



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN TÉCNICA DE SOPORTES GRANULARES
EN UN REACTOR BIOLÓGICO FLUIDIZADO DE LECHO
MÓVIL PARA DEGRADAR COMPUESTOS FENÓLICOS.**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA

LÓPEZ AGUIRRE FLOR ESPERANZA



MÉXICO, D.F.

2010



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.



JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Néstor Noé López Castillo
VOCAL: María Rafaela Gutiérrez Lara
SECRETARIO: Landy Irene Ramírez Burgos
1er. SUPLENTE: Rolando Salvador García Gómez
2do. SUPLENTE: Sergio Adrián García González

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 301, Edificio E, Facultad de Química, Ciudad Universitaria.

ASESOR DEL TEMA:

M. I. María Rafaela
Gutiérrez Lara.

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en I. Sergio Adrián
García González

SUSTENTANTE:

Flor Esperanza
López Aguirre



AGRADECIMIENTOS.

A la UNAM y en especial a la Facultad de Química por haberme abierto sus puertas durante todo este tiempo.

A la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA) PAPIIT IN106009-2 D ELA Universidad Nacional Autónoma de México por el apoyo económico brindado.

A la M.I. Ma. Rafaela Gutiérrez Lara, por haberme brindado su apoyo para la realización de este trabajo, que con la ayuda de Sergio González llegó a su fin, pues ellos fueron piezas importantes para que este trabajo llegara a su fin.

Al Dr. Alfonso Durán por haberme apoyado en la realización de la investigación.

A la bióloga Nora Salinas, por su apoyo en la realización del trabajo.

A todos los profesores, maestros y doctores que me dieron clase a lo largo de mi estancia en la Facultad de Química.

A la familia Aguirre Muñoz, por haberme brindado su apoyo a lo largo de todo este tiempo.

A mis compañeros del laboratorio 303 y todos mis compañeros de la carrera de ingeniería química, por todos los buenos momentos que llegamos a compartir.



DEDICATORIAS.

A mi abuelo Alfonso Aguirre Arévalo, que en este momento está en un lugar mejor, a él va dedicada con un especial cariño. Por todas las vacaciones que vivimos juntos, por ser simplemente como era mi abuelo. Te extraño.

A mi abuela Esperanza Muñoz López, por ser la mujer que es. Por todos tus sabios consejos, por todos esos refranes que nos has enseñado, por habernos heredado ese carácter tan fuerte que caracteriza a esta familia.

A mí madre, por ser la mejor en todos los aspectos, por haberme sacado adelante, porque simplemente lo que soy nunca lo hubiera logrado sin tu apoyo, sin tus consejos, sin tu cariño, sin tu comprensión, por todos los sacrificios que has hecho por darnos una vida mejor a mi hermano y a mí. Por todas las enseñanzas que he aprendido a tu lado, por ser ese ejemplo a seguir, por haberme dado el regalo más hermoso del mundo: la vida, porque sabías que no iba a ser fácil y aún así no te importó. Por todo lo anterior y más te doy las gracias. En serio no sabes cuánto te quiero mami.

A mí tío Luis, por darme su apoyo incondicional, por ser la persona que es con toda la familia, por que al igual que mi madre, son los pilares de mi vida. Por habernos tendido la mano cuando la necesitamos, por tus sabios consejos, porque nunca podre agradecerte todo lo que has hecho por nosotros.

A mí tía Geny, por haberme ayudado en más de una ocasión en mis tareas tanto de matemáticas como de física. Por haberme dado esos consejos, paciencia, cariño y por todas esas pláticas que hemos tenido a lo largo de todo este tiempo, con las cuales he aprendido mucho acerca de la vida.

A mi madrina Aracely, porque de pequeña me brindó su apoyo y su comprensión. Porque en cada momento importante de mi vida siempre has estado ahí. Por haber sido parte de la época más feliz de mi vida, la infancia.

A mi hermano Beto, por haberme aguantado en todos mis momentos de stress, por haberme dado todos esos consejos, que hasta este momento aun me funcionan, por que en los momentos que sentía que iba a caer, siempre estuviste ahí para brindarme una sonrisa, una palabra, un abrazo. Te quiero muchísimo hermanito.

A mis primos Ulises, Héctor, Pepe, Chely, Diana E., Diana K., Elizabeth, Rebeca, Luisito, por todos los momentos que hemos vivido juntos, por todas las anécdotas que tenemos para contar, por todos y cada uno de sus consejos, por las peleas, por las risas, por todo, son lo máximo primos.



Pao, Gaby, Romy, Angy, por todos sus consejos, porque ya son al menos 10 años juntas, porque desde siempre han estado a mi lado. Aunque que por nuestras vidas ocupadas ya no nos frecuentamos como antes, se que siempre estarán ahí tanto en las buenas como en las malas, y lo mismos les digo. Por haberme brindado su apoyo, por tan larga y buena amistad. Las quiero mucho nenas.

A Viry, Diana, Arthur, Dany, Alex, Pepe Toño, porque siempre han sido unas excelentes personas conmigo. Diana y Viry, son unas niñas magnificas, lo digo en todo la extensión de la palabra, nunca olvidare aquellos momentos en el lagartijero juntas. Arthur, Dany, Alex, Pepe Toño son la mera onda, con ustedes nunca me podre aburrir.

A Doris, Aline, David y Gab, por haberme apoyado en esos momentos en los que más los necesite. Doris ya son 5 años de amistad, ¿te das cuenta?, con infinidad de anécdotas que contar, risas, llanto, dolor, pero al fin y al cabo juntas para apoyarnos, te quiero mucho nena. Aline, por ser la niña que eres, alegre, directa, por apoyarme y ser tan buena amiga. David, por todos los momentos que hemos pasado juntos, porque eres un ser que vale su peso en oro. A Gab, por ser una niña bien linda, por haberme ayudado a lo largo de la realización de este trabajo, por que en poco tiempo has llegado a ser una muy buena amiga.

A Jair y a Carlos, porque siempre estuvieron cuando estuve en problemas e a lo largo de la carrera. Jair, ¿cuántas cosas no vivimos juntos?, te agradezco por ser de las pocas personas que me comprendieron en aquellos momentos de dolor y desesperación, por ser simplemente el buen amigo que eres. Carlos, por todo el relajo que echamos juntos a lo largo de la carrera, por tu amistad, por darme al mano en momentos difíciles. A ambos por haberme enseñado a bailar jeje.

A Marco, porque en estos meses has sido una persona que me ayudado en muchos aspectos aunque tú no lo creas. Por apoyarme en las decisiones que he tomado y por esos consejos que aunque no me gusten se que son muy ciertos.



RESUMEN.

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar el funcionamiento de un sistema de tratamiento biológico del tipo, Reactor Biológico de Lecho Móvil¹ (RBLM) utilizando, soportes granulares de piedra pómez, para el tratamiento de aguas residuales sintéticas conteniendo compuestos fenólicos como contaminantes modelo.

Se llevó a cabo la aclimatación del soporte en el reactor biológico discontinuo, RBD por un periodo de 2 meses. El reactor fue sometido a diferentes condiciones de operación para lo cual se monitorearon los diferentes parámetros, tales como: Carbono Orgánico Disuelto (COD), Demanda Química de Oxígeno (DQO), y fenoles totales. Con base a las condiciones establecidas en el reactor tales, como Tiempo de Residencia Hidráulico (TRH), de 22 para un flujo de 0.69 m³/min ó de 11 hr para un flujo de 1.39 m³/min. Se propuso un diseño experimental 2³ con replica al centro en el cual se analizaron tres factores y dos niveles. Las variables a considerar fueron: la concentración en el influente, nutrientes y flujo de oxígeno con la finalidad de encontrar las condiciones óptimas para el funcionamiento del RBLM.

La inoculación del soporte por más tiempo, permitió que se alcanzaran remociones de un 100% de contaminante, a diferentes concentraciones de fenol (de 100 a 500 mg/L). Para concentraciones bajas de fenol (100 mg/L) las remociones del contaminante están en el orden de un 90-99% de contaminante, en el caso de COD, las remociones van de un 30-70%, y para DQO son de un 60-90%. En el caso de DQO y COD, las remociones fueron mayores (80-90%) para concentraciones elevadas (500 mg/L) que a concentraciones bajas, lo anterior se atribuye a que a menores concentraciones se llega más rápidamente a la fase endógena, lo que provoca que los microorganismos se inhiban, por lo que estos contribuyen al aumento en la DQO y COD lo que hace que las remociones sean menores. Los sólidos volátiles totales fueron de 220 mg SVT/g soporte, dando un total de 3810 mg

¹ A lo largo de este trabajo se opto por usar el término de Lecho Móvil, en lugar de Lecho



SVT en todo el reactor, lo que indica que la cantidad de biomasa en el soporte fue elevada.

Las diferentes condiciones de operación a las que estuvo sujeto el RBLM no afectaron en gran medida los diferentes parámetros de medición, ya que las remociones fueron altas en la mayoría de los casos. Para el diseño de experimentos establecido, las condiciones más adecuadas para este sistema fueron: concentración de contaminante en el influente de 500 mg/L, concentración mínima requerida de nutrientes en el influente y el flujo mínimo de Oxígeno disuelto de 0.37 L/min. Los resultados finales mostraron que un tratamiento biológico con biomasa adherida puede llegar a ser una opción para el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de compuestos fenólicos.



CONTENIDO.

CAPÍTULO 1	13
1. PROBLEMÁTICA	13
1.1. Justificación.....	13
1.2. Objetivos.....	14
1.3. Hipótesis.....	14
CAPÍTULO 2	15
2. MARCO TEÓRICO	15
2.1 Antecedentes.....	15
2.2 Propiedades físicas y químicas del fenol.....	17
2.2.1 Toxicidad del fenol.....	18
2.2.2 Efectos en la salud humana.....	19
2.2.3 Regulación, legislación y medición del fenol.....	19
2.3 Procesos biológicos.....	22
2.3.1 Degradación anaerobia.....	22
2.3.2 Degradación aerobia.....	23
2.4 Tipos de metabolismo microbiano.....	24
2.5 Biodegradación de compuestos tóxicos por microorganismos.....	25
2.5.1 Factores que afectan la biodegradación.....	26
2.5.2 Microorganismos importantes en el tratamiento biológico.....	28
2.5.3 Degradación de fenol.....	31
2.6 Reactores de Lecho Móvil en el tratamiento de aguas residuales.....	33
2.7 Crecimiento bacteriano.....	35
2.7.1 Teoría de la.....	37
2.7.2 Etapas en el proceso de la formación de la.....	38
2.8 Diseño de experimentos.....	40
2.8.1 Diseño factorial.....	41
2.8.2 Metodología de superficie de respuesta.....	43
2.8.3 Diseño Compuesto Central.....	44



CAPÍTULO 3	45
3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	45
3.1 Implementación de las técnicas analíticas.....	46
3.2 Pruebas previas de laboratorio al reactor biológico discontinuo.	47
3.4.1 Pruebas experimentales al Reactor Biológico de Lecho Móvil.	50
3.5 Diseño de experimento.....	51
3.6 Realización de experimentos.....	52
CAPÍTULO 4	53
4 RESULTADOS Y ANÁLISIS	53
4.1 Pruebas previas de laboratorio al reactor discontinuo.....	53
4.3.1 Pruebas experimentales al Reactor Biológico de Lecho Móvil.	56
4.4 Diseño de experimentos.....	62
4.5 Realización de experimentos.....	63
CAPÍTULO 5	68
5 CONCLUSIONES	68
ANEXOS	70
Anexo A.1.....	70
A.1.1 Análisis de agua - determinación de fenoles totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la NMX-AA-050-1981).....	70
A.1.3. Análisis de agua para la determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.....	72
A.1.4. Cuantificación de biomasa en el soporte. (Nicolella, et al. 1997).....	73
Anexo 2.....	74
A.2.1. Determinación de las características del soporte mediante ecuación de BET.....	74
Anexo A.3.....	77
A.3.1. Fotografías RBLM.....	77
Anexo A.4.....	78
A.4.1 Condiciones de operación en el RBLM.....	78
REFERENCIAS	79



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2. 1. Propiedades físicas y químicas del fenol (IPCS, 1994; USEPA, 2000; Razo, 2003).....	17
Tabla 2. 2. Industrias productoras de fenol a nivel industrial, (Kumaran y Paruchuri, 1997).....	18
Tabla 2. 3. Valores de letalidad del fenol para diferentes tipos de organismos (Neuhauser <i>et al.</i> , 1986; IPCS, 1994; USEPA, 2000; Environment Canadá, 2000; Ahumada, M. y Gómez, R. 2009).	19
Tabla 2. 4. Límites Máximos Permisibles para descargas de agua (Diario Oficial de la Federación, 1988).	21
Tabla 2.5. Electrones aceptores en las reacciones típicas de bacterias comúnmente encontradas en la gestión de las aguas residuales (Metcalf& Eddy. 2000).	25
Tabla 2. 6. Características del soporte para una mejor adhesión, (Torres, 2009).	40
Tabla 2. 7. Matriz 2 ³ para el estudio de tres factores.	42
Tabla 3. 1. Técnicas y aparatos utilizados para la medición de los diferentes parámetros (DQO,COD, fenoles, pH y turbiedad).	46
Tabla 3. 2. Composición de las soluciones nutritivas. (Lazcano-Arriola, et al., 2003).	48
Tabla 3. 3. Caracterización del soporte (piedra pómez), (Torres, 2009).	48
Tabla 3. 4. Diseño experimental para el tratamiento de aguas sintéticas en el Reactor Biológico de Lecho Móvil.	51
Tabla 4. 1. Remoción de fenol en el influente para el RBLM por NMX-AA-050-SCFI-2001 y por método UV-VIS.	57
Tabla 4. 2. Remoción de COD para el influente para el RBLM para ambos flujos.	59
Tabla 4. 3. Remoción de DQO en el influente para el RBLM para ambos flujos.	61
Tabla 4. 4. Sólidos Suspendidos Totales y Sólidos Suspendidos Volátiles.	62
Tabla 4. 5. Cantidad de nutrientes agregados al influente al 100%, Volumen y tiempo de residencia hidráulico, así como TRH.	63
Tabla 4. 6. % Remoción en el RBLM de Fenoles, DQO, COD y SSV.	64
Tabla 4. 7. Remoción de fenol respecto a la NMX-AA-050-SCFI-2001 en el RBLM.	66



ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 2.1. Degradación aeróbica. (Doble & Kumar, 2005).....	24
Figura 2.2. Ruta degradación de compuestos aromáticos por vía catecol. (Razo, D. 2003).	30
Figura 2.3. Vías metabólicas para la degradación del fenol (Barrios <i>et al.</i> , 2006).	32
Figura 2. 4. Curva típica de crecimiento microbiano. (Balley&Ollis, 1977).	36
Figura 2. 6. Representación de la y transformación de la materia orgánica. ...	39
Figura 2. 7. Representación geométrica del diseño de experimentos 2^3	42
Figura 3.1. Esquema del Reactor Biológico de Lecho Móvil.....	50
Figura 4.1. Remoción de Fenol a lo largo del tiempo.	54
Figura 4.2. Comparación del soporte con y sin	56
Figura 4.3. Remoción de fenol en el influente por la NMX-AA-050-SCFI-2001 para ambos flujos.	57
Figura 4.4. Remoción fenol en el influente por el método UV-VIS para ambos flujos.	58
Figura 4.5. Remoción fenol en el influente por ambos métodos.....	58
Figura 4.6. Remoción de COD en el influente para el RBLM para ambos flujos.	60
Figura 4.7. Remoción DQO en el influente del RBLM para ambos flujos.	61
Figura 4.8. SSV para ambos flujos en el RBLM.	62
Figura 4.9. Superficie de respuesta de % Remoción de DQO en el RBLM.	64
Figura 4.10. Superficie de respuesta de % Remoción de COD en el RBLM. ...	65
Figura 4.11. Superficie de respuesta de SSV para el RBLM.	67
Diagrama 3.1. Metodología experimental para la Evaluación Técnica de Soportes Granulares en un Reactor Biológico de Lecho Móvil para degradar compuestos fenólicos.	45



GLOSARIO DE ACRÓNIMOS.

BET	Brunauer, Emmelt y Teller.
Ca	Calcio.
Cl	Cloro.
COD _{jk}	Carbono Orgánico Disuelto.
C.U.	Ciudad Universitaria.
DQO	Demanda Química de Oxígeno.
EEUU	Estados Unidos de América.
Eucarioatas (eucarionates)	Organismo uni-celular o multicelular cuyas células poseen un núcleo limitado por una membrana nuclear, se dividen por mitosis y pueden entrar en meiosis.
F/M	Relación alimento-microorganismos por sus siglas en inglés (Feed/Microorganisms).
INE	Instituto Nacional de Ecología.
IPCS	International Programme on Chemical Safety.
HCs	Hidrocarburos.
H ₂ S	Ácido sulfhídrico.
K	Potasio.
N	Nitrógeno.
Na	Sodio.
NH ₃	Amoniaco.
OSHA	Administración de Salud y Seguridad Ocupacional por sus iniciales en inglés (Occupational Safety and Health Administration).
P	Fósforo.
PEMEX	Petróleos Mexicanos.
Procariotas (procarionetes)	Organismos cuyas células poseen un solo cromosoma y no existe una membrana que lo aisle del citoplasma, por lo que carece de núcleo celular.
RBLM	Reactor Biológico de Lecho Móvil.
RBD	Reactor Biológico Discontinuo.
S	Azufre.
SST	Sólidos Suspendidos Totales.
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles.
STV	Sólidos Totales Volátiles.
TRH	Tiempo de Residencia Hidráulico.
UE	Unión Europea.
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México.
USEPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos por sus siglas en inglés (United States Environmental Protection Agency).



CAPÍTULO 1.

1. PROBLEMÁTICA.

1.1. Justificación.

El rápido crecimiento de las industrias químicas y del sector petrolero está acompañado del aumento en la generación de residuos, los cuales pueden traer consecuencias indeseables para el ecosistema y la salud pública. Estos compuestos pueden permanecer largos periodos de tiempo en el ambiente, ya que son dispuestos indiscriminadamente en el ambiente. Dentro de los contaminantes más comunes se encuentran los hidrocarburos, los cuales están constituidos por carbono e hidrógeno, (Ahumada, M. y Gómez, R. 2009).

Actualmente uno de los grandes problemas es la utilización, en la industria química, de diferentes compuestos químicos para su producción, dentro de estos podemos mencionar los compuestos fenólicos.

En la actualidad se utilizan diferentes procesos para la eliminación de compuestos fenólicos en aguas residuales, (Lin, C. *et al.*; 2009) tales como Procesos de Oxidación Avanzada "POAs" (oxidación foto catalítica, catalítica, entre otras), oxidación química no catalítica (O₂, O₃, aire), fisicoquímicos (extracción, adsorción), físicos (filtración, ultrafiltración) y biológicos (aerobios y anaerobios).

Las tecnologías físicas y métodos químicos convencionales tienen diferentes desventajas, debido al elevado costo además de los compuestos indeseables obtenidos después del tratamiento, (Khan, F. *et al.*; 2009). Entre estos procesos, el biológico es el más adecuado, si la mineralización es completa, además de que el costo es menor respecto a los otros tratamientos.



1.2. Objetivos.

➤ Objetivo general

Evaluar el funcionamiento de un sistema de tratamiento biológico del tipo Reactor Biológico de Lecho Móvil (RBLM), utilizando soportes granulares de piedra pómez, para el tratamiento de aguas residuales sintéticas conteniendo compuestos fenólicos como contaminantes modelo.

➤ Objetivos particulares

1. Establecer el estado del arte en la investigación de reactores biológicos de Lecho Fluidizado, aplicados a la depuración de aguas residuales conteniendo compuestos orgánicos sintéticos y en particular, compuestos derivados del fenol.
2. Aplicar técnicas analíticas existentes para la identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos.
3. Realizar pruebas en la formación de la CaCO_3 en el soporte utilizado (piedra pómez).
4. Determinar el efecto de la concentración de fenol, nutrientes en el influente y del flujo de oxígeno en el influente en un reactor biológico de lecho móvil con un diseño experimental 2^3 con replica al centro.

1.3. Hipótesis.

Al permanecer el soporte granular, por un periodo de dos meses de inoculación en un reactor discontinuo con microorganismos adaptados se aumentará la fijación de los microorganismos al soporte y se obtendrá una mejor estabilidad en el sistema biológico de lecho móvil y así tener mejores remociones del contaminante.



CAPÍTULO 2.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 Antecedentes

La escasez del agua, o la mala distribución de agua dulce han tenido un impacto significativo a nivel mundial. Muchos proyectos aplicados para la reutilización de las aguas residuales han conducido a la necesidad de proponer procesos integrados para dicho tratamiento. Algunos ejemplos de esto son los Procesos de Oxidación Avanzada “POAs” (oxidación fotocatalítica, catalítica, entre otras), oxidación química no catalítica (O_2 , O_3 , aire), fisicoquímicos (extracción, adsorción), físicos (filtración, ultrafiltración, etc), biológicos (aerobios y anaerobios), (Khan, F. *et al.* 2009). En los procesos biológicos existen diferentes tipos de reactores con la finalidad de poder remover el contaminante (fenol): Reactor Discontinuo Secuencial (SBR), reactor de lecho fijo y de lecho móvil.

Los Reactores Biológicos de Lecho Fluidificado (RBLM) son columnas en cuyo interior se introducen partículas de un sólido poroso (arena, piedra pómez, biolita, etc), con el objetivo de que sobre su superficie se desarrolle una bacteriana que lleve a cabo la degradación aerobia. Para que las partículas permanezcan fluidizadas (distribuidas), es necesario realizar una recirculación del líquido, para que la velocidad del mismo en el interior de la columna sea suficiente como para mantener dichas partículas distribuidas o fluidificadas. Este tipo de equipos se han comprobado muy eficaces, al menos en escala laboratorio o planta piloto. Se consiguen muy altas concentraciones de microorganismos, así como una muy buena mezcla en el lecho. Sin embargo, su implantación a nivel industrial no ha alcanzado las expectativas que se crearon, (Fernández-Alba, et al., 2006).



La biopelícula que se forma en las paredes del soporte se caracteriza por una mayor efectividad que los flóculos biológicos, (Durán, 1997) y puede cambiar en composición de especies, dependiendo de las condiciones del proceso, como pH, carga orgánica, tiempo de residencia, sustrato, etc. Los soportes empleados contienen una elevada superficie específica por unidad de volumen. Estas dos particularidades hacen que los reactores de lecho móvil sean de volumen mucho menor que los de lodos activados. El crecimiento de la en el soporte hace que las capas más internas entren en anaerobiosis, haciendo que se desprenda parte de la misma de manera automática; este hecho hace que la formación de necesaria, según la carga, también se dé de forma automática. A su vez, estos sólidos desprendidos del soporte vienen a ser el exceso de lodos que hay que extraer del sistema (purga de lodos) y por lo tanto, no requiere de una recirculación de los mismos al reactor.

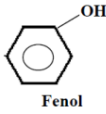
Debido al rápido crecimiento de la industria química y del sector petrolero, el aumento en la generación de residuos también se ha venido presentando, lo que ha traído consecuencias indeseables para el ecosistema y la salud pública. Dentro de los contaminantes más comunes se encuentran los hidrocarburos, principalmente los constituidos por carbono e hidrógeno, (Ahumada, M. y Gómez, R. 2009). El fenol, pertenece a los compuestos aromáticos, su estructura general es un anillo bencénico, el cual le da una mayor estabilidad y reactividad química. Este compuesto se genera naturalmente por procesos de humificación, sin embargo, también se encuentra en el ambiente en las descargas de aguas residuales de diferentes industrias, incluyendo refinación de petróleo, degradación de pesticidas, industria agroquímica, textiles, farmacéuticas, plantas de papel, entre otras, (Moussavi, G. *et al.*; 2009). Los compuestos fenólicos tienen una alta toxicidad a bajas concentraciones, por lo que es un compuesto prioritario para diferentes organismos como la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA), (dos Santos, V. *et al.*; 2009) y la Comunidad Europea (CE).



2.2 Propiedades físicas y químicas del fenol.

El fenol se puede obtener de los compuestos: hidroperóxido de cumeno, ácido benzoico y cloro benceno, (Razo, 2003). El fenol se le conoce también como; según la nomenclatura de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), ácido carbólico, ácido fenólico o alcohol fenílico. En la tabla 2.1 se muestran las propiedades químicas y físicas del fenol.

Tabla 2. 1. Propiedades físicas y químicas del fenol, (IPCS, 1994; USEPA, 2000; Razo, 2003).

PROPIEDAD	VALOR
Peso molecular	94.12 g/gmol
Formula empírica	C ₆ H ₆ O
Estructura química	
Punto de ebullición	181.8 °C
Punto de fusión	43 °C
Densidad, a 20 °C con la densidad relativa del agua a 4 °C	1.0576 g/mL
Solubilidad en agua, a 25 °C	87 g/L
Coefficiente de Octano (log K _{ow})	1.46

El fenol está presente en el medio ambiente como: un intermediario de la degradación de compuestos aromáticos naturales como la lignina, taninos y precursores de aminoácidos, y por las grandes descargas de aguas residuales al ambiente son producidas sintéticamente por diferentes industrias, la tabla 2.2 muestra una lista de las industrias productoras de fenol, (Razo, 2003. Kumaran y Pachuri, 1997).



Tabla 2. 2. Industrias productoras de fenol a nivel industrial, (Razo, 2003. Kumaran y Paruchuri, 1997).

INDUSTRIA	COMPUESTOS GENERADOS
Refinación	HCs, bencenos, toluenos, naftalenos, bifenilos , fenol , <i>n</i> -octanos, <i>n</i> -decanos, azufre y amonio.
Petroquímica	Naftaleno, heptanos, bencenos, fenol , alcoholes de 4 carbonos.
Manufactura de compuestos	<i>m</i>-amino fenol , dinitrofenol , <i>p</i>-nitrofenol , trinitrofenol , analina, clorobencenos y tolueno.
Farmacéutica	Toluenos, ácidos fenil-acéticos , cloroformo, éter, alcohol etílico, fenol .
Papelera	Lignina, vainillina , ácido feulico, ácido protocatéquico, ácido benzoico, guaicol , catecol , ácido fenilpropiónico , fenol y clorofenol .
Fibras sintéticas	Bifenoles , benzoato, epóxidos.
Desinfectantes	Fenol , ácido benzoico.

2.2.1 Toxicidad del fenol.

El fenol puede afectar ecosistemas acuáticos o terrestres debido a su toxicidad y reactividad, la tabla 2.3 muestra los valores de letalidad del fenol, debido a que es soluble en agua y puede generar reacciones de condensación y polimerización con un amplio número de compuestos, (Ahumada, M. y Gómez, R. 2009). Por estas razones, se han realizado estudios ecotoxicológicos por parte de diferentes organismos, lo cual ha generado un gran interés en el cuidado para el manejo de este compuesto, (USEPA, 2000; Canadian Environmental Protection ACT, 2000).



Tabla 2. 3. Valores de letalidad del fenol para diferentes tipos de organismos, (Neuhauser et al., 1986; IPCS, 1994; USEPA, 2000; Environment Canadá, 2000; Ahumada, M. y Gómez, R. 2009).

Organismo	Ecosistema	Letalidad	Tiempo
<i>Lactuca savita</i>	Terrestre	² 179mg/Kg	5 d
<i>Daphnia magna</i>	Acuático	² 12mg/Kg	24 h
<i>Eudriluseugeniae</i>	Acuático	² 188 mg/Kg	14
<i>Carassiusauratus</i>	Acuático	³ 46 mg/Kg	24 h
Humanos	Terrestre	³ 14-930 mg de fenol/ Kg de peso	24 h

2.2.2 Efectos en la salud humana.

En los últimos tiempos, el hombre se ha expuesto con más frecuencia al fenol, ya que está presente en la atmósfera, en donde los niveles ambientales calculados por la organización Mundial de la Salud son de aproximadamente 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (IPC, 1994, Ahumada, M. y Gómez, R. 2009). Esto provoca que el fenol figure como una sustancia peligrosa para la salud humana, porque es absorbido fácilmente por la piel afectando a órganos como el hígado, riñones, pulmones y mucosa gastrointestinal, donde se desarrollan diferentes patologías, entre las que se encuentran la acidosis metabólica, anorexia, hiperventilación, insuficiencia renal aguda, afecciones al sistema nervioso central, el estado de coma, hasta provocar la muerte, (USEPA, 2000; Ahumada, M. Gómez R. 2009).

2.2.3 Regulación, legislación y medición del fenol.

Actualmente, los organismos ambientales han centrado su atención en la legislación y regulación para el tratamiento del fenol, controlando su disposición al medio ambiente, por los daños que puede causar a la salud humana.

Como ya se mencionó anteriormente, el fenol es considerado como un contaminante prioritario para países como Estados Unidos y la Unión Europea.

² CL₅₀

³ DL₅₀



Por parte de la USEPA, está clasificado en el grupo D, como un compuesto no asociado directamente al cáncer pero si con otras patologías, (USEPA, 1997), también se encuentra en el listado U, (U188, Ministerio de Salud, Chile), considerado como un residuo tóxico de vigilancia ambiental.

En el caso de México, uno de los organismos encargados en regular lo relacionado a la contaminación con fenol es el Instituto Nacional de Ecología, por medio de la Norma Técnica Ecológica NTE-CCA-003/88, que establece los límites máximos permisibles y el procedimiento para la determinación de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos de agua, provenientes de la industria de refinación de petróleo crudo, sus derivados y petroquímica básica. En este documento se encuentran diferentes leyes, como la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LEGEEPA), donde se establece que todas las descargas de aguas residuales en ríos, cuencas, vasos, aguas marinas y demás depósitos o corrientes de agua, deberán satisfacer las normas técnicas ecológicas que establezcan los límites máximos permisibles de contaminantes en dichas descargas, a fin de asegurar una calidad del agua satisfactoria para el bienestar de la población y el equilibrio ecológico.

En el artículo 4º de la Norma Técnica Ecológica NTE-CCA-003/88 se muestran los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales, provenientes de la industria de refinación de petróleo crudo, sus derivados y petroquímica básica, la tabla 2.4 lista los valores referidos de los diferentes contaminantes presentes para la descarga de aguas residuales.



Tabla 2. 4. Límites Máximos Permisibles para descargas de agua (Diario Oficial de la Federación, 1988).

Parámetros	Unidades	Promedio diario instantáneo
pH		6.0-9.0
Grasas y aceites	mg/L	40-48
DQO	Mg O ₂ /L	100-120
DBO	mg O ₂ /L	60-72
Sulfuros	mg S ₂ /L	0.5-1
Cromo hexavalente	mg/L	0.2-0.25
Cromo total	mg/L	1.0-1.2
Fenoles	mg/L	1.0-1.2
SST	mg/L	70-85

La Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), publicó la NMX-AA-050-SCFI-2001 ANALISIS DE AGUA-DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES EN AGUAS NATURALES, POTABLES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS- MÉTODO DE PRUEBA, que es la norma que nos permite conocer la concentración de fenoles en diferentes cuerpos de agua para intervalos de concentración de 0.001 mg/L a 0.250 mg/L y 0.5 mg/L por medio de la reacción del fenol con el ferrocianuro de potasio, al utilizar el método espectrofotométrico a intervalo de 505 nm de longitud de onda (NMX-AA-050-SCFI-2001), algunas de las aplicaciones de la norma son: poder conocer si los diversos productores de fenol, además de prevenir problemas y daños a los ecosistemas y evitar daños a la salud humana.

Debido a las limitaciones en los intervalos de concentración para el fenol, (Mkandawire *et al.*, 2009), desarrollaron un nuevo método para medir concentraciones de fenol más altas, mediante la absorción del fenol por espectrofotometría en la región de la longitud de onda ultravioleta (UV- VIS); este nuevo método tiene un elevado potencial, porque es una huella digital para la verificación de la biodegradación de fenol, debido a su facilidad para operar.



2.3 Procesos biológicos.

Métodos físicos, químicos y biológicos son usados para remover los compuestos aromáticos de las aguas residuales industriales. Los procesos físicos y químicos no son muy recomendables en el caso de la remoción de fenol debido a que a no lo remueven completamente y forman intermediarios que son más perjudiciales que los compuestos originales; además de que son muy costosos, (Khan, *et al.*; 2009. Vidya, *et al.*; 2007).

Los tratamientos biológicos, son procesos que se prefieren utilizar para el control de la contaminación durante los tratamientos de aguas residuales debido a su capacidad de destruir eficazmente los contaminantes de una manera ambientalmente benigna y rentable, (Moussavi, G. *et al.* 2009). Dentro de los procesos biológicos se busca reducir principalmente la Demanda Bioquímica de Oxígeno carbonosa (DBO carbonosa), donde los microorganismos utilizan la materia orgánica carbonosa coloidal y disuelta para transformarla en diferentes gases o tejido celular, (Torres, 2009). Los procesos biológicos se llevan a cabo de dos maneras diferentes de degradación: anaerobia y aerobia.

2.3.1 Degradación anaerobia.

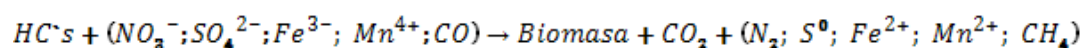
➤ Proceso anaerobio.

Es un proceso menos frecuente y más lento que el aeróbico, en donde los hidrocarburos sirven como donadores de electrones bajo distintos mecanismos como: hidroxilación, carboxilación y condensación, (Ahumada, M. y Gómez, R. 2009). Los microorganismos capaces de catalizar estas reacciones requieren aceptores de electrones diferentes al O_2 , los más utilizados son el nitrato, el sulfato, el ión férrico y el CO_2 , entre otros.

La degradación anaeróbica se lleva a cabo en tres etapas: en la primera etapa, el sustrato debe ser activado por reacciones de carboxilación, hidroxilaciones anaeróbicas y formación de tioésteres del correspondiente ácido aromático con



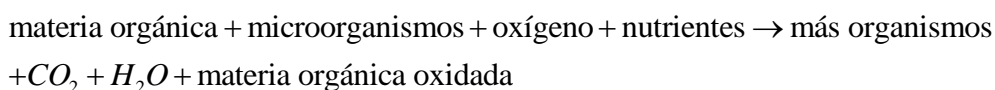
el acetil coenzima A (acetil-CoA); en una segunda etapa, actúan las reductasas de estos intermediarios activados, para que finalmente en la etapa tres, los compuestos sean hidrolizados, (Ahumada, M. y Gómez, R. 2009). La reacción general del proceso es:



La biodegradación de los hidrocarburos aromáticos es mucho más lenta en condiciones anaeróbicas que en presencia de O₂.

2.3.2 Degradación aerobia.

Las bacterias, en presencia del oxígeno, rompen y convierten el contaminante en formas más simples. Las colonias de microorganismos aerobios utilizan el carbono orgánico presente en los efluentes como su fuente de carbono y energía. La siguiente ecuación reacción representa la ecuación de degradación aerobia.



Si hay limitación en el alimento, los microorganismos consumen su propio protoplasma para obtener energía para las reacciones que mantienen aún con vida a los microorganismos (respiración endógena), (Doble & Kumar, 2005). La forma de convertir los contaminantes durante el proceso de degradación aerobia sucede en dos procesos, uno de oxidación o respiración y uno de síntesis. La oxidación o respiración consiste en romper las cadenas de los contaminantes hasta llegar a CO₂, agua, nitratos, sulfatos, etc., tomando el oxígeno disuelto por ser un sistema aireado.

El proceso de síntesis, dentro de la degradación biológica aerobia, produce la biomasa (microorganismos) mediante actividad bioquímica. El sustrato, que es la fuente de carbono, actúa como donador de electrones para promover el desarrollo de las bacterias, utilizando las enzimas como catalizadores de las



reacciones químicas que se presentan en el proceso de degradación, las cuales rompen las moléculas complejas para convertirlas en moléculas más sencillas cuya función es permitir el paso a través de la membrana de la célula de los microorganismos, (Rodríguez, 2002). Luego, las células metabolizan las moléculas sencillas de la materia orgánica reorganizándolas en estructuras moleculares y construyendo más protoplasma celular por fisión binaria. En la figura 2.1 se muestran los procesos para la degradación de los contaminantes vía aerobia.

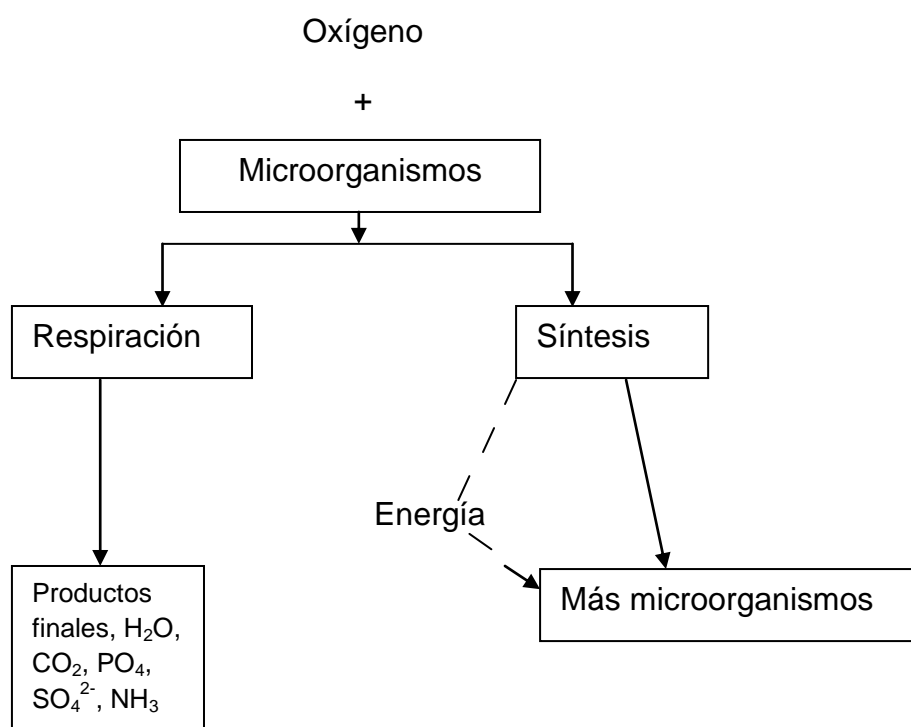


Figura 2. 1. Degradación aeróbica. (Doble & Kumar, 2005).

2.4 Tipos de metabolismo microbiano.

Cuando el oxígeno molecular es usado como electrón aceptor en la respiración metabólica, existe un proceso conocido como respiración aeróbica. Los organismos que son dependientes de la respiración aeróbica para satisfacer sus necesidades energéticas requieren de un suministro de oxígeno molecular.



Estos organismos son llamados aerobios obligados. Los compuestos que oxidan la materia inorgánica como el nitrato y el nitrito pueden funcionar como electrones aceptores para la respiración de algunos organismos en ausencia del oxígeno molecular, en la ingeniería ambiental, los procesos que usan este tipo de organismos son también conocidos como anóxicos, (Metcalf & Eddy, 2003).

Los organismos que generan energía por fermentación y que pueden existir solo en un ambiente sin oxígeno se conocen como anaeróbicos obligatorios. Los facultativos anaerobios, son aquellos que tienen la habilidad de crecer en presencia o ausencia de oxígeno molecular. En la tabla 2.5 se muestran los electrones aceptores en las reacciones típicas de bacterias comúnmente encontradas en la gestión de las aguas residuales.

Tabla 2.5. Electrones aceptores en las reacciones típicas de bacterias comúnmente encontradas en la gestión de las aguas residuales (Metcalf & Eddy. 2000).

Entorno	Electrón aceptor	Proceso
Aeróbico	Oxígeno O ₂	Metabolismo aeróbico
Anaeróbico	Nitrato NO ₃ ⁻	Desnitrificación
	Sulfato SO ₄ ²⁻	Reducción sulfato
	Dióxido de carbono CO ₂	Metanogénesis

2.5 Biodegradación de compuestos tóxicos por microorganismos.

La biodegradación es un proceso, en el cual, los microorganismos tienen la capacidad de utilizar parcial o completamente estos compuestos, como fuente de carbono y energía, degradándolos hasta dióxido de carbono (CO₂) y agua (H₂O) logrando la mineralización. La mineralización de un compuesto implica



su alteración estructural y la formación de intermediarios metabólicos que pueden servir de elementos estructurales de la célula o de combustible al oxidarse. Este proceso se realiza por medio de enzimas y mecanismos a nivel de membrana que permite la entrada de nutrientes y depende de varios factores como las características del contaminante su concentración, los microorganismos presentes, las condiciones geoquímicas y ambientales, entre otras (Bossert y Bartha, 1984; USEPA 2003).

Los hidrocarburos son un grupo de compuestos tóxicos muy abundante. Se ha demostrado la eficiencia de bacterias del género de las *Pseudomonas* en la generación del ácido penoxybenzoico en suelos.

Otra especie de bacteria que ha sido usada para la degradación de hidrocarburos es *Sphingomonas wittichii* RW1, la cual en condiciones anaeróbicas es capaz de transformar el 2,7-diclorobenceno, produciendo el metabolito 4 -clorocatenol y el 1,2,3,4 tetraclorodibenceno (Torres, 2003).

2.5.1 Factores que afectan la biodegradación.

➤ pH.

Afecta a los microorganismos y sus enzimas, influyendo tanto en la disociación como en la solubilidad de diversas moléculas y en la disponibilidad de nutrientes (Hambrick et. al; 1980). Los intervalos más óptimos para el desarrollo de la mayoría de las bacterias heterótrofas y hongos son de 6.5-8.5 (Ahumada, M. y Gómez, R. 2009). Luo *et al.*, indican que en el caso especial del fenol, el rango de degradación óptimo es entre (6.0-8.0), así lo demuestran estudios realizados por Shawabkeha et al; 2007, quienes demostraron que microorganismos como *Klebsiella oxytoca* pueden degradar el fenol en un amplio rango de pH (de 4.0-8.0), siendo el valor óptimo de 6.8.



➤ **Temperatura.**

Es un factor que afecta el crecimiento, la supervivencia y la actividad metabólica de los microorganismos, (Balley & Ollis, 1977), así mismo influye en los cambios estructurales y químicos de los hidrocarburos. La biodegradación de estos compuestos se da en un rango entre 20-30 °C, si es menor a 20°C, la degradación disminuye, pero si la temperatura aumenta a más de 30°C sin pasar los 40°C, aumenta, (Grady et. al; 1980).

Para el fenol la temperatura óptima que favorece la biodegradación de este compuesto es de 30°C; ya que a ésta temperatura la penetración del fenol a la célula es más eficiente, (El-Naas et. Al; 2009).

➤ **Nutrientes.**

La importancia de los nutrientes recae en el hecho de que son indispensables para el desarrollo y supervivencia de los microorganismos, además de que se hacen necesarios para llevar a cabo procesos de biosíntesis y otras funciones celulares. Aunque cada organismo necesita diferentes nutrientes, en todos los casos se requieren macronutrientes en grandes cantidades (nitrógeno y fósforo), y otros llamados micronutrientes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , S^{2-}), éstos se proporcionan en menor cantidad y en algunas ocasiones solo son trazas, (Madigan et. Al; 2003; Pardo et. Al; 2004).

Los nutrientes se asimilan en estados elementales (orgánicos e inorgánicos), presentes en el ambiente y por lo tanto, la cantidad presente de estos y el estado de los mismos, son importantes para llevar a cabo un proceso de biodegradación, (Ahumada, M. y Gómez, R. 2009).



2.5.2 Microorganismos importantes en el tratamiento biológico.

Con base en la estructura y función de la célula, los microorganismos son comúnmente clasificados como: eucariontes, e bacteria y archa bacteria. El grupo procarionte (e bacteria y archa bacteria) es de primer importancia en el tratamiento biológico y son generalmente referidos a una simple bacteria. El grupo eucarionte incluye: plantas, animales y protistas. Los eucariontes más importantes en el tratamiento biológico incluye: el fungí, la protoza y los rotíferos y algas.

La bacteria es el organismo procarionte celularmente hablando. Su modo de reproducción más usual es la fisión binaria, aunque algunas especies se reproducen sexualmente. Existen diferentes tipos de bacterias, clasificándolas por medio de su forma, se dividen en tres tipos: esférica, cilíndrica y helicoidal.

Algunas de las cepas microbianas que han sido reportadas como adecuadas para la degradación del fenol son: *A. eutrophus*, *B. stearothermophilus*, *S. setonni*, *T. cutaneum*, *Pseudomonasputida*, *Pseudomonaspictorum*, *Phormidiumvalderianum*, *Pseudomonasfluorescens*, *Pseudomonascepacia*, *arthrobacter*, *Candida tropicales*, *Pseudomonaaerogenosa*, *Bacillusbevis*, *Nocardiahydrocarbonoxydans*, entre otras, (Vidya, K. et al. 2007).

Protozoarios y rotíferos.

Los protozoarios son células simples. La mayoría de los protozoarios son heterótrofos aerobios, aunque también hay anaerobios. Son más largos que las bacterias, y se alimentan con estas para obtener energía. Los protozoarios actúan como limpiadores de los efluentes biológicos porque consumen bacterias y particularmente materia orgánica. Los rotíferos son aeróbicos, heterótrofos y animales multicelulares. Su nombre se deriva de que tienen cilios rotatorios en la cabeza, los cuales usan para moverse y capturar alimento. Los rotíferos son muy efectivos para consumir bacterias dispersas y floculadas y



pequeñas partículas de materia orgánica. Su presencia en el efluente de un tratamiento biológico indica una alta eficiencia en el proceso aerobio biológico para el tratamiento de aguas residuales, (Metcalf & Eddy, 2003).

En el caso de la biodegradación de una molécula aromática se siguen dos pasos: la activación del anillo y el rompimiento del anillo. En la activación se da la incorporación del oxígeno molecular al anillo, esto se conoce como dihidroxilación del núcleo aromático y, lo llevan a cabo enzimas conocidas como oxigenasas. Las monoxigenasas, características de hongos y otras eucariotas, catalizan la incorporación de un solo átomo de oxígeno para formar un epóxido que puede hidratarse para dar un transdihidrodiol. Las dioxigenasas, en un sólo paso forman un dihidrodiol. Los hidrodioles después se oxidan a derivados dihidroxilados, como los catecoles, que son los precursores del rompimiento del anillo. El catecol puede ser oxidado ya sea por la vía orto para dar el ácido mucónico, o la vía meta que va a dar el semialdehído 2-hidroximucónico, (Razo, D. 2003). La figura 2.2 muestra la vía metabólica de compuestos aromáticos vía catecol.

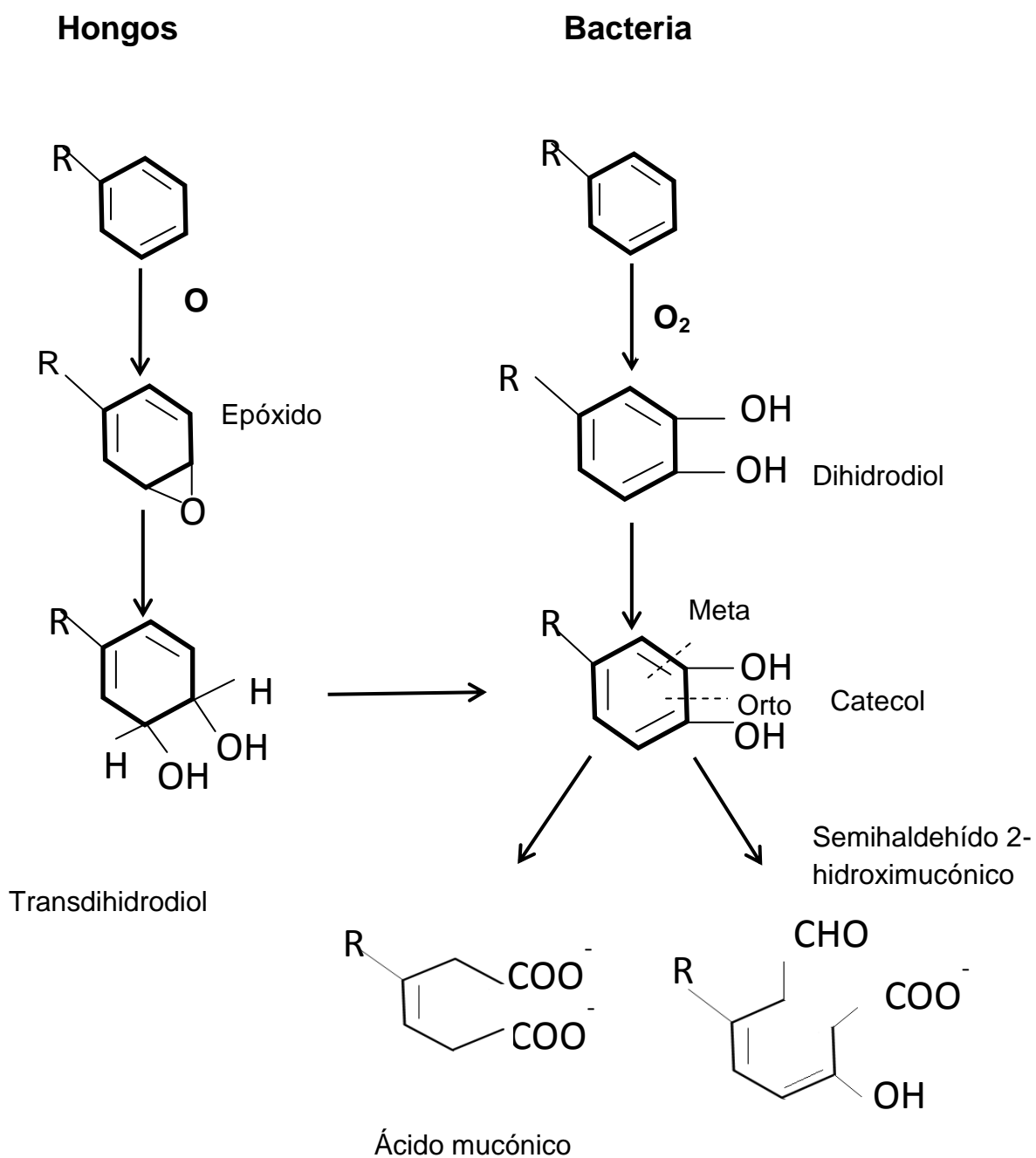


Figura 2. 2 Ruta degradación de compuestos aromáticos por vía catecol. (Razo, D. 2003).



2.5.3 Degradación de fenol.

Para degradar compuestos aromáticos existen varios mecanismos, como el transporte en la membrana citoplasmática, hidroxilación y escisión del anillo (esto se da por medio de transformaciones metabólicas). Los aromáticos se oxidan mediante dioxigenesas a cis, cisdihidrodiol, que son inestables y se convierten en catecoles, (Ahumada, M. y Gómez, R. 2009).

En la escisión del anillo aromático del fenol, existen dos mecanismos que dependen de la posición de los grupos fenilo. El primer mecanismo, es la escisión *orto* o ruta del β -cetoadipato, la cual sucede en los carbonos que tienen el grupo OH (intradiol) en la posición 1-2 en el catecol y 3-4, en el caso del ácido protocatequico. Se producen diferentes reacciones oxigenolíticas, tanto para el catecol como para el ácido protocatequico, hasta obtener un intermediario común llamado γ -cetodipatoenol- lactona, que se transforma a β -cetoadipato. Finalmente, este genera como productos succinato y acetil coenzima A (CoA), que entran al ciclo de los ácidos tricarbóxicos (figura 2.3), (Barrios *et al.*, 2006).

El segundo mecanismo es la escisión *meta*, dicha ruptura se lleva a cabo en el carbono portador del ión hidroxilo OH^{-1} y el carbono adyacente (extradiol) para el catecol, este mecanismo se muestra en la figura 2.3. La ruptura se realiza en los carbonos 2-3, mientras que para el ácido en los carbonos 4-5, (Suárez, 1993). En esta ruta, el catecol y el ácido protocatequico, se desarrollan de manera independiente y no convergen en ningún intermediario. Los productos de este tipo de escisión *meta* son el acetaldehído y el piruvato, donde el último compuesto es un precursor clave en ciclo de los ácidos tricarbóxicos.. El intermediario más frecuente en la degradación de fenol es el catecol, el cual sufre reacciones de dihidroxilación generando la apertura del anillo aromático, permitiendo de esta manera que sea degradado por alguno de los dos mecanismos mencionados con anterioridad, (Barrios *et al*, 2006).

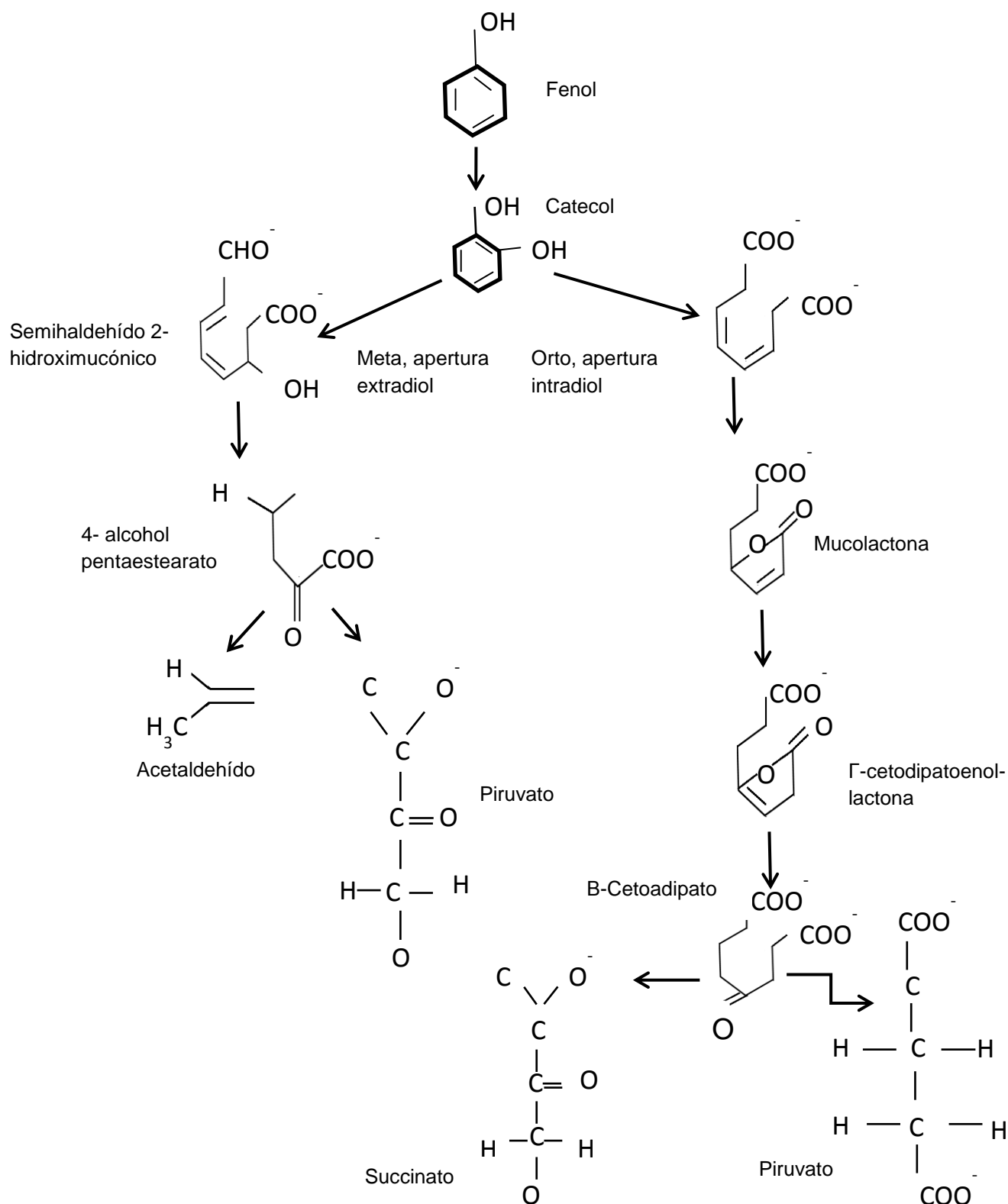


Figura 2. 3. Vías metabólicas para la degradación del fenol (Barrios *et al.*, 2006).



2.6 Reactores de Lecho Móvil en el tratamiento de aguas residuales

Para que los reactores biológicos tengan un diseño adecuado, así como la buena eficiencia en la operación en un sistema de tratamiento biológico dependen de varios parámetros, tales como la cantidad de nutrientes disponibles para el desarrollo de los microorganismos, concentración, oxígeno disuelto, la relación F/M, el pH, la temperatura y el tiempo de residencia hidráulica, (Torres, 2009).

En los reactores anaerobios, se requiere que la cantidad de oxígeno disuelto en el medio sea la adecuada. Lo más recomendable es mantener una concentración de oxígeno disuelto, aproximadamente, en un rango de 0.003 y 0.005 mmol/L que es alrededor del 10% de la solubilidad del oxígeno, (Torres, 2009).

Actualmente, se han utilizado diferentes tipos de reactores para el tratamiento biológico, reportados por Bajaj (2007), Ribeiro (2005) y Hermoso (2008) quienes reportaron remociones de fenol superiores al 90% (Torres, 2009). Dentro de los cuales fueron utilizados diferentes tipos de reactores biológicos para poder remover el contaminante: reactor discontinuo secuencial (SBR), reactor de lecho fijo y de lecho móvil.

Una biopelícula, es definida como una comunidad estructurada de bacterias adherida a la superficie de un soporte; de manera general, son necesarias 4 etapas para el desarrollo adecuado de la misma: fijación inicial, fijación irreversible por la producción de productos extracelulares, desarrollo y crecimiento de la biopelícula.

Las ventajas en el reactor de lecho fijo respecto a un discontinuo, son que en el primero se tiene mejor control del espesor de la biopelícula, mayor



transferencia de masa, no están sujetos a la obstrucción por lodos y tienen menor caída de presión, (Moussavi *et. al*; 2009).

El principio básico del proceso de lecho móvil es el crecimiento de la biomasa en soportes de tipo granular que se mueven en el reactor biológico mediante la agitación generada por sistemas de aireación (reactores aerobios) o por sistemas mecánicos. Los soportes son de materiales con densidades aproximadas a 1 g/cm^3 (polietileno y poliestireno de diferentes configuraciones, carbón granular, madera, piedra pómez) que les permite moverse fácilmente en el reactor incluso con porcentajes de llenado del 70%. Inicialmente se emplearon procesos de lecho fijo, sin embargo, se ha observado que este tipo de procesos presenta una serie de inconvenientes operacionales como es el atascamiento del lecho por crecimiento excesivo de biomasa que obliga a la limpieza periódica del mismo, (Moussavi, G. *et al.* 2009. Vidya, K., *et al.* 2007).). Estos inconvenientes han llevado a la necesidad de crear procesos de que los eliminen y que faciliten su operación tal como los procesos de lecho móvil.

Los reactores de lecho móvil son columnas en cuyo interior se introducen partículas de un sólido poroso (arena, piedra pómez, etc) y de un tamaño variable (1-5 mm) con el objetivo de que sobre su superficie se desarrolle una bacteriana que lleve a cabo la degradación aerobia.

Para que las partículas permanezcan fluidizadas (distribuidas), es necesario realizar una recirculación del líquido, para que la velocidad del mismo en el interior de la columna sea suficiente como para mantener dichas partículas distribuidas o fluidificadas. Este tipo de equipos han resultado eficaces, al menos en escala laboratorio o planta piloto. Se consiguen altas concentraciones de microorganismos, así como una buena mezcla en el lecho.

Los reactores de lecho móvil presentan las siguientes ventajas en el tratamiento de aguas residuales: altas concentraciones de biomasa fija, mayor



área superficial, soportan elevadas cargas orgánicas volumétricas, mejoran la transferencia de masa y de calor, reducen los requerimientos de espacio, producen pocos lodos, generan efluentes de alta calidad, y eliminan en la mayoría de los casos el sedimentador secundario. Estos procesos concentran una gran cantidad de biomasa adherida al soporte esta biomasa se le conoce como biopelícula, (Adav, S., et al. 2008)

2.7 Crecimiento bacteriano.

Para la efectividad del control del ambiente en el tratamiento biológico, es necesaria la comprensión de los principios básicos que gobiernan el crecimiento de los microorganismos. Las bacterias son los microorganismos de primera importancia en el tratamiento biológico.

En general, el patrón de crecimiento de las bacterias en un reactor por lotes es el siguiente:

Inicialmente, un número de organismos es inoculado en un volumen fijo como medio de cultivo, y el número de microorganismos viables está en función del tiempo, debido a que conforme pase el tiempo, va aumentando el número de los mismos. El patrón de crecimiento basado en el número de células tiene cuatro fases más o menos distintivas. La figura 2.4 muestra la curva típica de crecimiento microbiano, (Bailey & Ollis, 1977).

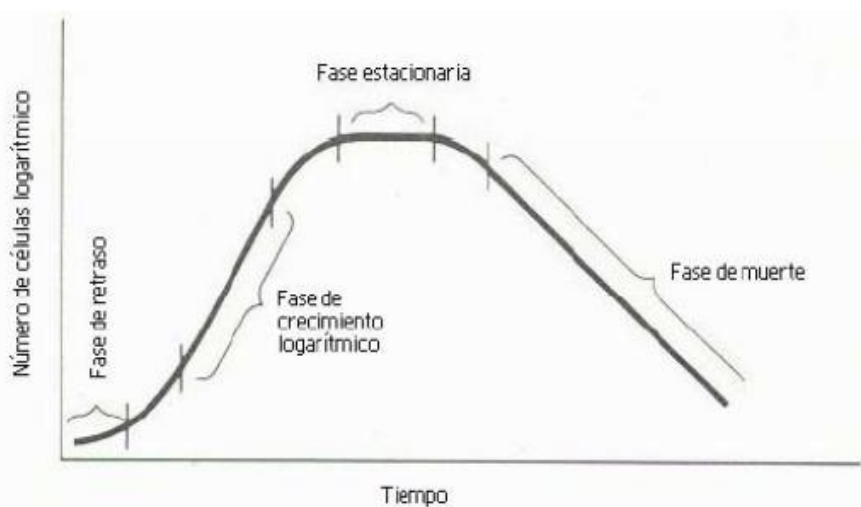


Figura 2. 4. Curva típica de crecimiento microbiano. (Balley&Ollis, 1977).

Fase de retardo. Representa el tiempo requerido por los organismos para aclimatarse a su nuevo medio y comienzan a dividirse, tras la adición del inóculo en el medio de cultivo.

Fase de crecimiento logarítmico. Durante este periodo las células se dividen a una rapidez determinada por su tiempo de generación y su habilidad para procesar la comida (constante de rapidez de crecimiento porcentual).

Fase estacionaria. El crecimiento de la población está en estado estacionario, esto se adjudica a lo siguiente (a) las células han agotado el sustrato o nutrientes para su crecimiento, y (b) el crecimiento de las nuevas células se ve compensado por la muerte de las células viejas.

Fase de muerte. Durante esta fase, la bacteria muere a una rapidez que excede la producción de nuevas células. La rapidez de inhibición generalmente está en función de la población viable y las características del medio. En algunos casos, la fase de muerte es inversa a la fase de crecimiento logarítmica.



2.7.1 Teoría de la biopelícula.

El término biopelícula , hace referencia a una serie de microorganismos que se encuentran en un exopolímero de glicocálix (75%) y que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies, ya sean blandas, animadas e inanimadas, (Betancourth, M. *et al.* 2004). El exopolímero que es producido por los mismos microorganismos, forma una matriz adherente en donde estos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos. La estructura de la biopelícula es morfológica y fisiológicamente distinta a la de las bacterias libres, además de que es muy dinámica, ya que su composición y características cambian con el tiempo, (Welter, *et al.* 2005).

Aunque la composición de la es variable en función del sistema en estudio, en general, el componente mayoritario del es el agua, que puede representar hasta un 97% del contenido total. Además de agua y de las células bacterianas, la matriz de la biopelícula es un complejo formado principalmente por exopolisacáridos, (Sutherland, 2005). En menor cantidad se encuentran otras macromoléculas como proteínas, DNA y productos diversos procedentes de la lisis de las bacterias, (Branda, *et al.*, 2005).

Se han realizado estudios, utilizando microscopia confocal que ha demostrado que la arquitectura de la matriz de la no es sólida y presenta canales que permiten el flujo de agua, nutrientes y oxígeno incluso hasta las zonas más profundas. La existencia de estos canales no evita que dentro de la biopelícula se encuentren diferentes ambientes en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno es diferente. Lo que hace que la heterogeneidad sobre el estado fisiológico en el que se encuentra la bacteria dentro de la . (Costerton, *et. al;* 1995. Davey, *et. al;* 2000. Stoodley *et. al;* 2002). Ahora bien, para que no se generen productos indeseables se usa un sólido que sea inerte. Por estas razones, se presentan colonias mixtas de organismos, los cuales pueden ser aerobios y anaerobios, esto va a depender del grosor de la y el tiempo que el



soporte este sumergido en el medio de donde toma el alimento y la fuente de energía (Bailey & Ollis, 1977).

2.7.2 Etapas en el proceso de la formación de la

La formación de la biopelícula se puede describir en tres etapas:

La etapa inicial del proceso de formación de biopelícula es la adherencia sobre la superficie. Esta etapa parece estar influenciada por la movilidad de las células. Aunque la movilidad ayuda al proceso no parece ser un requisito esencial, ya que muchas bacterias Gram positivas inmóviles como estafilococos, estreptococos, entre otros son capaces de formar una biopelícula, (Cucarella, *et al.*, 2001; Toledo, *et al.*, 2001). Los microorganismos, al estar en contacto directo con el agua, toman los elementos necesarios para su desarrollo, los cuales son metabolizados por difusión molecular. Las fuerzas que reinan son las atracciones electrostáticas y las fuerzas de Van der Waals, (Wieasmann, 2007). En esta etapa las propiedades superficiales gobiernan significativamente.

Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de la unión, formando una microcolonia similar a como ocurre durante el proceso de formación de las colonias en las placas de agar. Esto se debe a que cuando las células están en contacto con el oxígeno y el sustrato, son capaces de crecer a su nivel máximo, (Welter, 2005)

Finalmente, algunas bacterias de la matriz de la biopelícula se liberan de la misma para poder colonizar nuevas superficies, además se da la producción de material extracelular lo que facilita la fijación de los microorganismos; cerrando el proceso de desarrollo de formación de la biopelícula. En esta etapa el crecimiento de la está en función de la tasa de crecimiento, de la estabilidad de la y del contacto con el agua que fluye, (Wieasmann, 2007).



Por medio de los fenómenos de transporte de difusión y convección los nutrientes son transportados a través de la biopelícula. Aunque ya se dijo que hay canales por los que corre el oxígeno a las capas de la misma, en si el O_2 está en contacto con la superficie externa, por lo que existen microorganismos anaerobios, lo cuales están en la profundidad de la biopelícula. En la figura 2.6, se muestra un esquema de la formación de la de biomasa en el soporte, (Welter *et al*, 2005).

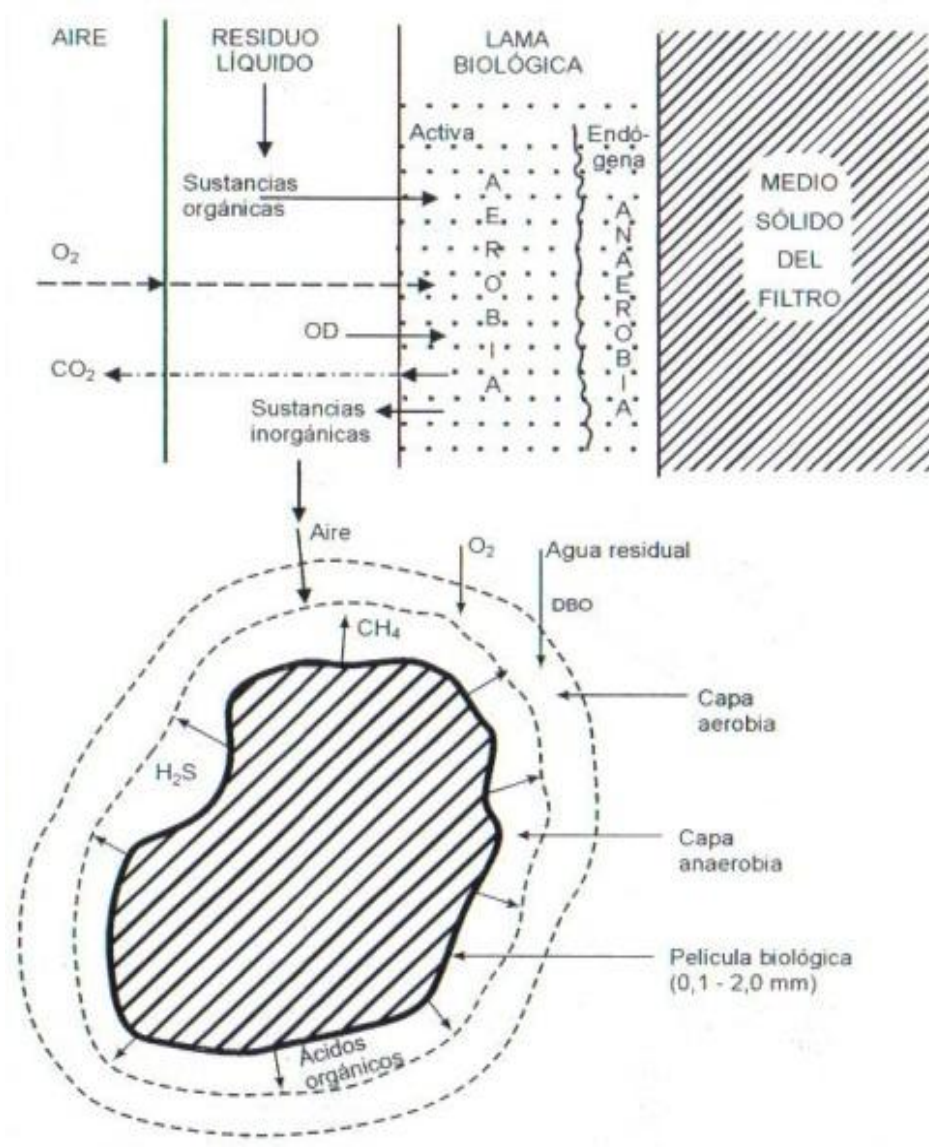


Figura 2. 5. Representación de la y transformación de la materia orgánica.



Algunas características importantes para favorecer la adherencia de los microorganismos al soporte, se muestran en la tabla 2.6:

Tabla 2. 6. Características del soporte para una mejor adhesión, (Torres, 2009).

Parámetro	Característica
Carga electrostática del soporte	Debe ser positiva debido a la carga negativa de los microorganismos sea
Afinidad por el agua	Esta debe ser baja, para que atraiga eficazmente a los microorganismos formadores de s.
Porosidad	Los poros deben de ser profundos, debido a que gracias a éstos los microorganismos entran brindándole una mayor estabilidad a la .

2.8 Diseño de experimentos.

“El diseño de experimentos (DDE) es un conjunto de técnicas activas, en el sentido de que no esperan de que el proceso mande las señales útiles, sino que éste se “manipula” para que proporcione la información que se requiere para la mejoría del experimento” ,(Gutiérrez y De la Vara, 2004).

Existen muchos diseños experimentales para estudiar la gran diversidad de problemas que ocurren en la práctica. Los diseños de experimentos se clasifican de acuerdo a su objetivo y su alcance.

Los cinco aspectos que más influyen en la selección de un diseño experimental son:

- El objetivo del experimento.
- El número de factores a estudiar.
- El número de niveles que se prueban en cada factor.



- Los efectos que interesa investigar.
- El costo del experimento, tiempo y precisión deseada, (Gutiérrez y De la Vara, 2004).

Ahora bien, dependiendo del objetivo, los experimentos se pueden clasificar en:

- ✓ Diseños para comparar dos o más tratamientos
- ✓ Diseños para estudiar el efecto de varios factores sobre varias respuestas.
- ✓ Diseños para determinar el punto óptimo de operación del proceso.
- ✓ Diseños para la optimización de una mezcla.
- ✓ Diseños para hacer el producto o proceso insensible a factores no controlables, (Gutiérrez y De la Vara 2004).

2.8.1 Diseño factorial.

El objetivo de un diseño factorial es estudiar el efecto de varios factores sobre una variable de respuesta o característica de calidad; es decir, lo que se busca es estudiar la relación entre los factores y su respuesta, (García, 2008).

En el diseño factorial (2^3) se estudian tres factores con dos niveles cada uno y sus experimentos contemplan todas las combinaciones de cada nivel de un factor con todos los niveles de los otros factores. En este tipo de diseños experimentales se deben de realizar 8 experimentos según el resultado factorial de 2^3 ($2^3=2*2*2=8$), La figura 2.7 se muestra la representación geométrica antes descrita.

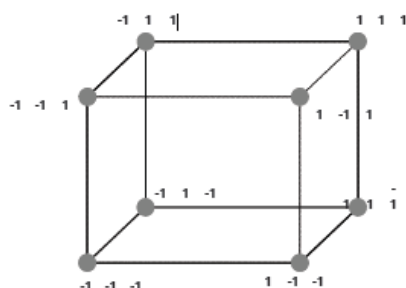


Figura 2. 6. Representación geométrica del diseño de experimentos 2^3 .

La matriz comprende 2^3 filas ($2 \times 2 \times 2 = 2^3$ experimentos) y 3 columnas, que corresponden a los factores en estudio. En la tabla 2.7 se muestra la matriz 2^3 para un estudio de tres factores.

Tabla 2. 7. Matriz 2^3 para el estudio de tres factores.

3.1 Experimentos	3.2 Factores		
	X_1	X_2	X_3
1	-	-	-
A	+	-	-
B	-	+	-
Ab	+	+	-
C	-	-	+
Ac	+	-	+
Bc	-	+	+
Abc	+	+	+

Con este diseño se pueden estudiar $2^3 - 1$ efectos, tres efectos principales (A, B, C), tres interacciones dobles (AB, BC, AC) y una interacción triple (ABC). Por lo general el interés se centra en estudiar los efectos principales y las interacciones dobles ya que las interacciones mayores no influyen de manera significativa, (Gutiérrez y de la Vara, 2004).



2.8.2 Metodología de superficie de respuesta.

La metodología de Superficie de Respuesta es un conjunto de técnicas utilizadas en el estudio de la relación entre una o más respuestas y un conjunto de factores o variables independientes y donde el objetivo es optimizar la variable de respuesta.

Dicha metodología se realiza mediante una experimentación secuencial, esto es, la aproximación a la región de interés de forma iterativa utilizando diseños cada vez más complejos que dependen de la información que se obtiene en cada etapa.

La Metodología de Superficie de Respuesta (MSR), fue introducida por Box y Wilson y es una colección de técnicas que permite al investigador inspeccionar una respuesta, que se puede mostrar como una superficie, cuando los experimentos investigan el efecto que tiene el variar factores cuantitativos en los valores que toma una variable dependiente o respuesta. Esto es, se trata de encontrar los valores óptimos para las variables independientes que maximizan, minimizan o cumplen ciertas restricciones en la variable de respuesta, (Figuroa, 2003).

La representación matemática de los modelos de MSR puede ser de diversas maneras. La ecuación 1 representa un modelo de primer orden (lineal) sin interacciones o productos cruzados:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + e \quad \text{ec. 1}$$

El modelo lineal de primer orden con interacciones:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{j=2}^k \sum_{i=1}^{j-1} \beta_{ij} x_i x_j + e$$



Donde e representa el error observado en la respuesta y . En la metodología de superficie de respuesta se supone que la variable respuesta y está en función de los niveles de los factores cuantitativos representados por las variables x_1, x_2, \dots, x_k . Los modelos polinomiales se utilizan como una aproximación a la función de respuesta real, y generalmente son buenas aproximaciones cuando se trabaja en pequeñas zonas de los factores cuantitativos, (Figueroa, 2003).

2.8.3 Diseño Compuesto Central.

En este diseño experimental se permite un nivel de prueba intermedio que se le conoce como punto central. Hay dos razones para correr el punto central con cierto número de réplicas, la primera es para obtener grados de libertad adicionales para el error en la tabla del ANOVA y la otra es para detectar una posible curvatura en alguno de los factores objeto de estudio (Gutiérrez y De la Vara 2004).

Este diseño consiste en un factorial o factorial fraccionado 2^k donde los factores son codificados de tal manera que el centro sea $(0,0,\dots,0)$, aumentado por $2k$ puntos axiales $(\pm \alpha, 0, \dots, 0)$, $(0, \pm \alpha, 0, \dots, 0)$, $(0, 0, \pm \alpha, \dots, 0)$, $(0, 0, 0, \dots, \pm \alpha)$, y n_c puntos centrales $(0,0,\dots,0)$. Otra propiedad útil de este proceso es que puede “crecer” a partir de un diseño de primer orden agregando puntos axiales y quizá algunos puntos centrales (n_0). De acuerdo a Montgomery (2002) este método es el más usado cuando se utilizan tres variables.



CAPÍTULO 3.

3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

En este capítulo se presenta la metodología utilizada para el desarrollo del presente proyecto, la cual se describe en el diagrama 3.1.

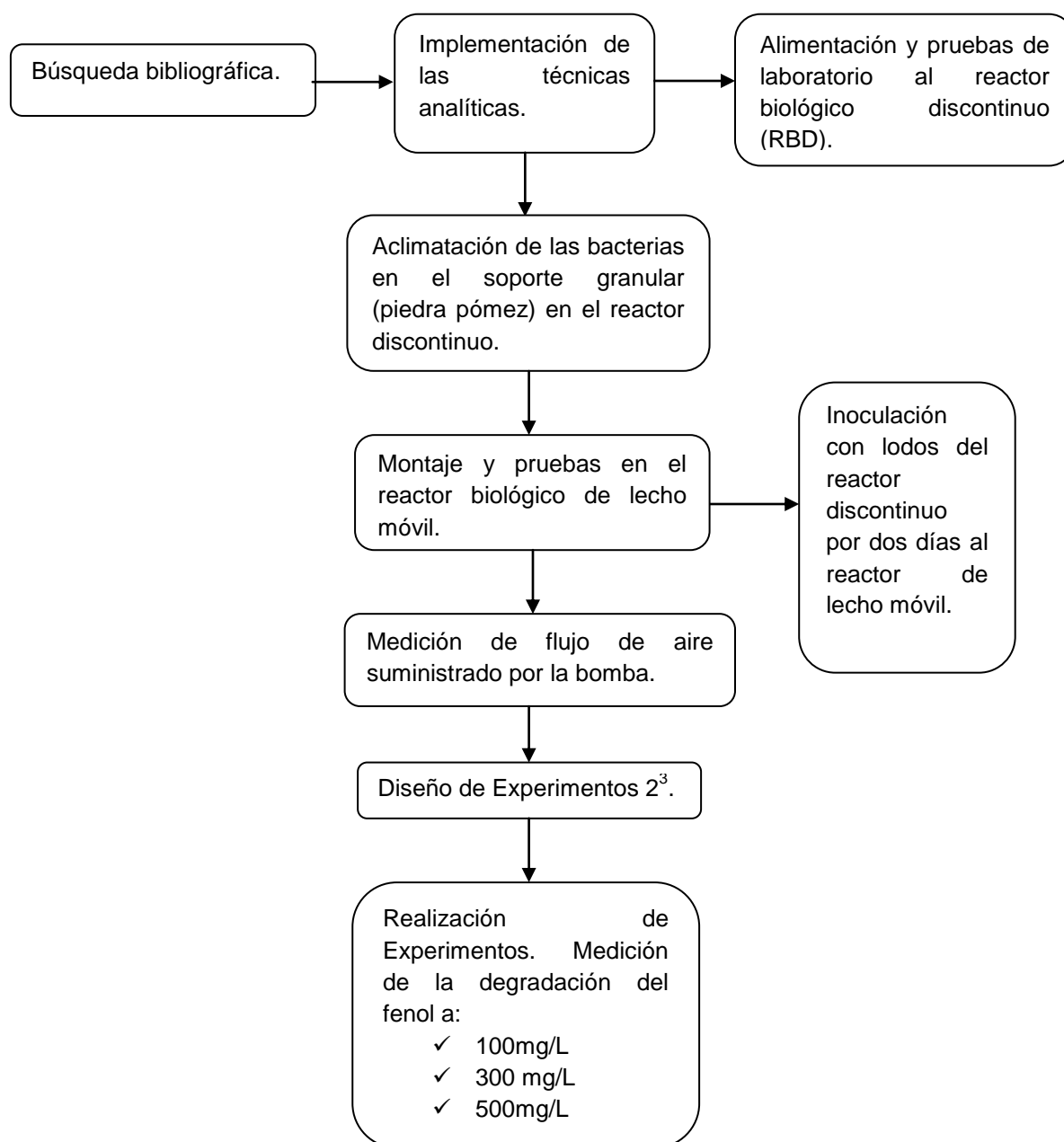


Diagrama 3. 1. Metodología experimental para la Evaluación Técnica de Soportes Granulares en un Reactor Biológico de Lecho Móvil para degradar compuestos fenólicos.



3.1 Implementación de las técnicas analíticas.

Para aplicar las técnicas analíticas primero se leyeron y entendieron las diferentes normas referentes a cada uno de los parámetros a medir, después se aplicaron al efluente de los dos reactores (RBD, RBLM). En la tabla 3.1 se enlistan las técnicas utilizadas, así como la NMX aplicada o equipo utilizado.

Tabla 3. 1. Técnicas y aparatos utilizados para la medición de los diferentes parámetros (DQO,COD, fenoles, pH y turbiedad).

Parámetros	Técnica Analítica/ Equipo analítico	Unidad
COD	Analizador de COT, ShimadzuToc-V	mg/L
DQO	Directo espectrofotométrico a 605 nm	mg/L
FENOLES	Directo espectrofotométrico a 505 y 269 nm	mg/L
FENOLES	UV-Vis a 207 nm	mg/L
pH	Medidor de pH Orión 210 ^a y electrodo pH	Mg fenoles totales/L
TURBIDEZ	HANNA instruments HI98703	NTU

- NMX-AA-030-SCFI-2001. Análisis de agua para determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, (Anexo A1.2).
- NMX-AA-034-SCFI-2001. Análisis de agua para la determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales tratadas, (Anexo A.1.3),
- NMX-AA-050-SCFI-2001. Análisis de agua, para la determinación de fenoles totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas, (Anexo A.1).
- Medición de concentraciones de fenol por medio de la absorción del fenol en la región de la longitud de onda de ultravioleta, (Mkandawire *et al.*, 2009), (Anexo A.1.4).



Para la determinación de color y turbidez se realizó con un HANNA Instruments, Ion Specific Meter, color of water. Para la determinación de pH se utilizó un electrodo Orion modelo 525. Se determinó el Carbono Orgánico Disuelto (COD) mediante un equipo de TOC-V Shimadzu.

3.2 Pruebas previas de laboratorio al reactor biológico discontinuo.

El análisis cuantitativo descrito en el punto anterior se realizó diariamente durante un período de tiempo igual a 63 días, divididos en cuatro fases, debido a que hubo alteraciones en el sistema. Se alimentó el RBD; cuyo volumen era de 30 L, en un comienzo con concentraciones de 100 mg/L de fenol, por un periodo aproximado de 30 días a partir del 22 de junio (fase 1 y 2). Se aumentó gradualmente la concentración del contaminante hasta alcanzar concentraciones de 490 mg/L, a partir del día 31 hasta el 60, (fase 3 y 4). En dicho periodo, también se comenzó a inocular el soporte de piedra pómez. Otro factor importante considerado, fue la alimentación de los nutrientes; suministrada cada 15 días, para el óptimo crecimiento de los microorganismos, los volúmenes utilizados de cada una fueron 10 mL de la solución A, 1 mL de la solución B, C y D por cada L de agua a tratar. En la tabla 3.2 se muestran las concentraciones utilizadas de cada una de las soluciones.



Tabla 3. 2. Composición de las soluciones nutritivas. (Lazcano-Arriola, et al., 2003).

	Nombre	Formula	Conc. (mg/L)
Solución A	Fosfato monobásico de potasio	KH_2PO_4	0.85
	Fosfato dibásico de potasio	K_2HPO_4	2.175
	Fosfato dibásico de sodio	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	3.34
	Cloruro de amonio	NH_4Cl	0.05
Solución B	Cloruro de calcio	CaCl_2	0.275
Solución C	Sulfato de magnesio	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.225
Solución D	Cloruro de hierro	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0025

3.3 Aclimatación de las bacterias en el soporte granular (piedra pómez en el reactor discontinuo).

El soporte utilizado fue piedra pómez, el cual anteriormente se caracterizó mediante una prueba cinética descrita por la ecuación de BET (Anexo A 2.1) debido a que se tomó del soporte restante al utilizado por Torres en el 2009. La muestra utilizada fue de un tamaño de malla 25 (Torres, 2009). En la tabla 3.3 se pueden ver los resultados obtenidos para esta prueba de caracterización.

Tabla 3. 3. Caracterización del soporte (piedra pómez), (Torres, 2009).

Datos	Valor	Unidades
Superficie de área	1.349	m^2/g
Volumen de poro	0.003941	cc/g
Tamaño de poro	116.9	Å

Para la formación de la *S. aureus* en el soporte, se utilizaron los estudios realizados por Torres en el 2009. En dicho trabajo se inoculó el soporte por 15 días, dando como resultado un alto desprendimiento de la *S. aureus*. Por lo tanto, se pensó que a un



mayor tiempo de inoculación se obtendrían mejores adiciones de la al soporte, por lo que, la inoculación fue de dos meses.

Considerando los resultados obtenidos en un trabajo anterior (Torres 2009). Se colocó un volumen de 104 g de soporte en una malla de nylon, la cual fue sumergida dentro del reactor biológico discontinuo, por un periodo de dos meses, a partir del día 20 de julio, con la finalidad de que la piedra pómez estuviera en contacto directo con los lodos y favorecer el crecimiento de la biopelícula. Después de este periodo se determinaron los SSV (biomasa y película líquida), para conocer la concentración de biomasa en el reactor biológico de lecho móvil. Esto se realizó aplicando el método propuesto por Nicolella y colaboradores en 1997, (Anexo A.1.4).

3.4 Montaje y pruebas en el reactor biológico de lecho móvil

Se utilizó una columna de vidrio de 0.9 L de volumen total. Una vez montada la columna, se colocó dentro de la misma el soporte ya inoculado, para después echara a andar el sistema, el día 22 de septiembre del 2009. En la primera etapa, por un periodo aproximado de quince días, se aplicó el mismo flujo de aire y el TRH reportados por Torres en el 2009 (Anexo 4.1). La temperatura a la que se trabajo fue de 25 ± 3 °C. El flujo de aire y agua sintética fue suministrado por la parte inferior de la columna. Para el aire se utilizó un difusor y una bomba Optima de 4.5 W con la finalidad de tener una distribución más eficiente de oxígeno a lo largo de la columna. El agua sintética fue suministrada por medio de una bomba de marca Ismatec Ecoline modelo C.P. 78022-40 y fue monitoreada por la parte superior. La figura 3.1 muestra un esquema del reactor utilizado.

Con la finalidad de estabilizar el soporte, se dejaron pasar lodos del reactor biológico discontinuo a través del RBLM por un período de dos días. Sin hacer ninguna prueba en dicho periodo.

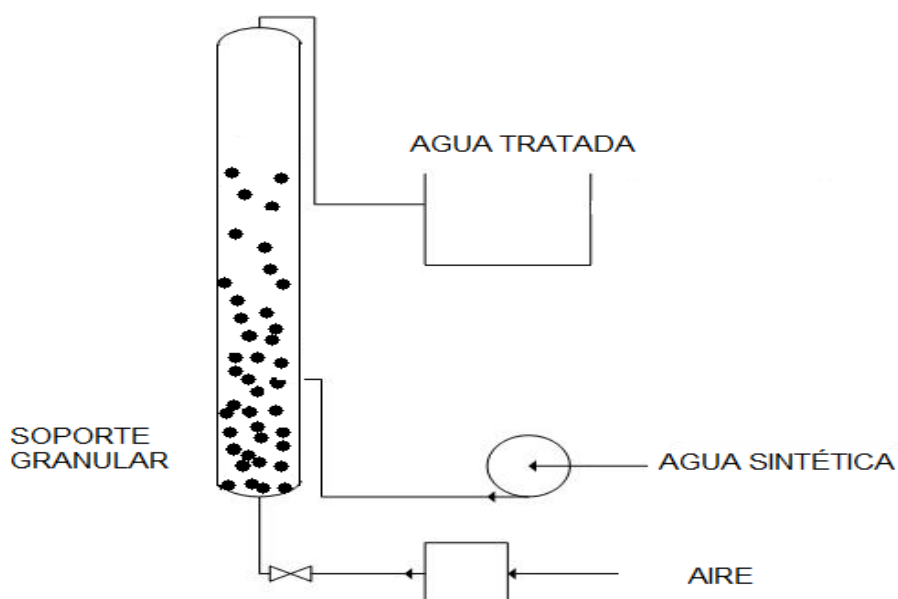


Figura 3. 1. Esquema del Reactor Biológico de Lecho Móvil.

3.4.1 Pruebas experimentales al Reactor Biológico de Lecho Móvil.

En un mes, se modificó dos veces el flujo del influente, en cada caso se calculó el Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) mediante la siguiente expresión:

$$TRH = \frac{\text{volumen útil}}{\text{flujo}}$$

Para la medición del flujo, se colocó una probeta de 10 mL. a la salida del RBLM y se midió hasta que se llenara el volumen. Con los datos anteriores, se calculó el flujo por medio de la siguiente ecuación.

$$\text{Flujo de bomba} = \frac{Vol_{\text{probeta}}}{\text{Tiempo de llenado}}$$

Se tomaron, tanto en el influente como en el efluente 70 mL de muestra, para después ser filtrados por vacío y realizar las técnicas analíticas, con la finalidad de cuantificar las remociones de COD, DQO, fenoles totales, SST y SSV. Con lo anterior, se obtuvo el comparativo en las remociones obtenidas con cada uno de los flujos y se determinó así el efecto de éste durante la experimentación.



3.5 Diseño de experimento.

Se planteó un diseño de experimentos con base a las condiciones establecidas en las pruebas realizadas al flujo uno como al flujo dos; optando por el flujo uno para aplicarlo al diseño de experimentos, debido a que se pensó que el reactor no resistiría cargas orgánica de más de 300 mg/L de contaminante a un flujo mayor. Se utilizó un diseño experimental 2^3 con replica al centro en el cual se analizaron tres factores y dos niveles. Las variables a considerar fueron: la concentración en el influente, nutrientes y flujo de oxígeno. En cada variable se seleccionaron tres valores, y dos niveles para lo cual se consideró un valor mínimo, un intermedio y un máximo. En la tabla 3.4 se muestra el diseño experimental para el tratamiento de aguas sintéticas.

Tabla 3. 4. Diseño experimental para el tratamiento de aguas sintéticas en el Reactor Biológico de Lecho Móvil.

Experimento	Concentración Fenol [mg/L]	Nutrientes	Flujo Oxígeno [L/min]
1	100	1,00	0,89
2	100	0,10	0,89
3	100	0,10	0,37
4	100	1,00	0,37
5	300	1,31	0,63
6	300	0,55	1,06
7	300	0,55	0,63
8	300	0,55	0,63
9	300	0,55	0,19
10	500	1,00	0,37
11	500	1,00	0,89
12	500	0,10	0,89
13	500	0,10	0,37
14	636,4	0,55	0,63
15	300	0,00	0,63
16	0	0,55	0,63



3.6 Realización de experimentos.

Durante la realización experimental, se alimentó el reactor con las concentraciones de contaminante, la cantidad de nutrientes y el flujo de oxígeno arrojados por el diseño de experimentos.

Se dejaba estabilizar el sistema de 12 a 14 horas; dependiendo de la concentración de fenol en el influente, para después tomar una muestra tanto en la entrada como a la salida del RBLM de un volumen aproximado de 70 mL. A continuación, se procedía a filtrar al vacío las muestras, para después realizar las diferentes técnicas analíticas y obtener las remociones de cada uno de los parámetros. Lo anterior se realizó a lo largo de 52 días de trabajo experimental.

Una vez obtenidos los datos generados por el diseño de experimentos, se generó una superficie de respuesta representando gráficamente el modelo ajustado para cada uno de los diferentes parámetros de estudio, y así ver su comportamiento modificando diferentes variables al mismo tiempo.



CAPÍTULO 4.

4 Resultados y Análisis.

Los lodos del reactor biológico discontinuo; fueron utilizados para inocular el soporte granular para el reactor de Lecho Móvil.

Una vez que el soporte estuvo inoculado, se midieron y colocaron 105 gramos del soporte granular en el RBLM, y se alimentó por dos días con lodos del reactor discontinuo, para después alimentar con aguas sintéticas con una concentración de 100 mg/L de fenol.

Los resultados obtenidos a lo largo de la experimentación para el RBLM; utilizando un soporte granular con biomasa adherida, fueron realizados en base a los parámetros más importantes para la degradación; por parte de los microorganismos, de aguas sintéticas contaminadas con fenol, dichos parámetros fueron: fenoles totales, DQO, COD, SST y SSV.

En el reactor biológico discontinuo y en el reactor biológico de lecho móvil se lograron remociones de fenol de hasta el 99%, esto según los datos obtenidos por la técnica de fenoles totales y por los obtenidos por el método de longitud de onda ultravioleta (UV-Vis), al igual que altas remociones en los demás parámetros (DQO y COD).

4.1 Pruebas previas de laboratorio al reactor discontinuo.

En el caso del reactor discontinuo, se midió la remoción de fenol desde el día 22 de junio hasta el 9 de noviembre, como se puede notar en la figura 4.1. Los resultados fueron obtenidos mediante la técnica para la medición de fenoles totales (NMX-AA-050-SCFI-2001).

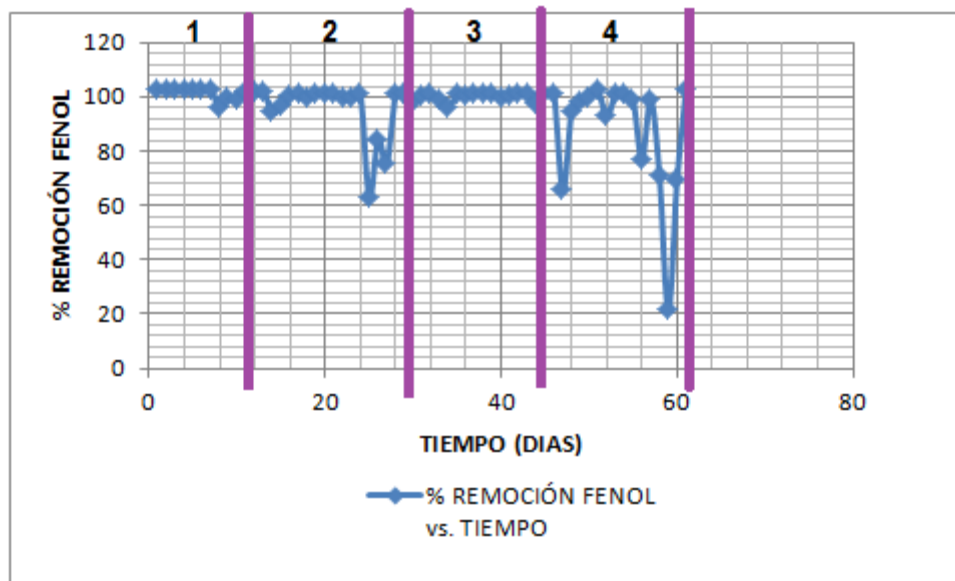


Figura 4. 1. Remoción de Fenol a lo largo del tiempo.

En la primera y en la segunda fase, la concentración de fenol fue de 100 mg/L. En los primeros 15 días, las remociones de fenol fueron elevadas, pero para la segunda fase, las remociones bajaron aproximadamente a un 60%, esto se atribuye a que no había la cantidad suficiente de nutrientes en el sistema, debido a que una vez que se agregó la cantidad requerida de los mismos el sistema se volvió a estabilizar. A partir del día 31, se aumentó la cantidad de sustrato suministrado al RBD; ya que los 100 mg/L eran insuficientes para la cantidad de lodos que habían crecido en el sistema. En esta etapa, también se comenzó a inocular el soporte de piedra pómez por un periodo de dos meses. Para la etapa 4, la concentración de contaminante ya era de 330 mg/L. Como se puede notar disminuyó de la remoción de fenol, lo cual se atribuye a la aireación, porque los sistemas que se estaban tratando eran aerobios forzados, por lo que la ausencia de oxígeno, provoca que los microorganismos se inhiban, lo que hace que la remoción disminuya. Otros factores que también afectaban las remociones de fenol, eran el crecimiento de los lodos (en el caso del reactor discontinuo), ya que se llegaba a una concentración de lodos elevada, lo que provocaba que la aireación ya no fuera suficiente, por lo que la concentración de oxígeno se volvía una limitante en el sistema. Por otro lado, la



concentración de nutrientes, también provocaba que la degradación del contaminante disminuyera, debido a que sin éstos el crecimiento de los microorganismos no es posible, lo que provocaba que no se llevara adecuadamente el proceso de biodegradación.

Cabe mencionar, que las remociones de un 100% de contaminante a lo largo de toda la experimentación, se atribuyen a que la técnica aplicada (NMX-AA-050-2001) para la medición de la concentración de fenol no es tan sensible a concentraciones tan pequeñas, siendo de 0.001 mg/L el valor más pequeño que detecta. Por lo que, los resultados se comportan de la manera antes mencionada.

4.2 Aclimatación de las bacterias en el soporte granular (piedra pómez) en el reactor discontinuo.

Por un periodo de dos meses el soporte estuvo sumergido en los lodos del reactor biológico discontinuo, al terminar dicho periodo se determinaron los SVT. Los resultados mostraron la existencia de materia orgánica en el soporte debido a que se tienen 36.37 mg SVT/g soporte con respecto al valor inicial de cero, lo que indica que se tuvo un crecimiento de biomasa. Además, después se observó el soporte al microscopio, mostrando la formación de la biopelícula .

En la figura 4.2, se muestran las fotografías que se obtuvieron en el Microscopio Biológico Olympus CH30. En ellas se muestra una comparación entre el soporte sin biomasa y con biomasa adherida.

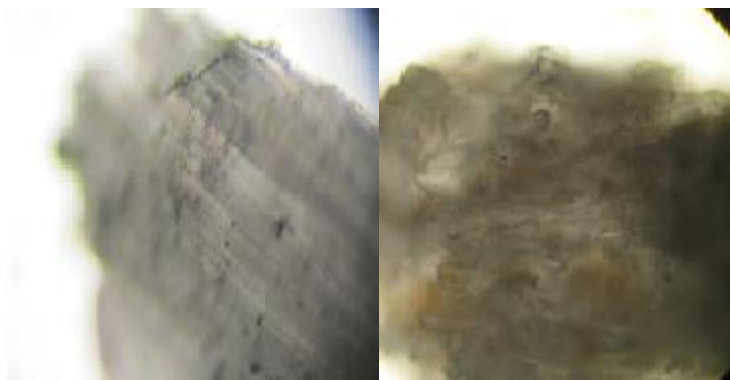


Figura 4. 2. Comparación del soporte con y sin .

4.3 Montaje y pruebas en el reactor biológico de lecho móvil.

Ya que se constató la presencia de biomasa en el soporte, se procedió a colocarlo en el reactor biológico de lecho móvil y se alimentó con lodos del RBD para estabilizar el soporte por un periodo de dos días. Una vez estabilizado el sistema, se alimentó con agua sintética que contenía como contaminante modelo fenol. Se planteó el tratamiento del influente a dos flujos diferentes, los flujos a los que estuvo sometido el reactor fueron de $0.7 \text{ m}^3/\text{min}$ y $1.34 \text{ m}^3/\text{min}$ aproximadamente, en un periodo de 15 días respectivamente. Con estos datos, se calculó el tiempo de residencia hidráulico para cada flujo, los cuales fueron de $\text{TRH}_1= 22 \text{ hrs.}$ y de $\text{TRH}_2=11 \text{ hrs.}$

4.3.1 Pruebas experimentales al Reactor Biológico de Lecho Móvil.

Para ambos flujos se realizaron pruebas en el RBLM midiendo la remoción de diferentes parámetros. Los resultados de la remoción de fenol, COD y DQO en el RBLM con aguas sintéticas se muestran en las tablas 4.1, 4.2 y 4.3 y en las figuras 4.3, 4.4, 4.5 respectivamente.



Tabla 4. 1. Remoción de fenol en el influente para el RBLM por NMX-AA-050-SCFI-2001 y por método UV-VIS.

TIEMPO (días)	Flujo 1				Flujo 2			
	CRBM [mol/L] NOM 050	% remoción	CRBM [mol/L] UV-VIS	% remoción	CRBM [mol/L] NOM 050	% remoción	CRBM [mol/L] UV-VIS	% remoción
1	0	100	0,5	53	0	100	0,2	85
2	0	100	0,2	78	0	100	0,2	79
3	0	100	0,6	46	0	100	0,2	82
4	0	100	0,4	62	0	100	0,2	82
5	0	100	0,3	68	0	100	0,2	77
6	0	100	0,3	74	0	100	0,0	100
7	0	100	0,2	77	0	100	0,2	79
8	0	100	0,2	84	0	100	0,3	74
9	0	100	0,2	85	0	100	0,2	84

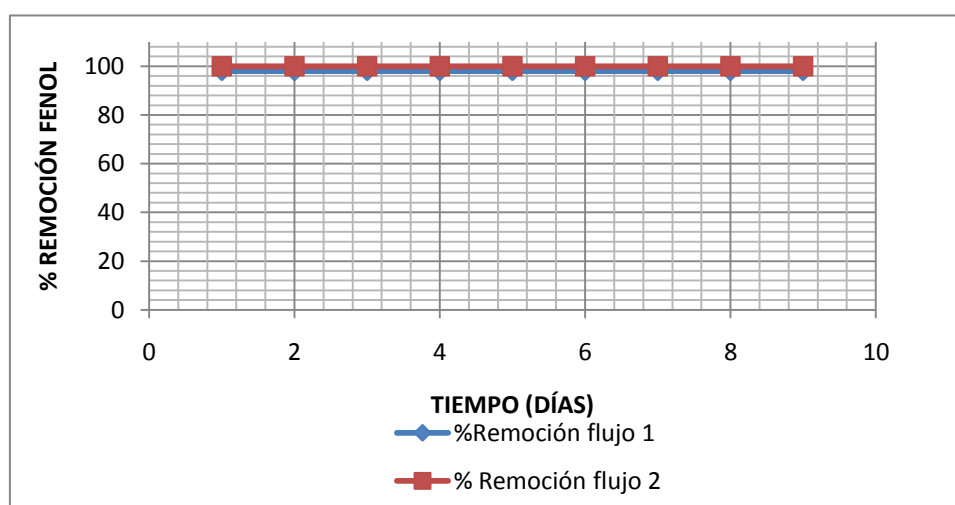


Figura 4. 3. Remoción de fenol en el influente por la NMX-AA-050-SCFI-2001 para ambos flujos.

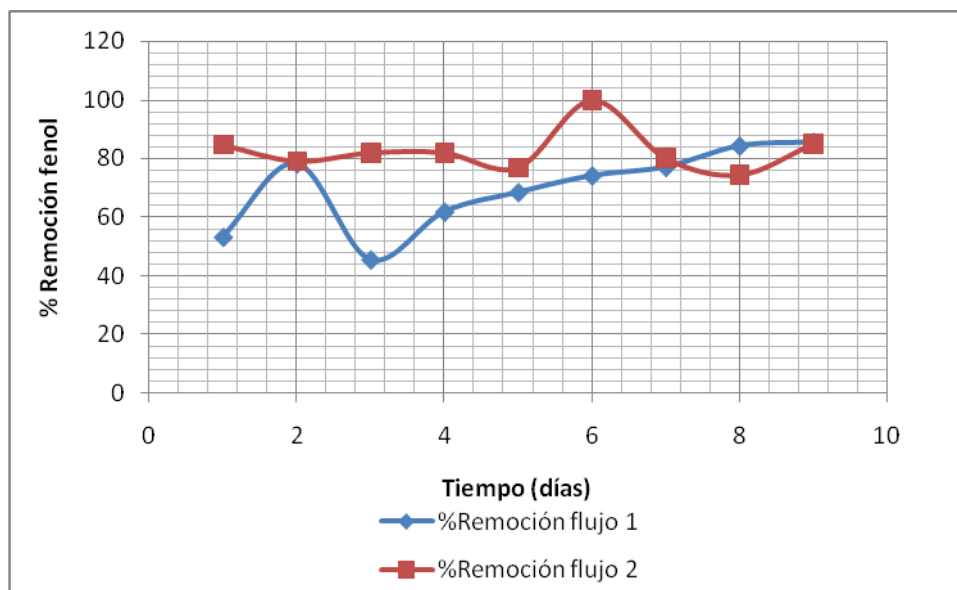


Figura 4. 4. Remoción fenol en el influente por el método UV-VIS para ambos flujos.

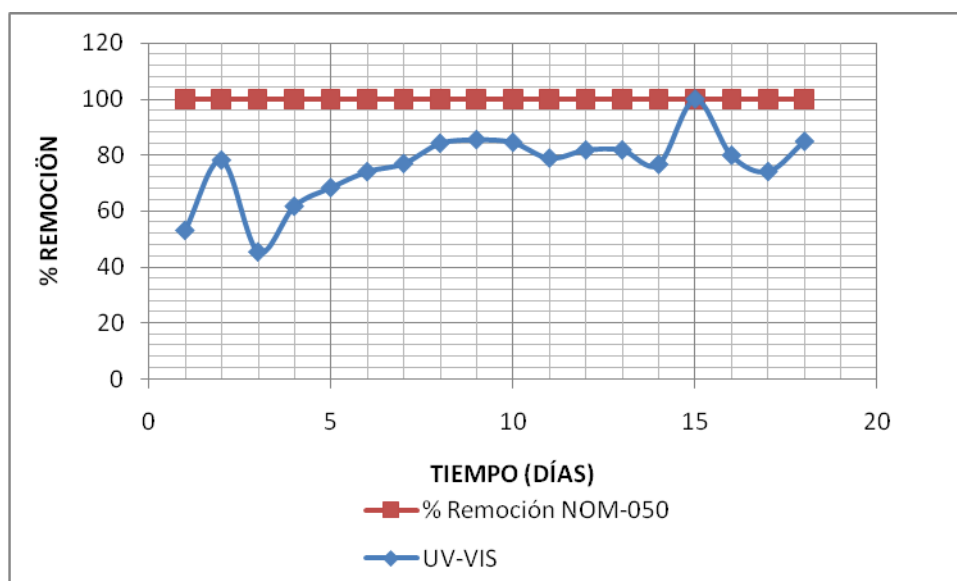


Figura 4. 5. Remoción fenol en el influente por ambos métodos.

Las remociones de fenol; en el caso de la MX-AA-050-SCFI-2001, son del 99% para ambos experimentos, lo cual indica que el aumento del flujo y por lo tanto la disminución del tiempo de residencia hidráulico a concentraciones relativamente bajas de contaminante son factores que no afectan en gran medida al RBLM en su desempeño.



Por otro lado, al aplicar el método de UV-VIS, se tienen remociones de fenol por debajo del 95% para ambos experimentos, esto se atribuye al hecho de que se forman otros derivados del fenol que con el método de la norma no pueden ser identificados debido a que con este se determinan fenoles totales. Cabe mencionar que con la técnica para medir fenoles totales (NMX-AA-050-SCFI-2001), es aplicable para concentraciones menores de 5 mg/L, por lo que en caso de que la concentración del influente y en algunas ocasiones la concentración del efluente sobrepasaban este valor, la técnica es inadecuada para la medición de la concentración de los fenoles. Es por esta razón que se implementó la técnica de longitud de onda ultravioleta, ya que con esta se obtienen mediciones de hasta 250 mg/L, la cual se aplicó para la medición de los fenoles en ambos reactores (reactor discontinuo y RBLM).

Los resultados obtenidos para los TRH mostraron que cuando este es mayor las remociones son menores lo cual puede deberse a que los microorganismos se inhiban y se presente una respiración endógena. Lo anterior se ve reflejado en la curva típica de crecimiento microbiano, (figura 2.4).

Otro de los factores a medir fue la remoción de Carbono Orgánico Disuelto (COD), en la tabla 4.2 y en la figura 4.6 se presentan los resultados.

Tabla 4. 2. Remoción de COD para el influente para el RBLM para ambos flujos.

Días	Flujo 1		Flujo 2	
	COD [mg/L]	% REMOCIÓN	COD [mg/L]	% REMOCIÓN
1	61	48	79	34
2	58	66	40	68
3	46	47	42	66
4	50	46	37	68

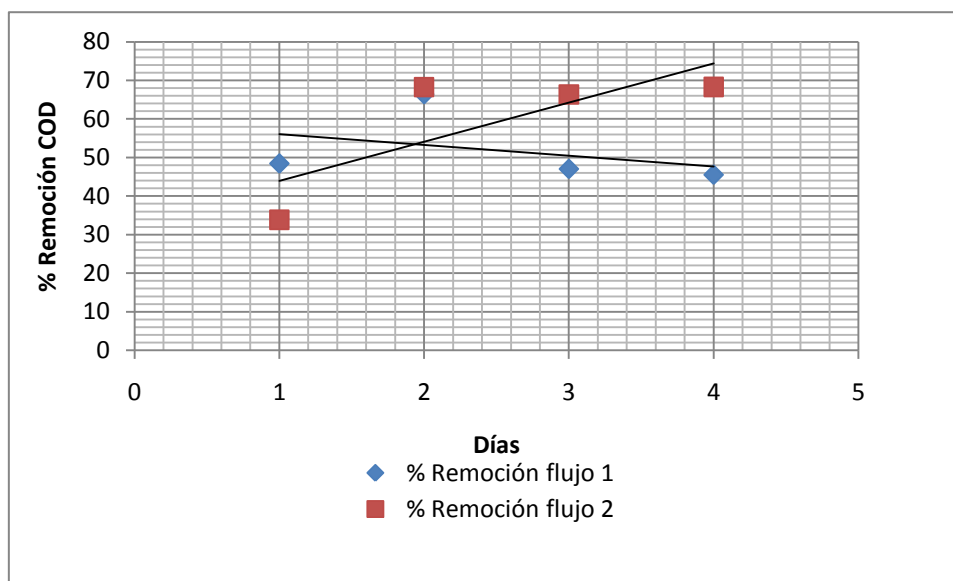


Figura 4. 6. Remoción de COD en el influente para el RBLM para ambos flujos.

La remoción de COD en el influente fue menor de un 80 % para ambos flujos; flujo 1 de $0.69 \text{ m}^3/\text{min}$ y flujo 2 de $1.39 \text{ m}^3/\text{min}$, lo cual también puede atribuirse a los microorganismos se inhiben, entrando a la fase de decaimiento lo que provoca que el COD aumente y las remociones sean pequeñas.

Comparando ambos flujos, se tienen mejor remociones en el flujo más grande, lo cual se atribuye a que dicho flujo dio un TRH que, respecto a la curva de crecimiento, se encuentra en la etapa de fase de crecimiento logarítmico, lo que provoca que la formación de siga su curso normal de crecimiento y desprendimiento, sin entrar a la etapa de decaimiento o muerte, como es el caso del TRH al flujo pequeño.

Otro de los parámetros que se evaluó durante la experimentación fue la DQO, en el RBLM (tabla 4.3 y figura 4.7).



Tabla 4. 3. Remoción de DQO en el influente para el RBLM para ambos flujos.

Días	Flujo 1		Flujo 2	
	DQO [mg/L]	% Remoción DQO	DQO [mg/L]	% Remoción DQO
1	15	93	78	34
2	54	76	170	39
3	7	96	12	93
4	41	80	94	68
5	120	49	86	67
6	99	63	133	58

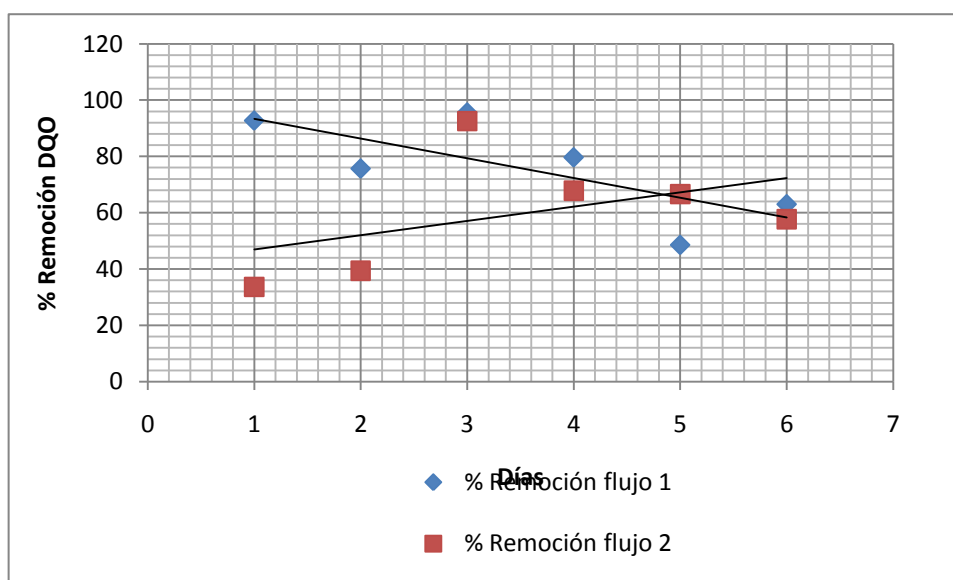


Figura 4. 7. Remoción DQO en el influente del RBLM para ambos flujos.

En el caso de la remoción de DQO, se dio el mismo comportamiento que en el de COD. Las remociones no fueron tan elevadas, aunque para un flujo mayor de carga orgánica suministrada al RBLM presenta un aumento en la remoción respecto al flujo pequeño. Lo anterior se atribuye a los mismos factores que se explicaron en el caso del COD.



Los resultados obtenidos con relación a los SST y los SSV (Anexo A.1.3), siendo éstos últimos los que indican la cantidad de biomasa que hay en el reactor, son mostrados en la tabla 4.4 y la figura 4.8.

Tabla 4. 4. Sólidos Suspendedos Totales y Sólidos Suspendedos Volátiles.

DÍAS	Flujo 1					Flujo 2				
	PF1 [g]	PF2 [g]	PF3 [g]	SST [mg/L]	SSV [mg/L]	PF1 [g]	PF2 [g]	PF3 [g]	SST [mg/L]	SSV [mg/L]
1	0,127	0,1282	0,127	20	80	0,1581	0,1587	0,1586	40	6,66
2	0,126	0,1287	0,1273	146,66	93,33	0,1578	0,1583	0,1582	33,33	6,66
3	0,126	0,1284	0,1267	160	113,33	0,1584	0,1592	0,159	53,33	13,33

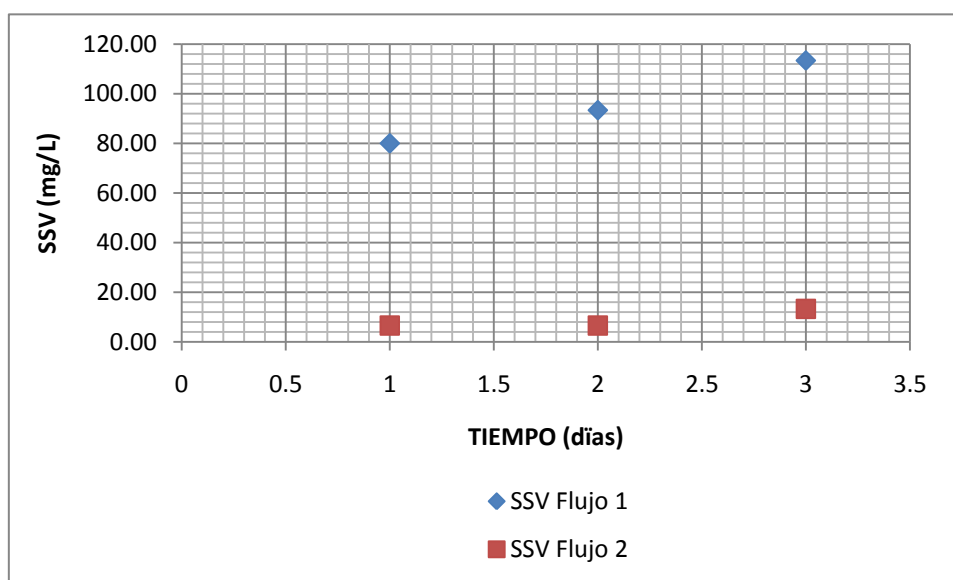


Figura 4. 8. SSV para ambos flujos en el RBLM.

En ambos casos, los sólidos suspendidos volátiles a la salida del reactor son muy pequeños en comparación de otros reactores, lo cual nos indica que el desprendimiento de la es pequeño pero mayor para el caso del flujo 1 donde se tiene el mayor TRH.

4.4 Diseño de experimentos

Con base al diseño de experimentos establecido inicialmente y al utilizar una herramienta del programa de Statgraphics. Los valores que se ingresaron al



programa para la concentración del influente fueron de 100-500 mg/L, para nutrientes fue de 0.1 a 1 siendo el 10 % y el 100% respectivamente correspondiendo esto a la mitad del valor reportado por la literatura. En el caso del oxígeno, se midió con un flujometro el flujo de la bomba, el cual arrojo los valores dependiendo si estaba al mínimo, a la mitad o al máximo del flujo de aire.

4.5 Realización de experimentos.

Se realizaron 16 experimentos, a lo largo de tres meses, variando la concentración del influente, nutrientes y el flujo de oxígeno, con el mismo TRH del flujo 1 establecido anteriormente. Lo anterior permitió identificar cuáles son las mejores condiciones en las que el reactor degrada el contaminante (fenol). La tabla 4.5 muestra la cantidad de nutrientes al 100% que se vertía en el influente, el flujo de oxígeno suministrado según el experimento, al igual que el volumen y el tiempo de residencia hidráulico para el RBLM.

Tabla 4. 5. Cantidad de nutrientes agregados al influente al 100%, Volumen y tiempo de residencia hidráulico, así como TRH.

NUTRIENTES		Reactor Biológico de Lecho Móvil (RBLM)				V [L]	TRH [hr]
Solución A	5 ml/L _{Alim.}		Máximo	Mínimo	Mitad	0,9	24
Solución B	1 ml/L _{Alim.}	# Flujometro	12	7	9,5		
Solución C	1 ml/L _{Alim.}	[L/min]	0,89219	0,37073	0,62936		

En la tabla 4.6 se muestran los resultados obtenidos en el diseño de experimentos a lo largo de 52 días de experimentación.



Tabla 4. 6. % Remoción en el RBLM de Fenoles, DQO, COD y SSV.

Exp.	Conc. Fenol [mg_/L]	Nutrientes	Flujo Oxigeno	%R COD	%R DQO	%R Fenol UV	%R Fenol NMX-50	SSV mg/L
1	100	1,00	0,9	54	72	54	100	216,67
2	100	0,10	0,9	59	89	90	100	16,83
3	100	0,10	0,4	65	58	92	100	18,00
4	100	1,00	0,4	59	100	91	100	40,00
5	300	1,31	0,6	81	90	94	100	72,00
6	300	0,55	1,	82	100	94	100	85,43
7	300	0,55	0,6	86	96	61	100	155,56
8	300	0,55	0,6	85	90	54	100	155,56
9	300	0,55	0,2	78	90	88	100	49,33
10	500	1,00	0,4	92	90	96	100	135,42
11	500	1,00	0,9	88	91	88	100	133,45
12	500	0,10	0,9	88	95	88	100	130,00
13	500	0,10	0,4	88	92	94	100	137,33
14	636,4	0,55	0,6	87	94	94	100	186,84
15	300	0,00	0,6	75	84	84	85	60,67
16	0	0,55	0,6	0	0	0	0	64,39

El gráfico de la superficie de respuesta para el porcentaje de remoción de la DQO se muestra en la figura 4.9, de COD en la figura 4.10, las remociones de fenol en la tabla 4.7 y por último la figura 4.11 la cantidad de sólidos suspendidos volátiles a la salida del reactor.

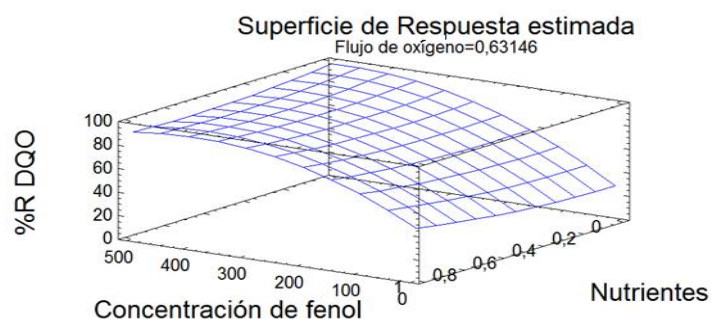


Figura 4. 9. Superficie de respuesta de % Remoción de DQO en el RBLM.

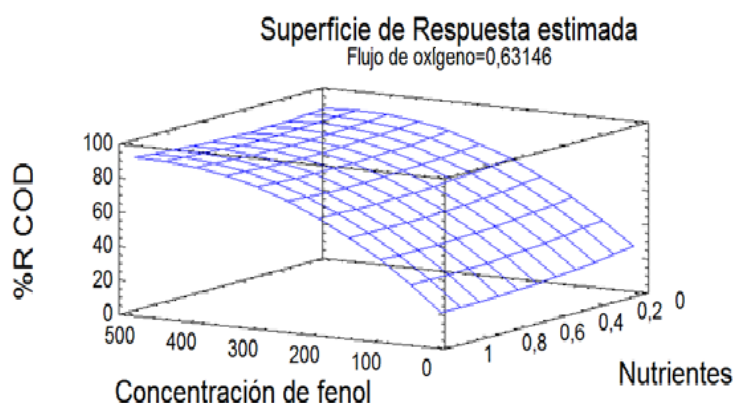


Figura 4. 10. Superficie de respuesta de % Remoción de COD en el RBLM.

Como se puede ver en el grafico las remociones de DQO y COD son mayores al 90% a concentraciones altas de hasta 500 mg de contaminante que a concentraciones bajas de 100 mg, lo anterior puede atribuirse a que cuando hay poco sustrato los microorganismos se inhiben; debido a que no hay sustrato suficiente, lo que provoca que se tenga una etapa de decaimiento. Al momento que los microorganismos entran a la etapa de decaimiento contribuyen que en la demanda química de oxígeno y al carbono orgánico disuelto, se tengan bajas remociones. Por el contrario, cuando hay exceso de sustrato los microorganismos degradan el contaminante pero sin llegar a la etapa de decaimiento.



Tabla 4. 7. Remoción de fenol respecto a la NMX-AA-050-SCFI-2001 en el RBLM.

Experimento	RBLM
	%Remoción
1	100
2	100
3	100
4	100
5	100
6	100
7	100
8	100
9	100
10	100
11	100
12	100
13	100
14	100
15	85
16	0

Para el caso de la remoción de fenol totales por medio de la NMX-AA-050 se llegan a tener valores del 100% para cualquier concentración de contaminante; esto se puede ver en la tabla 4.7, ya que las concentraciones a las que fue sometido el RBLM fueron de 100-500 mg/L, lo que indica que los microorganismos pueden resistir cargas orgánicas elevadas aunque el cambio sea brusco entre una carga y otra.

En el caso de los sólidos suspendidos volátiles, se tiene que a mayores concentraciones de contaminante y menores concentraciones de nutrientes se tiene un valor mayor de SSV, esto es coherente debido a que a mayor cantidad de sustrato más rápido se va regenerando la debido a que se da la inhibición por sustrato además de que los nutrientes no penetran hasta la capa más profunda de la y estos son parte fundamental del tratamiento biológico los microorganismos se inhiben totalmente , lo que provoca el desprendimiento de la biomasa y por lo tanto el aumento de los SSV.

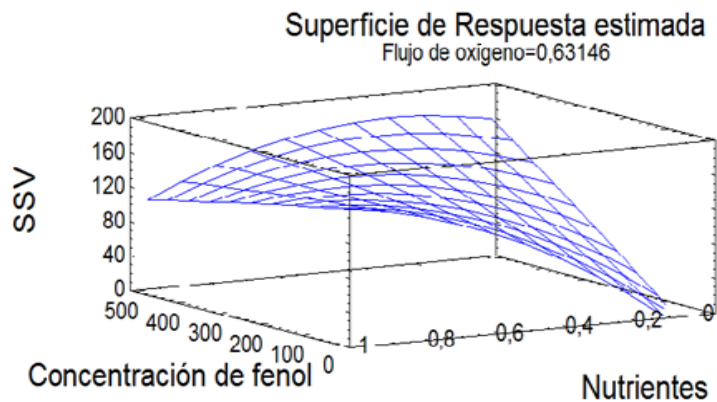


Figura 4. 11.Superficie de respuesta de SSV para el RBLM.

En todos los casos, el efecto de los nutrientes no fue un parámetro tan representativo como se pensó en un principio, lo anterior se puede atribuir esto el periodo de tiempo entre cada experimento fue pequeño, por lo que se cree que aún había nutrientes en el RBLM, lo cual provocaba que aunque se agregara un volumen pequeño de nutrientes no iba a afectar, además de que se tenía un sistema continuo

Por otro lado, la cantidad de SSV es muy pequeña respecto a otros reactores, la cantidad más elevada de sólidos suspendidos volátiles fue de 220 mg SSV/L aproximadamente lo cual es altamente recomendado ya que evita que haya un sedimentador de lodos después del reactor y nos indica que la está bien adherida a soporte.



CAPÍTULO 5.

5 Conclusiones.

Con base a los objetivos establecidos para el presente proyecto al utilizar soportes granulares de piedra pómez, para el tratamiento de aguas residuales sintéticas conteniendo compuestos fenólicos en un RBLM se puede concluir lo siguiente:

1. La formación de biopelícula en el soporte (piedra pómez); una vez que fue sumergido en reactor el RBD por un periodo de dos meses, permitió que el reactor resistiera las diferentes cargas orgánicas a las que fue sometido, debido a que los microorganismos, tomaron como fuente de carbono al fenol y la adherencia al soporte fue mejor.
2. Las diferentes condiciones de operación a las que estuvo sujeto el RBLM no afectaron en gran medida los diferentes parámetros de medición, ya que las remociones fueron elevadas en la mayoría de los casos.
3. Si se aumenta el flujo de aire suministrado por la bomba, se llega a disminuir el tiempo de retención hidráulica a menos de la mitad, y las remociones no sufren un cambio significativo ya que permanecen constantes en el orden del 90 %, lo que nos indica que este tipo de sistemas es aplicable para el tratamiento de aguas residuales con altos contenidos de fenol.
4. Para concentraciones 100 a 500 mg/L de fenol en el influente, se lograron tener remociones del orden del 90% de dicho contaminante.
5. El tener concentraciones bajas de fenol se obtuvieron remociones bajas de COD de hasta 70% y para la DQO de hasta el 90% al utilizar TRH de 24 horas. En cambio para concentraciones altas de fenol (500 mg/L) las



remociones fueron en su totalidad para el fenol y superiores del 90% para la DQO y el COD. A mayores concentraciones de fenol la remoción de DQO y COD es mayor respecto a concentraciones bajas, esto se debe a que a menores concentraciones el sustrato se termina más rápidamente lo que provoca que los microorganismos se inhiban y favorezcan el aumento de materia orgánica en el sistema, lo que se ve reflejado en las bajas remociones de ambos parámetros.

6. La cantidad de nutrientes; en el caso de reactores en continuo, puede ser menor a la reportada en la literatura, debido a que como son sistemas continuos siempre habrá presencia de nutrientes en el sistema. Esto se verá reflejado en la disminución de costos.

7. El tratamiento más óptimo es para este diseño de experimentos es a:

Conc. C_I = 500 mg/L

Conc. N_I = Mínima mg/L

Oxígeno disuelto = 0,37073 L/min

8. Para la concentración de 500 mg/L de contaminante, una concentración mínima de nutrientes en el influente y un flujo mínimo de oxígeno (0.37073 L/min) alimentado, el efluente cumple con los parámetros establecidos por el INE, para COD, DQO y fenoles para aguas de descarga a drenaje.



ANEXOS.

Anexo A.1

A.1.1 Análisis de agua - determinación de fenoles totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la NMX-AA-050-1981).

NMX-AA-050-SCFI-2001

REACTIVOS

Disolución patrón de fenol (1g/L)

Se preparan 500 mL de disolución patrón. Pesar con precisión 0.5 g de fenol y diluir con agua a 500 mL.

Disolución de 4-aminoantipiridina (2% P/V), duración 4 semanas en refrigeración. Pesar con precisión 2g de 4-aminoantipiridina y disolver en 100 mL de agua.

Disolución de amoníaco (0.5 N). Diluir 35 mL de amoníaco concentrado en 1L de agua (hacerlo en la campana de extracción)

Disolución de ferrocianuro de potasio (8% P/V), duración 3 meses en refrigeración.

Pesar con precisión 8 g de ferrocianuro de potasio disolver en 100 mL de agua, filtrar si es necesario. Almacenar en frasco ámbar.

Procedimiento

Tomar seis matraces Erlenmeyer de 250 mL y preparar estándares de fenol como sigue:

- Matraz 1 (0 mg/L “blanco”): Adicionar 100 mL de agua únicamente.



-
- Matraz 2 (1 mg/L): Tomar 100 μ L de la disolución patrón de fenol (1g/L) y aforar a 100 mL.
 - Matraz 3 (2mg/L): Tomar 200 μ L de la disolución patrón de fenol (1g/L) y aforar a 100 mL
 - Matraz 4 (3 mg/L): Tomar 300 μ L de la disolución patrón de fenol (1g/L) y aforar a 100 mL.
 - Matraz 5 (4 mg/L): Tomar 400 μ L de la disolución patrón de fenol (1g/L) y aforar a 100 mL.
 - Matraz 6 (5 mg/L): Tomar 500 μ L de la disolución patrón de fenol (1g/L) y aforar a 100 mL.

Una vez preparados los estándares y el blanco tratarlos como sigue:

- Añadir a cada matraz 2.5 mL de la disolución de amoníaco 0.5 N. Adicionar 1 mL de la disolución de 4-aminoantipiridina y mezclar bien. Posteriormente añadir 1 mL de disolución de ferrocianuro de potasio y mezclar.
- Después de 15 minutos transferir a la celda del espectrofotómetro y leer la absorbancia del blanco y los estándares a 525 nm y llevar a cabo la curva de calibración.
- La muestra problema se trata de la forma que se hizo anteriormente con los estándares.



A.1.3. Análisis de agua para la determinación de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.

NMX-AA-034-SCFI-2001

Material

Filtros de 5 micras

1 Matraz Kitasato

1 Equipo de filtración Buchner

1 pipeta volumétrica de 25 mL

Procedimiento

Precalentar en una mufla a 110°C filtros de 5 micras durante una hora. Dejar los filtros en un desecador de silica una hora hasta peso constante. Registrar los valores de peso de los filtros (P_1). Filtrar con el equipo de filtración 25 mL de la muestra a analizar. Colocar los filtros en la mufla a 110°C por una hora. Dejar los filtros en un desecador una hora hasta alcanzar peso constante. Pesar y registrar los valores (P_2). Colocar los filtros en una mufla a 550 °C durante 15 min y dejar en un desecador por una hora hasta peso constante. Pesar y registrar (P_3).

Cálculos

$$\text{Sólidos suspendidos totales } SST = \left(\frac{P_2 - P_1}{V_{\text{muestra}}} \right) * 1000$$

$$\text{Sólidos suspendidos volátiles } SSV = \left(\frac{P_2 - P_3}{V_{\text{muestra}}} \right) * 1000$$



A.1.4. Cuantificación de biomasa en el soporte. (Nicolella, et al. 1997)

Primero se mete la cápsula de porcelana a la mufla a 550°C por un periodo de 30 minutos.

La cápsula se mete en el desecador por una hora hasta obtener peso constante.

Se extrae una cantidad de soporte del reactor, la cual será pesada en la cápsula a peso constante. Se registra (P_1).

Se mete a la estufa a 105 °C por una hora.

Se mete al desecador hasta obtener peso constante. Se pesa y se registra, este valor es el contenido agua en el soporte.

Colocar los filtros en la mufla a 650 °C por dos horas. Poner la cápsula de porcelana en el desecador hasta obtener peso constante. Se pesa y se registra (P_3), este valor es la cantidad de sólidos totales volátiles (mg SVT/g soporte).

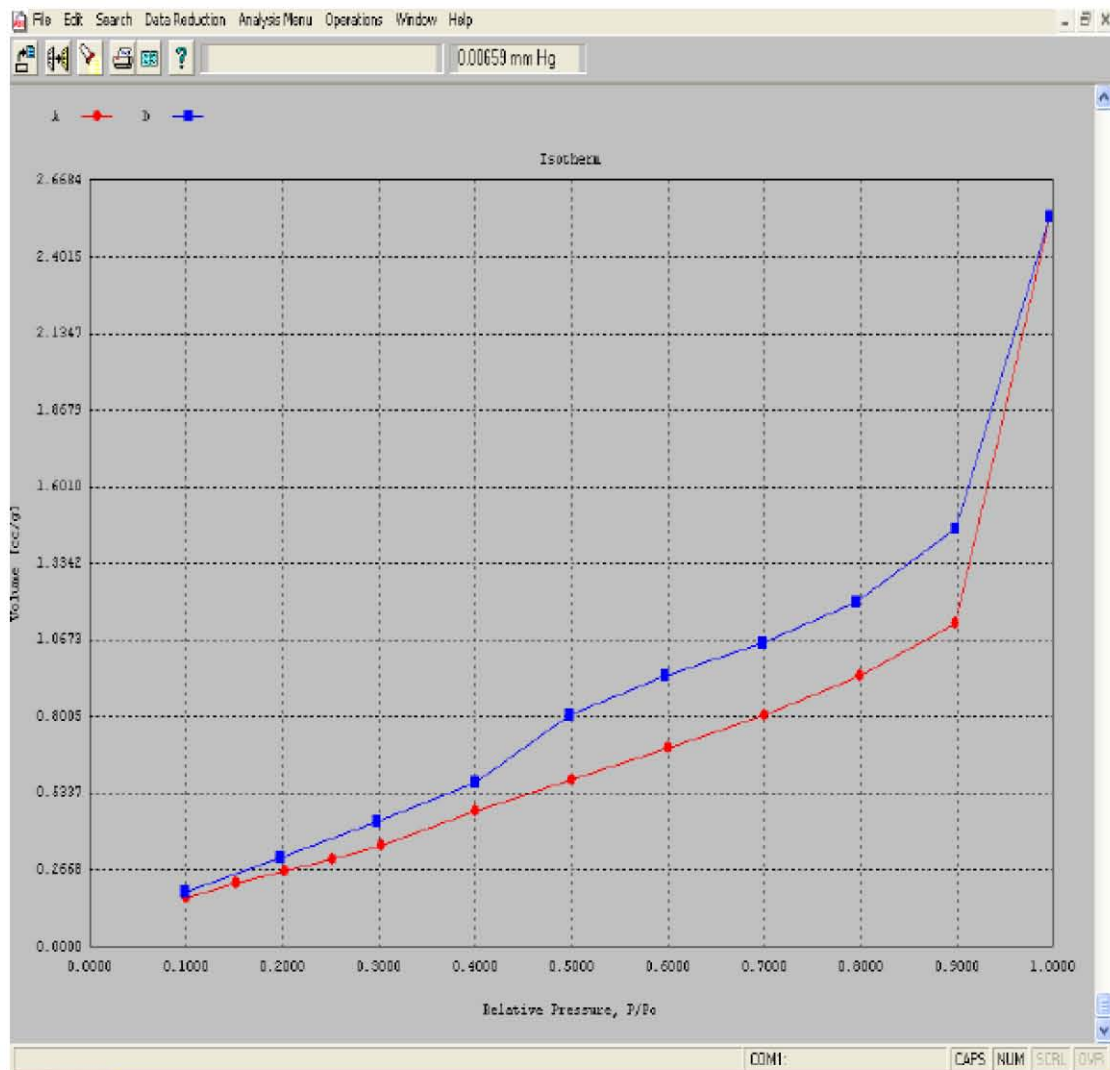
$$\text{Cantidad de agua en el soporte } W=(P_1 - P_2)$$

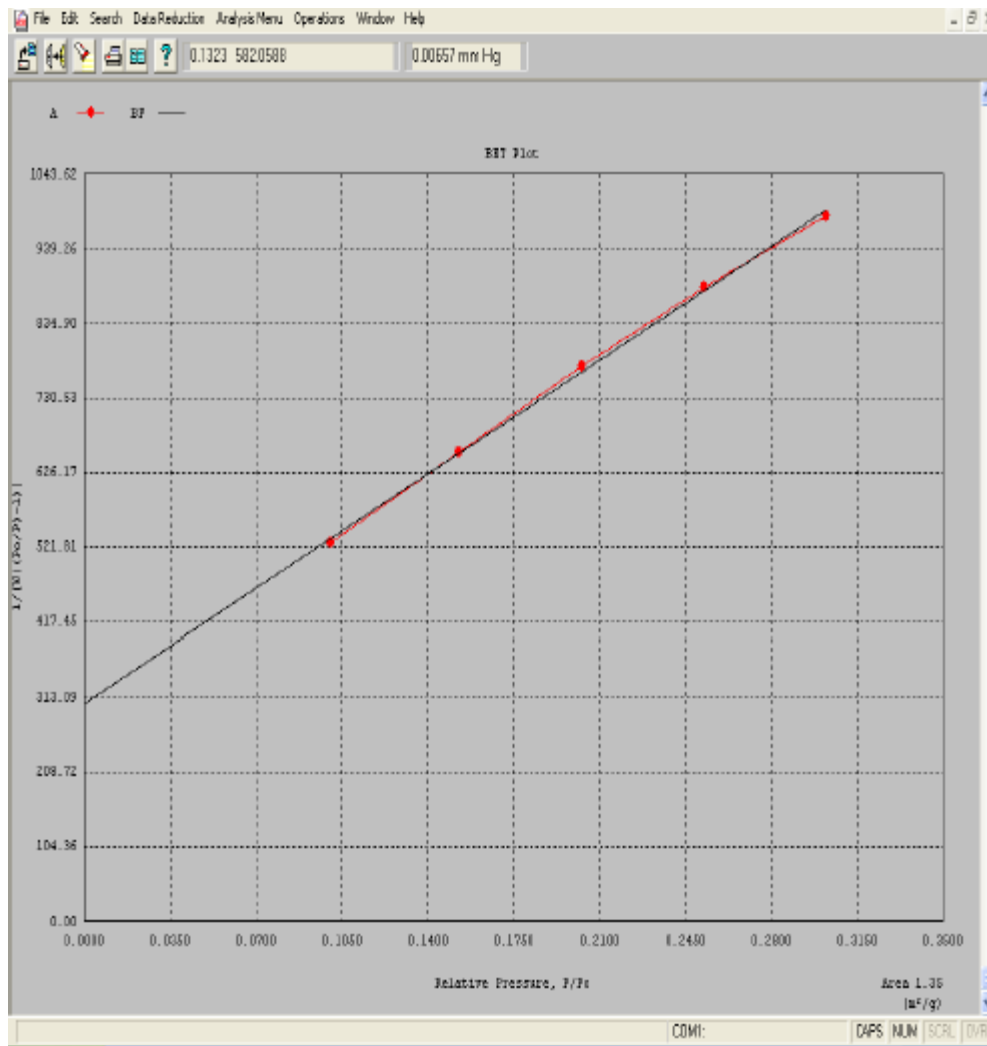
$$\text{Sólidos volátiles totales SVT}=(P_2 - P_3)$$



Anexo 2.

A.2.1. Determinación de las características del soporte mediante ecuación de BET.





File name: C:\QCdata\PhysData\POMEZ18.raw
Sample ID: pomez18, RAFA Description: POMEZ, RAFA
Comments:

Operator: JAC	Sample weight: 0.282 g	
Analysis gas: Nitrogen	X sect area: 16.2A ² /molec	Non-ideality: 6.58e-05
Adsorbate (DRP): Nitrogen	Bath temp: 77.30	
Outgas Temp: 180.0 °C	Outgas Time: 12.0 hrs	Analysis Time:
139.3 min		
P/P ₀ tolerance: 0	Equil. Time: 3	End of run: 03/05/2009
11:56		
Station #: 1	PC sw. version: 1.53	TempComp: On



AREA-VOLUME-PORE SIZE SUMMARY

SURFACE AREA DATA

Multipoint BET..... 1.349E+00 m²/g

PORE VOLUME DATA

Total Pore Volume for pores with Diameter
less than 7798.1 Å at P/Po=0.99754..... 3.941E-03 cc/g

PORE SIZE DATA

Average Pore Diameter..... 1.169E+02 Å



Anexo A.3

A.3.1. Fotografia RBLM.





Anexo A.4

A.4.1 Condiciones de operación en el RBLM

Tabla Anexo 1. 1. Condiciones de operación en el RBLM (Torres, 2009).

Condiciones de operación	
Flujo de alimentación, L/h	0,15
TRH, h	24
Volumen reactor, L	3,5
Flujo de aire, L/min	2,3
F/M mg CO/mg SV	0.05

Se calculó la cantidad de biomasa existente en el reactor:

Se pesó el soporte sin biopelícula.

Se calcularon los SSV en el soporte mediante la técnica propuesta por Nicolella, *et al.* 1997.

Después se calculó los SVT en el reactor con la siguiente expresión:

$$SVT_{RBLM} = \frac{P_2 * SVT}{P_{SB}}$$



Referencias

- Adav, S., Lee, D., Show, K., Tay, J. (2008). Aerobic granular sludge: Recent advances. *Biotechnology Advances*. 26.pp. 411- 423.
- Ahumada, M. Gómez R.(2009). Evaluación y Selección de bacterias degradadoras de Fenol por respirometría. Tesis de licenciatura, pp. 104
- Bajaj M., Gallert C., Winter J. (2007). Biodegradation of high phenol containing synthetic wastewater by aerobic fixed reactor.
- Balley, E. y Ollis, D. (1977). *Biochemical Engineering Fundamentals*. Edit. McGraw-Hill. pp. 1-702
- Barrios A., Barbot, E., Marrot, B., Moulin, P. Y Roche R. (2006). Degradation of synthetic phenol-containing wastewaters by MBR. *Journal of Membrane Science*. 281. pp. 288-296.
- Betancourth, M., Boreto, J., Rivera, S. (2004). s: una comunidad microscópica en desarrollo. *Revista Colombia Médica*. 35. pp. 34-39
- Bosser, I. Y Bartha, R. (1984). *The Fate of Petroleum in Soil Ecosystems*. *Petroleum Microbiology*. Macmillan Publishing Co., New Cork. 434-476
- Branda, S., Vik, S., Friedman, L., Kolter, R. (2005). Biopelículas: the matrix revisited. *Trends Microbiol*. 147. pp. 20-26.
- Canadian Environmental Protection Act. (CEPA). (2000).
- Castellan G. (1897). *Fisicoquímica*. Edit. Pearson. Segunda Edición. pp. 882.
- Costerton J, Lewandowski Z, Caldwell De, Korber D, Lappin-Scott H. (1995). Microbialbiopelículas. *Annu Rev Microbiol*. 49. pp. 711-745.



-
- Cucarella, C., Solano, C., Valle, J., Amorena, B., Lasa, I., Penades, J. (2001) Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biopelícula formation. *J. Bacteriol.* 183. pp. 2888-2896.
 - Davey M, O'toole G. (2000). Microbial biopelículas: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 64: pp. 847-867.
 - Dignum, M, *et al.* (2001). Vanilla production: technological, chemical, and biosynthetic aspects. p 119-120
 - Doble M., Kumar A. 2005. *Biotreatment of Industrial Effluents.* Ed. Elsevier-Butterworth-Heinemann. 10a Ed. EEUU.
 - DOF. 2001a. Norma Mexicana NMX-AA-030-SCF-2001, análisis de agua-determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.
 - DOF. 2001d. Norma Mexicana NMX.-050-036-SCFI-2001, Análisis de agua - determinación de fenoles totales en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la NMX-AA-050-1981).
 - dosSantos, V. De Souza A. Telles, D. Matos, M. (2009). Phenol degradation by *Aurebasidium pullulans* FE13 isolated from industrial effluents. *Journal of Hazardous.* Vol. 161, pp. 7
 - Durán A. (1997). Contribution a l'étude de l'adsorption et de la biodégradation de composés organiques: Cas du phenol et de dérivés phénoliques, Tesis de Doctor presentada en la Universidad de Rennes 1, No d'ordre 1711.



-
- El-Naas, M., Al-Muhtaseb, S., Makhlof, S. (2009). Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) gel. *Journal of Hazardous Materials*. 164. pp. 720-725.
 - Field, J. (2008). Degradación anaeróbica de compuestos orgánicos. pp. 1-29
 - Figueroa, P. (2003). Optimización de una superficie de respuesta utilizando JMP IN, Departamento de Matemáticas Universidad de Sonora, Mosaicos Matemáticos No 11.
 - García, S. (2008). Oxidación química de aminas gastadas provenientes de procesos de endulzamiento de gas en refinerías. Tesis de maestro, presentada en la Facultad de Química. UNAM. México D.F. México.
 - Grady L., Daigger G., Lim H. (1980). *Biological Wastewater Treatment*. Edit. Marcel Dekker. 2ª Edit. pp. 3-1037.
 - Gibson, D. (1968). Microbial degradation of Aromatic Compounds. *Science*. 161 (3846):1093-1098.
 - Gutiérrez H. y de la Vara S. (2004). *Análisis y diseño de experimentos*. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana.
 - Hambrick G. DeLaune R. y Patrick W. (1980). Effect of Estuarine Sediment pH and Oxidation-Reduction Potential on Microbial Hydrocarbon Degradation. *Applied and Environmental Microbiology*. Aug. 1980. pp. 365-369
 - Hermoso S. (2008). Biodegradación aerobia de fenol en aguas y aguas residuales de refinería empleando reactores de flujo cerrado. Tesis de licenciatura. UNAM, Facultad de Química. México D.F. México.
 - IPCS (2004). *International Programme on Chemical Safety*.



-
- Khan, F., Zain, M. Qamar S., Sabir, S. (2009). Biodegradation of phenol by aerobic granulation technology. *Water Science & Technology*. pp 5.
 - Kumaran, P. And Parachuri, Y. (1997). Kinetics of phenol biotransformation. *Water Research..* V. 31. pp. 11-22
 - Lazacano-Arriola L. Ortiz-Ramírez J. Ramírez-Zamora R. Durán A. (2003). Evaluación de la biodegradabilidad de diferentes aguas residuales pretratadas con el método de Fenton. En XIV Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Mayo 12 al 14 de 2004. Mazatlan, Sinaloa, México.
 - Lin, S., and Juang, R. (2009). Adsorption of phenol and its derivatives from water using synthetic resins and low-cost natural adsorbents: A review. *Journal of Environmental Management*. V. 90. pp. 1336-1349
 - Luo, Q., Zhang, X., Wang, H. Y Qian, Y. (2005) The use of non-uniform electrokinetics to enhance in situ bioremediation of phenol- contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*. 121,pp. 187-194.
 - Madigan M., Martinko, J. y Parker, J. (2003). *Biología de los microorganismos*. 10th Edición. Prentice Hall. Madrid-España. pp. 130-140, 151, 357-630
 - Mc. Carthy M. (2001) Breaking up the bacterial happy home. *Lancet*. pp. 2032-2003.
 - Metcalf & Eddy. (2003). *Wastewater Engineering. Treatment and Reuse*. Fourth Edition. Mc. Graw Hill.
 - Mkandawire, M., Förster, J., Fiedler, D., Böttcher, H., Pompe, W. (2009). Spectrophotometric verification of biodegradation of phenol in a flow dynamics biocers-based bioreactor system. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 89:7, 529-541.



-
- Montgomery, D. (2002). *Diseño y Análisis de Experimentos*, Editorial Limusa, Segunda Edición.
 - Moussavi, G Mahmoudi, M., Barikbin, B. (2009). Biological removal of phenol from strong wasterwaters using a novel MSBR. *Water Research*. Vol. 43 . pp. 7.
 - Neuhauser E. Durkin P., Malecki M. y Anatra M. (1986). Comparative toxicity of ten organic chemicals to four earthworm species. *Comparative Biochemistry Physiology*. 83C.pp. 197-200.
 - Pardo , J. Perdomo, M. y Benavidez, J. (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*. 2 (2): 1-108
 - Ponce, E. (2005). *Diseño de un tren de potabilización para una planta generadora de agua embotellada*. pp.1-13.
 - Razo, D. (2003). *Biorremedación de suelos contaminados con fenol*. pp 3-29.
 - Ribeiro R. Lima A., Ginoris P., Coelho M.(2005). *Remoção biológica de fenol e nitrógeno amoniaco de efluentes em reactor batelada seqüencial*. VI Congreso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Brasil.
 - Riser-Roberts, E. (1992), *Biorremediation of Petroleum Contaminated Sites*. C.K. SMOLEY.USA. pp. 1-96
 - Rodríguez, G.(2002). *Tratamiento de aguas residuales en un reactor con* . *Agua Latinoamericana*. 7(2). pp. 1-5.



-
- Stoodley P, Sauer K, Davies D, Costerton J. (2002). Biopelículas as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol.* 56: 187-209.
 - Suárez, M. (1993). Degradación de los ácidos 3y 4-hidroxibenzoico en *Klebsiella pneumoniae* : purificación, caracterización y propiedades de las hidroxilasas. Tesis de Doctorado. Universidad Complutense. Facultad de Ciencias Puras. Madrid, España.
 - Sutherland I. (2001). Biopelícula exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*; 147. pp. 3-9
 - Toledo-Arana, A., Valle, J., Solano, C., Arrizubieta, M., Penades, J., Lasa, I. (2001). The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biopelícula formation. *Appl. EnvironMicrobiol.* 67.pp. 4538-4545.
 - Torres, I. (2009). Depuración de aguas desfleadas mediante un reactor biológico aerobio de lecho móvil. pp. 13-78.
 - Torres, R. (2003). El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. *Ecosistemas* 2003/2.
 - Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos por sus siglas en inglés (United States Environmental Protection Agency).USEPA (1997).
 - Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos por sus siglas en inglés (United States Environmental Protection Agency).USEPA (2000).
 - Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos por sus siglas en inglés (United States Environmental Protection Agency).USEPA (2003)



-
- Vidya, K., Kalifathulla, I., Srinkethan, G. (2007). Performance of pulsed plate bioreactor for biodegradation of phenol. *Journal of Hazardous Materials*. 140,pp. 346-352
 - Welter A., Romero J., Grumelli Y., Sánchez J., Ascar G. (2005). La en los procesos RBC.
 - Wiesman U., Choi I., Dombrowski E. (2007). *Fundamentals of biological wastewater treatment*. Ed. Wiley- VCH. pp. 151-167

Referencias electrónicas

- http://www.sciencedirect.com.pbidi.unam.mx:8080/science?_ob=MImg&_imagekey=B6V73-3Y0S4SD-4P-3&_cdi=5831&_user=945819&_pii=S0043135499800013&_orig=browse&_coverDate=01%2F31%2F1997&_sk=999689998&_view=c&_wchp=dGLbVlz-zSkzV&_md5=46a0325a880317c0c3c235523f174fa0&_ie=/sdarticle.pdf
- <http://www.pdfqeen.com/de/degradacion-de-fenoles-por-pseudomonas/2/>
- http://www.sinia.cl/1292/articles-38293_pdf_respel.pdf
- <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/doecast.pdf>
- <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/gacetas/188/nte3.html>