soporte, así como de que se refuerza lo realizado en trabajos anteriores sobre él, barato, en abundancia sobre todo en México, y excelente soporte de microorganismos. Con esto se comprobó lo reportado en la literatura respecto a este material y, además, también se constató su durabilidad y resistencia durante todo el tiempo de operación de la columna, ya que no presentó erosión alguna.
- 12 Como se pudo observar durante el trabajo con 2,4,6-triclorofenol a tres diferentes concentraciones, en las etapas anteriores el 2,4,6-triclorofenol mostró una mayor degradación a una concentración de 500 mg/l con respecto a las otras, porque como cita la literatura, entre más átomos de cloro haya presentes en el anillo bencénico del fenol, mayor es la toxicidad del clorofenol, y al tener una mayor toxicidad, los microorganismos aumentan su actividad de degradación del tóxico, solamente con los clorofenoles y con un límite para evitar una inhibición de la degradación debido a la alta toxicidad del compuesto alimentado, como determinó Torres (1994) en sus experimentos con compuestos clorados.

13 El 2,4-diclorofenol solo, presentó una mejor degradación que en la mezcla binaria y terciaria, sin embargo, en las mezclas cuaternarias su remoción estuvo muy por encima de los resultados presentados al ser degradado individualmente. Al parecer en mezcla, al ser el más sencillo de los clorofenoles, haya sido el que se degradara más fácilmente.

14. De las etapas de operación de la columna empacada con mezclas de clorofenoles, se concluye, que la actividad de los microorganismos con respecto a los clorofenoles contenidos en dichas mezclas, es distinta a cuando los clorofenoles son alimentados de forma individual. Lo que sí es similar, es la respuesta de los microorganismos tanto a los clorofenoles individuales como a las mezclas: entre mayor sea la concentración, mayor es la actividad; y, entre mayor sea la toxicidad, también es mayor la actividad.

15. Por otro lado, las mezclas de clorofenoles, entre más complejas fueran, mayor fue la actividad de los microorganismos. Esto estuvo claro al observar las comparaciones de las remociones entre las mezclas binaria, ternaria y cuaternaria.

Por otro lado, a quien o quienes deseen darle continuidad a este trabajo, tomen en cuenta lo comentado anteriormente, y puedan darle además un escalamiento para poderlo emplear a nivel industrial en un futuro no muy lejano. Como se mencionó en el trabajo, el equipo utilizado no es nada caro ni complicado de manejar, por lo cual empleando equipo semejante y agregando lo necesario o lo que se crea conveniente pueda llegar a resultar en un excelente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- ☞ Adelberg, E A et al (1986) Microbiología. 4ª ed. Repla S. A México 566-577.
- ☞ Alexander, M , (1973) Biotechnology Report: Nonbiodegradable and other recalcitrant molecules. Biotechnology and Bioengineering 15, 611-647.
- ☞ APHA, AWWA, WEF (1992). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater American Public Health Association, 18th ed , U. S. A
- ☞ Arévila, A , et al (1996). Identificación de tóxicos prioritarios en México. Memorias del Congreso de la AIDIS, México D. F , noviembre de 1996.
- ☞ Bailey, J E (1980). Biochemical reaction engineering and biochemical reactors. Chemical Engineering Science. 35. 1854-1886
- ☞ Brock T D. y Madigan M. T. (1991) Microbiología. 6ª ed. Prentice Hall-Hispanoamericana. México. 317, 701-702
- ☞ Delaat, A N (1983). Microbiología 2ª ed. Interamericana. México. 80-89 y 163-165
- ☞ Fava F (1993) Aerobic mineralization of chlorobenzoates by a natural polychlorinated biphenyl-degrading mixed bacterial culture Applied Microbiology and Biotechnology 40. 541-548
- ☞ Fava, F , et al (1996) A bioreactor system for the mineralization of low-chlorinated biphenyls. Process Biochemistry, 31 (7) 659-667.
- ☞ Freeman, B. A (1989) Microbiología de Burrows Interamericana - McGraw-Hill, 22ª ed. México 617-619
- ☞ Frobisher, M et al (1975) Fundamentals of microbiology. Saunders Co. 9ª ed U.S A 467-470
- ☞ Hakulinenly y Salkinoja-Salonen M. (1981). An anaerobic fluidised bed reactor for the treatment of industrial waste-water containg chorophenols. 374-382.
- ☞ Howe R , (1969) Toxic wastes degradation and disposal. Process Biochemical 25-28 y 37
- ☞ Jiménez, B. et al (1995). Adaptación de un empaque de origen volcánico para su empleo en el tratamiento del agua. Informe interno. Instituto de Ingeniería, U.N A M. México
- ☞ Jiménez, B et al (1990) Denitrification in a fluidized bed system using low cost packing material Environmental Technology, 11: 409-420.

- ❏ Katzbauer, B et al (1995) Classification system for immobilization techniques. *Bioprocess Engineering*, 12 173-179
- ❏ Kuppusamy, I. y R. Briones, editores Biodegradación de compuestos orgánicos industriales. Ciclo de conferencias realizadas el 16 y 17 de marzo de 1996. Instituto de Ingeniería, U.N.A.M México.
- ❏ Lakhwala, F. y S. Sofer (1991) Design considerations for an immobilized cell bioreactor operating in a batch recirculation mode *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 52: 499-509
- ❏ Lee, C. M y M. S. Chuang (1994). Effects of immobilized cells on the biodegradation of chlorinated phenols *Water Science Technology*, 30 (9): 87-90.
- ❏ Messing R. y Oppermann R. (1979) Pore dimensions for accumulating biomass. Micobes that reproduce by fision or budding. *Bioengineering* 21 49-58.
- ❏ Puhakka, J. A. et al (1995) Fluidized bed biofilms for chlorophenol mineralization *Water Science Technology*, 31 (1): 227-235.
- ❏ Reineke W. (1984) Microbial degradation of halogenated aromatic compounds. *Microbial degradation of organic compounds*. Decker Inc. U.S.A. 319-360
- ❏ Ro, K. S. y Neething J. B. (1994). Biological fluidized beds containing widely different bioparticles *Journal of Environmental Engineering*, 120 (6) 1416-1426
- ❏ Rochkind-Dubinski, M. L. et al (1987) Microbiological decomposition of chlorinated aromatic compounds *Dekker Inc, U.S.A.* 95-107.
- ❏ Silva, E. y J. Campos (1996) Biological phenol degradation by immobilized-cells of *Pseudomonas putida* in a three-phase fluidized bioreactor. *Memorias del Congreso de la AIDIS, México D.F., noviembre de 1996.*
- ❏ Singh, V. P., editor Biotransformations Microbial degradation of health risk compounds *Series: Progress in Industrial Microbiology, vol 32, 130-131 The Netherlands 1995.*
- ❏ Slater H. y Somerville H. (1979) Microbial aspects of waste treatment with particular attention to the degradation of organic compounds. *Microbial Technology Cambridge University Press.* 221-261.
- ❏ Torres, L. G. et al (1996) Comparison among different packing materials and different ways of fixing biomass in attached systems used for removal of toxic substances. *En preparación*

- ☐ Torres, L G et al (1996) Phenol chlorophenol removal from wastewater in a tezontle biocatalyst Water Science Technology.
- ☐ Torres, L G (1994). Eliminación de fenoles y clorofenoles en agua por medio de microorganismos inmovilizados Biotecnología, 4 (2): 49-65
- ☐ Tseng, J M y C. P Huang (1991) Removal of chlorophenols from water by photocatalytic oxidation Water Science Technology, 23: 377-387.
- ☐ Tsuno, H et al (1996). Anaerobic degradation of pentachlorophenol in biological expanded-bed Memorias de la 18th International Association of Water Quality, Biennial International Conference and Exhibition, Singapur 23-28 de junio.
- ☐ Uotila, J (1993) Dehalogenases for polyhalogenated aromatic compounds in *Rhodococcus chlorophenolicus* PCP-1 and *Mycobacterium fortuitum* CG-2 Tesis Doctoral, Universidad de Helsinki, Finlandia.
- ☐ Walter, W et al (1980). Introducción a la microbiología. CECSA México. 76-89
- ☐ Westmeier, F y H J. Rehm (1985) Biodegradation of 4-chlorophenol by entrapped *Alcaligenes* sp. A 7-2 Microbiology and Biotechnology, 22: 301-305
- ☐ Westmeier, F y H J. Rehm (1987). Degradation of 4-chlorophenol in municipal wastewater by adsorptive immobilized *Alcaligenes* sp. A 7-2 Microbiology and Biotechnology, 26 78-83.

ANEXO

Tabla 1.- Características fisicoquímicas y sistemas biológicos reportados en la degradación del 2-clorofenol

COMPUESTO 2-CLOROFENOL

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS	
Peso molecular	128.56
Punto de fusión	9 °C
Punto de ebullición	174.9 °C
Presión de vapor a 82 °C	40 torr
Solubilidad en agua a 25 °C	28,500 mg/l
Coefficiente de partición log octanol/agua	2.15
Constante de la Ley de Henry a 25 °C	1.03×10^{-5} atm m ³ /mol

DATOS AMBIENTALES	REFERENCIA
Toxicidad sistémica crónica no carcinogénica	no disponible
Riesgo estimado para carcinogénesis	no disponible
Estándares/advertencias de salud en agua potable	no disponible
Criterio de calidad del agua	U.S.E.P.A. (1986)
Base de datos de toxicidad acuática	U.S.E.P.A. (1987)

Tabla 1.- (Continúa)

CONCENTRACIÓN DE 2-CLOROFENOL EN EL INFLUENTE, 0 - 100 µg/l

Tecnología	Matriz	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Escala	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
lodos activados	agua residual doméstica		industrial	2.7	80	Canviro Consultants, (1988)
lodos activados	agua residual doméstica		planta piloto	2.5	38	Keystone Environmental Resources, Inc
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 1.0	> 50	SCS Engineers, (1984)
carbón activado en polvo con lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 2.0	~ 87	SCS Engineers, (1984)

CONCENTRACIÓN DE 2-CLOROFENOL EN EL INFLUENTE 100 - 1000 µg/l

Tecnología	Matriz	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Escala	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 10.0	> 97.2	Thomas, L.M. et al. (1987)
lagunas aeradas	agua residual superfund		planta piloto	< 10.0	> 95.0	Stover, E.L., et al. (1984)
lodos activados	agua residual superfund		planta piloto	< 10.0	> 95.0	Stover, E.L., et al. (1984)
bioidoxos	agua residual superfund		planta piloto	< 10.0	> 95.0	Stover, E.L., et al. (1984)

CONCENTRACIÓN DE 2-CLOROFENOL EN EL INFLUENTE 1 - 10 mg/l

Tecnología	Matriz	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Escala	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
carbón activado en polvo con lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 18	> 98.40	Base de datos EPA
lagunas aeradas	agua residual superfund		planta piloto	< 10	> 99.07	Stover, E.L., et al. (1984)
lodos activados	agua residual superfund		planta piloto	< 10	> 99.07	Stover, E.L., et al. (1984)
bioidoxos	agua residual simétrica		planta piloto	1800	49.00	Tobuz, R.Y., (1988)

CONCENTRACIÓN DE 2-CLOROFENOL EN EL INFLUENTE, 10 - 100 µg/l

Tecnología	Matriz	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Escala	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
carbón activado en polvo con lodos activados	lignivado poligravon		laboratorio	< 50	> 99.840	Diemech, M.J. et al. (1988)
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 10	> 99.933	Thomas, L.M., et al. (1987)
carbón activado en polvo con lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	93	99.78	Thomas, L.M., et al. (1987)

Tabla 2.- Características fisicoquímicas y sistemas biológicos reportados en la degradación del 2,4-diclorofenol.

COMPUESTO: 2,4-DICLOROFENOL

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS	
Peso molecular	163
Punto de fusión	45 °C
Punto de ebullición	210 °C
Presión de vapor a 53 °C	1 torr
Solubilidad en agua a 25 °C	4,500 mg/l
Coefficiente de partición log octanol/agua	2.75
Constante de la Ley de Henry a 20 °C	2.8×10^{-6} atm m ³ /mol

DATOS AMBIENTALES	REFERENCIA
Toxicidad sistemática crónica no carcinogénica	U.S.E.P.A., IRIS
Riesgo estimado para carcinogénesis	no disponible
Estándares/advertencias de salud en agua potable	no disponible
Criterio de calidad del agua	U.S.E.P.A., IRIS
Base de datos de toxicidad acuática	U.S.E.P.A., (1987)

Tabla 2 - (Continúa)

CONCENTRACIÓN DE 2,4-DICLOROFENOL EN EL INFLUENTE: 0 - 100 µg/l

Procedimiento	Muestra	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Exposición	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
lodos activados	agua residual doméstica		industrial	12.0	34.0	Reporte de la USEPA, (1982)
lodos activados	agua residual doméstica		industrial	3.2	70.0	Carroll Consultants, (1985)
lodos activados + filtración	agua residual industrial	químicos y relacionados	doméstica	11.0	1.0	Base de datos, EPA
lodos activados	agua residual industrial	papel y relacionados	industrial	0.2	98.0	Amendola, G.A. y Whittemore R.C., (1984)
lodos activados	agua residual industrial	papel y relacionados	industrial	19.0		Amendola, G.A. y Whittemore R.C., (1984)
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 3.0	> 85.0	Kennah, T.M.
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 1.0	> 98.0	SCS Engineers, (1984)
lodos activados + lodos activados	agua residual industrial	papel y relacionados	industrial	0.8	78.0	Barton, D.A. y McKee, J.J., (1989)
carbón activado en polvo con lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	5.2	27.0	Leuenberg, C., et al., (1985)
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	3.0	91.4	SCS Engineers, (1984)

CONCENTRACIÓN DE 2,4-DICLOROFENOL EN EL INFLUENTE: 100 - 1000 µg/l

Procedimiento	Muestra	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Exposición	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
lodos activados	agua residual doméstica		planta piloto	65.0	71.0	Hannah, S.A., et al., (1986)
lodos activados	agua residual doméstica		planta piloto	13.0	22.0	Hannah, S.A., et al., (1986)
lodos activados	agua residual doméstica		planta piloto	12.0	89.0	Hannah, S.A., et al., (1986)
lodos activados	agua residual doméstica		industrial	300.0	51.0	Reporte de USEPA, (1982)
lodos activados	agua residual doméstica		planta piloto	1.0	99.6	Hannah, S.A., et al., (1986)
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	planta piloto	< 0.5	> 99.6	Keynote Environmental Resources Inc
sedimentación + lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 10.0	> 98.7	Thomas, L.M., et al., (1987)
lodos activados	agua residual sintética		industrial	< 17.0	> 96.5	base de datos, EPA
lodos activados	agua residual sintética		laboratorio	0.8	99.8	Wen, L.P., et al., (1982)

CONCENTRACIÓN DE 2,4-DICLOROFENOL EN EL INFLUENTE: 1 - 10 mg/l

Procedimiento	Muestra	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Exposición	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
lodos activados	agua sintética		industrial	130	95.80	base de datos, EPA
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 10	> 99.81	SCS Engineers, (1984)
carbón activado en polvo con lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	laboratorio	< 3	> 99.88	Kennah, T.M.
lodos activados	agua residual sintética		planta piloto	2.00	74.00	Tokoz, R.Y., (1988)

CONCENTRACIÓN DE 2,4-DICLOROFENOL EN EL INFLUENTE: 10 - 100 mg/l

Procedimiento	Muestra	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Exposición	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
carbón activado en polvo con lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 18.00	> 99.900	Thomas, L.M., et al., (1987)
lodos activados	agua residual sintética		laboratorio	3000.00	95.200	Chinnaman, D.F., et al., (1982)
lodos activados	agua residual sintética		planta piloto	340.00	99.570	García-Orozco, J.H., (1982)
lodos activados	agua residual sintética		laboratorio	0.15	99.810	Fuentes, H.R., (1982)
carbón activado en polvo con lodos activados	agua residual sintética		planta piloto	< 10.00	99.987	García-Orozco, J.H., (1982)

Tabla 3.- Características fisicoquímicas y sistemas biológicos reportados en la degradación de 2,4,6-triclorofenol.

COMPUESTO 2,4,6-TRICLOROFENOL

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS	
Peso molecular	197.45
Punto de fusión	69.5 °C
Punto de ebullición:	246 °C
Presión de vapor a 76.5 °C.	1 torr
Solubilidad en agua a 25 °C	800 mg/l
Coefficiente de partición log octanol/agua	3.69
Constante de la Ley de Henry a 25 °C	4.0×10^{-6} atm m ³ /mol

DATOS AMBIENTALES	REFERENCIA
Toxicidad sistémica crónica no carcinogénica	no disponible
Riesgo estimado para carcinogénesis	U.S.E.P.A., IRIS
Estándares/advertencias de salud en agua potable	no disponible
Criterio de calidad del agua	U.S.E.P.A., IRIS
Base de datos de toxicidad acuática	U.S.E.P.A., (1987)

Tabla 3. (Continúa)

CONCENTRACIÓN DE 2,4,6-TRICLOROFENOL EN EL INFLUENTE 0 - 100 µg/l

Tecnología	Muestra	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Escafo	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
lodos activados	agua residual doméstica		industrial	0.07	42.00	van Lam, A. P. y van Nieukenburg, W. (1983)
lodos activados	agua residual doméstica		industrial	0.64	60.00	van Lam, A. P. y van Nieukenburg, W. (1983)
lodos activados	agua residual doméstica		industrial	2.80	80.00	Cantero Consultants (1988)
lodos activados	agua residual industrial		planta piloto	1.00	79.40	Levenson Environmental Resources, Inc.
lodos activados	agua residual industrial	papel y relacionados	industrial	1.40	11.00	McKay, G., et al. (1983)
lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	2.00	40.00	SCS Engineers (1984)
lodos activados + lodos activados	agua residual industrial	papel y relacionados	industrial	2.00	40.00	Stevens, R. A. y Crawford, M. A. (1982)
			industrial	14.00	28.00	Leuenberg, C., et al., (1983)

CONCENTRACIÓN DE 2,4,6-TRICLOROFENOL EN EL INFLUENTE 100 - 1000 µg/l

Tecnología	Muestra	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Escafo	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
lodos activados	agua residual doméstica		industrial	12	89.9	Stevens, R. A. y Crawford, M. A., (1982)
sedimentación + lodos activados	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 10	> 91.3	Base de datos, EPA

CONCENTRACIÓN DE 2,4,6-TRICLOROFENOL EN EL INFLUENTE 1 - 10 mg/l

Tecnología	Muestra	Código de la Clasificación Industrial Estándar	Escafo	Concentración efluente (µg/l)	% de remoción	Referencia
bioprocesos	agua residual industrial	químicos y relacionados	industrial	< 10	> 92.03	Base de datos, EPA

Tabla 4.- Características fisicoquímicas y sistemas biológicos reportados en la degradación de pentaclorofenol.

COMPUESTO: *PENTACLOROFENOL*

PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS	
Peso molecular	266.34
Punto de fusión	191 °C
Punto de ebullición	309 °C
Presión de vapor a 20 °C	1.1×10^{-4} torr
Solubilidad en agua a 20 °C	14 mg/l
Coefficiente de partición log octanol/agua	5.01
Constante de la Ley de Henry	2.8×10^{-6} atm m ³ /mol

DATOS AMBIENTALES	REFERENCIA
Toxicidad sistémica crónica no carcinogénica	U.S.E.P.A., IRIS
Riesgo estimado para carcinogénesis	no disponible
Estándares/advertencias de salud en agua potable	U.S.E.P.A., (1987)
Criterio de calidad del agua	U.S.E.P.A., IRIS
Base de datos de toxicidad acuática	U.S.E.P.A., (1987)

Tabla 3 (Continúa)

CONCENTRACION DE PENTACIOLOROPENO EN EL INFLUENTE 100 - 1000 µg/l

Procedencia	Uso	Categoría de Clasificación Industrial	Usos	Concentración adhiérente (µg/l)	% de recuperación	Referencia
Agua servida	agua residual doméstica	planta piloto	20.00	76.00	Ureack, S.A., et al. (1986)
Agua servida	agua residual doméstica	planta piloto	57.00	37.00	Ureack, S.A., et al. (1986)
Agua servida	agua residual doméstica	planta piloto	< 6.30	> 17	Ureack, S.A., et al. (1983)
Agua servida	agua residual doméstica	planta piloto	3.00	96.40	Ureack, S.A., et al. (1986)
Agua servida	agua residual doméstica	industrial	0.19	61.00	van Linn, A.H. y van Stankenberg, W. (1983)
Agua servida	agua residual doméstica	planta piloto	20.00	60.00	Ureack, S.A., et al. (1983)
Agua servida	agua residual doméstica	industrial	0.41	39.00	van Linn, A.H. y van Stankenberg, W. (1983)
Agua servida	agua residual doméstica	industrial	0.67	15.00	van Linn, A.H. y van Stankenberg, W. (1983)
Agua servida	agua residual doméstica	industrial	0.65	14.00	van Linn, A.H. y van Stankenberg, W. (1983)
Agua servida	agua residual doméstica	industrial	3.70	71.00	Carrozo Consultants (1988)
Agua servida	agua residual doméstica	industrial	3.40	78.00	Carrozo Consultants (1988)
carban activado en polvo con	agua residual doméstica	planta piloto	< 1.00	> 96.40	Corneek, J.W. y Hsu, P.Y. (1981)
Agua servida	agua residual industrial	industrial	18.00	70.00	Stees, R.A. y Crawford, M.A. (1982)
Agua servida	agua residual industrial	industrial	59.00	0.00	Stees, R.A. y Crawford, M.A. (1982)
Agua servida - todos	agua residual industrial	industrial	1.40	26.00	Louweng, C. et al. (1985)
Agua servida	agua residual industrial	industrial	8.00	56.00	Stees, R.A. y Crawford, M.A. (1982)

CONCENTRACION DE PENTACIOLOROPENO EN EL INFLUENTE 100 - 1000 µg/l

Procedencia	Uso	Categoría de Clasificación Industrial	Usos	Concentración adhiérente (µg/l)	% de recuperación	Referencia
Agua servida	agua residual doméstica	laboratorio	1.00	99.66	Mason, H. y Bradford W.K. (1983)
Agua servida	agua residual industrial	laboratorio	14.00	89.00	Stees, R.A. y Crawford M.A. (1982)
carban activado en polvo con	agua residual doméstica	industrial	5.00	95.20	Stees, R.A. y Crawford, M.A. (1982)
Agua servida - todos	agua residual industrial	industrial	< 50.00	> 78.00	Base de datos I.P.A.
Agua servida	agua residual industrial	laboratorio	3.00	98.30	Mason, H. y Bradford W.K. (1983)
Agua servida	agua residual agua residual	planta piloto	1.00	> 98.00	Stees, R.A. y Crawford M.A. (1982)
Agua servida	agua residual agua residual	planta piloto	30.00	85.00	Stees, R.A. y Crawford M.A. (1982)
Agua servida	agua residual agua residual	planta piloto	90.00	75.00	Stees, R.A. y Crawford M.A. (1982)

CONCENTRACION DE PENTACIOLOROPENO EN EL INFLUENTE 1 - 10 µg/l

Procedencia	Uso	Categoría de Clasificación Industrial	Usos	Concentración adhiérente (µg/l)	% de recuperación	Referencia
Agua servida	agua residual doméstica	laboratorio	2	89.00	Mason, H. y Bradford W.K. (1983)
Agua servida	agua residual industrial	laboratorio	3600	57.00	Gojo P.I.M. et al. (1983)
Agua servida	agua residual agrícola	laboratorio	120	97.800	Stees, R.A. y Crawford M.A. (1982)
Agua servida	agua residual agrícola	planta piloto	1600	51.000	Ureack, S.A. (1988)

CONCENTRACION DE PENTACIOLOROPENO EN EL INFLUENTE 10 - 100 µg/l

Procedencia	Uso	Categoría de Clasificación Industrial	Usos	Concentración adhiérente (µg/l)	% de recuperación	Referencia
Agua servida	agua residual doméstica	laboratorio	68	98.600	Mason, H.P. et al. (1983)
Agua servida	agua residual doméstica	laboratorio	2	99.983	Mason, H. y Bradford W.K. (1983)
Agua servida	agua residual agrícola	laboratorio	5400	24.000	Ureack, S.A. (1988)

ANEXO 2

TABLA 1

CLASIFICACIÓN DE RESIDUOS PELIGROSOS POR GIRO INDUSTRIAL Y PROCESO

Nº DE GIRO	GIRO INDUSTRIAL Y PROCESO.	CLAVE CRETIB	RESIDUO PELIGROSO	Nº INE
7.	<i>MATERIALES PLASTICOS Y RESINAS SINTETICAS.</i>			
7.1	PRODUCCION DE FIBRA DE RAYON	(T,I)	FONDAJES DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONÓMEROS	RP7 1/01
		(T)	LODOS DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.	RP7 1/02
		(T)	LODOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LOS SISTEMAS DE LAVADO DE EMISIONES ATMOSFERICAS	RP7 1/03
7.2	PRODUCCION DE LATEX ESTIRENOBUTADIENO.	(T,I)	FONDAJES DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONÓMEROS.	RP7 2/01
		(T)	LODOS DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	RP7.2/02
		(T)	LODOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LOS SISTEMAS DE LAVADO DE EMISIONES ATMOSFERICAS.	RP7 2/03
7.3	PRODUCCION DE RESINAS ACRILONITRILLO BUTADIENO ESTIRENO	(T)	FONDAJES DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONÓMEROS	RP7 3/01
		(T)	LODOS DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	RP7 3/02
		(T,I)	LODOS DE AGUAS RESIDUALES DE LOS SISTEMAS DE LAVADO DE EMISIONES ATMOSFERICAS	RP7 3/03
		(T)	PIGMENTOS RESIDUALES.	RP7 3/04
	PRODUCCION DE RESINAS DERIVADAS DEL FENOL	(T,I)	FONDAJES DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONÓMEROS	RP7 4/01
		(T)	LODOS DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.	RP7.4/02
		(T)	LODOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LOS SISTEMAS DE LAVADO DE EMISIONES ATMOSFERICAS.	RP7 4/03
7.5	PRODUCCION DE RESINAS POLIÉSTER.	(T)	CATALIZADOR GASTADO	RP7.5/01
		(T,I)	FONDAJES DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONÓMEROS	RP7 5/02
		(T)	LODOS DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	RP7.5/03
		(T)	LODOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LOS SISTEMAS DE LAVADO DE EMISIONES ATMOSFERICAS.	RP7 5/04
		(T)	PIGMENTOS RESIDUALES	RP7 5/05
7.6	PRODUCCIÓN DE RESINAS DE POLIURETANO.	(T,I)	FONDAJES DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONÓMEROS	RP7 6/01
		(T)	LODOS DEL SISTEMA DE TRATAMIENTOS DE AGUAS RESIDUALES	RP7 6/02

		(T)	LODOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LOS SISTEMAS DE LAVADO DE EMISIONES ATMOSFERICAS	RP7 6/03
77	PRODUCCION DE RESINAS DE SILICON	(T,I)	FONDAJES DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONOMEROS	RP7 7/01
		(T)	LODOS DEL SISTEMA DE TRATAMIENTOS DE AGUAS RESIDUALES.	RP7 7/02
		(T)	LODOS DE LAS AGUAS RESIDUALES DE LOS SISTEMAS DE LAVADO DE EMISIONES ATMOSFERICAS.	RP7 7/03
		(T)	SOLVENTES GASTADOS	RP7.7/04
78	PRODUCCION DE RESINAS VINILICAS	(T,I)	FONDAJES DE TANQUES DE ALMACENAMIENTO DE MONOMEROS.	RP7 8/01
		(T)	LODOS DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.	RP7 8/02
12.	PLAGUICIDAS			
12.1	PRODUCCION DEL ACIDO ETILENO-BISDITIOCARBAMICO Y SUS SALES	(T)	AGUAS RESIDUALES DEL PROCESO (INCLUYENDO SOBRENADANTES, FILTRADOS Y AGUAS DE LAVADO)	RP12.1/01
		(C.T)	AGUAS DE LAVADO DEL VENTEO DEL REACTOR.	RP12.1/02
		(T)	SOLIDOS DE LA FILTRACION, EVAPORACION Y CENTRIFUGADO	RP12.1/03
		(T)	POLVOS RECOLECTADOS EN FILTROS DE BOLSA Y BARRIDO DEL PISO EN LAS OPERACIONES DE MOLIENDA Y EMBALAJE.	RP12 1/04
122	PRODUCCION DE ATRACINA.	(T)	RESIDUOS DE LA PRODUCCION.	RP12 2/01
123	PRODUCCION DE BROMURO DE METILO	(C,T)	AGUAS RESIDUALES DEL RECTOR Y ACIDO SULFURICO GASTADO DEL SECADOR DEL ACIDO.	RP12.3/0
		(T)	ABSORBENTES GASTADOS Y AGUAS RESIDUALES DEL SEPARADOR DE SOLIDOS.	RP12 3/01
124	PRODUCCION DE CLORDANO.	(T)	LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	RP12.4/0
		(T)	AGUAS RESIDUALES Y AGUAS DE LAVADO DE LA CLORACION DEL CICLOPENTADIENO	RP12.4/01
		(T)	SOLIDOS RETENIDOS EN LA FILTRACION DE HEXACLOROCICLOPENTADIENO	RP12 4/02
		(T)	RESIDUOS DEL LAVADOR AL VACIO DEL CLORADOR DE CLORDANO.	RP12.4/03
125	PRODUCCION DE CLOROTOLUENO.	(T)	RESIDUOS DE LA PRODUCCION	RP12 5/0
126	PRODUCCION DE CREOSOTA.	(T)	LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.	RP12.6/0
127	PRODUCCION DE 2,4-DICLOROFENOL	(T)	RESIDUOS DEL 2,4-DICLOROFENOL	RP12 7/0
		(T)	AGUAS RESIDUALES NO TRATADAS	RP12.7/01
128	PRODUCCION DE DISULFOTON	(T)	FONDOS DE DESTILACION EN LA RECUPERACION DE TOLUENO	RP12.8/0
		(T)	LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS	RP12.8/01

12 9	PRODUCCION DE FORATO	(T)	RESIDUALES. AGUAS RESIDUALES DEL LAVADO.	RP12 9/01
		(T)	SOLIDOS DE LA FILTRACION DEL ACIDO DIETILFOSFORODITHIOICO	RP12 9/02
		(T)	LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	RP12 9/03
12 10	PRODUCCION DE MALATION	(T)	RESIDUOS DE LA PRODUCCION	RP12 10/01
12 11	PRODUCCION DE METIL META ARSENIATO DE SODIO	(T)	SUBPRODUCTOS SALINOS.	RP12 11/01
12 12	Y ACIDO CACODILICO PRODUCCION DE PARATION Y METIL PARATION	(T)	RESIDUOS DE LA PRODUCCION.	RP12 12/01
12 13	PRODUCCION DE TOXAFENO	(T)	LODOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES.	RP12 13/01
		(T)	AGUAS RESIDUALES NO TRATADAS DEL PROCESO	RP12 13/02

13 **PRESERVACION DE LA MADERA.**

	PRODUCCION EN GENERAL	(T)	LODOS SEDIMENTADOS DEL TRATAMIENTO DE AGUAS EN PROCESOS QUE UTILIZAN GRESOTA. CLOROFENOL PENTACLOROFENOL Y ARSENICALES	RP13 1/01
		(T)	RESIDUOS DEL PROCESO DE CLORACION EN LA PRODUCCION DE PRESERVATIVOS PARA MADERA	RP13 1/02
		(T)	RESIDUOS DE PROCESOS QUE CONTENGAN SUBSTANCIAS TOXICAS AL AMBIENTE	RP15 3/02

17. **QUIMICA ORGANICA**

17 1	PRODUCCION DE ACETALDEHIDO A PARTIR DEL ETILENO	(T)	FONDOS DE LA ETAPA DE DESTILACION.	RP17 1/01
		(T)	CORTES LATERALES EN LA ETAPA DE DESTILACION.	RP17.1/02
17 2	PRODUCCION DE ANHIDRIDO FTALICO A PARTIR DEL NAFTALENO.	(T)	PRODUCTOS TERMINALES LIGEROS DE LA DESTILACION.	RP17.2/01
		(T)	FONDOS DE LA DESTILACION.	RP17 2/02
17 3	PRODUCCION DE ANHIDRIDO FTALICO A PARTIR DE ORTOXILENO	(T)	PRODUCTOS TERMINALES LIGEROS DE LA ETAPA DE DESTILACION.	RP17.3/01
		(T)	FONDOS DE LA ETAPA DE DESTILACION.	RP17.3/02
17 4	PRODUCCION DE ANHIDRIDO MALEICO.	(T)	RESIDUOS DE LA PRODUCCION.	RP17 4/01
17 5	PRODUCCION DE ANILINA	(T)	FONDOS DE DESTILACION.	RP17 5/01
		(T)	RESIDUOS DEL PROCESO DE EXTRACCION DEL PRODUCTO	RP17 5/02
17 6	PRODUCCION DE CLOROBENCENOS	(T)	FONDOS DE DESTILACION O DE LA COLUMNA FRACCIONADORA	RP17 6/01
		(T)	CORRIENTES ACUOSAS DE LA ETAPA DEL	RP17.6/02

			LAVADO DEL REACTOR DE PRODUCTO	
17 7	PRODUCCION DE CLORURO DE BENCILO.	(T)	FONDOS DE LA ETAPA DE DESTILACION.	RP17.7/0
17 8	PRODUCCION DEL CLORURO DE ETILO.	(T)	FONDOS PESADOS DE LA COLUMNA FRACCIONADORA	RP17.8/0
	PRODUCCION DE DIBROMURO DE ETILENO	(T)	AGUAS RESIDUALES DEL LAVADOR DE GASES DEL VENTEO DEL REACTOR	RP17.9/0
17 9	VIA BROMACION DEL ETENO.	(T)	ABSORBENTES SOLIDOS GASTADOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION DEL PRODUCTO.	RP17.9/0
		(T)	FONDOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION DEL PRODUCTO.	RP17 9/0
17 10	PRODUCCION DEL DICLOROETILENO	(T)	FONDOS PESADOS DE LA ETAPA DE DESTILACION.	RP17.10/0
17 11	PRODUCCION DE DISOCIANATO DE TOLUENO	(R,T)	RESIDUOS DE CENTRIFUGACION Y DESTILACION	RP17.11/0
17 12	PRODUCCION DE DIISOCIANATO DE TOLUENO VIA FOSGENACION DE LA TOLUENDIAMINA.	(T)	CONDENSADOS ORGANICOS DE LA COLUMNA DE RECUPERACION DE SOLVENTES	RP17.12/0
17 13	PRODUCCION DE 1,1-DIMETILHIDRACINA (DDAH)A PARTIR DE HIDRAZINAS DE ACIDO CARBOXILICO.	(C,T)	FONDOS DE LA TORRE DE SEPARACION DE PRODUCTOS	RP17.13/0
		(T,1)	CABEZAS CONDENSADAS DE LA COLUMNA DE SEPARACION DE PRODUCTO Y GASES CONDENSADOS DEL VENTEO DEL REACTOR	RP17.13/0
		(T)	CARTUCHOS DE LOS FILTROS AGOTADOS DE LA PURIFICACION DEL PRODUCTO.	RP17.13/0
		(T)	CABEZAS CONDENSADAS DE LA COLUMNA DE SEPARACION DE INTERMEDIOS	RP17.13/0
17 14	PRODUCCION DE DINITROTOLUENO VIA NITRACION DE TOLUENO.	(C,T)	AGUAS DE LAVADO DEL PRODUCTO	RP17.14/0
17 15	PRODUCCION DE EPICLORHIDRINA	(T)	FONDOS PESADOS DE LA COLUMNA DE PURIFICACION.	RP17.15/0
17 16	PRODUCCION DE ANOL/ACETONA A PARTIR DEL CUMENO	(T)	FONDOS PESADOS (BREA) DE LA ETAPA DE DESTILACION	RP17.16/0
17 17	PRODUCCION DE FLUOROMETANOS	(T)	RESIDUO DE CATALIZADOR AGOTADO DE ANTIMONIO EN SOLUCION ACUOSA	RP17.17/0
17 18	PRODUCCION DE ETIL METIL PIRIDINA	(T)	RESIDUOS DE LAS TORRES DE LAVADO DE GASES.	RP17 18/0
17 19	PRODUCCION DE NITROBENCENO/ ANILINA.	(T)	CORRIENTES COMBINADAS DE AGUAS RESIDUALES	17 19/0
17 20	PRODUCCION DE NITROBENCENO MEDIANTE LA NITRACION DEL BENCENO	(T)	FONDOS DE LA DESTILACION.	17.20/0
		(T)	SUBPRODUCTOS Y RESIDUOS DEL REACTOR EN LA PRODUCCION DEL NITROBENCENO	17 20/0
17 21	PRODUCCION DE	(T)	FONDOS PESADOS O PRODUCTOS	RP17 21/0

17 22	TETRACLORURO CARBONO. PRODUCCION TOLUENDIAMINA HIDROGENACION DINITROTOLUENO	DE	RESIDUALES DE LA ETAPA DE DESTILACION	
		DE VIA DE	(T) AGUA DE REACCION (SUBPRODUCTO) DE LA COLUMNA DE SECADO	RP17 22/01
			(T) PRODUCTOS LIQUIDOS TERMINALES LIGEROS CONDENSADOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION DEL PRODUCTO	RP17.22/02
17 23	PRODUCCION DE 1,1,1-TRICLOROETANO		(T) VECINALES DE LA ETAPA DE PURIFICACION DEL PRODUCTO.	RP17 22/03
			(T) FONDOS PESADOS DE LA ETAPA DE PURIFICACION DEL PRODUCTO	RP17 22/04
			(T) CATALIZADORES AGOTADOS DEL REACTOR DE HIDROCLORACION.	RP17 23/0
			(T) RESIDUOS DEL LAVADOR DE PRODUCTO.	RP17.23/0
			(T) FONDOS DE LA ETAPA DE DESTILACION.	RP17.23/0
17 24	PRODUCCION COMBINADA DE TRICLOROETILENO Y PERCLOROETILENO.		(T) FONDOS PESADOS DE LA COLUMNA DE PESADOS	RP17.23/0
			(T) FONDOS O RESIDUOS PESADOS DE LAS TORRES.	RP17 24/0

TABLA 2

CLASIFICACIÓN DE RESIDUOS POR FUENTE NO ESPECÍFICA

Nº DE FUENTE	CLAVE CRETIB	RESIDUO PELIGROSO	Nº INE
1		FUENTES DIVERSAS Y NO ESPECIFICAS.	
1 1	NO	(T) ENVASES Y TAMBOS VACIOS USADOS EN EL MANEJO DE MATERIALES Y RESIDUOS PELIGROSOS.	RPNE1.1/01
		(T) LODOS DE DESECHO DEL TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS RESIDUALES QUE CONTENGA CUALQUIER SUBSTANCIA TOXICA AL AMBIENTE EN CONCENTRACIONES MAYORES A LOS LIMITES SEÑALADOS EN EL ARTICULO 5 5 DE ESTA NORMA.	RPNE1.1/02
		(T,I) ACEITES LUBRICANTES GASTADOS.	RPNE1 1/03
		(T) RESIDUOS DE BIFENILOS POLICLORADOS O DE CUALQUIER OTRO MATERIAL QUE LOS CONTENGA EN CONCENTRACION MAYOR DE 50 PPM.	RPNE1.1/04
		(T) RESIDUOS DE EL MANEJO DE LA FIBRA	RPNE1.1/05

N° DE
FUENTE

CLAVE
CRETIB

RESIDUO PELIGROSO

N° INE

DE ASBESTO PURO, INCLUYENDO POLVO, FIBRAS Y PRODUCTOS FACILMENTE DESMENUZABLES CON LA PRESION DE LA MANO (TODOS LOS RESIDUOS QUE CONTENGAN ASBESTO EL CUAL NO ESTE SUMERGIDO O FIJO EN UN AGLUTINANTE NATURAL O ARTIFICIAL).

- (T) TODAS LAS BOLSAS QUE HAYAN TENIDO CONTACTO CON LA FIBRA DE ASBESTO, ASI COMO LOS MATERIALES FILTRANTES PROVENIENTES DE LOS EQUIPOS DE CONTROL COMO SON: LOS FILTROS, MANGAS, RESPIRADORES PERSONALES Y OTROS, QUE NO HAYAN RECIBIDO UN TRATAMIENTO PARA ATRAPAR LA FIBRA EN UN AGLUTINANTE NATURAL O ARTIFICIAL. RPNE1 1/06
- (T) TODOS LOS RESIDUOS PROVENIENTES DE LOS PROCESOS DE MANUFACTURA CUYA MATERIA PRIMA SEA EL ASBESTO Y LA FIBRA SE ENCUENTRE EN FORMA LIBRE, POLVO O FACILMENTE DESMENUZABLE CON LA PRESION DE LA MANO. RPNE1 1/07
- (T) LOS SIGUIENTES SOLVENTES HALOGENADOS GASTADOS EN OPERACIONES DE DESENGRASADO. TETRACLOROETILENO, TRICLOROETILENO, CLORURO DE METILENO, 1,1,1-TRICLOROETANO, TETRACLORURO DE CARBONO, FLUOROCARBONOS CLORADOS Y LOS SEDIMENTOS O COLAS DE LA RECUPERACION DE ESTOS SOLVENTES Y MEZCLAS DE SOLVENTES GASTADOS. RPNE1.1/08
- (T) LOS SIGUIENTES SOLVENTES HALOGENADOS GASTADOS USADOS EN OTRAS OPERACIONES QUE NO SEA EL DESENGRASADO. TETRACLOROETILENO, CLORURO DE METILENO, TRICLOROETILENO, 1,1,1-TRICLOROETANO, CLOROBENCENO, 1,1,2-TRICLORO-1,2,2-TRIFLUORETANO, O-DICLOROBENCENO, TRICLOROFLUOROMETANO Y 1,1,2-TRICLOROETANO; Y LOS SEDIMENTOS O COLAS DE LA RECUPERACION DE ESTOS SOLVENTES Y MEZCLAS DE SOLVENTES RPNE1 1/09

Nº DE
FUENTE

CLAVE
CRETIB

RESIDUO PELIGROSO

Nº INE

- GASTADOS.
- (T.I) LOS SIGUIENTES SOLVENTES GASTADOS NO HALOGENADOS: XILENO, ACETONA, ACETATO DE ETILO, ETILBENCENO, ETER ETILICO, ISOBUTIL METIL CETONA, ALCOHOL N-BUTILICO, CICLOHEXANONA Y METANOL Y LOS SEDIMENTOS O COLAS DE LA RECUPERACION DE ESTOS SOLVENTES Y MEZCLAS DE SOLVENTES GASTADOS RPNE1.1/10
- (I.T) LOS SIGUIENTES SOLVENTES GASTADOS NO HALOGENADOS: TOLUENO, ETIL METIL CETONA, DISULFURO DE CARBONO, ISOBUTANOL, PIRIDINA, BENCENO, 2-ETOXIETANOL, 2-NITROPROPANO Y LOS SEDIMENTOS DE LA RECUPERACION DE ESTOS SOLVENTES Y MEZCLAS DE SOLVENTES GASTADOS. RPNE1.1/11
- (E.T) LOS SIGUIENTES SOLVENTES GASTADOS NO HALOGENADOS CRESOLES, ACIDO CRESILICO, NITROBENCENO Y LOS SEDIMENTOS DE LA RECUPERACION DE ESTOS SOLVENTES Y MEZCLAS DE SOLVENTES GASTADOS RPNE1.1/12
- (T) RESIDUOS DEL TRI-TETRA- O PENTACLOROFENOL PROVENIENTES DE SU PRODUCCION O DE SU USO COMO REACTANTE, PRODUCTO INTERMEDIO O COMPONENTE DE UNA FORMULACION RPNE1.1/13
- (T) RESIDUOS DE TETRA-PENTA-, O HEXACLOROBENCENO PROVENIENTES DE SU USO COMO REACTANTE, PRODUCTO INTERMEDIO O COMPONENTE DE UNA FORMULACION, BAJO CONDICIONES ALCALINAS RPNE1.1/14

TABLA 3

CARACTERÍSTICAS DEL LIXIVIADO (PECT) QUE HACEN PELIGROSO
A UN RESIDUO POR SU TOXICIDAD AL AMBIENTE

Nº DE INE.	CONSTITUYENTES ORGÁNICOS	CONCENTRACIÓN MÁXIMA PERMITIDA (mg/l)
C O 01	ACRILONITRILO	5.0
C O 02	CLORDANO	0.03
C O 03	o-CRESOL	200 0
C O 04	m-CRESOL	200.0
C O 05	p-CRESOL	200 0
C.0 06	ACIDO 2,4-DICLOROFENOXIACETICO	10.0
C 0 07	2,4-DINITROTOLUENO	0.13
C 0.08	ENDRIN	0.02
C.0 09	HEPTACLORO (Y SU EPÓXIDO)	0 008
C O 010	HEXACLOROETANO	3.0
C 0 011	LINDANO	0.4
C 0 012	METOXICLORO	10 0
C 0.013	NITROBENCENO	2.0
C.0014	PENTACLOROFENOL	100.0
C.0015	2,3,6-TRICLOROFENOL	1.0
C 0.016	TOXAFENO (CANFENOCOLORADO TECNICO)	0 5
C.0.017	2,4,5-TRICLOROFENOL	400.0
C.0018	2,4,6-TRICLOROFENOL	1.0
C.0.019	ACIDO 2,4,5-TRICLORO FENOXIPROPIONICO (SILVEX)	1.0