

119
205



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**OPERACIÓN DE UNA COLUMNA EMPACADA CON
BIOCATALIZADOR PARA LA DEGRADACIÓN DE
FENOLES EN AGUA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO

P R E S E N T A

DIONICIO ROSAS FLORES



México, D.F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

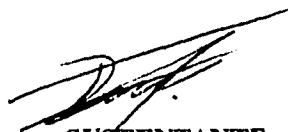
Presidente: Prof. GONZÁLEZ ARREDONDO LETICIA MA. DE LOS A.
Vocal: Prof. GARCÍA CHARRETON ALMA ROSA
Secretario: Prof. TORRES BUSTILLOS LUIS GILBERTO
1er. suplente: Prof. TORRES BARRERA RODOLFO
2do. suplente: Prof. RAMÍREZ BURGOS LANDY IRENE

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: INSTITUTO DE INGENIERÍA UNAM
COORDINACIÓN AMBIENTAL, GRUPO TRATAMIENTO Y REUSO.**



ASESOR DEL TEMA

M. en B. LUIS GILBERTO TORRES BUSTILLOS



SUSTENTANTE

DIONICIO ROSAS FLORES

7

**El presente trabajo se realizó en la
Coordinación de Ambiental del
Instituto de Ingeniería bajo la
dirección del M. en B. Luis Gilberto
Torres y la Dra. Blanca Jiménez**

**Para la realización de este trabajo se contó con una beca
de la DGAPA/UNAM, proyecto IN-503895.**

El presente trabajo ha sido presentado en los siguientes foros:

- a) **VI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. (SMBB 95)**
Septiembre de 1995. Ixtapa Zihuatanejo, Mex. *"Inmovilización de Pseudomonas en cuatro matrices para la remoción de clorofenoles en agua"*

- b) **VIII Foro Internacional de Ingeniería Química**
Marzo de 1996. Orizaba Veracruz, Mex. *"Operación de una columna empacada con biocatalizador para la eliminación de fenol y clorofenoles en agua residual"*

- c) **X Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. (SMISAAC 96)**
Febrero de 1996. Toluca, Mex. *"Evaluación de cuatro biocatalizadores para la eliminación de fenol y clorofenoles en agua residual"*

- d) **Water Quality International 96. (IAWQ 96)**
Junio de 1996. Singapur. *"Phenol and chlorophenols removal from wastewater in a tezontle biocatalyst"*

- e) **XXV Congreso Interamericano de la Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria (AIDIS 96)**
Noviembre de 1996. México D.F. *"Eliminación de clorofenoles en agua residual con sistemas de biomasa fija"*

Los últimos tres trabajos concluyeron en publicaciones de difusión nacional e internacional. Adicionalmente se sometió el manuscrito:

"Comparison among different packing materials and different ways of fixing biomass in attached systems used for the removal of toxic substances", a la revista **Environmental Technology** para su eventual publicación

DEDICATORIA

A Dios por permitirme este hermoso sueño en la vida

*A mi madre : Andrea Flores Camacho
La mujer que mas amo y admiro en
este mundo. Por todo el amor puro,
comprensión y apoyo incondicional
que me ha brindado en toda mi vida,
gracias*

*A mi padre: Reyes Rosas Cortés
El hombre que mas admiro y respeto
Por su amistad, paciencia y cariño que
me ha dado durante mi vida, gracias*

*A mi hermano Jorge Alberto
Por ser mi mejor amigo, por su cariño
y respeto que existirá entre nosotros
siempre, gracias.*

*A todos mis compañeros y amigos de la
Facultad de Química e Instituto de Ingeniería*

AGRADECIMIENTOS

Al M en B. Luis Gilberto Torres B. por su excelente dirección, revisión, confianza y amistad brindada durante la realización de este trabajo.

A la Dra. Blanca Jiménez Cisneros por brindarme la oportunidad de colaborar en su grupo de investigación.

A la Universidad Nacional Autónoma de México en especial a la Facultad de Química.

Al Instituto de Ingeniería de la UNAM.

A los miembros del jurado:

Profra: González Arredondo Ma. de los A.

Profra: García Charreton Alma Rosa

Resumen

Los fenoles son tóxicos considerados carcinógenos, mutagénicos y bioacumulables en sistemas biológicos, comúnmente encontrados a altas concentraciones en efluentes industriales, contaminando cuerpos de agua de abastecimiento humano. Es necesario desarrollar una tecnología adecuada y capaz de eliminar las altas concentraciones de estos tóxicos.

En el presente trabajo se inmovilizó la bacteria *Pseudomonas fluorescens* previamente identificada y evaluada como biodegradadora de compuestos fenólicos. La inmovilización por adsorción se realizó en materiales como el tezontle, la arena y el carbón activado y por atrapamiento en una matriz polimérica de alginato de calcio. Se realizó la caracterización fisicoquímica y la determinación de la capacidad de inmovilización de células en los soportes utilizados y se evaluaron las actividades de biodegradación de los biocatalizadores con mejores características en la biodegradación de fenol (tezontle, carbón activado y alginato de calcio), por medio de un sistema de columna empacada de biocatalizador.

Se realizaron comparaciones de las características evaluadas y el costo de fabricación de los biocatalizadores, demostrando que el tezontle posee las mejores características de resistencia al presentar baja solubilidad en soluciones ácidas y básicas de 3.23% y 1.36% respectivamente, una alta porosidad (de 65%), una alta capacidad de inmovilización de bacterias (de 1.39 Unidades Formadoras de Colonias por gramo de material) y una capacidad máxima de adsorción de fenoles del 8%.

Además, presentó un costo de 0.15 dólares/kg de material; por lo que se eligió para posteriores pruebas. Se montó un sistema de columna empacada con biocatalizador de tezontle para la realización de pruebas de biodegradación de fenol, 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol a través de 16 experiencias, en las que se evaluó el efecto del tipo y concentración del tóxico, temperatura de operación, pH de la solución y nivel de oxígeno disuelto sobre la actividad del sistema.

Resumen

Por medio de la determinación de los tiempos y porcentajes de biodegradación de los fenoles, además de la cuantificación de la biomasa en el biocatalizador, se determinaron las actividades del catalizador correspondientes.

El sistema empacado con tezontle mostró altas eficiencias de biodegradación de compuestos fenólicos, aún en condiciones no controladas de temperatura, pH y nivel de oxígeno disuelto para altas concentraciones de fenoles. Se lograron biodegradaciones de hasta 500 mg/L de clorofenoles y 1000 mg/L de fenol. Se alcanzaron mayores niveles de biodegradación bajo condiciones controladas, (temperaturas cercanas a 35 °C, pH ligeramente básico entre 7 y 8, y un nivel de oxígeno disuelto cercano al de saturación). El sistema de columna empacada tuvo actividades en la biodegradación de 100 mg/L de 2-clorofenol de 119.59 mg/L día, mientras que para una operación a 35 °C la actividad fue de 265.98 mg/L día. Para una operación a pH=8 se alcanzó una actividad de 185.96 mg/L día y para solución con una concentración inicial de oxígeno disuelto de 7.70 mg/L cercana a la saturación se observó una actividad de 192.16 mg/L día.

El trabajo realizado propone un sistema de tratamiento para efluentes tóxicos, que se recomienda usar en las industrias cuyos efluentes contengan fenoles a altas concentraciones para evitar la contaminación por descarga a los cuerpos de agua de abastecimiento humano. Los resultados reportados contribuyen al conocimiento un sistema de eliminación de tóxicos que puede ser aplicado a los efluentes de diversas industrias mexicanas.

Contenido

Lista de tablas	i
Lista de figuras	iii
Resumen	v
1. Introduccion	1
2. Antecedentes	3
2.1. Toxicidad y legislación	3
2.1.1. Toxicidad de fenoles	3
2.1.2. Propiedades, usos y niveles de toxicidad de fenol y clorofenoles.	5
2.1.3. Legislación Mexicana.	7
2.2. Sistemas de tratamiento de tóxicos	9
2.2.1. Sistemas fisicoquímicos y sistemas biológicos convencionales.	9
2.2.2. Sistemas inmovilizados.	11
2.2.3. Tipos de inmovilización.	13
2.3. Criterios de evaluación de los sistemas inmovilizados	15
2.3.1. Cantidad de biomasa inmovilizada.	15
2.3.2. Retención de biomasa y fuerza de adhesión	18
2.3.3. Retención de la actividad enzimática del biocatalizador	18
2.3.4. Actividad del biocatalizador	19
2.3.5. Estabilidad operacional	19
2.4. Adsorción de tóxicos.	19
2.4.1. Principios de adsorción	20
2.4.2. Isotherma de adsorción	21
2.5. Materiales utilizados en la inmovilización	23
2.5.1. Tezontle	23
2.5.2. Alginato de calcio	24
2.5.3. Carbón activado.	25
2.5.4. Arena	27
2.6. Aspectos importantes en los sistemas de inmovilización de microorganismos para la biodegradación de fenoles en agua	27
2.6.1. Influencia de la inmovilización en la biodegradación de fenoles en agua	27
2.6.2. Mecanismos de degradación reportados para la biodegradación de fenoles	29
2.6.3. Concentraciones de biodegradación en sistemas inmovilizados	30
2.6.4. Factores que influyen en la biodegradación de compuestos fenólicos	32
Objetivos	35

3. Materiales y métodos	36
3.1. Caracterización físico-química de soportes	36
3.1.1. Granulometría de los soportes	36
3.1.2. Densidad aparente y real	36
3.1.3. Porosidad	38
3.1.4. Pérdida por ignición	38
3.1.5. Solubilidad en ácido clorhídrico y solubilidad en hidróxido de sodio	39
3.2. Conservación de la cepa, medios de cultivo y condiciones de crecimiento	40
3.2.1. Medios de cultivo.	40
3.2.2. Condiciones de pH y esterilización de los medios	41
3.2.3. Condiciones de crecimiento	41
3.2.3. Técnicas para la cuantificación de biomasa (Densidad óptica y conteo directo)	42
3.3. Inmovilización de <i>Pseudomonas fluorescens</i> Ps9	42
3.3.1. Inmovilización por adsorción de la bacteria en tezontle, arena y carbón activado	42
3.3.2. Inmovilización por atrapamiento de <i>Pseudomonas fluorescens</i> en matriz polimérica.	43
3.4. Determinación de fenoles	44
3.5. Adsorción de tóxicos.	45
3.5.1. Técnica experimental de adsorción.	45
3.5.2. Isotermas de adsorción.	46
3.6. Montaje y evaluación de un sistema de columna empacada con diferentes biocatalizadores para la biodegradación de fenoles en agua	46
3.6.1. Montaje del sistema de columna empacada	46
3.6.2. Determinación de biomasa inmovilizada	47
3.6.3. Operación del sistema a una temperatura determinada	48
3.6.4. Operación a un pH inicial determinado	48
3.6.5. Operación a diferentes niveles de oxígeno disuelto	48
4. Resultados y discusión	49
4.1. Caracterización de los materiales	49
4.1.1. Granulometría de los materiales	49
4.1.2. Caracterización físico química de los materiales	50
4.1.3. Capacidades de inmovilización de los materiales	52
4.1.4. Adsorción de los tóxicos en los materiales	53
4.1.5. Elección del biocatalizador para su utilización en columna empacada	55
4.2. Pruebas de remoción de fenoles por medio de biocatalizadores empacados en columnas	58
4.2.1. Biodegradación de fenol mediante columnas empacadas con biocatalizador de tezontle, alginato de calcio o carbón activado	58

4.3. Biodegradación de fenoles mediante un biocatalizador de tezontle empacado en columna	60
4.3.1. Cuantificación de la población bacteriana del biocatalizador empacado en columna	63
4.3.2. Tiempos y porcentajes de degradación	65
4.3.3. Efecto de la concentración de tóxico	67
4.3.4. Efecto de la temperatura sobre la actividad del biocatalizador	71
4.3.5. Efecto del pH sobre la actividad del biocatalizador	73
4.3.6. Efecto del oxígeno disuelto en la biodegradación	75
4.3.7. Mecanismo de degradación	78
4.3.8. Actividades de biodegradación.	80
4.3.9. Estabilidad del sistema	81
5. Conclusiones	81
Recomendaciones	83
6. Bibliografía	84
Anexo A	90
Curvas granulométricas de materiales	
Anexo B	93
Isotermas de adsorción de Freundlich para fenoles en los materiales-soportes	95

Lista de Tablas

Tabla 1 Fenoles que forman parte de los Tóxicos Prioritarios por la Agencia para la Protección Ambiental (EPA) en Agua	4
Tabla 2 Límites de toxicidad y clasificaciones de los fenoles	4
Tabla 3 Nombres y características de fenoles	5
Tabla 4 Propiedades físicas de fenol y clorofenoles	6
Tabla 5 Usos de los fenoles	6
Tabla 6 Industrias normadas con presencia de fenoles en su descarga	7
Tabla 7 Tóxicos orgánicos (fenoles) normados Norma Oficial Mexicana de Protección Ambiental	8
Tabla 8 Parámetros límites de fenoles para su descarga Norma Oficial Mexicana	8
Tabla 9 Sistemas biológicos convencionales para la eliminación de fenol y clorofenoles	10
Tabla 10 Sistemas inmovilizados para la biodegradación de fenoles	12
Tabla 11 Comparación de algunas características adsorción vs atrapamiento	14
Tabla 12 Materiales utilizados en la fabricación de biocatalizadores para eliminación de fenoles en agua.	17
Tabla 13 Composición común de Tezontle	24
Tabla 14 Propiedades de carbón activado	26
Tabla 15 Concentraciones de sistemas de inmovilización reportados	31
Tabla 16 Medio rico de cultivo	40
Tabla 17 Medio mínimo	41
Tabla 18 Propiedades granulométricas de los materiales	49
Tabla 19 Características fisico-químicas de los materiales.	51
Tabla 20 Capacidades de inmovilización de los materiales	52
Tabla 21 Constantes de la isoterma de Freundlich	54
Tabla 22 Comparación de soportes	56

Tabla 23 Precios de materiales-soportes	57
Tabla 24 Pruebas de biodegradación realizadas en la columna empacada con biocatalizador de tezontle	61
Tabla 25 Historia de la operación de la columna empacada con biocatalizador de tezontle	62
Tabla 26 Actividad de la columna empacada con biocatalizador de tezontle	63
Tabla A1 Curva granulométrica del tezontle	91
Tabla A2 Curva granulométrica de la arena	92
Tabla A3 Curva granulométrica del carbón activado	93
Tabla B1 Adsorción de fenol en carbón activado	94
Tabla B2 Isotherma de adsorción de fenol en carbón	95
Tabla B3 Adsorción de 2-clorofenol en carbón activado	96
Tabla B4 Isotherma de adsorción de 2-clorofenol en carbón	97
Tabla B5 Adsorción de 2,4-diclorofenol en carbón activado	98
Tabla B6 Isotherma de adsorción de 2,4-diclorofenol en carbón	99
Tabla B7 Adsorción de 2,4,6-triclorofenol en carbón activado	100
Tabla B8 Isotherma de adsorción de 2,4,6-triclorofenol en carbón	101
Tabla B9 Adsorción de fenol en alginato de calcio	102
Tabla B10 Isotherma de adsorción de fenol en alginato de calcio	103
Tabla B11 Adsorción de fenol en tezontle	104
Tabla B12 Isotherma de adsorción de fenol en tezontle	105

Lista de Figuras

Figura 1 Tipos de inmovilización	13
Figura 2 Adsorción de células	16
Figura 3 Diámetro óptimo para inmovilización	16
Figura 4 Adsorción de tóxico en el biocatalizador.	20
Figura 5 Red del alginato de calcio.	25
Figura 6 Concentraciones inhibitorias mínimas de fenol para tres bacterias diferentes en sistemas libres o inmovilizados (Keweloh, 1989)	28 28
Figura 7 Mecanismo de degradación sugerido por Uotila (1993), para la degradación completa del pentaclorofenol por <i>Rhodococcus chlorophenolicus</i> .	30 30
Figura 8 Cinética de crecimiento y degradación de fenol por células de <i>Candida</i> y <i>Pseudomonas</i> adsorbidas en carbón activado, después de la adición de 15 g/L de fenol (Ehrhard y Rhem, 1985).	32 32
Figura 9 Cinética de degradación de fenol y 4-clorofenol por <i>Pseudomonas putida</i> .	33
Figura 10 Sistema de inmovilización por adsorción.	43
Figura 11 Sistema de fabricación de biocatalizador de alginato de calcio.	44
Figura 12 Equipo de agitación con velocidad variable Phipps & Bird.	46
Figura 13 Sistema de columna empacada con biocatalizador para la biodegradación de fenoles en agua	47 47
Figura 14 Cinéticas de degradación de 1000 g/L de fenol en columnas empacadas con biocatalizadores de tezontle, carbón activado y alginato de calcio.	58 58
Figura 15 Comparación de tres biocatalizadores (tezontle, alginato de calcio y carbón activado) para la biodegradación de fenol (1000 mg/L)	59 59
Figura 16 Comportamiento de biomasa durante la historia de la columna empacada con biocatalizador de tezontle	64 64
Figura 17 Tiempos y porcentajes de biodegradación de fenoles a diferentes concentraciones y variables condiciones de operación por columna empacada con biocatalizador de tezontle	66 66
Figura 18 Cinéticas de biodegradación de fenol para diferentes concentraciones iniciales	67
Figura 19 Degradación de fenol a diferentes concentraciones iniciales	68

Figura 20 Cinética de degradación de 2-clorofenol para diferentes concentraciones iniciales (100, 350, 500 mg/L)	69
Figura 21 Degradación de 2-clorofenol a diferentes concentraciones iniciales	70
Figura 22 Cinéticas de degradación a diferentes temperaturas de operación.	71
Figura 23 Biodegradación de 2-clorofenol 100 mg/L a diferentes temperaturas de operación	72
Figura 24 Cinética de degradación y pH de 2-clorofenol (100 mg/L) con diferentes pH iniciales	74
Figura 25 Degradación de 2-clorofenol 100 mg/L a diferentes pH iniciales	75
Figura 26 Cinéticas de degradación de 2-clorofenol (100 mg/l) con diferentes niveles de oxígeno disuelto.	76
Figura 27 Degradación de 2-clorofenol con diferentes niveles de oxígeno	77
Figura 28 Cinéticas de COT y pH en la degradación de 2-clorofenol (100 mg/L)	78
Figura 29 Procentaje de COT y tóxico en la degradación de 2-clorofenol (100mg/L)	79
Figura 30 Actividades de la operación de la columna empacada con biocatalizador de tezontle para biodegradación de fenoles	81
Figura A1 Curva granulométrica del tezontle	91
Figura A2 Curva granulométrica de la arena	92
Figura A3 Curva granulométrica del carbón activado	93
Figura B1 Adsorción de fenol en carbón activado	94
Figura B2 Isoterma de adsorción de fenol en carbón	95
Figura B3 Adsorción de 2-clorofenol en carbón activado	96
Figura B4 Isoterma de adsorción de 2-clorofenol en carbón	97
Figura B5 Adsorción de 2,4-diclorofenol en carbón activado	98
Figura B6 Isoterma de adsorción de 2,4-diclorofenol en carbón	99
Figura B7 Adsorción de 2,4,6-triclorofenol en carbón activado	100
Figura B8 Isoterma de adsorción de 2,4,6-triclorofenol en carbón	101
Figura B9 Adsorción de fenol en alginato de calcio	102
Figura B10 Isoterma de adsorción de fenol en alginato de calcio	103
Figura B11 Adsorción de fenol en tezontle	104
Figura B12 Isoterma de adsorción de fenol en tezontle	105

1. Introducción

La contaminación del agua por tóxicos es un problema urgente de remediar. La inmoderada descarga de sustancias tóxicas en cuerpos de agua y el efecto que éstas producen ha llevado a realizar estudios para lograr el desarrollo de tecnologías capaces de aminorar este problema.

Algunas industrias producen aguas residuales con alto contenido de fenol y clorofenoles como la de fabricación de pulpa de papel, la de preservación de maderas, la industria del hierro y acero, la de refinación del petróleo y la petroquímica básica, entre otras que representan un sector importante de producción en el país.

Dentro de las tecnologías recientemente desarrolladas para degradar dichas sustancias tóxicas está la utilización de microorganismos inmovilizados ya sea por atrapamiento o adsorción. Existe una amplia gama de sistemas que han demostrado altas eficiencias para la eliminación de tóxicos. Este tipo de sistemas están basados en mantener a los microorganismos sobre una superficie, obteniendo ventajas sobre algunos sistemas convencionales.

Es importante la eliminación de fenol y clorofenoles como contaminantes de agua considerados como tóxicos prioritarios enumerados para EPA y nombrados como tóxicos orgánicos en la Norma Oficial Mexicana, generalmente presentes en diversas zonas mexicanas, como es reportado por Jiménez y Ramos (1995) donde son señalados los fenoles como parámetros problema en las regiones hidrológicas de Coatzacoalcos y Grijalva-Usumacinta en ambas con niveles de 9 mg/L para agua de abastecimiento humano en cuerpos superficiales, lo que se atribuye a las descargas industriales con altas concentraciones de fenoles.

Dentro de los métodos fisicoquímicos reportados para la eliminación de fenoles y clorofenoles en agua tenemos la filtración por membranas, la oxidación química y

fotocatalítica, la coagulación química, y la adsorción; dentro de los sistemas de tratamiento biológico convencionales están las lagunas aeradas, lodos activados, filtros rociadores, reactores aerobios, anaerobios y anóxicos.

Una alternativa desarrollada en la década pasada y en la presente son los sistemas de células inmovilizadas, en los cuales se han realizado estudios con diversos microorganismos para la biodegradación de un gran número de tóxicos. Dichos sistemas han presentado altas eficiencias trabajando con altas concentraciones de los tóxicos, mostrando ventajas sobre los sistemas convencionales.

En los trabajos reportados, la inmovilización se ha realizado con una gran variedad de microorganismos sobre una enorme diversidad de materiales de origen orgánico e inorgánico, siendo difícil comparar la efectividad de los sistemas entre sí.

Recomienda Klein y Ziehr (1990) para la evaluación y caracterización de los biocatalizadores realizarse en base a criterios como: a) Carga biomásica de inmovilización, b) Capacidad de retención de biomasa y fuerza de adhesión, c) Actividad de biodegradación, d) Estabilidad operacional.

En el presente trabajo se comparan cuatro materiales (arena, tezontle, carbón y alginato de calcio) como soportes para inmovilización de la bacteria *Pseudomonas fluorescens*. Se determinaron sus propiedades fisicoquímicas, capacidad de inmovilización y el comportamiento de un sistema de columna empacada con biocatalizador a la variación de parámetros como la concentración y tipo de tóxico fenólico, temperatura, pH y nivel de oxígeno disuelto.

Mediante la evaluación de estas propiedades se puede recomendar y elegir el biocatalizador adecuado para ciertas condiciones de operación en la eliminación de fenoles de efluentes con altas concentraciones de fenoles.

2. Antecedentes

2.1. Toxicidad y legislación

Se define a un tóxico como aquella sustancia capaz de producir un efecto(s) nocivo en un sistema biológico, daño a sus funciones o la muerte.

Los elementos necesarios para producir toxicidad son:

- a) El agente físico o químico capaz de producir el efecto.
- b) El sistema biológico con el cual el agente pueda interactuar.
- c) Un medio que permita interactuar al agente con el organismo y producir el efecto nocivo.

La cantidad de sustancia absorbida es uno de los factores importantes que determinan la intensidad del efecto tóxico.

2.1.1. Toxicidad de fenoles

Dentro de los tóxicos considerados como prioritarios en agua mediante criterios de evaluación como: Carcinogenicidad, mutagenicidad, teratogenicidad, bioacumulación y persistencia en sistemas biológicos; han sido reportados un listado de tóxicos en agua por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) y por la Comisión Internacional para la Protección del Río Rhin contra la Polución (CIPR), donde se encuentran los compuestos fenólicos.

En el presente trabajo se utilizaron compuestos fenólicos, algunos de los que son enumerados como tóxicos prioritarios en agua por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) en la Tabla 1. Adicionalmente, en la Tabla 2, se muestran las concentraciones límites de toxicidad y clasificaciones que reciben los fenoles.

Tabla 1 Fenoles que forman parte de los Tóxicos Prioritarios por la Agencia para la Protección Ambiental (EPA) en Agua

Fuente: (Thomann y Salas 1991)

Fenol
 2-clorofenol
 2,4-diclorofenol
 2,4,6-triclorofenol
 Pentaclorofenol
 2-nitrofenol
 4-nitrofenol
 2,4-dinitrofenol
 p-Cloro-m-Cresol
 4,6-dinitro-o-Cresol
 2,4-dimetil fenol

Tabla 2 Límites de toxicidad y clasificaciones de los fenoles

Fuentes: (García, 1992) y (Richardson, 1992)

Nombre	Límites Máximos Permitidos para la vida (µg/l)			Clasificación (EPA)	Bioacumulación	Biotransformación
	Agua dulce	Agua Salada	Salud Humana			
Fenol	10200 ^(aguda) 2560 ^(crónica)	5800 ^(crónica)	3500	Desecho y Substancia peligrosa	No	Si
2-clorofenol	4380 ^(aguda)	-	0.1	Desecho peligroso	Inc	Inc
2,4-diclorofenol	2020 ^(aguda) 365 ^(crónica)	-	0.3	Desecho peligroso	Inc	Si
2,4,6-triclorofenol	970 ^(crónica)	-	12	Carcerígeno potencial Substancia y Desecho peligroso	Inc	Si

Notas: (crónica): produce daños graves a la salud en largo plazo de exposición.
 (aguda): produce daños graves a la salud, provocando daños irreversibles que ponen en riesgo la vida

2.1.2. Propiedades, usos y niveles de toxicidad de fenol y clorofenoles.

El fenol, el 2-clorofenol, el 2,4-diclorofenol y el 2,4,6-triclorofenol son fenoles considerados como tóxicos prioritarios. A continuación, en las Tablas 3, 4 y 5 se presentan algunas de sus propiedades, usos y características físicas y químicas.

Tabla 3 Nombres y características de fenoles

Fuentes: (García, 1992) (Richardson, 1992)


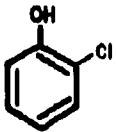
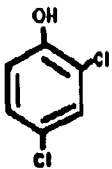
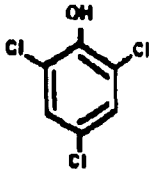
Nombre	Fórmula Empírica	Fórmula Estructural	Peso Molecular (g/gmol)	Otros Nombres
Fenol	C_6H_6O		94.11	Hidroxibenceno Acido fenólico Monohidroxibenceno
2-clorofenol	C_6H_5OCl		128.56	2-cloro-1-hidroxibenceno 2-orto-clorofenol
2,4,-diclorofenol	$C_6H_4OCl_2$		163	2,4-DCP 1-hidroxi-2,4-diclorobenceno
2,4,6-triclorofenol	$C_6H_3OCl_3$		197.47	2,4,6-TCD Dowicide 25 ^R 2,4,6-triclorohidroxibenceno


Tabla 4 Propiedades físicas de fenol y clorofenoles

Fuente: (García, 1992), (Richardson, 1992)

Nombre	P. Fusión (°C)	P. Ebullición (°C)	Solubilidad H ₂ O 20°C (mg/l)	Edo. Físico a 20°C	coeficiente de partición LOG octanol / agua
Fenol	41	182	93000	sólido blanco cristalino	1.46
2-clorofenol	9	175	28500	liquido	2.15
2,4-diclorofenol	45	210	4500	sólido cristalino	2.75
2,4,6-triclorofenol	68	248	800	sólido cristalino hojuelas amarillas	3.69

Tabla 5 Usos de los fenoles

Fuente: (García, 1992), (Richardson, 1992) y (USEPA -base de datos tóxicos 1994)

Nombre	Usos Utilización en los procesos de fabricación de:	Clasificación DOT
Fenol	Explosivos fertilizantes, pinturas, removedores de pinturas, asbesto, conservador de madera, resinas sintéticas, textiles, caucho, perfumes, jabón, plásticos, papel y desinfectante.	Veneno B
2-clorofenol	Obtención de colorantes, en síntesis orgánica.	
2,4-diclorofenol	Síntesis orgánica.	-
2,4,6-triclorofenol	Obtención de pentaclorofenol. Se usa directamente como germicida, bactericida, conservador de madera y defoliante.	ORM-A

Notas: DOT: Designación del Departamento de transporte de los Estados Unidos de América para materiales peligrosos
Veneno B: Sustancia peligrosa de rápida combustión

 : La etiqueta debe tener el símbolo de venenoso y peligroso

ORM-A: Sustancia (anestésico, irritante, nocivo, tóxico, en otra propiedad similar), que puede causar malestar a los pasajeros y tripulantes durante la transportación en caso de presentarse alguna fuga

Si: Si existen reportes e información que lo fundamentan.

No: No existe información directa que lo fundamente

In: No existe información suficiente que lo fundamente

FALTA PAGINA

No. 7

Se han reconocido un gran número de sustancias tóxicas en la descarga de aguas de uso industrial y doméstico, dentro de las cuales están presentes el fenol y algunos mono, di y triclorofenoles; por lo que se ha restringido la concentración máxima permisible en la descarga a cuerpos receptores de agua. Los fenoles son tóxicos orgánicos normados en la Norma Oficial Mexicana en Materia de Protección Ambiental (18 de octubre de 1993), listados en su Anexo A. En la Tabla 7 se nombran con la numeración citada en norma.

**Tabla 7 Tóxicos orgánicos (fenoles) normados
Norma Oficial Mexicana de Protección Ambiental**

Numeración contenida en el anexo A	Tóxico
13	Fenol
34	2,4,6-triclorofenol
35	para-Cloro-meta-Cresol
36	2-clorofenol
37	Pentaclorofenol
38	2,4-diclorofenol

Los fenoles clorados y el fenol son normados como fenoles totales con valores numéricos para descarga de aguas residuales a cuerpos receptores. Estos valores están dados por la Norma Oficial Mexicana para la Calidad del Agua como se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8 Parámetros límites de fenoles para su descarga

Norma Oficial Mexicana

Norma oficial Mexicana	Parámetro Límite máximo permisible Fenoles (mg/L) para descarga de aguas residuales a cuerpos receptores	
	Promedio Diario	Instantáneo
NOM-002-ECOL-1993	0.5	0.75
NOM-003-ECOL-1993	0.5	0.75
NOM-005-ECOL-1993	0.5	0.75
NOM-013-ECOL-1993	0.5	0.75
NOM-014-ECOL-1993	0.1	0.20
NOM-019-ECOL-1993	0.1	0.20
NOM-031-ECOL-1993	5	10

2.2. Sistemas de tratamiento de tóxicos

Se han reportado en la literatura diversos métodos para la eliminación de fenol y clorofenoles en agua. Entre las alternativas, están los métodos fisicoquímicos y los métodos biológicos tradicionales de biodegradación, además de sistemas novedosos como son los de uso de microorganismos inmovilizados.

2.2.1. Sistemas fisicoquímicos y sistemas biológicos convencionales.

Dentro de los sistemas fisicoquímicos reportados para la eliminación de fenol y clorofenoles podemos citar el arrastre por vapor (Mann, 1984), la oxidación química (Leitis, 1983), la oxidación con aire húmedo, (Randall, 1980; Rappe, 1986; Keen, 1985), la oxidación fotocatalítica (Tseng y Haung, 1991), la polimerización y precipitación catalizada enzimáticamente (Nicell, 1992), la coagulación química (Alemark, 1991), la adsorción en carbón activado (Dimadopoulos, 1992) y la ozonólisis (Chia-Yuan, 1994). Muchos de estos procesos presentan altas eficiencias, pero altos costos de operación.

Dentro de los sistemas biológicos convencionales que se han reportado para la biodegradación de fenol y clorofenoles; están las lagunas aeradas, los lodos activados, los reactores de lecho fluidificado, los reactores anaerobios y anóxicos. Algunos ejemplos de estos sistemas son mostrados en la Tabla 9. Las desventajas que presentan los sistemas convencionales en la eliminación de tóxicos son:

- a) Las concentraciones máximas permisibles del tóxico a eliminar, tienen efecto de inhibición.
- b) Generación de alta cantidad de lodos residuales que contienen el tóxico en grandes concentraciones.
- c) En el tratamiento de convencional, los microorganismos presentan periodos de adaptación prolongados
- d) Existe baja especificidad por compuestos de interés frente a otras fuentes de carbón de más fácil degradación.

e) Dificil manejo de los microorganismos.

Tabla 9 Sistemas biológicos convencionales para la eliminación de fenol y clorofenoles

Microorganismos	Tóxico Degradado	Tipo de Sistema empleado	Referencia
Microorganismos aislados de lodos	2,4-diclorofenol 2,6-diclorofenol 3,5-diclorofenol	Reactor de lecho fluidificado	Puhakka. (1991)
Microorganismos aislados de lodos	Fenol Pentaclorofenol	Frascos agitados	Mueller. (1991)
Microorganismos provenientes de lodos activados	2,4,6-triclorofenol 2,3,4,6-tetraclorofen. Pentaclorofenol	Reactor de lecho fluidificado	Puhakka. (1992)
Microorganismos aislados de lodos	Pentaclorofenol	Reactor continuo agitado (Fill & Draw)	Jacobsen. (1991)
Microorganismos de estuario y microorganismos de un bioreactor	2-clorofenol 3-clorofenol 4-clorofenol 2,4-diclorofenol	Sistema por lote (Matraz)	Hagblom y Young (1990)
Microorganismos varios	clorofenoles	Reactor de lecho fluidificado	Hakulinen y salknoja (1984)
Microorganismos de 170 muestras de tierra	Triclorofenoles Tetraclorofenoles Pentaclorofenol	Sistema por lote (Matraz)	Kiyohara. (1989)
Bacterias no especificadas	Fenol	Reactor de flujo mixto	Chang y Rittman (1988)
Cultivo puro de bacterias	Fenol	Columna de lecho empacado	Chang y Rittman (1986)
Microorganismos aislados de un lodo granular	2,3,6-triclorofenol 2,4,6-triclorofenol 3,5-diclorofenol	Reactor Batch	Mohn y Kennedy (1992)

2.2.2. Sistemas inmovilizados.

Actualmente se han desarrollado nuevas tecnologías para la biodegradación de tóxicos, como son los sistemas de microorganismos inmovilizados en distintos tipos de soportes, que pesar de haber sido poco estudiados, muestran altas eficiencias aun en altas concentraciones de los tóxicos. En la Tabla 10 se muestran algunos sistemas de microorganismos inmovilizados reportados y su modo de operación para biodegradación de fenol y clorofenoles.

Los sistemas inmovilizados, en relación con los sistemas libres tienen las siguientes características:

Ventajas de los sistemas libres son:

- a) Bajo costo de operación
- b) Fácil preparación del sistema para la operación
- c) No presentan problemas importantes de transferencia de masa

Se pueden obtener sistemas de biocatalizadores con altas actividades que pueden ser mantenidas hasta por meses, teniendo la posibilidad de ser almacenados, conservando su actividad, además de lograr biodegradaciones importantes de tóxicos a bajas y altas concentraciones.

Los sistemas de inmovilización de células han sido estudiados y comparados como alternativa en muchos procesos biotecnológicos (Durand y Navarro, 1978; Klein y Wagner, 1978, 1988; Kolot, 1981; Fukui y Tanaka, 1982; Vorlop y Kenin, 1983; Rosevear, 1984; Phillips y Poon, 1988) en diferentes áreas, obteniendo grandes perspectivas de uso y desarrollo.

Tabla 10 Sistemas inmovilizados para la biodegradación de fenoles

Microorganismo	Tóxico (sustrato)	Sistema y modo de operación	Referencia
<i>Alcaligenes sp. A 7-2</i>	4-clorofenol	Columna empacada, batch semicontinuo y continuo.	Balfanz y Rehm (1991)
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (BKM-F-1767)	Pentaclorofenol	Sistema batch Matraz	Lin, (1990)
<i>Pseudomonas putida</i> (PPG4)	Fenol 4-clorofenol	Reactor agitado continuo y semicontinuo	Sáez (1992)
<i>Pseudomona putida</i>	Fenol Clorofenoles	Fermentador batch	Dapaah y Hill (1992)
<i>Pseudomonas putida</i>	4-clorofenol	Reactor batch	Sáez y Rittman (1991)
<i>Pseudomona putida p8</i>	Fenol	Reactor de lecho fluidificado, continuo	Bettman y Rhem (1985)
<i>Pseudomona putida p8</i>	Fenol	Air-lift continuo y semicontinuo	Ehrardt y Rehm (1989)
<i>Fusarium flocciferum</i>	Fenol	Reactor mezclado	Anselmo (1992)
<i>Cryptococcus elinovii</i> H1 y <i>Pseudomona putida p8</i>	Fenol	Columna empacada, continuo	Morsen Rehm (1990)
<i>Methanospirillum hungatei</i>	Fenol	Matraz agitado	Knoll y Winter (1989)
<i>Pseudomona sp RA2</i>	3,4-diclorofenol 2,3,5,6-Tetraclorofenol Pentaclorofenol	Matraz agitado, batch	Ibarra y Rodriguez (1993)
<i>Candida sp. y Pseudomonas sp.</i>	Fenol	Reactor loop	Ehrhard y Rehm (1995)
<i>Alcaligenes sp. A7-2</i>	4-clorofenol	Columna empacada, continuo	Westmeir y Rehm (1987)
<i>Escheria coli</i> K12, <i>Pseudomona putida p8</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> No. 257	Fenol	Matraz agitado, batch	Kewelon, (1989)
<i>Pseudomona putida</i>	Fenol	Fermentador agitado cultivo continuo	Allsop, (1993)
<i>Pseudomona pickettii</i>	2,4,6-Triclorofenol	Matraz agitado	Kiyohara, (1992)
<i>Rhodococcus chlorophenolicus</i>	Clorofenoles	Matraz	Hägglom, (1988)

2.2.3. Tipos de inmovilización.

La inmovilización es el proceso por el cual una célula, microorganismo o enzima se transfiere de un estado soluble móvil a un estado inmóvil o confinado. Para Klein y Ziehr (1990) la inmovilización puede llevarse a cabo mediante dos procedimientos que son los siguientes:

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

Estas técnicas se muestran en la Figura 1.

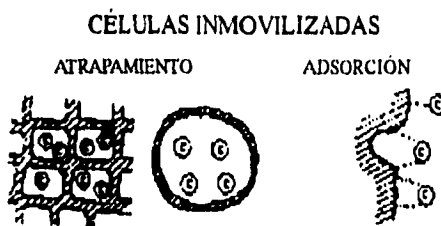


Figura 1 Tipos de inmovilización

Cuando las bacterias son inmovilizadas por adsorción, la retención de células se lleva a cabo por las fuerzas de Van der Waals, interacciones iónicas o covalentes.

Este tipo de proceso se puede dividir en varias etapas según (Marshall, 1971; Characklis, 1981; Duddridge y Pritchard, 1982 y Ellwood, 1982) que son:

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

La inmovilización de células por atrapamiento en polímeros orgánicos es una alternativa para células que son difíciles de inmovilizar por adsorción, confinándolas a un sistema cerrado y obteniendo una menor pérdida de células por el desprendimiento causado por arrastre en la operación, independientemente de su metabolismo y de sus características fisiológicas.

La adsorción ha sido preferida por ser el sistema más simple de inmovilización, así como por implicar menores costos de operación en su realización. Las dos alternativas de inmovilización se comparan a continuación en la Tabla 11.

Tabla 11 Comparación de algunas características adsorción vs. atrapamiento

Fuente:(Klein y Zierhr, 1990)

<i>Características</i>	<i>Adsorción</i>	<i>Atrapamiento</i>
Biomasa Inmovilizada	Menor a 200 mg/g	Mayor a 700 mg/g
Retenimiento de Biomasa	Baja	Alta, completa
Resistencia a transferencia de masa externa	Se presenta	Rara presencia
masa interna	Se presenta	Se presenta
Permanencia fisiológica de microorganismos	Presenta cambios	No presentan cambios
Estabilidad Operacional		
muerte de células	Baja	Alta / muy alta
resistencia de células	No investigada	Alta
crecimiento de células	Muy alta	Muy alta
Tipo de sistemas empleados	Cama empacada	Cama empacado Cama fluidificado Cama fluidificado Tanque agitado

2.3. Criterios de evaluación de los sistemas inmovilizados

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

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

2.3.1. Cantidad de biomasa inmovilizada.

La cantidad de biomasa inmovilizada es función de las características del material utilizado en la inmovilización y compatibilidad del microorganismo con el mismo. En el caso de la adsorción depende de los siguientes parámetros:

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

En el proceso de inmovilización de microorganismos por adsorción son importantes y determinantes algunas variables de operación en sus realización para obtener mayor cantidad de biomasa inmovilizada, algunas de estas variables son el flujo de la solución inoculada, el pH de la solución recirculada entre otras (Mozes, 1987). La adhesión de las células es regida principalmente por interacciones electrostáticas; en casos especiales se presenta adhesión de células cargadas negativamente a soportes cargados negativamente, esto es posible porque el microorganismo desarrolla macromoléculas extracelulares capaces de ayudarla a fijarse al

soporte como se muestra en la Figura 2. En el caso de *P. fluorescens*, la distancia de separación entre la pared celular y la superficie del material soporte llega a ser de hasta 100 nm (Marshall, 1985).

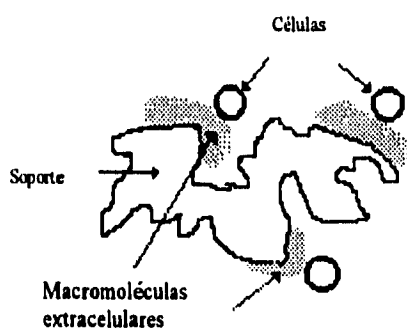


Figura 2 Adsorción de células

Para obtener una mayor eficiencia de inmovilización del microorganismo dentro del poro del material, se recomienda que el tamaño del diámetro del poro con respecto al tamaño del microorganismo sea de 4 a 5 veces como se muestra en la Figura 3 (Messing, 1985).

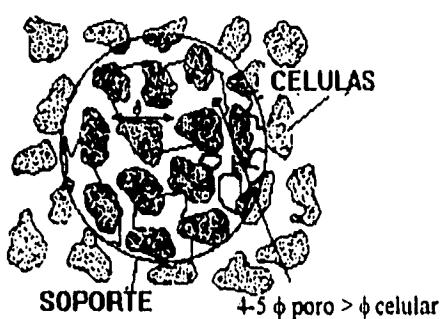


Figura 3 Diámetro óptimo para inmovilización

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

- a) Debe de ser económico y abundante en cantidad.
- b) El proceso de inmovilización debe de ser simple y efectivo. El biocatalizador debe presentar la capacidad de ser almacenado, manteniendo su actividad.
- c) Capacidad de alta eficiencia de inmovilización.
- d) Resistencia y facilidad de manejo y montaje en su utilización.

Han sido utilizados diferentes materiales para la inmovilización de microorganismos, algunos de origen inorgánico como partículas de arena, cerámica, vidrio poroso etc. Entre los materiales utilizados de origen orgánico tenemos al carbón, las astillas de madera, y los polímeros orgánicos.

La Tabla 12 se muestra diferentes materiales, para la inmovilización de microorganismos.

Tabla 12 Materiales utilizados en la fabricación de biocatalizadores para eliminación de fenoles en agua.

Material utilizado para la inmovilización.	Referencia
Arcilla granular y arena	Balfanz y Rehm (1991)
Carbón activado D45/2 y C40/4	Ehrhardt y Rehm (1989), Morsen y Rehm (1990), Morsen y Rehm (1987)
Poliuretano	Anselmo y Novais (1992)
Poliacrilamida-hidrazida	Bettman y Rehm (1985)
Vidrio sinterizado	Morsen y Rehm (1990)
Carbón activado	Ehrhardt y Rehm (1985)
Alginato de calcio	Westmeier y Rehm (1995), Kewelon, (1989), Zache y Rehm (1989)
Agregados de arcilla	Westmeier y Rehm (1989)
Quitósán alginato	Zache y Rehm (1989)
Zeolita	Anselmo, (1989), Puhakka, (1992)
Anillos de cerámica	Hendriksen, (1991)

En el caso de la inmovilización por atrapamiento, frecuentemente realizada en polímeros, la capacidad de retención de la biomasa depende fundamentalmente de la concentración del polímero. Por ejemplo, para la inmovilización por atrapamiento de *Pseudomonas fluorescens* en un hidrogel la cantidad de biomasa decrece con el incremento de agua contenida en el gel (Pringle y Fletcher, 1986).

2.3.2. Retención de biomasa y fuerza de adhesión

El nivel de retención de biomasa o fuerza de adhesión en un sistema de biodegradación depende de factores de operación, entre los cuales el flujo es el más importante. Existe un flujo máximo posible, el cual es fácilmente detectable por el incremento en la turbiedad de la fase líquida (Marcipar, 1980).

Dentro de los sistemas de biodegradación con utilización de biocatalizadores se tienen los siguientes tipos:

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

2.3.3. Retención de la actividad enzimática del biocatalizador

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

La biodegradación se realiza por medio de reacciones bioquímicas, las cuales son llevadas a cabo por sistemas enzimáticos complejos, aun no bien caracterizados y comprendidos.

2.3.4. Actividad del biocatalizador

La efectividad del biocatalizador es un parámetro importante. Se desea que por la inmovilización se alcancen eficiencias más altas en tiempos de operación más cortos. La efectividad de un biocatalizador está dada por la especificidad de la reacción, en el caso de la catálisis heterogénea es importante los procesos de transferencia de masa involucrados que son según Karel (1985): a) Resistencia de transferencia de masa externa sobre la capa de difusión y, b) Resistencia de masa interna causada en la difusión por los poros dentro de la matriz polimérica.

2.3.5 Estabilidad operacional

Dentro de la evaluación de efectividad de un biocatalizador es importante evaluar la estabilidad de operación. Además de obtener altas eficiencias, es importante tener una factibilidad y durabilidad operacional del sistema manejado, con tiempos de vida largos (Klein y Kressdorf, 1983).

2.4. Adsorción de tóxicos.

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

En la Figura 4 se muestra esquemáticamente el fenómeno de adsorción del tóxico en el biocatalizador como un fenómeno de afinidad de superficie.

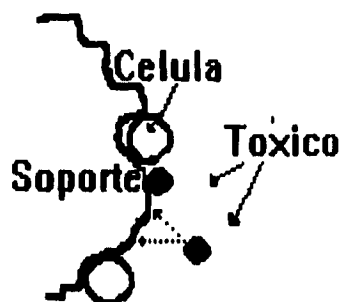


Figura 4 Adsorción de tóxico en el biocatalizador.

2.4.1. Principios de adsorción

El proceso de adsorción fue observado por primera vez para los gases en el año de 1773 por C. W. Scheele y luego para soluciones por Lowitz en 1785 (Kraemer, 1930). Este proceso es reconocido como un fenómeno importante para la mayor parte de los procesos físicos, biológicos y químicos.

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

La adsorción es un proceso mediante el cual se extrae materia de una fase y se concentra en una superficie, y por ello se considera como un fenómeno superficial. La adsorción de una solución a un sólido ocurre como resultado de una de las dos propiedades características de un sistema disolvente-soluto-sólido, o una combinación de las mismas. La fuerza impulsora primaria de la adsorción puede ser una consecuencia del carácter liofóbico (no afinidad al disolvente) del soluto respecto al disolvente particular, o una afinidad elevada del soluto por un sólido. En la mayoría de los sistemas encontrados en el tratamiento del agua residual, la adsorción tiene lugar por una acción combinada de las dos fuerzas.

El grado de solubilidad de una sustancia disuelta es, con mucho, el factor más importante para determinar la intensidad de la primera de las dos fuerzas impulsoras. Se considera al grado de solubilidad como el grado de compatibilidad química entre un soluto y un

disolvente. Cuanto mayor atracción tiene una sustancia por el disolvente, (mas hidrofílica en el caso de una solución acuosa), menos posibilidad tiene de trasladarse hacia una interfase para ser adsorbida.

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

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

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

2.4.2. Isoterma de adsorción

La forma de expresar esta distribución es la isoterma de adsorción, la cual consiste en expresar la cantidad q_e como una función de C a una temperatura fija: q_e es la cantidad de soluto adsorbido por unidad en peso de adsorbente sólido, y C es la concentración del soluto que permanece en solución en el equilibrio. La isoterma de adsorción es una función de la variación de la adsorción con la concentración de adsorbato en el seno de la solución y a temperatura constante.

Puede ocurrir varios tipos de relaciones isotérmicas de adsorción. La relación más común entre q_e y C se obtiene para los sistemas en que la adsorción desde la solución da lugar a la deposición de una capa aparente de moléculas de soluto sobre la superficie del sólido.

Un modelo para relacionar la adsorción isotérmica es la ecuación de Freundlich o van Bemmelen, el cual se ha utilizado ampliamente durante muchos años. Esta ecuación es un caso especial para energías superficiales heterogéneas. La ecuación de Freundlich tiene la forma general

$$q_e = K_F C^{1/n} \quad (\text{Ec. 1})$$

en donde K_F y n son constantes, y $n > 1$ ($K_F \propto RT \exp(-\Delta H/RT)$)

La ecuación de Freundlich es básicamente empírica pero es un instrumento útil para describir los datos experimentales. Los datos se ajustan generalmente a la forma logarítmica de la ecuación

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C \quad (\text{Ec. 2})$$

El resultado de este ajuste es una línea recta con pendiente $1/n$ y ordenada al origen es igual al valor de $\log K_F$ para $C=1$ ($\log C = 0$). La ordenada al origen es una indicación aproximada de la capacidad de adsorción del sistema y la pendiente $1/n$, de la intensidad de adsorción. La ecuación de Freundlich concuerda bastante bien con la ecuación de Langmuir para datos experimentales dentro de un intervalo de concentraciones bajas y moderadas

La ecuación de Freundlich se suele usar para comparar carbones activados en polvo o granulares utilizados en el tratamiento del agua. La cantidad adsorbida, q_e , es igual a $(C_0 - C)/D_0$, siendo C_0 la concentración de fenol u otro contaminante y D_0 la dosificación de carbón, es decir, el peso por unidad de volumen. La sustitución en la ecuación (Ec. 2) da:

$$\log \frac{C_0 - C}{D_0} = \log K_F + \frac{1}{n} \log C \quad (\text{Ec. 3})$$

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

2.5. Materiales utilizados en la inmovilización

Anteriormente se ha mencionado la importancia de la elección del material para inmovilizar microorganismos de acuerdo con sus propiedades físicas y químicas. En el presente trabajo se utilizaron tres materiales (tezontle, carbón activado y arena) para inmovilización por adsorción y un material polimérico (alginato de calcio) para la inmovilización por atrapamiento.

2.5.1. Tezontle

El tezontle es una piedra porosa de origen volcánico, formado por las erupciones neumolíticas efectuadas en el periodo Jurásico de la era terciaria. Pertenece al tipo de rocas ígneas o magmáticas. Otros nombres que recibe son tesontle, tesoncle, tesonclale, tezontli, tezontlate, tezontlallil, piedra pómez roja o colorada.

Se le da uso de adorno de paredes pisos, rellenos. Es un material de bajo costo, duro, resistente y de estructura porosa. Su composición exacta es desconocida por depender del lugar de extracción, varía su color según sea su estado de oxidación que va desde rojo hasta el negro. La composición química es la de una roca basáltica que usualmente contiene entre 48% a 52% en sílice. Una composición típica es la mostrada en la Tabla 13.

Tabla 13 Composición común de Tezontle

Compuesto	Composición %	Compuesto	Composición %
SiO ₂	49.2%	CaO	9.47%
TiO ₂	1.34%	Na ₂ O	2.91%
Al ₂ O ₃	15.02%	K ₂ O	1.10%
FeO ₃	3.74%	H ₂ O+	0.95%
FeO	7.13%	H ₂ O	0.43%
MgO	6.73%	P ₂ O ₅	0.35%

2.5.2. Alginato de calcio

El término alginato es ocupado para nombrar y designar genéricamente a las sales del ácido algínico. El alginato mas común y de mayor comercialización es el alginato de sodio.

El alginato es encontrado en todas las especies de algas cafées, en el cual es un constituyente importante de las paredes celulares, pero sólo unas pocas especies son fuentes comerciales de éste. En la Figura 5 se muestra la estructura química del alginato en forma polimérica.

El alginato es encontrado en todas las especies *Phaeophyceae* denominadas algas cafées. La fuente mas grande de producción de alginato comercial es por la *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria digitata*, y *Ascophyllum nodosum*. Algunas otras especies son utilizadas para la producción pero en menor cantidad, como son *Eklonia maxima*, *Eisenia bicyclis*, *Eklomia cava*.

Algunas de estas especies no llegan a ser utilizadas para obtención económicas de alginato debido a sus dificultades de extracción, por falta de resistencia o algunos otros problemas de proceso.

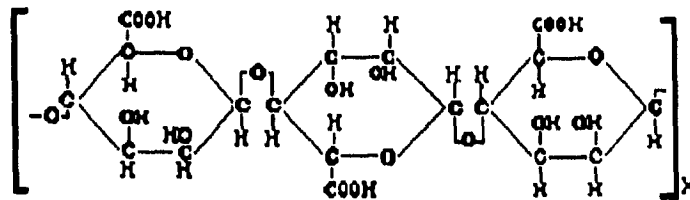


Figura 5 Red del alginato de calcio.

Dentro de los usos que se le han dado al alginato están las pinturas acuosas, la suspensión de pigmentos y el control de la viscosidad. También se usa en la industria de la cerámica, en aerosoles de insecticidas y herbicidas (donde se le da el uso de agente de suspensión), como floculante para mejorar las características de sedimentación de partículas en el tratamiento de aguas residuales.

Es utilizado como matriz y fuente de confinamiento en la inmovilización de microorganismos para la fabricación de biocatalizadores en la industria biotecnológica.

2.5.3. Carbón activado.

El carbón activado se produce mediante procesos fisico-químicos a altas temperaturas a partir de diferentes materiales como el coco, existiendo una gran gama de origen mineral. A partir del tratamiento de diferentes materiales se logra la formación de poros minúsculos, los cuales hacen que la partícula de carbón se asemeje a una esponja microscópica. Estos poros dan una enorme área de adsorción en donde se retienen una amplia gama de impurezas y tóxicos.

La superficie de contacto desarrollado en un carbón activado es tan grande que un solo gramo de éste producto puede tener entre 450 y 1800 metros cuadrados de superficie de contacto, razón por la cual importantes cantidades de material pueden ser removidas.

Los poros de carbón deben ser del tamaño aproximado de las moléculas o impurezas que van a adsorber, de lo anterior la importancia de contar con un carbón activado vegetal o mineral con distintas propiedades.

Las impurezas quedan adsorbidas en la superficie interna y externa de los micro y macro poros del carbón activado, el cual al ser eliminado del material tratado, ya sea por filtración o bien por percolación, llevando consigo las impurezas.

Los carbones activados se utilizan en diferentes industrias de alimentos, como en la refinación de azúcar, purificación de bebidas alcohólicas, purificación de gredina, vinagre, jugos de frutas, y en el proceso de descafeinado; también se le utiliza en el tratamiento de aguas residuales, en la decoloración y purificación de grasas y aceites, en la purificación de productos químicos y en la refinación del petróleo, aprovechado como adsorbente de tóxicos por sus propiedades fisicoquímicas de adsorción. El carbón activado es uno de los adsorbentes más utilizados en la industria para la purificación de soluciones. En la Tabla 14 se dan algunas características de los carbones activados comerciales.

Tabla 14 Propiedades de carbón activado

(CLARIMEX S.A.)

PROPIEDAD	madera	coco	lignita	hulla bit.
<i>Nombre comercial</i>	VG	CS	CAGR	CAGR B (8*30)
Humedad	12 % max	6%	4%	2%
pH	2-4	9	5-6	8
AAM (Transición) Å	25	NR	25	25
ARM (Macroporo) Å	99	NR	102	92
NI mg/g (Microporo)	800	550	650	950
Densidad aparente	0.22-0.25	0.45-0.52	0.38	0.47
Solubles en H ₂ O	5%	-	-	-
Area Superficial m ² /g	-	550	650	1050
Volumen poro ml/g	-	0.32	0.95	0.8
No. de abrasión (ASTM)	-	95	80	88
Diámetro poro prom. Å	-	-	56	30

Notas:

AAM: Diámetro en Å de poros medios

ARM: Diámetro en Å de macroporo

NI: Nivel de lodo

2.5.4. Arena

Se utilizó arena cristalina de tipo sílica o sílice, SiO_2 , la cual es una sustancia dura con un punto de fusión muy alto (aproximado a 1600°C). La sílice se encuentra en la naturaleza en tres formas diferentes: cuarzo, cristobalita y trimidita. El cuarzo es el más abundante de estos minerales; se encuentra en muchos depósitos como constituyente cristalino de muchas rocas. Es una sustancia incolora y dura.

Sus cristales pueden identificarse, como dextrógiros o levógiros, por el desarrollo de sus caras, y también por la dirección en que hacen girar al plano de polarización de la luz polarizada.

El dióxido de silicio es utilizado en la fabricación de acero dulce, en la fabricación en núcleos de transformadores y en la industria de fabricación del vidrio.

2.6. Aspectos importantes en los sistemas de inmovilización de microorganismos para la biodegradación de fenoles en agua

2.6.1. Influencia de la inmovilización en la biodegradación de fenoles en agua

El atrapamiento evita el crecimiento excesivo del material celular, evitando la acumulación de un lodo contaminado, como sucede en los sistemas convencionales de lodos activados y lagunas aeradas. Particularmente, cuando se emplea la técnica de atrapamiento en un polímero, se confiere una protección al microorganismo contra el efecto inhibitor del tóxico, permitiéndole alcanzar altas tasas de biodegradación si se comparan con las de los microorganismos en sistemas libres. Los trabajos de Keweloh (1989) son muy útiles en la comprensión de los mecanismos de protección en los sistemas inmovilizados.

En la Figura 6 se observa una comparación de las dosis mínimas inhibitoras de fenol sobre tres diferentes bacterias, cuando éstas se encuentran libres e inmovilizadas.

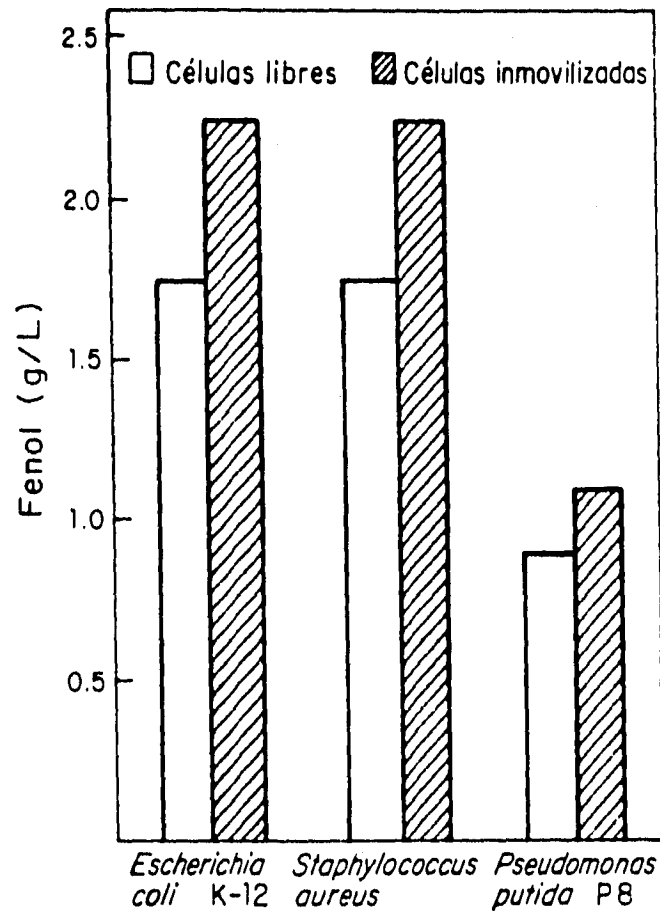


Figura 6 Concentraciones inhibitoras mínimas de fenol para tres bacterias diferentes en sistemas libres o inmovilizados (Keweloh, 1989)

Los principales problemas para la biodegradación de fenoles en agua por medio de la inmovilización de células en matriz polimérica son fundamentalmente tres: a) problemas de transferencia de masa, b) resistencia mecánica del material, c) estabilidad del sistema. Anselmo (1989) reporta un consumo de oxígeno de las células inmovilizadas como un 30% menor del que utilizaron las células libres. En general, se ha reportado una disminución en el

coeficiente de difusión molecular de oxígeno y otros nutrientes en los geles en los que se ha inmovilizado la célula, con respecto al coeficiente de difusión en agua.

Por otro lado, la resistencia mecánica de las matrices depende específicamente del material utilizado para la inmovilización y por la cantidad de células presentes.

2.6.2. Mecanismos de degradación reportados para la biodegradación de fenoles

Se sabe relativamente poco, en cuanto a los aspectos bioquímicos de la biodegradación de fenoles y clorofenoles. Se han reportado que las reacciones de degradación se llevan a cabo mediante sistemas enzimáticos todavía no muy bien caracterizados. La secuencia sugerida para la biodegradación completa de un policlorado (pentaclorofenol) por *Rhodococcus chlorophenolicus* se presenta en la Figura 7.

Uotila (1993) hizo una exhaustiva revisión de los mecanismos de degradación reportados para los clorofenoles por diversas cepas microbianas. Los mecanismos propuestos fueron:

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

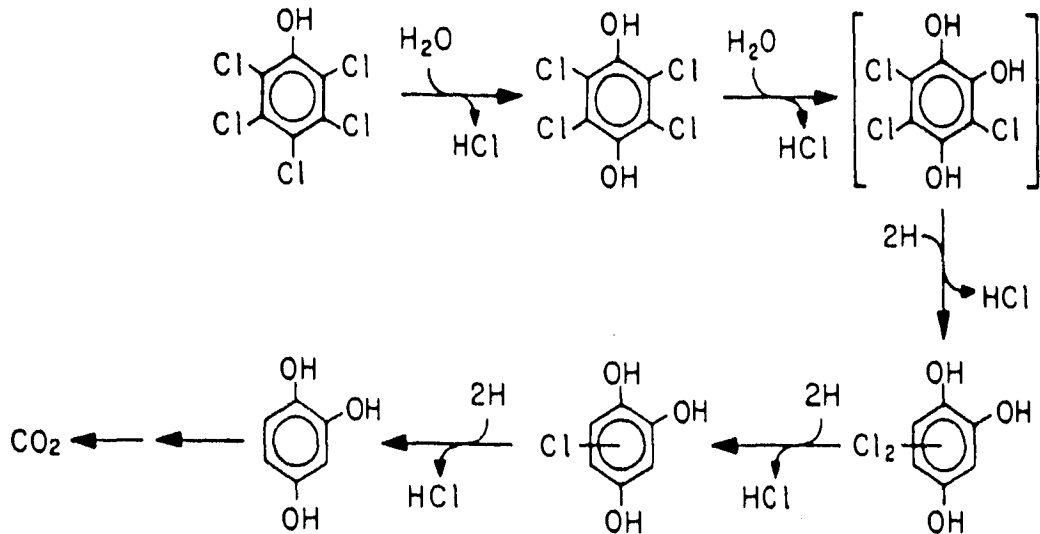


Figura 7 Mecanismo de degradación sugerido por Uotila (1993), para la degradación completa del pentaclorofenol por *Rhodococcus chlorophenolicus*.

2.6.3. Concentraciones de biodegradación en sistemas inmovilizados

El nivel de degradación de fenoles por medio de microorganismos inmovilizados es de gran importancia en la evaluación del sistema; se han reportado diferentes capacidades de eliminación de tóxicos según el tipo de microorganismo y modo de operación del sistema. En la Tabla 15 se muestran algunos valores de trabajos reportados.

En la Figura 8 se muestra la cinética típica de eliminación en sistema por lote de 15 g/L de fenol por *Candida utilis* y *Pseudomonas* adsorbidos en carbón activado, así como la cinética de crecimiento celular, medida como la densidad óptica de las soluciones, leída a 546 nm. (Ehradh y Rehm, 1985).

Tabla 15 Concentraciones de sistemas de inmovilización reportados

Microorganismo	Material de inmovilización	Tóxico biodegradado	Actividad de biodegradación (g/L día)	Referencia
<i>Pseudomonas sp.</i>	poliacrilamida-hidrazida (PAAH)	Fenol	0.030	Bettman y Rhem (1985)
<i>Alcaligenes sp.</i>	alginato de calcio	4-clorofenol	0.53	Zache y Rhem (1985)
<i>Pseudomonas</i> y <i>Cryptococcus</i>	carbón activado	Fenol	0.0160	Morse y Rhem (1987)
<i>Pseudomonas putida</i> y <i>Cryptococcus elinovii</i>	alginato de calcio y quitina	Fenol	0.981	Zache y Rhem (1989)
Cultivos mixtos	carbón activado	Fenol	6.4	Morsen y Rhem (1990)

Como se observa en la Figura 8 *Candida utilis* requiere 220 horas para degradar totalmente el fenol, mientras que *Pseudomonas* no elimina el 100% del fenol inicial en el mismo tiempo.

Por otro lado, las cinéticas de crecimiento celular para ambos microorganismos, no son las mismas.

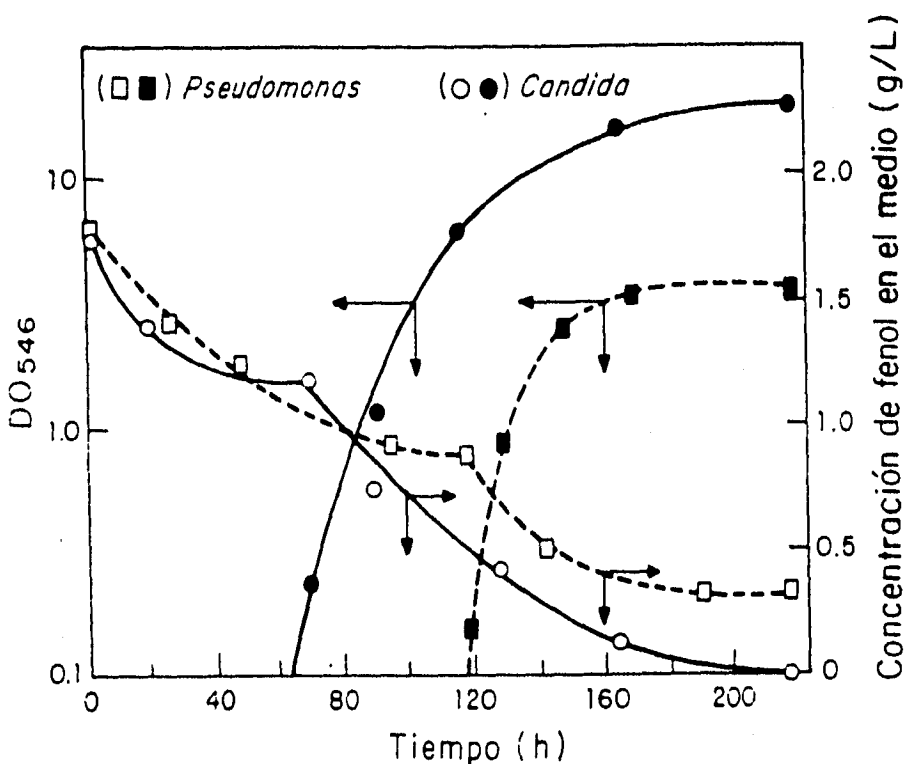


Figura 8 Cinética de crecimiento y degradación de fenol por células de *Candida* y *Pseudomonas* adsorbidas en carbón activado, después de la adición de 15 g/L de fenol (Ehrhard y Rhem, 1985).

6.3.4. Factores que influyen en la biodegradación de compuestos fenólicos

En la biodegradación de tóxicos como los fenoles, ciertos parámetros y condiciones de operación influyen en la velocidad y eficiencia de biodegradación.

Diferentes trabajos, muestran la influencia de los parámetros en la realización de las pruebas como lo son: la temperatura, el pH, el nivel de oxígeno disuelto, tipo y concentración del tóxico.

Cabe mencionar que dependiendo del tipo de microorganismo utilizado estos parámetros pueden variar, no siendo generalizables para todos los sistemas.

En la Figura 9 se muestra una cinética típica del proceso continuo de eliminación de fenol y clorofenol, en este caso se trata de *Pseudomonas putida*, inmovilizada en poli(acrilamida-hidrazida) (Bettmann y Rehm, 1985).

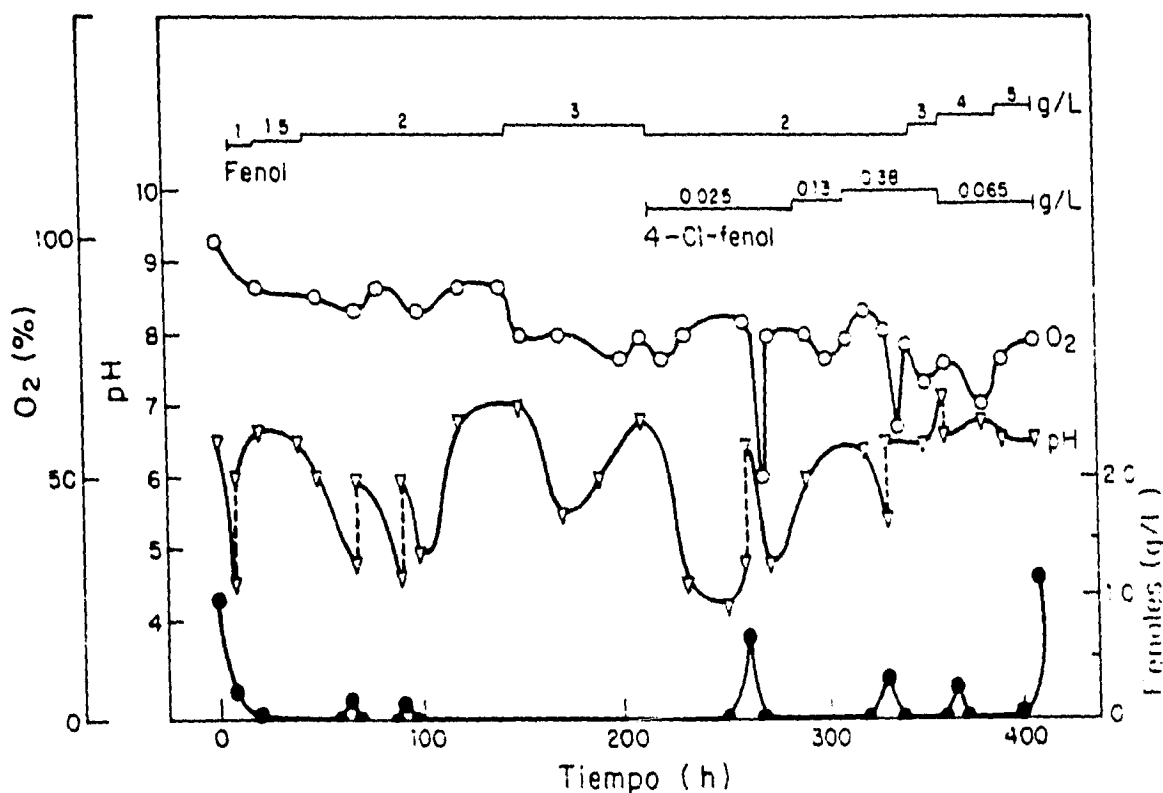


Figura 9 Cinética de degradación de fenol y 4-clorofenol por *Pseudomonas putida*.

Como se puede observar en la Figura 9, el fenol y clorofenol fueron adicionados en concentraciones variables (fenol, 1-5 g/L; clorofenol 2.5-6.5 mg/L). El nivel de aeración fue de 1.5 volúmenes por volumen de medio (vvm). Es interesante notar que la degradación de fenol estuvo directamente relacionada con el pH del medio, cuando este bajó a niveles menores a 4.5-5, la actividad de degradación del fenol fue disminuida y se observaron trazas de fenoles en la corriente de salida. Al restaurar el pH a un nivel de 6.0, la biodegradación se

reinició. Este sistema presentó una velocidad de degradación de fenol de 7.2 g/L día en promedio.

Desafortunadamente, existe una gran dispersión en los trabajos publicados en la literatura relacionados con los sistemas empleados y el modo de operar. Es difícil hacer comparaciones entre sistemas, ya que los pocos trabajos se desarrollaron tratando diversos compuestos tóxicos, empleando diferentes cepas (hongos, bacterias, levaduras), inmovilizadas en diferentes materiales.

Objetivo General:

Recomendar un material como soporte para la fabricación de un biocatalizador y definir las condiciones de operación de una columna empacada con el biocatalizador para la eliminación de fenoles en agua.

Metas particulares:

- Caracterizar los soportes utilizados en la inmovilización de *Pseudomonas fluorescens*.
- Evaluar la capacidad de inmovilización de bacteria en los soportes por adsorción o atrapamiento.
- Evaluar la adsorción de fenoles por los diferentes empaques utilizados.
- Evaluar el efecto del tipo y concentración del tóxico, temperatura, pH y oxígeno disuelto en la operación de una columna empacada con un biocatalizador recomendado para la biodegradación de fenoles en agua, por operación en lote.
- Evaluar la eficiencia y la estabilidad operacional del biocatalizador en una columna empacada para la degradación de fenoles en agua.

Materiales y métodos

3.1. Caracterización físico-química de soportes

Materiales utilizados para caracterización:

- ☞ Tezontle (Totolzingo, Hidalgo)
- ☞ Arena sílica (Rancho Alegre S.A. ,Veracruz)
- ☞ Carbón activado (Marca Clarimex S.A, VG14x34)
- ☞ Alginato de calcio (Marca Burmester Pharmatrade, Hamburgo, Alemania)

3.1.1. Granulometría de los soportes

Se realizó la granulometría de muestras originales de los materiales adquiridos; para lo cual se utilizó un equipo de cribado mecánico (ROTAP), operando automáticamente durante 15 minutos, por medio de un equipo de mallas (Mont-inox, México) del numeración 3/8" a 35 (9.5 mm a 0.5 mm). Se obtuvo el peso del material retenido en cada malla y se construyó su respectiva curva granulométrica del material. Para todos los materiales se seleccionaron las partículas de las mallas 12, 14 y 16 con apertura de 1.41 mm, 1.19 mm, 1.13 mm respectivamente, haciendo una mezcla en proporciones iguales. Los motivos de esta decisión se darán en la discusión posterior.

3.1.2. Densidad aparente y real

Para el tezontle, la arena y el carbón se realizaron todos los pasos de los métodos de densidad aparente y real, en el caso de alginato de calcio se le aplicó a partir del paso b) para densidad aparente y el paso c) para densidad real.

Densidad aparente

Para determinar esta propiedad se realizaron los siguientes pasos:

- a) Se toma una muestra apropiada de acuerdo al material, la cual se lava y seca a 103°C durante 24 horas
- b) Se enfría la muestra en un desecador y se introduce en una probeta graduada, se agita y se deja asentar en forma natural, se le dan unos pequeños golpes en el fondo para asegurar su distribución y asentamiento
- c) Se realiza la lectura del volumen ocupado por el material
- d) Se pesa la cantidad de material contenido en ese volumen

Cálculos: Densidad aparente = Peso material / volumen aparente.

Densidad real

Para determinar esta propiedad se realizaron los siguientes pasos:

- a) Se toma una muestra apropiada de acuerdo a el material, la cual se lava y seca a 103°C.
- b) Se pesa el material (P_a) y se hierve en 100 mL de agua destilada durante 5 min, con el fin de expulsar el aire retenido entre los poros del material.
- c) Se enfría la mezcla y se introduce en un matraz aforado, previamente pesado (P_m), se aforo con agua destilada y se vuelve a pesar (P_f) como peso final.

Cálculos: $\text{Peso del agua} = \text{Peso final} - \text{Peso matraz} - \text{Peso material}$
 $\text{Volumen del agua} = \text{Peso del agua} / \text{Densidad del agua}$
 $\text{Volumen de la muestra} = \text{Volumen aforado} - \text{Volumen del agua}$
 $\text{Densidad Real} = \text{Peso material} / \text{Volumen de la muestra}$

3.1.3. Porosidad

Se aplicó esta técnica a arena, carbón y tezontle

- a) Se colocaron 150 g de material en un tubo Jackson de 0.75 m. de largo por 0.028m. de diámetro, el cual se llena de agua hasta la mitad.
- b) Se agita para extraer el aire.
- c) Si el agua se observa turbia, decantar repetidamente hasta que se clarifique.
- d) Llenar completamente el tubo con agua y colocar el tapón de goma de modo que no queden burbujas de aire en el interior.
- e) Rotar el tubo rápidamente 150 grados.
- f) Dejar que el material sedimente y colocar el tubo verticalmente sin perturbaciones.
- g) Marcar en el tubo el bordo superior de el material.
- h) Remover la mezcla material-agua.
- i) Añadir agua hasta la marca que se hizo en el cilindro graduado.

Cálculos:

Volumen de la muestra = Peso de la muestra / Peso específico.

Volumen vacío = Volumen hecha por la muestra en el tubo -

Volumen de la muestra

% Porosidad = Volumen vacío / Volumen de la muestra \times 100

3.1.4. Pérdida por ignición

Esta técnica no se aplicó para el alginato de calcio. A los restantes materiales se les dio el siguiente tratamiento:

- a) Se lleva una cápsula de porcelana a peso constante después de calcinación (700°C).

- b) Se toman aproximadamente 20g de material lavado y secado a 103°C.
- c) Se coloca el material en la cápsula, se pesa y se introduce a una mufla a 700°C durante 1 hora.
- d) Se introduce la cápsula conteniendo el material en el desecador hasta lograr la temperatura ambiente y se vuelve a pesar.

Cálculos: Pérdida por ignición = Diferencia de pesos / peso inicial x 100

3.1.5. Solubilidad en ácido clorhídrico y solubilidad en hidróxido de sodio

Se aplico para el tezontle, arena y carbón.

Solubilidad en ácido clorhídrico

- a) Lavar una muestra de 10 g con agua destilada, desecarla a 103°C durante 24 horas y pesarla.
- b) Sumergir el material en una solución 30% de ácido clorhídrico en volumen.
- c) Dejar la muestra durante 24 horas a temperatura ambiente.
- d) Sacarla, lavarla con agua destilada, desecar y pesar de nuevo.

Cálculos: % Solubilidad al HCl = Pérdida de peso / Peso original x 100

Solubilidad en hidróxido de sodio.

- a) Lavar una muestra de 10 g con agua destilada. desecarla a 103°C durante 24 horas y pesarla.
- b) Sumergirla en solución de hidróxido de sodio al 10%.
- c) Dejar la muestra durante 24 horas a temperatura ambiente.
- d) Sacarla, lavarla con agua destilada, desecarla y pesarla de nuevo.

Cálculos: % Solubilidad al NaOH = Pérdida de peso / Peso inicial x 100

3.2. Conservación de la cepa, medios de cultivo y condiciones de crecimiento

Se utilizó la cepa *Pseudomonas fluorescens* Ps.9 donada por el Instituto Cubano de Investigación y Desarrollo de la Caña de Azúcar (ICIDCA), Habana Cuba. La cepa fue recibida en *slant* la cual fue transferida para mantenerla, en cajas Petri con medio complejo YPG agar.

Para su cultivo en crecimiento líquido se utilizó medio YPG y el medio mínimo reportado por Dapaah (1992). Para mantener la cepa, se realizó resiembra mensual en medio sólido YPG a partir de su recepción.

3.2.1. Medios de cultivo.

La composición del medio rico (YPG) y el medio mínimo Dapaah, se describen en las Tablas 16 y 17.

Tabla 16 Medio rico de cultivo

Medio YPG	
Extracto de levadura ^a	10g/L
Peptona ^a	10g/L
Glucosa ^a	10g/L
Agar-Agar ^{a,b}	18g/L

^a Reactivos Bioxon, México

^b Agregar únicamente para medio sólido

Tabla 17 Medio mínimo

Medio mínimo Daphaa

KH_2PO_4 °	0.84g/L
K_2HPO_4 °	0.75g/L
$(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ °	0.48g/L
NaCl °	0.06g/L
CaCl °	0.06g/L
MgSO_4 °	0.06g/L
FeCl °	0.006g/L

° Reactivos (J.T. Baker)

3.2.2. Condiciones de pH y esterilización de los medios

Los dos medios fueron ajustados a un pH a 7 antes de su esterilización la cual se realizó a 121°C por 15 min.

3.2.3 Condiciones de crecimiento

La bacteria *Pseudomonas fluorescens* se cultivó en medio líquido (volúmenes de trabajo de 50 mL) en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Se inocularon con 3 a 4 asadas de material celular. La incubación se llevó a cabo por 24 horas a 35°C en un equipo de agitación (Orbit 3535 Labline Instruments Inc.) a 200 rpm.

El crecimiento en medio mínimo Dapaah se realizó inoculando 45 mL de medio mínimo con 5 mL de crecimiento en YPG líquido, bajo condiciones estériles. Se incubó durante 24 horas. a 35°C en condiciones de agitación de 200 rpm.

3.2.3 Técnicas para la cuantificación de biomasa (Densidad óptica y conteo directo)

Se utilizaron dos métodos para determinar el nivel de crecimiento de la biomasa presente. La primera fue la técnica espectrofotométrica de densidad óptica, la cual consistió en hacer una dilución de 1 mL de medio crecido en 9 mL de medio mínimo, determinándole sus propiedades de absorbancia en un equipo espectrofotométrico Perkin-Elmer; Lambda 3B:UV/VIS a una longitud de onda de 610 nm.

El segundo método fue el de conteo directo en placa, que consiste en sembrar 1 mL de muestra líquida conteniendo biomasa de las diluciones adecuadas en solución salina. El conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) se obtiene después de incubar 24 horas a 35-36°C.

El plaqueo se realizó en cajas Petri con medio YPG sólido y la incubación se realizó en un equipo UVWR-1540 Scientific Inc. a una temperatura de 35°C. Después de 24 horas se procedió a realizar el conteo visual de UFC en un equipo contador Darkfield Quebec, colony counter.

3.3. Inmovilización de *Pseudomonas fluorescens* Ps9

3.3.1. Inmovilización por adsorción de la bacteria en tezontle, arena y carbón activado

Se empacó una columna de vidrio de 29.1 cm³ de volumen con cada soporte y se hizo circular 100 mL de un cultivo de crecimiento de células en YPG con una densidad óptica ($OD^{610\text{ nm}}$) aproximada de 0.250 durante 24 horas en flujo ascendente por medio de una bomba peristáltica con cabezal (Cole Parmer 7016-20), a un flujo de 30 mL/min como se muestra en la Figura 10.

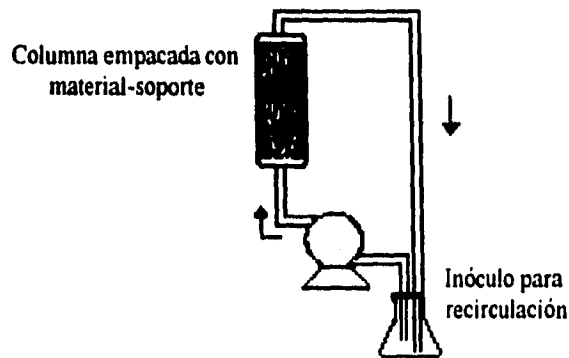


Figura 10 Sistema de inmovilización por adsorción.

Posteriormente, para determinar la capacidad de inmovilización celular de los materiales, se utilizó la técnica de conteo directo de colonias a partir de dos partículas sustraídas de la parte superior de la columna.

3.3.2. Inmovilización por atrapamiento de *Pseudomonas fluorescens* en matriz polimérica.

La inmovilización de bacteria se realizó en una matriz polimérica de alginato de calcio. Para su elaboración se partió de una mezcla de una pasta de biomasa obtenida por centrifugación en un equipo Bioblock 4331, mezclada con una solución al 3% en peso de alginato de sodio.

La mezcla homogénea se dispersó en forma de pequeñas gotas por medio de un dispositivo de extrucción con flujo axial de aire sobre una solución 0.1 M. de CaCl, como se muestra en la Figura 11.

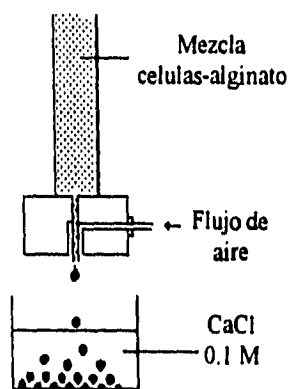


Figura 11 Sistema de fabricación de biocatalizador de alginato de calcio.

La variación en el flujo de aire del sistema modificó el tamaño de partículas. Las partículas esféricas gelificadas se mantuvieron por espacio de una hora en la solución de CaCl.

3.4. Determinación de fenoles

Se realizó la determinación cuantitativa de los fenoles presentes en solución por medio de la técnica colorimétrica de la 4-aminoantipirina, basada en Fenoles No. 5530 del *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (1992)

Soluciones empleadas en el método.

Solución Hidróxido de amonio	(10% en volumen)
Solución tampón de fosfatos	(pH=6.8)
Solución 4-aminoantipirina	(2% en peso)
Ferrocianuro de Potasio	(8% en peso)

La técnica original se miniaturizó para minimizar el volumen de muestra quedando como a continuación se describe:

Se tomaron 100 μL de muestra, se aforaron a 10 mL con agua destilada. Se le agregaron 250 μL de solución de hidróxido de amonio y de solución tampón de fosfatos (un volumen no superior a 150 μL) hasta obtener un pH cercano a 7. Se homogeneizó con ayuda de un vortex (Thermolyne Max Mix plus). Posteriormente, se agregaron 100 μL de solución de 4-aminoantipirina y 100 μL de la solución de ferrocianuro de potasio. Se homogeneizó completamente y se dejaron transcurrir 15 minutos antes de realizar la lectura a longitud de onda de 500 nm en un espectrofotómetro Perkin Elmer, Lamda 3B. Apoyándose en una curva de calibración previamente realizada se determinó cuantitativamente la concentración presente de fenoles presentes. Se utilizó una curva de calibración para cada compuesto.

3.5. Adsorción de tóxicos.

3.5.1. Técnica experimental de adsorción.

La adsorción de tóxicos en los diferentes materiales se evaluó utilizando en equipo de agitación de velocidad variable con 6 plazas (Phipps & Bird Stirred Mod. 779-400), mostrado en la Figura 12. En 6 vasos de precipitado de 1 L de volumen se colocaron 500 mL de solución, 1 g/L de fenol y 0.1 g/L de clorofenoles, utilizando medio mínimo Dapaah como solución de dilución.

Se utilizó el vaso No. 1 como blanco del experimento y del vaso No. 2 al No. 6 se agregaron 2, 4, 6, 8 y 10 g/L del material en estudio como adsorbente.

Se tomaron muestras de cada vaso a diferentes tiempos en minutos con el fin de determinar las concentraciones de fenol en la solución hasta la concentración al equilibrio. A las muestras se les aplicó la técnica colorimétrica de 4-aminoantipirina para determinar la concentración de fenol en las soluciones.

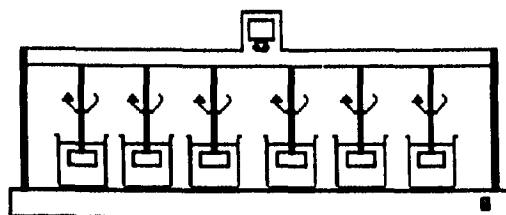


Figura 12 Equipo de agitación con velocidad variable
Phipps & Bird.

El equipo de seis plazas con agitación a velocidad variable se operó a 300 rpm en las experiencias realizadas.

3.5.2. Isotermas de adsorción.

Se utilizó el modelo de Freundlich para ajustar los datos experimentales obtenidos de las pruebas. Inicialmente se graficó de cada experiencia el tiempo contra las concentraciones de fenol en las soluciones. A partir de estas gráficas se obtuvieron las correspondientes concentraciones al equilibrio (C_{eq}), las cuales fueron determinadas como las menores concentraciones alcanzadas. En el caso de remoción total, se tomaron las últimas lecturas detectables y a partir de ellas, se graficó el $\log C_{eq}$ vs $\log X/C_{eq}$. De esta gráfica se obtuvieron por ajuste la pendiente y la ordenada al origen, con las que calculándole su antilogaritmo se obtienen n y k , respectivamente.

3.6. Montaje y evaluación de un sistema de columna empacada con diferentes biocatalizadores para la biodegradación de fenoles en agua

3.6.1. Montaje del sistema de columna empacada

Se empacó una columna de vidrio de 29.1 cm³ de volumen de capacidad con cada material y se procedió a la inmovilización de la bacteria *Pseudomonas fluorescens*. Previamente se

determinó el peso del material seco utilizado. Se bombeo a 30 mL/min la solución de 100 mL de medio mínimo con una concentración conocida de fenol, 2-clorofenol, 2,4-diclorofenol, o 2,4,6-triclorofenol, en experiencias independientes. Se determinó la concentración del tóxico por medio de la técnica colorimétrica de la 4-aminoantipirina a través del tiempo de operación, hasta lograr una eliminación del 95 %. Posterior a la degradación del tóxico se somete el sistema a una nueva dosis con el mismo modo de operación .

En la Figura 13 se muestra el sistema utilizado para la biodegradación de fenoles por medio de un biocatalizador empacado en columna.

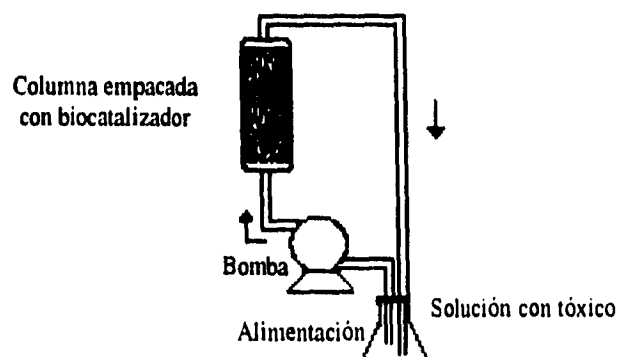


Figura 13 Sistema de columna empacada con biocatalizador para la biodegradación de fenoles en agua

3.6.2. Determinación de biomasa inmovilizada

Después de cada experiencia de biodegradación de algún tóxico se procedió a la determinación de la cantidad presente de biomasa inmovilizada. Esta fue cuantificada por medio de la técnica de conteo directo por plaqueo de una muestra de dos partículas tomadas de la parte superior de la columna, determinando el numero de UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo de material.

3.6.3. Operación del sistema a una temperatura determinada

La columna se operó a temperatura ambiente en la mayoría de las experiencias. Esta se designó como TNC (temperatura no controlada), ya que hubo variaciones considerables durante el día y la noche, entre 14 y 25 °C. Para las experiencias a temperaturas diferentes a la ambiente, se operó dentro del cuarto de incubación (35-36°C) y el cuarto frío (15°C) en cada caso.

3.6.4. Operación a un pH inicial determinado

Se llevó la solución con tóxico a un valor de pH diferente con solución alcalina. También se evaluó el desarrollo de pH durante la operación por medio de potenciómetro Hach one pH meter model PBL simultáneamente a la biodegradación del tóxico.

3.6.5. Operación a diferentes niveles de oxígeno disuelto

Se sometió una solución de medio mínimo a burbujeo de aire por 4 horas para lograr la saturación de oxígeno, posteriormente se adicionó el tóxico y se procedió a la operación de la columna, determinando el oxígeno disuelto al final de la biodegradación con un oxímetro OXY mod.4332.

3.6.6. Determinación de carbón orgánico total

El carbón orgánico total (COT) se determinó de muestras tomadas a diferentes tiempos de la biodegradación con un equipo TOC 5050 Shimadzu.

4. Resultados y Discusión.

4.1. Caracterización de los materiales

4.1.1. Granulometría de los materiales

Los materiales elegidos para la inmovilización fueron tezontle, carbón activado, arena y alginato de calcio, como se mencionó. Se determinaron las granulometrías de las muestras originales para conocer la cantidad que fuese necesaria tamizar para obtener una cierta cantidad del tamaño de partícula deseado. En el Anexo A se muestran los resultados del material retenido en las mallas y las curvas granulométricas correspondientes, mostrando gran diferencia entre sí, con distintos tamaños efectivos de partícula como se muestra en la Tabla 18.

**Tabla 18 Propiedades granulométricas de los materiales
(muestras originales)**

Material	Tamaño efectivo T.E.	Coefficiente de uniformidad C.U.
Tezontle	9.2	0.6
Carbón activado	1.40	0.8
Arena	1.5	0.7

En los sistemas de empaque con biocatalizadores, la velocidad de reacción se ve afectada por la velocidad de difusión del sustrato desde la superficie del biocatalizador hasta el sitio donde se encuentra la enzima en el interior de la partícula. Se han propuesto dos alternativas para minimizar los efectos difusionales internos que son las siguientes:

- 1) Disminuir la carga enzimática o celular
- 2) Disminuir el tamaño de partícula.

Se prefiere la segunda opción, eligiendo un tamaño de partícula pequeño, teniendo en cuenta el evitar problemas de altas caídas de presión en caso de emplearlo en un reactor de lecho empacado.

El tamaño de partícula de los materiales a utilizar se seleccionó por los intervalos recomendados en la literatura por Martinsen (1987), que señalan que sean de 1 a 2 mm. Las limitaciones difusionales internas representan con frecuencia un problema importante en los catalizadores de células inmovilizadas por atrapamiento en gel, para tamaños menores.

A partir de las recomendaciones difusionales, y cuidando una alta tasa de inmovilización de bacterias, se decidió utilizar tamaños de partículas de 1.13, 1.19 y 1.41 mm, que corresponden a las mallas 16, 14 y 12 en proporciones equivalentes de peso. La elección de este tamaño de partícula se aplicó a todos los materiales, para obtención de sistemas comparables entre sí.

4.1.2. Caracterización físico química de los materiales

Al material seleccionado con un tamaño de partícula entre 1.13 y 1.41 mm. se le realizaron determinación de las propiedades físico-químicas. En la Tabla 19 se muestran los valores numéricos de ellos.

Se puede observar una gran diferencia entre las densidades reales de los materiales, desde 1.38 hasta 3.15 g/mL. Las densidades aparentes también resultaron diferentes entre sí, con valores de 0.27 a 1.49 g/mL. Es necesario tomar en cuenta estas propiedades cuantitativamente en caso de escalamiento industrial del proceso, para su manejo y diseño del sistema; en el caso de una columna empacada, para elegir el material de construcción de la columna de acuerdo a el esfuerzo sometido por el peso del material.

Tabla 19 Características físico-químicas de los materiales.

Material	Densidad aparente (g/mL)	Densidad real (g/mL)	Porosidad (%)	(%) Humedad	Solubilidad en HCl (%)	Solubilidad en NaOH (%)	Pérdida por Ignición (%)
Arena	1.49	3.15	51.81	0.0	0.221	0.321	0.45
Tezontle	0.77	2.60	65.09	0.0	3.23	1.36	0.73
Carbón activado	0.27	1.38	68.00	0.0	17.60	11.66	16.11
Alginato de calcio (3%)	0.95	2.01	$\epsilon=0.74^a$	93.0	N.E.	N.E.	N.E.

Notas: ^a ϵ representa la fracción de vacío de la partícula, reportado por Quirasco, 1994.

N.E. No Evaluada

Para medir de manera indirecta la dureza de los materiales se realizaron pruebas de solubilidad en ácido, solubilidad en base y pérdida por ignición. Las mejores cualidades de dureza las mostraron el tezontle y la arena sobre el carbón activado y el alginato de calcio.

Para los materiales utilizados como soportes en la inmovilización de células por adsorción la porosidad es sumamente importante según un estudio reportado por Messing (1982).

Los materiales que presentaron los porcentajes mas altos de porosidad fueron el carbón activado (68%) y el tezontle (65%) lo que les confiere cualidades favorables para la inmovilización de bacterias; con fines comparativos se incluye en la Tabla 16 la fracción de vacío de las partículas de alginato de calcio (74%).

4.1.3. Capacidades de inmovilización de los materiales

Para la inmovilización de *Pseudomonas fluorescens* Ps9 por atrapamiento o adsorción se utilizó la técnica descrita en el capítulo 3. Se obtuvieron los resultados de capacidad de retención de biomasa por medio de la técnica de conteo directo mostrados en la Tabla 20. La mejor capacidad de inmovilización fue la del carbón activado (4.69×10^{15} UFC/g_{cat}). Dada la propiedad de alta adsorción del carbón activado, no es de sorprender su alto nivel de inmovilización. El tezontle mostró una capacidad atractiva (1.39×10^{11} UFC/g_{cat}) ya esperada por su alta porosidad. La arena tuvo poca adsorción de bacterias, muy inferior a los otros materiales.

Finalmente, la capacidad de inmovilización por atrapamiento medida para alginato de calcio al (3%) fue de (8.43×10^{14} UFC/g_{cat}). La capacidad de inmovilización de los materiales parece ser una función de la porosidad de los mismos, pero sin duda intervienen otros factores fisicoquímicos en la interacción del microorganismo y el material usado como soporte.

Tabla 20 Capacidades de inmovilización de los materiales

Materiales	Carga celular (UFC/g _{cat})
Arena	8.43×10^4
Tezontle	1.39×10^{11}
Carbón activado	4.69×10^{15} (4.0×10^9)*
Alginato de calcio (3%)	3.85×10^{14}

* Reportado por (Erhardt, 1985)

4.1.4. Adsorción de los tóxicos en los materiales

La adsorción de los tóxicos en los diferentes materiales es de gran importancia, se realizaron esta cualidad de los materiales no con fin de evaluarlo como un método directo de eliminación de tóxico, sino como un análisis de la compatibilidad del sistemas inmovilizado para mantener una mejor y mayor interacción del tóxico con el material-soporte.

Las pruebas de adsorción fueron realizadas como se describió en el capítulo 3, las correspondientes gráficas de isothermas de adsorción se encuentran en el Anexo B.

Las experiencias de las pruebas de adsorción se llevaron a cabo utilizando cuatro materiales como bases del biocatalizador y fenoles como tóxicos. Por medio de un ajuste de los resultados a la ecuación de isoterma de adsorción de Freundlich, se obtuvieron las constantes de las isothermas que son k y n , además de la concentración de adsorción máxima mostradas en la Tabla 21.

El carbón activado tiene una alta capacidad de adsorción de fenoles, logrando remociones de fenol 1g/L de hasta 79%, mientras que el alginato de calcio adsorbe únicamente el 13% y el tezontle 8%. En el caso de la arena, ésta no presentó adsorción registrable del los compuestos tóxicos. Para el caso de los clorofenoles se lograron remociones entre 94% y 99.5% con el carbón activado y entre 31.3% y 40.5% con el de calcio.

Las constantes de la ecuación de Freundlich obtenidas y comparadas con las registradas en la literatura son muy diferentes ya que generalmente es muy difícil comparar los valores de las constantes de diferentes trabajos. Estos dependen del material utilizado como adsorbente, por ejemplo en el caso particular de el carbón activado es necesario tomar en cuenta el tamaño de partícula y el origen mineral o vegetal entre otras características. Es importante la concentración manejada del tóxico a adsorber y algunas condiciones de las pruebas de adsorción como, temperatura y pH entre otras.

Tabla 21 Constantes de la isoterma de Freundlich

Tóxico (Adsorbato)	Material (Adsorbente)	% Máximo adsorción	<i>k</i>	<i>n</i>	<i>r</i>
Fenol	Carbón activado	79.84	2.00	1.93	0.99
			0.0478 ^a	2.44 ^a	NR
2-clorofenol	Carbón activado	94.03	322.40	1.48	0.94
			262.5 ^b	11.90 ^b	NR
			3.200 ^c	0.143 ^c	0.998 ^c
2,4 -diclorofenol	Carbón activado	99.74	238.28	1.87	0.98
			2.89 ^c	0.09 ^c	0.99 ^c
2,4,6-triclorofenol	Carbón activado	99.84	147.53	2.25	0.97
			3.06 ^c	0.08 ^c	0.99 ^c
Fenol	Tezontle	8.12	1.68	1.49	0.95
Fenol	Alginato de calcio	13.21	1.59	1.52	0.96
2-clorofenol	Alginato de calcio	38.31	15.32	4.65	0.90
2,4 -diclorofenol	Alginato de calcio	31.34	6.63x10 ⁻⁶	5.06x10 ⁻⁷	0.97
2,4,6-triclorofenol	Alginato de calcio	40.47	5.77x10 ⁻⁴	3.15x10 ⁻⁵	0.98
Fenol	Arena	-	-	-	-

Notas:

N.R. no reportado

^a (Singer y Yen, 1990)^b (Vidic, 1992)^c (Peter, 1995)

En términos generales se observa la disminución del valor de la constante *k* a medida que aumenta el número de cloros presentes en la molécula del tóxico, teniendo el 2-clorofenol el valor más alto, mientras que el 2,4,6,-triclorofenol el más bajo.

Esta relación se puede interpretar como la existencia de una mayor afinidad de el 2-clorofenol a la adsorción en carbón activado que el 2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol. Lo anterior se basa en

que un sistema de adsorción con valor de k mas alto presenta una mayor y mejor afinidad entre adsorbato y adsorbente.

La finalidad de la realización de pruebas de adsorción de los tóxicos en los materiales sin biomasa inmovilizada es determinar el nivel de afinidad de los fenoles a los materiales ya que, se beneficia la disponibilidad del tóxico en el biocatalizador para su mejor biodegradación.

La adsorción máxima de fenol 1 g/L para el carbón activado fue de 79%, y en el caso de clorofenoles 0.1 g/L, de 99%.

El tezontle y el alginato de calcio lograron una adsorción máxima de fenol 1 g/L de 8% y 13% respectivamente. Estos dos materiales no lograron tan altas eficiencias de adsorción como el carbón activado, pero tienen capacidades de adsorción interesantes, que demuestran una moderada afinidad por los tóxicos. En el caso particular de la arena, no se observó adsorción de tóxicos.

4.1.5. Elección del biocatalizador para su utilización en columna empacada

En la elección del material a utilizar para la fabricación del biocatalizador es importante evaluar las ventajas y desventajas que presenta cada uno de ellos.

Se procedió a realizar una comparación de dichas características con la finalidad de elegir el que mayores ventajas ofrezca a nuestras conveniencias. Dentro de las características mas importantes a tomarse en cuenta se encuentran: la dureza, la capacidad de inmovilización de células, la capacidad de adsorción de tóxicos, su abundancia y disponibilidad, el costo del proceso de inmovilización, la factibilidad y la economía del proceso.

A continuación en la Tabla 22 se presentan de manera cualitativa las características de los materiales.

Tabla 22 Comparación de soportes

<i>Material</i>	<i>Dureza</i>	<i>Capacidad de inmovilización</i>	<i>Capacidad de adsorción de tóxico</i>	<i>Facilidad y economía en la técnica de inmovilización</i>	<i>Economía en Precio</i>
Arena	Buena	Baja	Baja	Buena	Buena
Tezontle	Buena	Media	Media	Buena	Buena
Carbón activado	Media	Buena	Buena	Buena	Baja
Alginato de calcio	Baja	Buena	Media	Baja	Media

Todas las características se contemplaron con la visión de utilizar los biocatalizadores en el posterior escalamiento del proceso.

En la dureza, los materiales inertes mostraron una enorme superioridad ante la matriz polimérica. Una de las desventajas que presenta la inmovilización en alginato de calcio, es su alta deformación por esfuerzo en el intercontacto de las partículas al ser empacadas, además de ser soluble en condiciones extremas de acidez y alcalinidad, además de ser sensible a la presencia de iones posiblemente presentes en aguas contaminadas a tratar.

En cuanto a la capacidad de inmovilización de células, el carbón activado y el alginato de calcio presentaron los valores más altos, seguidos del tezontle, quien mostró una buena capacidad de inmovilización de 1.39×10^{11} UFC/g_{soporte}. La arena, en cambio, por sus características fue descartada como posible soporte en el trabajo posterior.

En cuanto a la capacidad de adsorción de tóxicos, como ya se discutió anteriormente, el carbón activado mostró las mejores características como adsorbente, mientras que el alginato de calcio y el tezontle tuvieron capacidades medias de adsorción de tóxicos.

Si se analiza la factibilidad de la técnica de inmovilización, en el caso de tezontle y el carbón activado realizadas por adsorción, la técnica es sencilla y en consecuencia económica. En el caso de la inmovilización en alginato de calcio, es necesario montar una metodología compleja (descrita en materiales y métodos), que implica mayores recursos y altos costos de fabricación.

El precio de los materiales en el mercado mexicano fue calculado para cada material y se presentan a continuación en la Tabla 23:

Tabla 23 Precios de materiales-soportes

Material	Precio (Dólares americanos/kg _{soporte})
Arena	0.04
Tezontle	0.15
Carbón activado	1.78
Alginato de calcio	0.95 ^a

^a con base en requerimientos de esferas al 3%

La arena y el tezontle presentaron los costos más bajos, seguidos del alginato de calcio y el carbón activado.

De acuerdo con toda la evaluación anterior se decidió probar como empaque al tezontle, el carbón activado y el alginato de calcio.

4.2. Pruebas de remoción de fenoles por medio de biocatalizadores empacados en columnas

4.2.1 Biodegradación de fenol mediante columnas empacadas con biocatalizador de tezontle, alginato de calcio o carbón activado

De manera comparativa se realizaron pruebas de biodegradación de fenol utilizando al tezontle, el alginato de calcio y el carbón activado como materiales-soportes en el biocatalizador. Los resultados de las cinéticas de biodegradación de 1000 mg/L de fenol, son mostrados en la Figura 14. Donde se grafica la concentración de fenol en función del tiempo de degradación. Mientras que a la columna empacada con tezontle le tomó 190 horas, para finalizar la reacción en la columna empacada con alginato se emplearon 120 horas y en la de carbón activado solo 24 horas.

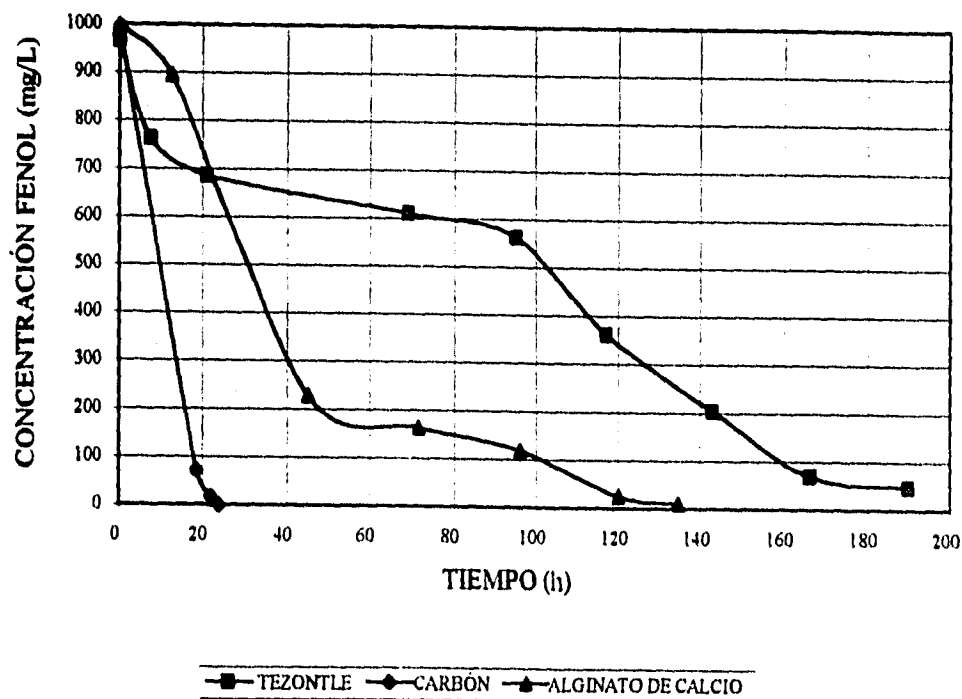


Figura 14 Cinéticas de degradación de 1000 g/L de fenol en columnas empacadas con biocatalizadores de tezontle, carbón activado y alginato de calcio.

Es importante señalar que en el caso de la columna empacada con carbón activado, buena parte de la remoción se logra únicamente por el fenómeno de adsorción ya que el proceso de adsorción en el carbonó puede ser mayor que la biodegradación. Para disponer de datos más representativos, debe trabajarse la columna por lapsos mayores, hasta lograr una saturación del carbón activado. En cuanto a la comparación del sistema de tezontle y alginato de calcio, éste último degradó en 36% mas rápido que el primero, siendo muy aceptable el sistema de tezontle. Recordemos que el sistema de tezontle es una inmovilización por adsorción, siendo más económico y sencillo en su realización, obteniendo éste una atractiva actividad y velocidad de biodegradación comparado con el sistema de alginato de calcio que es inmovilización por atrapamiento.

Las actividades de los tres sistemas en la biodegradación de un nivel superior al 95% son mostradas en la Figura 15, donde el alginato de calcio supera por casi tres veces al sistema de tezontle.

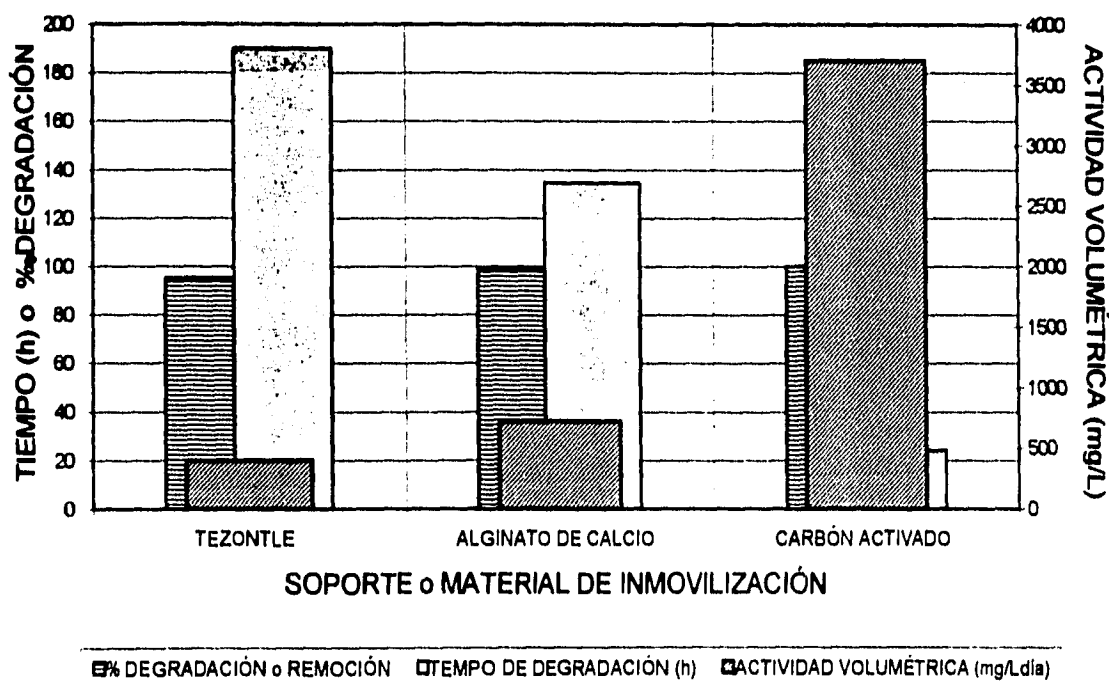


Figura 15 Comparación de tres biocatalizadores (tezontle, alginato de calcio y carbón activado) para la biodegradación de fenol (1000 mg/L)

Lo último es de sumo interés ya que la técnica de inmovilización por adsorción es más fácil y económica, lo que confiere al tezontle una posibilidad amplia de aplicación al no solo fijar un número considerable de microorganismos, sino además presenta un cierto potencial de adsorción.

4.3. Biodegradación de fenoles mediante un biocatalizador de tezontle empacado en columna

Se empacó con tezontle la columna y se operó de acuerdo a lo descrito en el capítulo 3. Se realizaron 16 pruebas en operación por lote con la intención de observar el efecto que ejerce el tipo y concentración de tóxico en la población de bacterias y en la actividad de biodegradación. Además se observó el efecto de la temperatura, pH y el nivel de oxígeno disuelto en la degradación de fenoles.

En la Tabla 24 se muestran las experiencias de biodegradación de forma cronológica.

El biocatalizador de tezontle empleado en las pruebas del apartado anterior, fue guardado por 1872 horas a 4°C y reactivado con medio YPG durante 24 horas. Alcanzando una alta concentración de biomasa inmovilizada. Se sometió el sistema a las 16 experiencias, registrando las cinéticas de degradación de los tóxicos y la cuantificación de biomasa en el biocatalizador.

En la Tabla 25 se muestran los resultados de las pruebas de forma cronológica. En la Tabla 26 se muestran las actividades de biodegradación volumétrica en mg/L día por unidad de volumen de reactor, actividad por kilogramo de biocatalizador mg/kg_{cat} día y actividades específicas como mg/UFC día.

Tabla 24 Pruebas de biodegradación realizadas en la columna empacada con biocatalizador de tezontle

No.	Tóxico	Concentración (mg/L)	Parámetros de operación
1	Fenol	100	TNC
2	Fenol	100	TNC
3	Fenol	500	TNC
4	2-clorofenol	350	TNC
5	2,4-diclorofenol	100	TNC
6	2,4-diclorofenol	500	TNC
7	2,4,6-triclorofenol	125	TNC
8	Fenol	1000	TNC
9	2-clorofenol	500	TNC
10	2,4,6 -triclorofenol	350	TNC
11	2-clorofenol	100	35°C
12	2-clorofenol	100	15°C
13	2-clorofenol	100	TNC
14	2-clorofenol	100	TNC, pHini=8
15	2-clorofenol	100	TNC
16	2-clorofenol	100	TNC, SSO

Nota:

TNC: Temperatura No Controlada

SSO: Solución saturada de oxígeno

pHini: pH inicial de la solución

Tabla 25 Historia de la operación de la columna empacada con biocatalizador de tezontle

Toxico	Con. inicial (mg/L)	Con. final (mg/L)	Horas de operación	UFC/g_{cat}	Peso cat. (g)	% Degradación
Inicial (inmovilización)	-	-	((24))	1,39E+11	31,8	-
Reactivación	-	-	(-1872)	1,55E+13	31,77	-
Fenol (TNC)	103	23	96	2,48E+09	31,75	77,5
Fenol (TNC)	91	42	96	2,48E+09	31,73	95,3
Fenol (TNC)	587	38	216	5,67E+11	31,71	93,4
2-clorofenol (TNC)	349	4	147	1,11E+12	31,69	98,8
2,4-diclorofenol (TNC)	101	6	79	5,38E+09	31,67	94,0
2,4-diclorofenol (TNC)	480	4	90	2,36E+10	31,65	91,6
2,4,6-triclorofenol a (TNC)	125	28	99	1,68E+07	31,63	77,8
Fenol (TNC)	966	46	190	2,64E+07	31,61	95,2
2-clorofenol (TNC)	518	6	119	1,76E+10	31,59	98,8
2,4,6-triclorofenol (TNC)	358	17	95	9,78E+08	31,57	95,2
2-clorofenol (35°C)	100	9	28	2,21E+12	31,55	94,4
2-clorofenol (15°C)	97	6	114	4,30E+10	31,53	93,5
2-clorofenol (TNC)	109	6	67	6,84E+06	31,51	94,2
2-clorofenol (pH=8)	102	7	42	1,07E+09	31,49	92,8
2-clorofenol (TNC)	105	6	68	5,87E+08	31,47	93,9
2-clorofenol (SSO)	100	6	40	3,03E+09	31,45	93,4

Notas:

TNC: Temperatura no controlada.

a: Interrupción de operación por ruptura de manguera.

(°C) : Temperatura de operación.

sso : solución saturada de oxígeno

(pH=*) : pH inicial para la degradación.

(()) : Tiempo de almacenamiento Refrigeración a 4°C

() : Tiempo de inmovilización

Tabla 26 Actividad de la columna empacada con biocatalizador de tezontle

Toxico	ACTIVIDAD (mg/L.día)	ACTIVIDAD (mg/kg _{cat} .día)	ACT (mgUFC.día) ^(1E+1)
Inicial ^(T_{no-controlada})	-	-	-
Reactivación	-	-	-
Fenol ^(T_{NC})	68.72852234	62.97403706	2.539275688
Fenol ^(T_{OP})	42.09621993	38.59643816	1.55630799
Fenol ^(T_{OP})	209.6219931	192.3183632	0.033918583
2-clorofenol ^(T_{NC})	193.5619609	177.6985488	0.016008878
2,4-diclorofenol ^(T_{NC})	99.17786768	91.10847461	1.693466071
2,4-diclorofenol ^(T_{NC})	436.1970218	400.9655182	1.699006433
2,4,6-triclorofenol ^(T_{NC})	81.05800271	74.55911273	443.8042425
Fenol ^(T_{NC})	399.3488877	367.5682543	1392.303994
2-clorofenol ^(T_{NC})	354.8470935	326.819254	1.856927579
2,4,6-Triclorofenol ^(T_{NC})	296.0390667	272.8327217	27.89700631
2-clorofenol ^(T_{OP})	265.9793814	245.2881851	0.011099013
2-clorofenol ^(T_{OP})	65.61765238	60.5523159	0.140819339
2-clorofenol ^(T_{OP})	126.542545	116.8498685	1708.331411
2-clorofenol ^(T_{OP})	185.9597447	171.8273851	2.539275688
2-clorofenol ^(T_{OP})	119.5876289	110.5711061	1.55630799
2-clorofenol ^(T_{OP})	192.1649485	177.7917954	0.033918583

- ^{T_{NC}} Temperatura no controlada.
- ^(*) Interrupción de operación por ruptura de manguera.
- ^(T_{OP}) Temperatura de operación.
- ^(O₂) solución saturada de oxígeno
- ^(pH) pH inicial para la degradación.
- () Tiempo de inmovilización
- (()) Tiempo de almacenamiento Refrigeración a 4°C

4.3.1. Cuantificación de la población bacteriana del biocatalizador empacado en columna

Durante la operación de la columna empacada con biocatalizador en las 16 experiencias realizadas, se cuantificaron las poblaciones bacteriológicas del biocatalizador. Se muestran en la Figura 16 las UFC/g_{cat} (Unidades formadoras de colonias/ gramo de soporte de biocatalizador) al finalizar cada prueba vs el tiempo acumulado de operación de la columna empacada.

El sistema mantuvo niveles atractivos de población bacteriológica, iniciando la operación se presentó un decremento significativo mostrado en las experiencias 1 y 2 donde llegó a 2.48×10^9 UFC/g_{cat} a partir de un valor inicial de 1.55×10^{13} UFC/g_{cat}. Lo anterior se atribuye a una desestabilización del sistema sometido a tóxico (fenol), a partir de estos puntos se desarrolla una adaptación; logrando posteriormente un incremento considerable hasta 5.67×10^{11} UFC/g_{cat}.

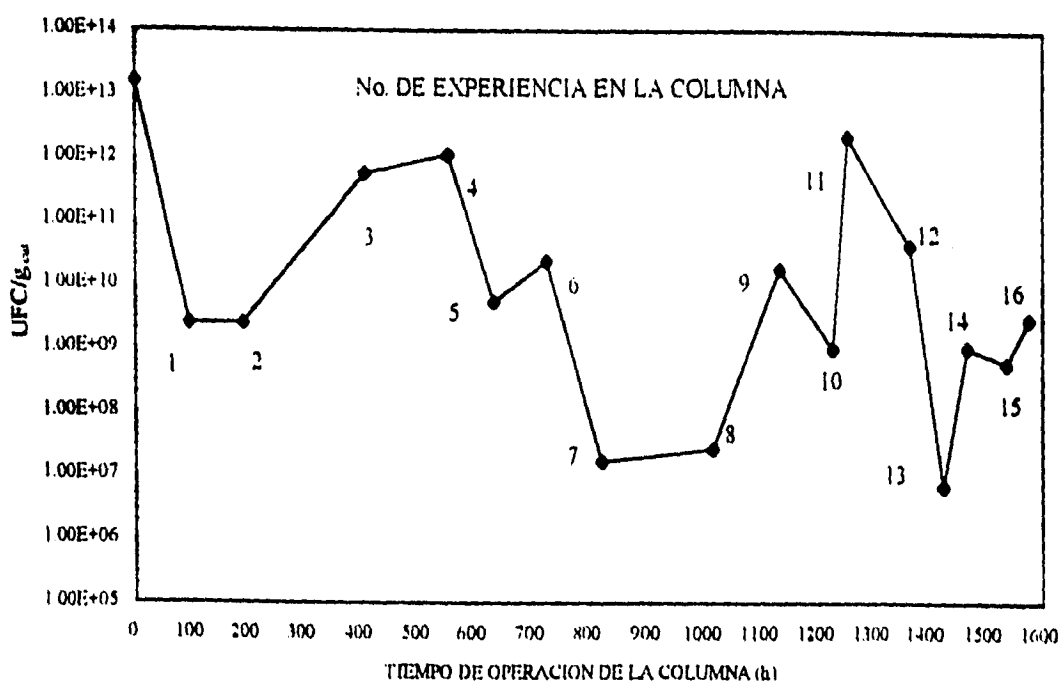


Figura 16 Comportamiento de biomasa durante la historia de la columna empacada con biocatalizador de tezontle

El sistema mostró los mayores decrementos de biomasa en la experiencias 6, 11 y 12. En la experiencia 6 se muestra una disminución causada por una alta concentración (500 mg/L) de 2,4,6-triclorofenol de 2.36×10^{10} UFC/g_{cat} a 1.68×10^7 UFC/g_{cat}. En el caso de las experiencia 11 se atribuye la disminución a una desestabilización en el estado fisiológico de las bacterias causado por un decremento en la temperatura de operación (15°C). El decremento fue de 2.12×10^{12} UFC/g_{cat} a 4.30×10^{10} UFC/g_{cat}.

En el caso de la experiencia 12 su disminución de 4.30×10^{10} UFC/g_{cat} a 6.84×10^6 UFC/g_{cat} se asigna a el trastorno fisiológico causado por la experiencia anterior de temperatura de operación de 15°C.

A pesar de haber sometido al sistema a diferentes tipos de tóxicos y concentraciones de los mismos, mostró siempre un alto nivel de capacidad de retención de biomasa activa, entre 1×10^7 y 1×10^{12} UFC/g_{cat} que es aceptable aún operando en condiciones de temperatura no controlada (TNC), en la mayoría de las experiencias realizadas.

4.3.2 Tiempos y porcentajes de degradación

Los porcentajes de degradación del sistema fueron los parámetro que se utilizaron para decidir el tiempo final de operación por biodegradación de cada experiencia. En la Figura 17 se muestran los tiempos de operación que se requirieron para alcanzar porcentajes de biodegradación superiores al 90%.

Los tiempos de degradación del mismo tipo de fenol no son porporcionales a la concentración del tóxico. Esto es observado con mayor claridad en el caso de fenol y 2-clorofenol. El tiempo de biodegradación depende del tipo y concentración del tóxico y de la adaptación del sistema a los tóxicos.

Un ejemplo es el caso de fenol a 500 mg/L donde se utilizaron 216 horas, mientras que para el fenol 1000 mg/L el sistema tardo un tiempo de 190 horas, no existiendo un aumento proporcional del tiempo de operación, contrariamente a lo esperado. Lo anterior es explicado por medio de la influencia de la adaptación del sistema a los tóxicos, siendo la historia de operación de la columna un factor importante para determinar el aumento de la actividad de biodegradación de los tóxicos.

También se observó una disminución en los tiempos de degradación en condiciones de operación de 35°C, a un pH inicial de operación de 8 y con una solución saturada de oxígeno, de manera independiente. Las pruebas anteriores mostraron un apreciable aumento en su actividad biodegradadora del tóxico comparadas con aquellas donde no fueron controladas en el sistema.

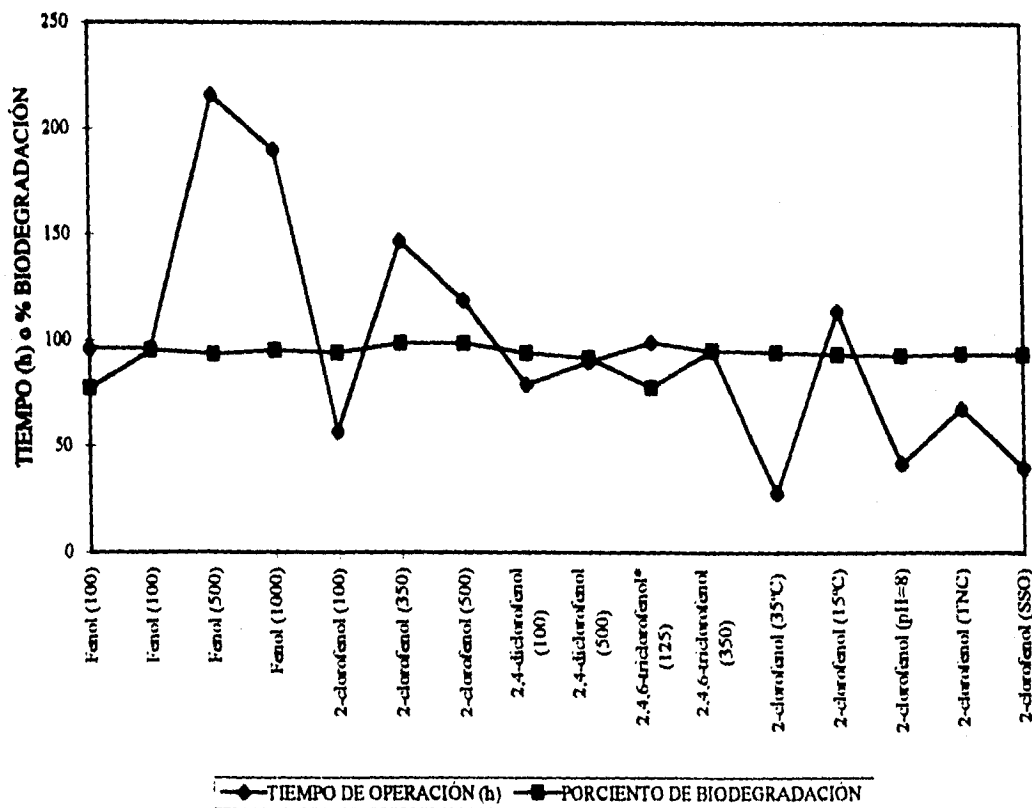


Figura 17 Tiempos y porcentajes de biodegradación de fenoles a diferentes concentraciones y variables condiciones de operación por columna empacada con biocatalizador de tezontle

4.3.3 Efecto de la concentración de tóxico

Es importante estudiar la influencia de las concentraciones de los tóxicos en la operación del sistema. En las Figuras 18 se muestran las cinéticas de degradación utilizando concentraciones de 100, 500 y 1000 mg/L de fenol. En las cuales se aprecia que no existe una proporción directa entre las concentraciones y los tiempos de biodegradación obtenidos, lo anterior se atribuye a que las pruebas fueron realizadas en diferentes etapas de adaptabilidad del sistema a los tóxicos.

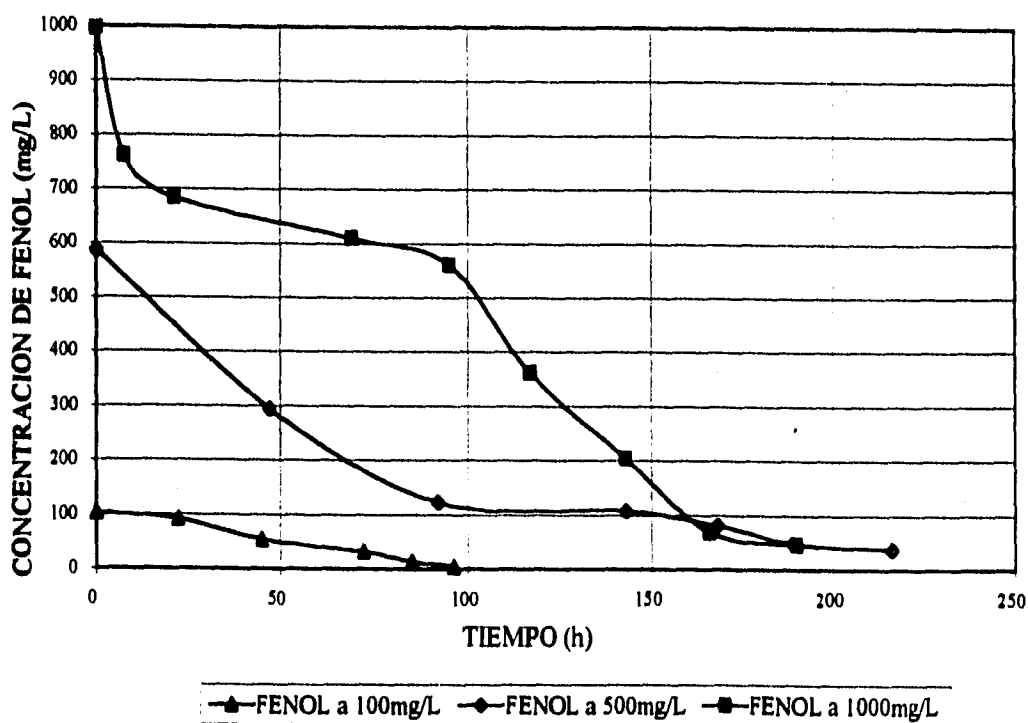


Figura 18 Cinéticas de biodegradación de fenol para diferentes concentraciones iniciales

Para observar el efecto de las altas concentraciones de tóxico en la biomasa se analizó el caso particular de fenol 1000 mg/L en el que se presentó un incremento en la biomasa contenida en el biocatalizador, pasando de 1.68×10^7 UFC/g_{cat} a 2.64×10^7 UFC/g_{cat} al final de la biodegradación, lo que demuestra que no hubo una intoxicación del microorganismo.

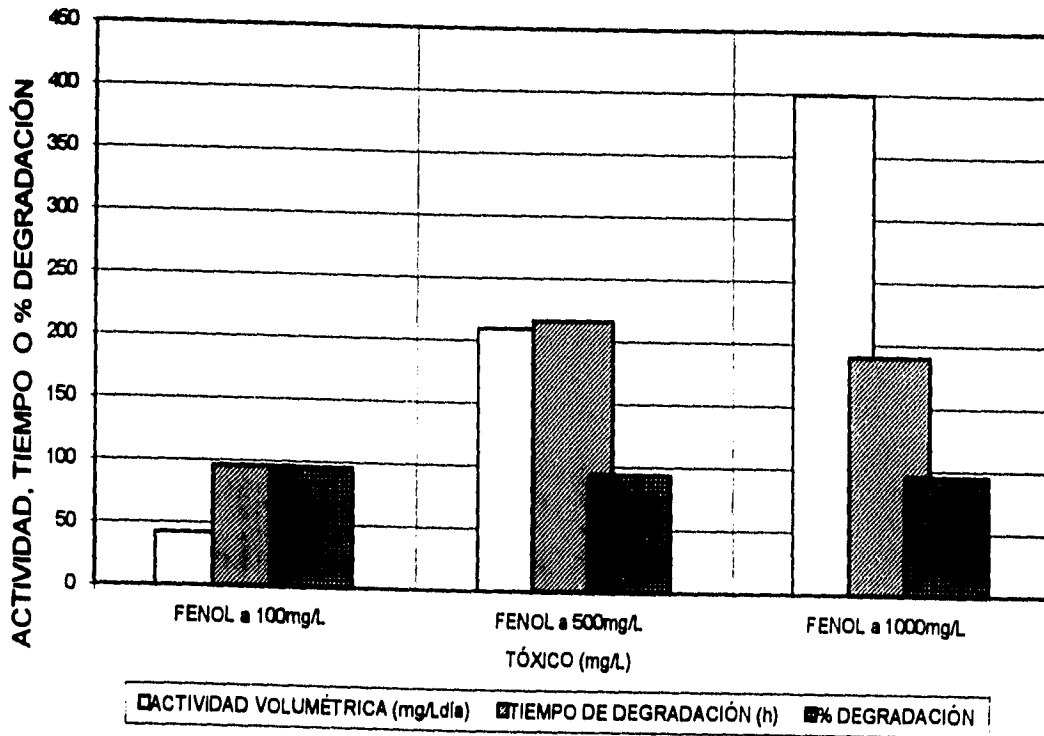


Figura 19 Degradación de fenol a diferentes concentraciones iniciales

Para el caso de la biodegradación de 2-clorofenol a 100, 350 y 500 mg/L mostrados en las Figuras 20 y 21 se tienen resultados similares a los obtenidos para el fenol, donde no se observa una relación lineal entre la concentración del tóxico y el tiempo de degradación. Además de tener un tiempo menor de degradación a 500 mg/L que a 350 mg/L, lo que se explica por la adaptación del microorganismo (historia de la columna). Así al aumentar las actividades a medida con el tiempo de operación de la columna, se logra una mejor adaptación microbiológica al tóxico.

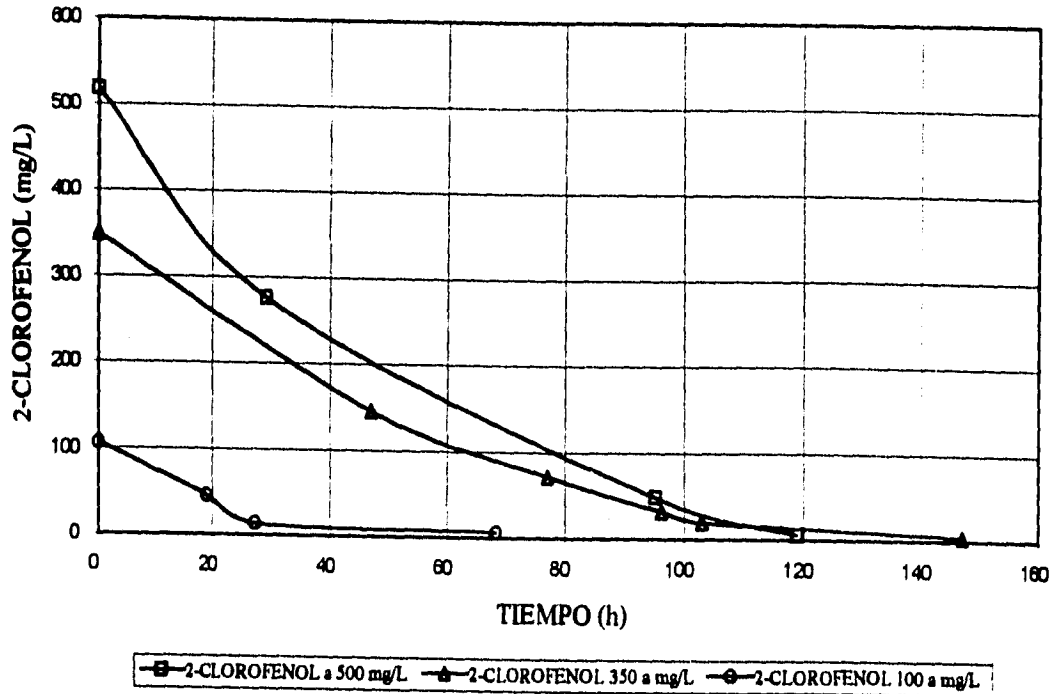


Figura 20 Cinética de degradación de 2-clorofenol para diferentes concentraciones iniciales (100, 350, 500 mg/L)

La biodegradación de 2-clorofenol no presentó tampoco proporcionalidad respecto a la concentración del tóxico. Los tiempos de degradación en el caso de 500 mg/L de 2-clorofenol es 119 horas y para 350 mg/L de 147 horas, lo que en sí es una incongruencia. Lo anterior se atribuye a una capacidad diferente de biodegradación debida a una adaptabilidad adquirida durante el tiempo de operación de la columna.

Cabe resaltar que en el caso de 2-clorfenol a 350 mg/L se realizó a 408 horas de la vida activa total de la columna, mientras que para biodegradar 500 mg/L se realizó a las 1013 horas de la vida activa total de la misma, teniendo diferentes adaptabilidades y por lo tanto diferentes capacidades de biodegradación. Por lo que las experiencias realizadas en tiempos considerables de vida y operación de la columna se muestran menores tiempos de degradación y con mayores actividades.

En los resultados de actividades mostrados en la Figura 21 se ve reflejada la incongruencia de una menor actividad a una concentración más baja, debido a los tiempos de biodegradación obtenidos anteriormente discutidos. En trabajos reportados en la literatura no existen comparaciones de las actividades y comportamiento del microorganismo(s) ante diferentes concentraciones a biodegradar.

En la comparación de biodegradación de tóxicos a diferentes concentraciones iniciales, las actividades de un sistema se ven afectadas por el tiempo de degradación y por la concentración del tóxico; en el caso de altas concentraciones, las actividades se ven beneficiadas por tener mayor disponibilidad del tóxico provocado por una mayor velocidad de difusión. Siendo válido hasta niveles que no provoquen la intoxicación de los microorganismos en el sistema.

Los trabajos encontrados en la literatura, no mencionan el tiempo de vida total a la cual se realizaron las pruebas que reportan.

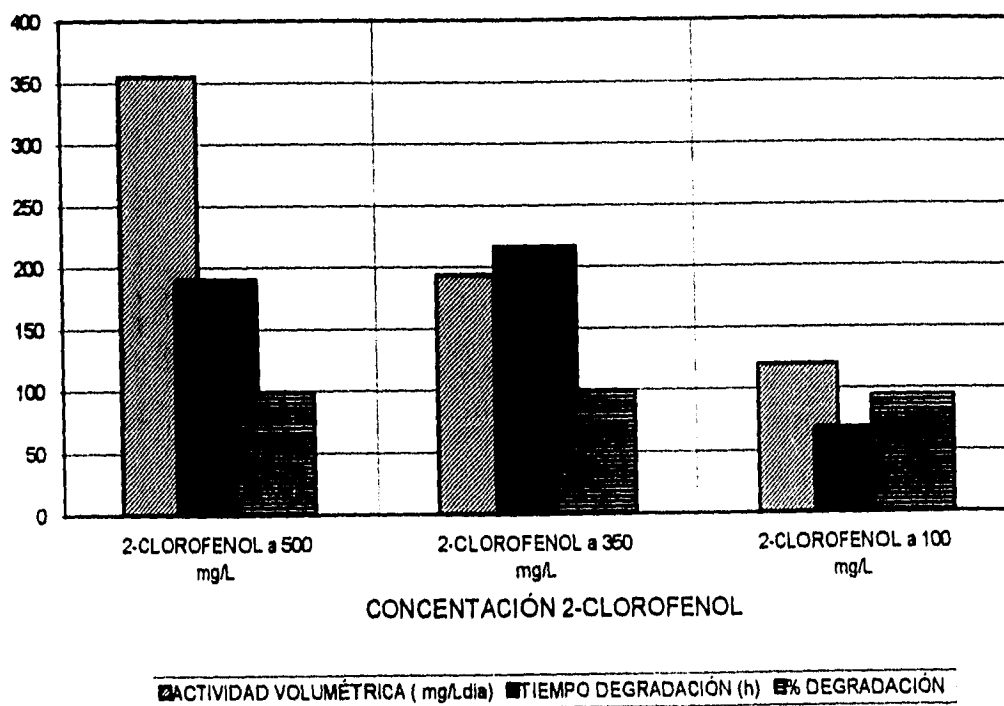


Figura 21 Degradación de 2-clorofenol a diferentes concentraciones iniciales

4.3.4. Efecto de la temperatura sobre la actividad del biocatalizador

Para evaluar el efecto de la temperatura se realizaron pruebas a diferentes temperaturas de operación (temperatura no controlada, 15°C y 35°C) en la degradación de 100 mg/L de 2-clorofenol. Los resultados de las cinéticas son mostrados en la Figura 22. En la que se muestra que para obtener porcentajes de degradación iguales, se requirieron tiempos muy diferentes. En el caso de la experiencia a temperatura no controlada se observó un tiempo de degradación de 114 horas, comparado con el de la operación a 35°C, que fue de 28 horas.

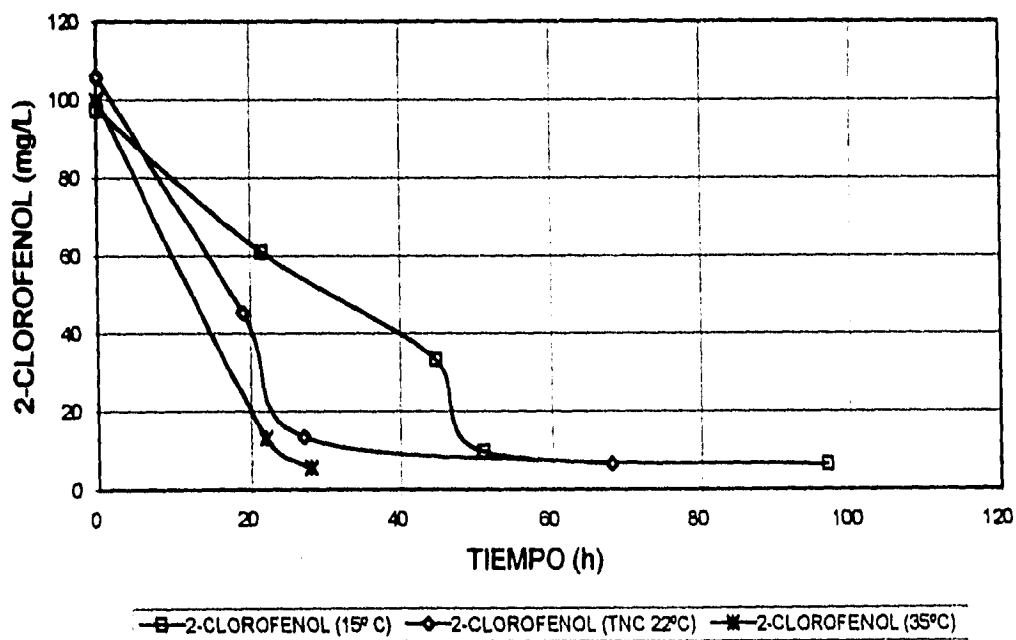


Figura 22 Cinéticas de degradación a diferentes temperaturas de operación.

Adicionalmente, la operación a 15°C se vió afectada gravemente por la disminución de población de microorganismos contrariamente a lo sucedido a 35°C, donde se observó un crecimiento considerable de bacterias.

En la operación a 15 °C el tiempo de biodegradación fue de 114 horas, siendo 1.7 veces el requerido a temperatura no controlada, y 4 veces por el requerido a 37 °C de temperatura de operación. En la operación a temperatura no controlada la actividad es aceptable, pero no comparable con la de operación a 35°C, ya que ésta es superior al doble de la actividad a temperatura no controlada y cerca de 5 veces comparada con la de operación a 15°C como se muestra en la Figura 23.

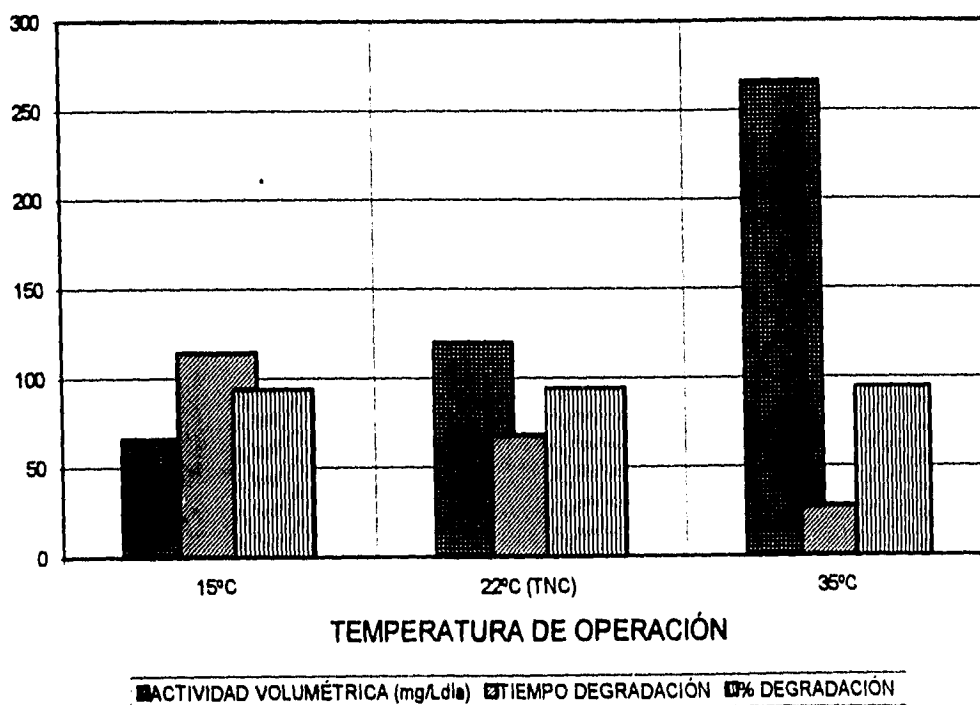


Figura 23 Biodegradación de 2-clorofenol 100 mg/L a diferentes temperaturas de operación

Los resultados anteriores sugieren que la bacteria es mesófila, por lo que muestra mejores actividades de biodegradación a temperaturas cercanas a 35°C.

En algunos trabajos reportados se recomiendan temperaturas cercanas a los 35°C, existiendo reportes de temperaturas recomendadas menores como 25°C para un sistema inmovilizado en poliacrilamida-hidrazida por Bettman y Rhem (1984). La temperatura es un parámetro importante en la operación de los sistemas inmovilizados para la eliminación de tóxicos, según trabajos reportados se recomiendan temperaturas cercanas a los 35°C ya que en esta los microorganismos tienen mayor actividad enzimática y de esta manera adquieren mayor capacidad biodegradadora ante el tóxico.

Es importante no perder de vista el hecho de que el aumentar la temperatura a 35°C, implica un costo energético y por tanto económico para el sistema.

4.3.5. Efecto del pH sobre la actividad del biocatalizador

Para observar el efecto del pH sobre la actividad, se realizaron experiencias de degradación de 100 mg/L de 2-clorofenol variando el pH inicial de la solución tóxica. En la primera experiencia no se modificó el pH inicial manteniéndose en un valor de 6.79 y en la segunda se llevó la solución a un valor inicial de 8.04. Los resultados de las cinéticas de biodegradación son mostrados en la Figura 24, donde se puede apreciar que durante la biodegradación de 2-clorofenol varía el pH de la solución tóxica debido a la transformación de las sustancias. En efecto, en el caso de una mineralización, el CO₂ producido y el Cl⁻ liberado acidifican la solución. El cambio total de pH de ambas soluciones fue de aproximadamente de 1.5 unidades en ambas pruebas debido a tener las mismas concentraciones iniciales de tóxico.

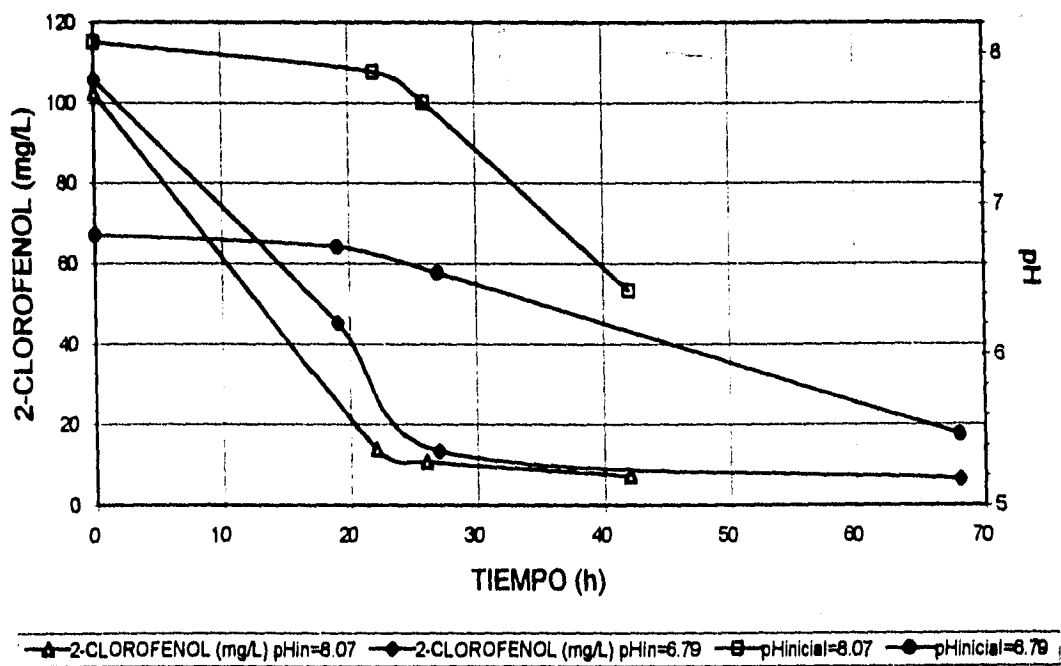


Figura 24 Cinética de degradación y pH de 2-clorofenol (100 mg/L) con diferentes pH iniciales

Es importante señalar que el cambio más pronunciado de pH en ambas pruebas es a partir de la eliminación del 80% de 2-clorofenol en la solución. En el caso de variar el pH en 1.25 unidades, de 6.79 a un valor de 8.04 significó una disminución en el tiempo de biodegradación de 34%.

Al trabajar la columna a un pH inicial ligeramente básico disminuye el tiempo de degradación del mismo compuesto en condiciones iguales de operación y sin variar el pH. Adicionalmente a un pH de 8.04 se presenta en el sistema un crecimiento considerable de microorganismos (6.84×10^9 UFC/g_{cat} a 1.07×10^9 UFC/g_{cat}).

A un pH inicial de la solución de 8.04 aumenta la actividad del sistema en 33% respecto a la de 6.79, mostradas en la Figura 25, teniendo una gran influencia el pH de la solución tóxica sobre el sistema, ya que bajo algunos valores de pH se ven favorecidas ciertas reacciones enzimáticas para la biodegradación del tóxico por la bacteria.

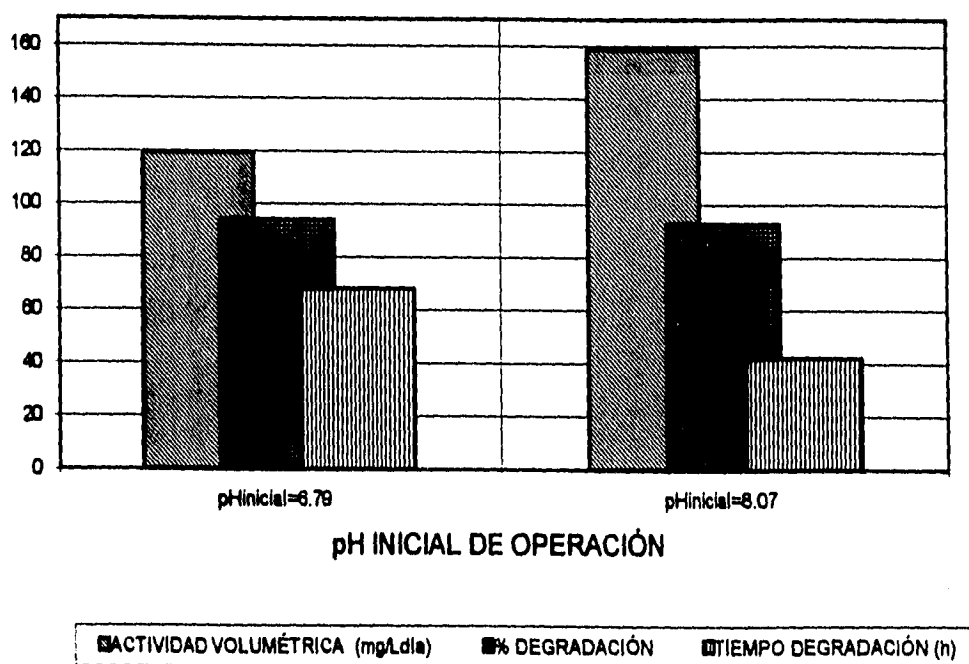


Figura 25 Degradación de 2-clorofenol 100 mg/L a diferentes pH iniciales

4.3.6. Efecto del oxígeno disuelto en la biodegradación

El sistema de biodegradación es de tipo aerobio, por lo que la presencia de oxígeno es indispensable para llevar a cabo la oxidación de los compuestos tóxicos. Las experiencias 15 y 16 se realizaron para medir la influencia del oxígeno disuelto (O.D.).

La primera se realizó sin modificar su contenido de oxígeno disuelto, en el caso de la segunda, se operó con una solución rica en este compuesto. Los resultados obtenidos son mostrados en la Figura 26

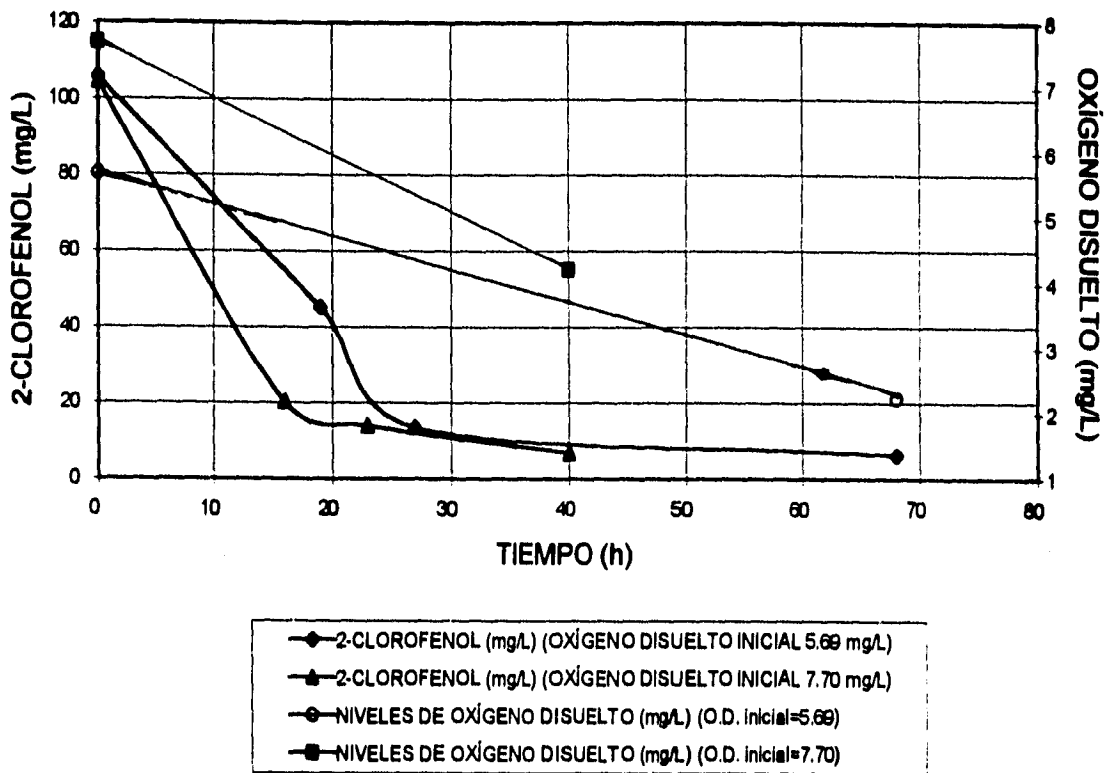


Figura 26 Cinéticas de degradación de 2-clorofenol (100 mg/l) con diferentes niveles de oxígeno disuelto.

La solución no modificada inicia con 5.69 mg/L de oxígeno y finaliza a las 68 horas con 2.32 mg/L de oxígeno. En el caso de la solución saturada de oxígeno el inicio se da con 7.70 mg/L de oxígeno y finaliza con 4.22 mg/L. Donde para la experiencia 15 (con solución inicial no saturada) su tasa de consumo de oxígeno fue de 4.56×10^{-12} mg O₂/ UFC día y para la experiencia 16 (con solución inicial saturada) su tasa de consumo de oxígeno fue de 3.66×10^{-12} mg O₂/ UFC día siendo muy semejantes las tasas de consumos de oxígeno.

Ambas experiencias tuvieron un consumo de aproximadamente 3.4 mg/L de oxígeno para biodegradar 100 mg/L de 2-clorofenol bajo las mismas condiciones de operación. Pero obteniendo diferentes tiempos de biodegradación bajo semejantes proporciones presentes de UFC/g_{cat} en la columna en ambas experiencias.

Se observa una disminución del 42% en el tiempo de degradación de la solución saturada de oxígeno comparada con la no modificada. Respecto a las actividades de los sistemas ésta se mejoró con saturación de oxígeno en un 37% comparada con la no saturada como es mostrado en la Figura 27. Por lo que respecta a la influencia del nivel de oxígeno sobre la carga biomásica, en la experiencia con solución saturada ésta aumentó de 5.87×10^8 UFC/g_{cat} a 3.03×10^9 UFC/g_{cat} en el biocatalizador.

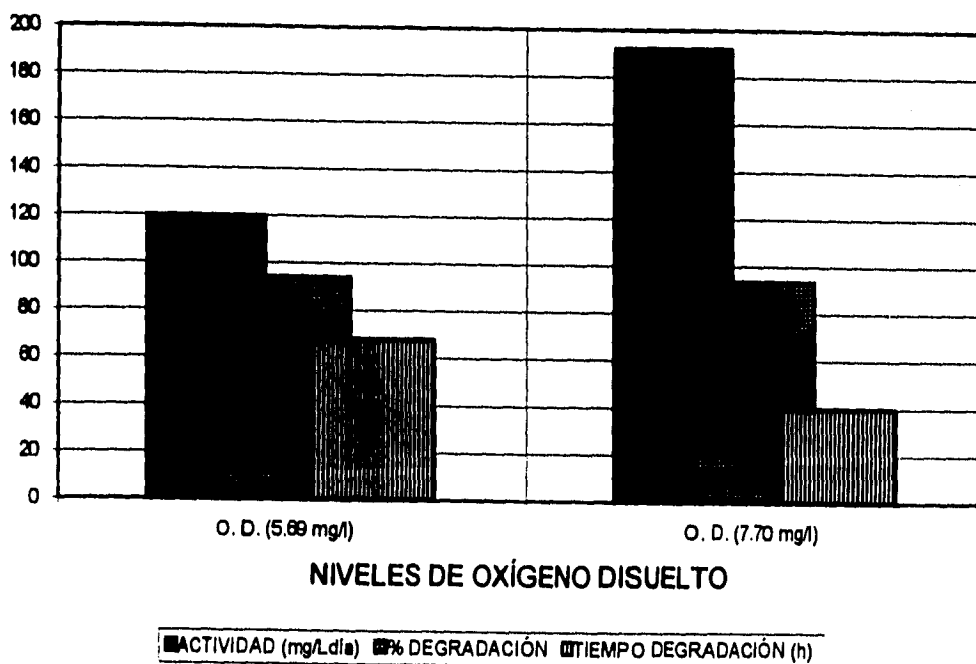


Figura 27 Degradación de 2-clorofenol con diferentes niveles de oxígeno

La mayor disponibilidad de oxígeno en el sistema logró un aumento en la actividad y el crecimiento de microorganismos en la columna, por lo que es importante considerarlo para mejorar la eficiencia del sistema. Esto tomando en cuenta que los sistemas de aeración representan un costos de operación considerable.

4.3.7. Mecanismo de degradación

La biodegradación de tóxicos tiene como finalidad eliminar la toxicidad del compuesto mediante la transformación de éste a otro con menor toxicidad o por una descomposición total hasta moléculas elementales (CO_2 y H_2O) denominada mineralización.

En la experiencia 15, la biodegradación de 2-clorofenol 100 mg/L se midieron las cinéticas de degradación de fenol, carbón orgánico total así como pH, mostradas en la Figura 28.

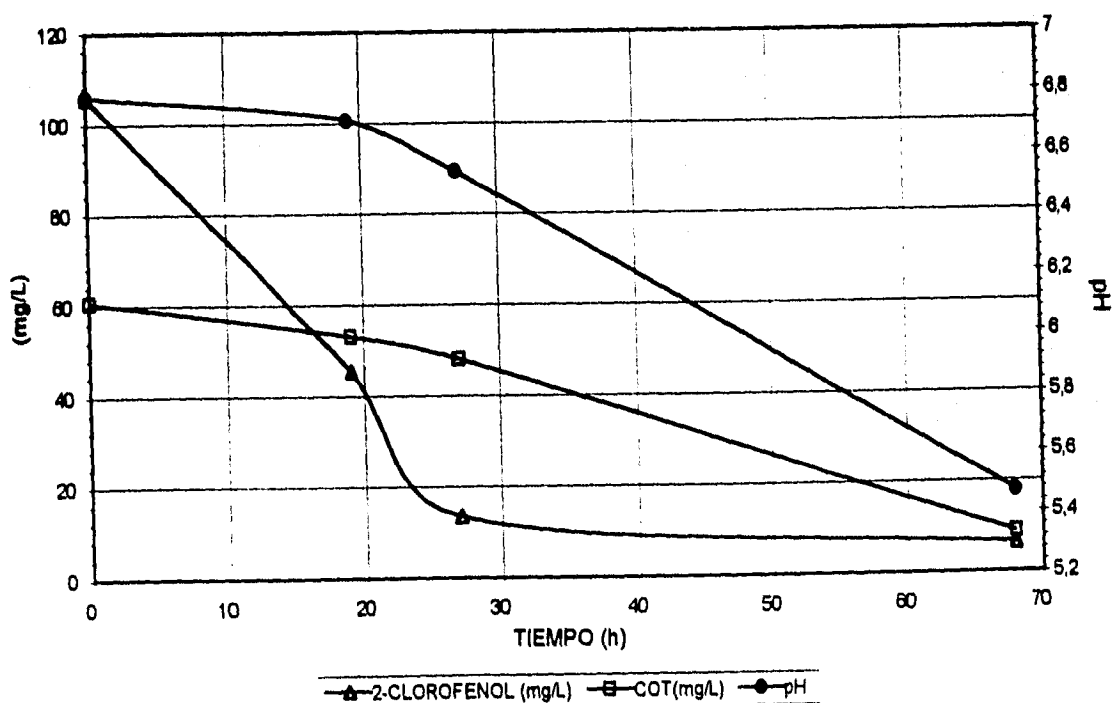


Figura 28 Cinéticas de COT y pH en la degradación de 2-clorofenol (100 mg/L)

Los resultados de las cinéticas permite observar que durante la degradación, que en la primera mitad del tiempo total de operación no se presenta gran disminución de pH, en la segunda mitad del tiempo de degradación se presentó la mayor disminución, lo que permite concluir que existe una dechloración del intermediario alifático ya que para esta etapa ha disminuido en 80% el clorofenol. En esta etapa se forma ácido clorhídrico que es el compuesto que influye en mayor grado a la acidez de la solución, teniendo en cuenta que el dióxido de carbono de la mineralización aporta también acidez a la solución por la formación de ($\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$). Es importante señalar que la disminución mas considerable de pH y COT se presentan casi simultáneamente, cuando se llega a una eliminación del 80% de 2-clorofenol.

Por lo que respecta a el COT (carbón orgánico total) su disminución de hasta 86% comprueba una degradación hasta mineralización mostrado en la Figura 29.

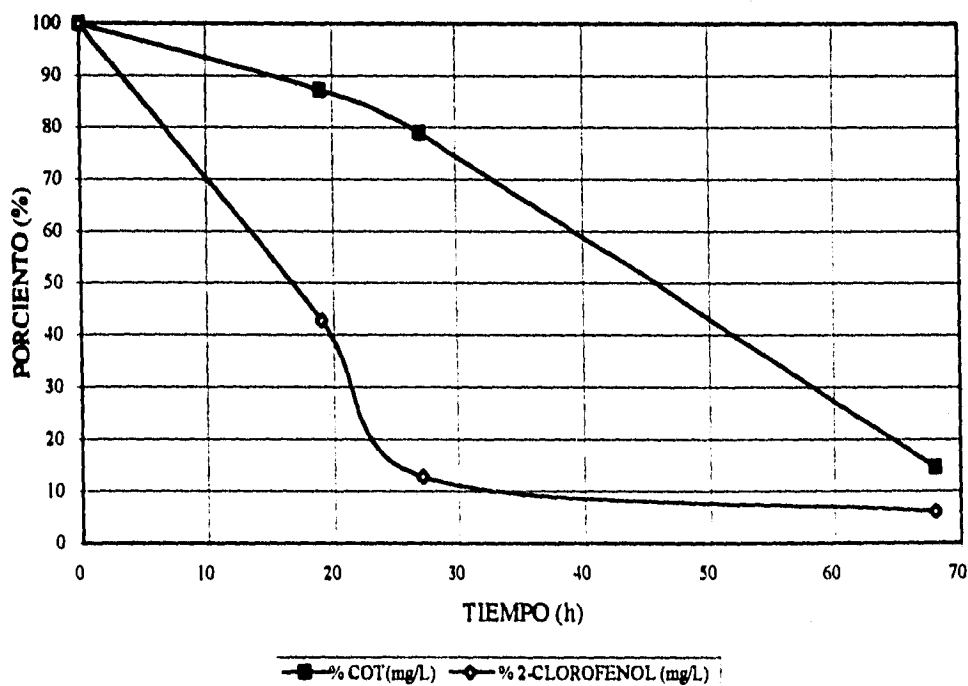


Figura 29 Procentaje de COT y tóxico en la degradación de 2-clorofenol (100mg/L)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Lo anterior sugiere que hay una degradación del tipo de cloración del intermediario alifático después de la ruptura oxidativa del anillo aromático. Según Uotila, (1993), este mecanismo es propio de *Pseudomonas*, *Arthrobacter* y *Rhodococcus* en la biodegradación de mono y diclorofenoles.

4.3.8. Actividades de biodegradación.

La evaluación del sistema se realizó mediante el cálculo de las actividades volumétrica, másica y específica de cada prueba de biodegradación.

En la Figura 30 se muestran las actividades obtenidas de las 16 experiencias realizadas.

Las actividades se calcularon de la siguiente forma:

$$\text{Actividad volumétrica} = (C_i - C_f) \cdot V / t \cdot V_c$$

$$\text{Actividad másica} = (C_i - C_f) \cdot V / t \cdot (m_a)$$

$$\text{Actividad específica} = (C_i - C_f) \cdot V / t \cdot (UFC)$$

donde: C_i : concentración del inicial del tóxico
 C_f : concentración final del tóxico
 V : volumen de la solución tóxica
 V_c : volumen de la columna empacada
 t : tiempo de biodegradación
 m_a : kilogramo de empaque

Existe congruencia en tendencias de comportamiento de las actividades volumétrica y específica, existiendo relación entre la actividad por volumen de columna respecto a la capacidad de biodegradación por cantidad de microorganismos presentes en el biocatalizador, que corresponde a la actividad específica. Las actividades obtenidas son mayores para concentraciones altas de tóxicos y a condiciones de operación de 35°C, pH=8 y con solución saturada de oxígeno.

Aun existiendo una amplia diversidad de condiciones de operación durante la historia de la columna, se obtuvieron altas actividades del sistema comparadas con las registradas en la literatura.

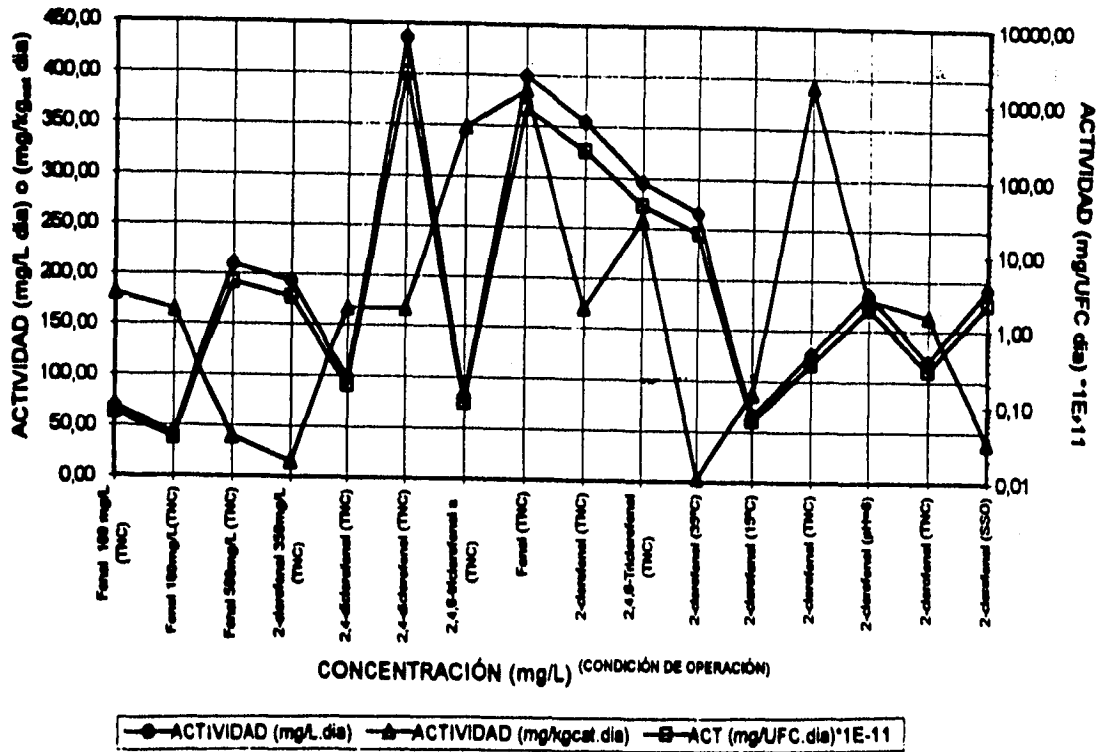


Figura 30 Actividades de la operación de la columna empacada con biocatalizador de tezontle para biodegradación de fenoles

4.3.9 Estabilidad del sistema

El sistema de columna empacada con biocatalizador de tezontle mostró alta capacidad de biodegradación de fenoles a pesar de sufrir fuertes cambios de concentraciones y tipos de tóxicos en la mayoría de las pruebas. El sistema presentó alta capacidad de biodegradación de tóxico durante toda la historia de la columna empacada. Mostrando resistencia sin mostrar intoxicación de los microorganismos en condiciones extremas de cambio de concentración y tipo de tóxico. Pudiendo al controlar parámetros de operación promover un mejoramiento en la actividad del sistema.

Considerándose estable el comportamiento del sistema durante toda la historia de operación de la columna

La estabilidad del sistema se presentó durante todo el periodo de uso del sistema, mostrando adaptabilidad a los tóxicos y presentando en las actividades y la población bacteriológica incrementos y decrementos comunes sin llegar a afectar considerablemente el sistema.

Cabe señalar que la columna empacada con biocatalizador de tezontle después de las 16 pruebas realizadas con una operación superior a las 1500 horas continua con buenas propiedades para poder seguir siendo utilizada.

5. Conclusiones

Los sistemas con microorganismos inmovilización son una buena alternativa para la eliminación de tóxicos a altas concentraciones, mostrando ventajas sobre los sistemas de tratamiento convencionales. La actividad de un biocatalizador depende de su capacidad de inmovilización y retención de biomasa y capacidad de adsorción del tóxico en el material utilizado como soporte.

A partir de las pruebas realizadas con diferentes biocatalizadores, en el presente trabajo se encontró que:

El tezontle tiene una buena capacidad de inmovilización de bacterias, además de buenas características fisicoquímicas y un bajo costo mostrando ventajas generales sobre otros materiales como la arena, el carbón activado y el alginato de calcio.

El sistema de columna empacada con biocatalizador de tezontle operado bajo condiciones de temperatura no controlada, pH no modificado y sin aerar, obtuvo buenas remociones de fenoles a altas concentraciones (hasta 500 mg/L de clorofenoles y superiores a 1000 mg/L de fenol), sin presentarse intoxicación de los microorganismos. Esto hace al sistema adecuado para el tratamiento de efluentes industriales con altas concentraciones de fenoles, a bajos costos de inversión y operación en comparación con los sistemas convencionales.

Las actividades del sistema de columna empacada con biocatalizador pueden mejorarse con el control de parámetros de operación como la temperatura, el pH de la solución y el nivel de oxígeno disuelto en ciertos rangos. Para aumentar las actividades del sistema se recomienda temperaturas cercanas a los 35°C, teniendo en cuenta el costo económico que esto representa. Mantener el pH ligeramente básico (de 7 a 8), aumenta la actividad del sistema. Para el nivel de aeración se recomiendan concentraciones cercanas a la saturación de oxígeno disuelto en la solución, lográndose una mejora notable en la actividad del sistema. Cabe señalar que los sistemas de control de estos parámetros son costosos y tienen elevados costos de operación.

Se recomienda al biocatalizador de tezontle como empaque de una columna para la biodegradación de fenoles en agua por lo siguiente:

- a) Su alta capacidad de inmovilización y retención de biomasa, capacidad de conservación de la actividad enzimática durante su almacenamiento en refrigeración, además de sus buenas propiedades fisicoquímicas.
- b) Su resistencia a cambios bruscos en las concentraciones de tóxicos.
- c) Su alta actividad aún en condiciones de operación no controladas de temperatura, pH y contenido de oxígeno disuelto.
- d) Posible aumento en la actividad del sistema bajo el control de parámetros de operación como temperatura, pH y oxígeno disuelto en los rangos recomendados.
- e) Los cortos tiempos de adaptación del sistema al tóxico comparado con los convencionales.
- f) Su bajo costo de inversión y operación.

Recomendaciones

- a) Se recomienda operar el sistema con mezclas de fenoles, para evaluar la influencia de la presencia simultánea de los tóxicos sobre la actividad del catalizador.
- b) Evaluar el sistema bajo operación en continuo por periodos prolongados de tiempo.
- c) Realizar el escalamiento del sistema para una mayor capacidad de tratamiento de agua contaminada.
- d) Realizar pruebas de biodegradación de aguas residuales industriales contaminadas con altas concentraciones de fenoles.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Alemark, M., Finnveden, G. y Frastell B. (1991). "Treatment technologies for organochlorine containing sludges and concentrates from external treatment of pulp and paper wastewater" *Wat. Sci. Tech.* 24:319-329.
- Allsop, P.J., Chisti, Y., Moo-Young, M. y Sullivan, G.R. (1993). "Dynamics of phenol degradation by *Pseudomonas putidas*" *Biotechnol. Bioeng.* 41:572-580.
- Anselmo, A., Cabral, J. y Novais, J. (1989). "The adsorption of *Fusarium flocciferum* spores on celites particles and their use in the degradation of phenol" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 31:200-203.
- Anselmo, A.M., and Novas, M. (1992). "Degradation of phenol by immobilized mycelium of *Fusarium flocciferum* in continuous culture" *Wat. Sci. Tech.* 25(1): 161-168.
- APHA, AWWA, WPCF (1981). *Standard Methods for the examination of water and waste-water* 15th. edit. Washington, D.C. USA.
- Balfanz, J. y Rehm, H.J. (1991). "Biodegradation of 4-chlorophenol by adsorptive immobilized *Alcaligenes sp. A. 7-2* in soil" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 12: 116-122.
- Beltran, A. (1994). "Biodegradación aeróbica de tóxicos mediante microorganismos inmovilizados" UAEM. Tesis.
- Bettman, H., y Rehm, H.J. (1984). "Degradation of phenol by polymer entrapped microorganisms" *Appl. Microbiol. Biothechnol.* 20:285-290.
- Bettman, H. y Rhem, H.J. (1985). "Continuous degradation of phenol(s) by *Pseudomona putida* P8 entrapped in polyacrilamida hidrazide" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22:389-393.
- Chia-Yuan, C. y Jong-Nan, C. (1994). "Ozonolysis of 2,4-diclorofenol in a two phase solvent/water system" *Wat. Sci. Tech.* 29(9):343-246.
- Chang, T.H. y Rittman, B.E. (1986). "Biofilm loss during simple preparation for scanning electron microscopy" *Wat. Res.* 20(11):1451-1456.
- Chang, T.H. y Rittman, B.E. (1988). "Comparative study of biofil shear loss on different adsorptive media" *J.WPCF.* 60(3):362-368.
- Characklis, W.G. (1981). "Fouling biofilm development: a process analysis" *Biotechnol. Bioeng.*

23:1923-1960.

- Dapaah, S. y Hill, G.A. (1992). "Biodegradation of chlorophenol mixtures by *Pseudomonas putida*" *Biotechnol Bioeng.* 40(11):1353-1358.
- Dimadopoulos, P. y Sakellariopoulos, G. P. (1992). "The effect of activated carbon properties on the adsorption of toxic substances" *Wat. Sci. Tech.* 25(1):153-160.
- Duddridge, J.E. y Pritchard, A.M. (1982). "Factors affecting the adhesion of bacteria to surfaces" *Microb. Cor. Proc. Conf. Met. Soc. London.* 28-35.
- Durand, G. y Navarro, J.M. (1978). "Immobilized microbial cells" *Proc. Biochem.* 14(9):14-23.
- Ehrhard, H.M. y Rehm, H.J. (1985). "Phenol degradation by microorganisms adsorbed on activated carbon" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30:312-317.
- Ehrardt, H.M. y Rehm, H.J. (1989). "Semicontinuous and semicontinuous degradation of phenol by *Pseudomonas putida* P8 adsorbed on activated carbon" *Appl. Microbiol. Biotechnol* 30:312-317.
- Ellwood, D.C., Keevil, C.W., Marsh, P.D., Brown, C.M. y Wardell, J.N. (1982). "Surface associated growth" *Phil. Trans. R. Soc. London.* 512-532.
- Fukui, S. y Tanaka, A. (1982). "Immobilized microbial cells" *Annu. Rev. Microbiol.* 36:145-172.
- García, M. R. (1992). "Contaminantes tóxicos prioritarios en agua" Universidad Autónoma de Chapingo.
- Hagblom, M., Apajalahti, J. y Salkinoja-Saalonon, M. (1988). "Degradation of chlorinated phenol compounds occurring in pulp mill effluents" 20(2):205-208.
- Hagblom, M. y Young, L.Y. (1990). "Chlorophenol degradation coupled to sulfate reduction" *Appl. Environ. Microbiol.* 56(11):255-260.
- Hakulinen, R. y Salkinoja-salonen, M. (1990). "An anaerobic fluidized bed reactor for the treatment of industrial wastewater containing chlorophenols. *Wat. Sci. Tech.* 15(3):374-382.
- Hendriksen, H.V., Larsen, S. y Ahring B.K. (1991). "Anaerobic degradation of PCP and phenol in mixed-film reactors: the influence of an additional substrate" *Wat. Sci. Tech.* 24:431-436.
- Ibarra, M. y Rodríguez R. (1993). "Biodegradación de compuestos clorofenólicos por *pseudomonas sp.* RA2" *Revista de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería. A.C. Biotecnología V Congreso Nacional.* 3:119-122.

- Jacobsen, B. Nyholm, N., Pederson, B. Poulsen, O. y Ostfeldt, M. (1991). "Microbial degradation of pentachlorophenol and lindane in laboratory-scale activated sludge reactors" *Wat. Sci. Tech.* 23:349-356.
- Jiménez, B. y Ramos, J. (1995). "Estudio de la disponibilidad de agua en México en función del uso, calidad y cantidad" Informe final proyecto 3320. Instituto de Ingeniería. UNAM.
- Karel, S.F., Libicki, S.B. y Robertson, C.R. (1985). "The immobilization of whole cells: engineering principles" *Chem. Eng. Sci.* 40:1321-1354.
- Keen, R. y Bailod, C.R. (1985). "Toxicity to *Daphia* of the end products of wet oxidation of phenol and substituted phenols" *Water Res.* 19 (6):767-772.
- Keweloh, H., Herpieper, H.J. y Rehm, H.J. (1989). "Protection of bacteria against toxicity of fenol by immobilization in calcium alginate" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 31:383-389.
- Kiyohara, H., Takizawa, N., Uchiyama, T., Ikarugi, H. y Nagao, K. (1989). "Degradability of polychlorinated phenols by bacterial populations in soil" *J. Ferment. Bioeng.* 67(5):339-344.
- Kiyohara, H., Hatta, T., Oganka, Y., Kakuda, T., Yokoyama, H. y Takizawa N. (1992). "Isolation of *Pseudomonas picketti* strains that degrade 2,4,6-trichlorophenol and their dechlorination of chlorophenols" *Appl. and Environ. Microbiol.* 58:1276-1283.
- Klein, J. y Wagner, F. (1983). "Methods for the immobilization of microbial cells" *Appl. Bioeng.* 4:11-51.
- Klein, J. y Kressdorf, B. (1983). "Improvement of productivity and efficiency in ethanol production with Ca-alginate immobilized *Zymomonas mobilis*" *Biotechnol.* 5:497-502.
- Klein J. and Ziehr H. (1990). Immobilization of cells by adsorption. *J. Biotechnol.* 16:1-16.
- Knoll, G. y Winter, J. (1989). "Degradation of phenol via carboxylation to benzoate by defined obligate syntrophic consortium of anaerobic bacteria" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30:318-324.
- Kolot, F.B. (1981). "Microbial carries: Strategy for selection" *Proc. Biochem.* 16:2-9.
- Leitis, E., Zeff, J.D. y Smith, M.M. (1983). "Chemistry and Application of Ozone and Ozone/UV Light for water Reuse" U.S. Department of Interior, Washington D.C.

- Lin, J., Wang, H. y Hickey, R. (1990). "Degradation kinetics of pentachlorophenol by *Phanerochaete chrysosporium*" *Biotechnol Bioeng.* 35:1125-1134.
- Mann, M., Willson, D., Hendrikson, J.G. y Winton, S.L. (1984). "Gasifier wastewater treatment: Phase Y Cooling Tower Assessment" Presented at AIChE (August 19-22, 1984).
- Marcipar, A., Cochet, N., Brackenridge, L. y Lebault J.M. (1980). "Immobilization of yeast on ceramic supports" *Biotechnol.* 1:65-70.
- Marshall, K., Stout, C. y Mitchell, R. (1971). "Mechanisms of initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces" *J. Gen Microbiol.* 68:337-338.
- Martinsen, A., Skjåk-Braek, G. y Smidsrod, O. (1987). "Alginate as Immobilization Material: I. Correlation between Chemical and Physical Properties of Alginate Gel Beads" *Biotechnol. Bioeng.* 33:79-89.
- Messing, R.A., y Oppermann, R.A. (1979). "Pore dimensions for accumulating biomass, I. Microbes that reproduce by fission or budding" *Bioeng.* 21:49-58.
- Mohn, W., y Kennedy, K. (1992). "Limited degradation of chlorophenols by anaerobic sludges granulars" *Appl. Environ. Microbiol.* 58(7):2131-2136.
- Morsen, A.M. y Rehm H.J. (1990). "Degradation of phenol by a mixed culture immobilized by adsorption on activate carbon and sintered glass" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 33: 306-312.
- Mozes, N., Marchal, F., Hermesse, M.P., Van Haecht, M.P., Reuliaux, J.L., Leonhard, A.J. y Rouxhet, P.C. (1987). "Immobilization of microorganisms by adhesion: interplay of electrostatic and nonelectrostatic interactions" *Biotechnol. Bioeng.* 30:439-450.
- Mueller, J., Middaugh, D., Lantz, S. y Chapman, P. (1991). "Biodegradation of cresote and pentachlorophenol in contaminated groundwater: chemical and biological assessment" *Appl. Environ. Microbiol.* 57:1277-1285.
- Nicell, J.A., Bewtra, J.K., Taylor, K. E., Biswas, N. y Pierre, C. (1992). "Enzyme catalyzed polymerization and precipitation of aromatic compounds from wastewater" *Wat. Sci. Tech.* 25(3):157-164.
- Phillips, C.R. y Poon, Y.C. (1988). "Immobilization of cells" *Biotechnology Monographs*, Vol. 5 Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

- Pringle, H.J. y Fletcher, M. (1986). "Influence of substrate hydration and adsorbed macromolecules on bacterial attachment to surfaces" *Appl. Environ. Microbiol.* 51:1321-1325.
- Puhakka, J.A., Shieh, W.K., Järvinen, K. y Melin E. (1992). "Chlorophenol degradation under oxic and anoxic conditions" *Wat. Sci. Tech.* 25(1):147-152.
- Puhakka, J.A., Melin, E., Järvinen, K., Tuhkanen, T. y Shieh W.K. (1991). "Oxic fluidized-bed treatment of chlorophenols" *Wat. Sci. Tech.* 24:171-177.
- Quirazco, M.C. (1984). "Producción y caracterización de un biocatalizador con actividad glucosotransferasa" UACP y P/CCH UNAM. M. Sc. Tesis.
- Rosevear, A. (1984). "Immobilized biocatalysts - a critical review" *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 34:127-150.
- Randall, T. y Knopp P.V. (1980). "Detoxification of specific organic substances by wet oxidation" *J. WPCF.* 52:2117-2130.
- Rappe, G.C. y Schwyer, W.L. (1986). "Evaluating and enclosed system for containment and destruction of Hazardous and Toxic Wastes" AICHE summer 1986.
- Richardson, M.L. (1992). "The dictionary of substances and their effects. Royal Society of chemistry"
- Saez, P.B. (1992). "Biodegradación anaerobia del fenol y 4-clorofenol por una especie de *Pseudomona*" XXII Congreso internacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. La Habana Cuba. 187-196.
- Saez, P.B. y Rittman (1992). "Model parameter estimation using least squares" *Wat. Sci. Tech.* 17:77-88.
- SEDESOL (1993). Normas Oficiales Mexicanas en Materia de Protección Ambiental. Diario Oficial de la Federación
- Thomas, R.V. y H.J. Salas (1991). Manual de evaluación y manejo de sustancias tóxicas en aguas superficiales. Secciones 1-6. Centro Panamericano de Estudios en Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. Lima, Perú.
- Torres, L.G. (1992). "Eliminación de fenoles y clorofenoles en agua por medio de microorganismos inmovilizados" *Biotecnología.* 4(2):49-65.

-
- Tseng, J. M. y Hung, C.P. (1991). "Removal of chlorophenols from water by photocatalytic oxidation" *Wart. Sci. Tech.* 23:377-387.
- Uotila, J. (1993). "Dehalogenases for polyhalogenated aromatic compounds in *Rhodococcus chlorophenolicus* PCP-1 and *Mycobacterium fortuitum* CG-2" Ph D Thesis. University of Helsinki, Finland.
- Vorlop, K.D. and Klein, J. (1983). "New developments in the field of cells immobilization-formation of biocatalysts by ionotropic gelation" In: Lafferty R. M. (Ed.) *Enzyme technology*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, pp.219-235.
- Walter, J. y Weber, Jr. (1979). *Control de la calidad del agua Procesos fisicoquímicos*. Ed. Reverte S.A. Cap. 5
- Westmeier, F. y Rehm H.J. (1985). "Biodegradation of 4-chlorophenol by entrapped *Alcaligenes* sp. A 7-2" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22:301-305.
- Westmeier, F. y Rehm, H.J. (1987). "Degradation of 4-chlorophenol by entrapped *Alcaligenes* sp. A 7-2" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22:301-305.
- Zache, G. y Rehm H.J. (1989). "Degradation of phenol by coimmobilized entrapped mixed culture" *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30:426-432.

Anexo A

TABLA A1 GRANULOMETRIA DE TEZONTLE

Nombre del material: Tezontle

Peso seco: 500 g.

Malla No.	Apertura (mm)	Tara de malla (g)	Peso de malla con material (g)	Peso retenido (g)	% Retenido parcial	% Acumulado
3/8"	9,5	638,5	675,8	37,3	7,46	7,46
5/16"	8	886	953,9	67,9	13,58	21,04
1/4"	6,3	610,3	750,9	140,6	28,12	49,16
4	4,76	749,9	852,6	102,7	20,54	69,7
12	1,14	403	547,2	144,2	28,84	98,54
14	1,19	399	399,2	0,2	0,04	98,58
16	1,13	402,22	402,3	0,08	0,016	98,596
40	0,402	393,5	400,6	7,1	1,42	100

FIGURA A1 CURVA GRANULOMÉTRICA DE TEZONTLE

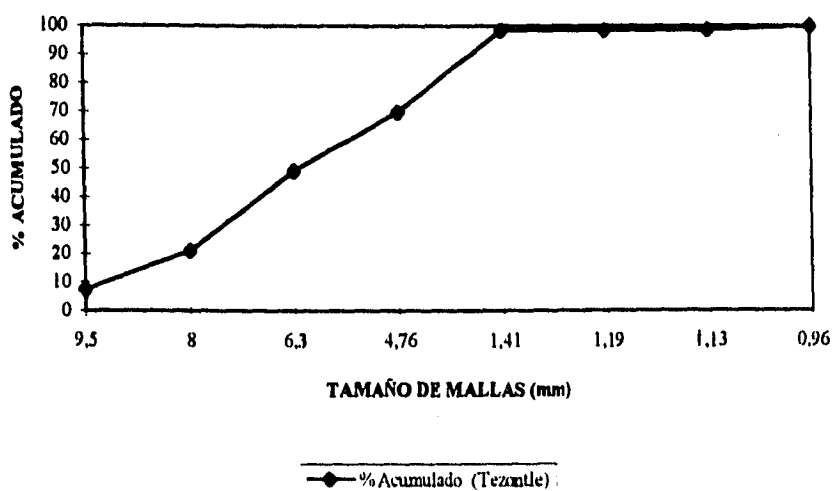


TABLA A2 GRANULOMETRIA DE ARENA

Nombre del material: Arena

Peso seco: 1000 g.

Malla No.	Apertura (mm)	Tara de malla (g)	Peso de malla con material (g)	Peso retenido (g)	% Retenido parcial	% Acumulado
12	1,41	404	502,14	98,14	9,814	9,81
14	1,19	400,7	561,6	160,9	16,09	25,9
16	1,13	404	581,3	177,3	17,73	43,63
18	0,96	354,97	544	189,03	18,903	62,533
20	0,8	388,14	437	48,86	4,886	67,419
30	0,59	385,42	585,3	199,88	19,988	87,407
35	0,5	328,3	349,8	21,5	2,15	89,557
Fondos		393,8	479	85,2	8,52	98,077

FIGURA A2 CURVA GRANULOMÉTRICA DE LA ARENA

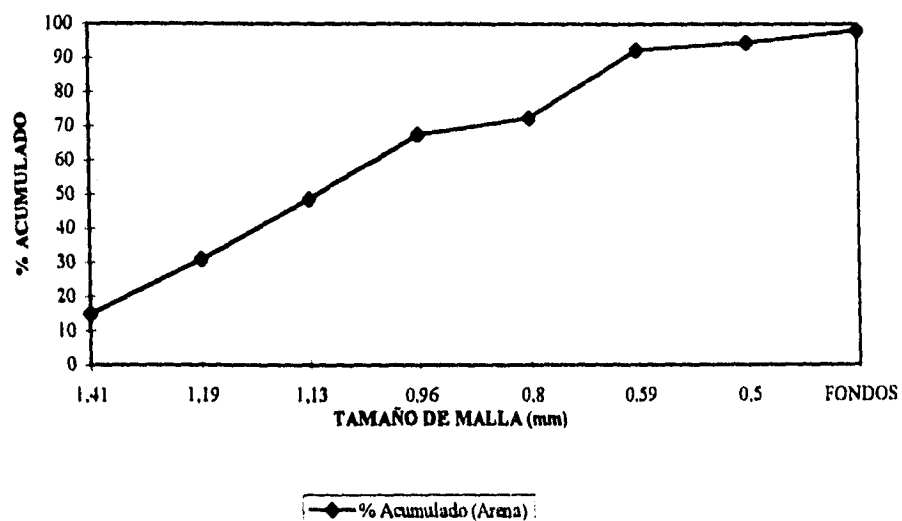
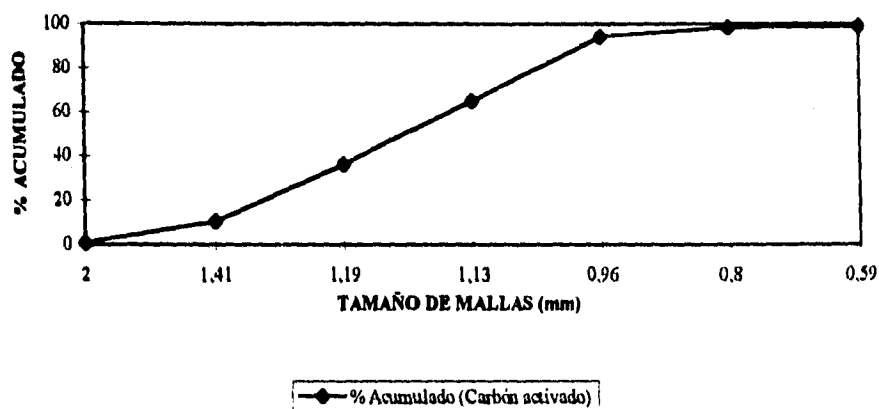


TABLA A3 GRANULOMETRIA DE CARBÓN ACTIVADO

Nombre del material: Carbón vegetal
 Peso seco: 200 g.

Malla No.	Apertura (mm)	Tara de malla (g)	Peso de malla con material (g)	Peso retenido (g)	% Retenido parcial	% Acumulado
10	2	395,5	396,95	1,45	0,725	0,725
12	1,41	404	423,5	19,5	9,75	10,475
14	1,19	400,7	452	51,3	25,65	36,125
16	1,13	404	462	58	29	65,125
18	0,96	354,97	413,5	58,53	29,265	94,39
20	0,8	388,14	396,8	8,66	4,33	98,72
Fondos	Fondos	393,4	394,4	1	0,5	99,22

FIGURA A3 CURVA GRANULOMÉTRICA DEL CARBÓN ACTIVADO



Anexo B

TABLA B1 ADSORCIÓN DE FENOL EN CARBÓN

"CONCENTRACIONES"

TIEM (min)	CARB. (0g/L)	CARB. (2g/L)	CARB. (4g/L)	CARB. (6g/L)	CARB. (8g/L)	CARB. (10g/L)
0	0,995793	0,9957932	1,000249	1,0210416	0,8873736	0,9586632
3	0,954208	0,9378704	0,943811	0,7507352	0,6809308	0,6363748
8	1,021042	0,8546992	0,615582	0,6467712	0,5472628	0,4180504
20	1,028468	0,7878652	0,59776	0,4937956	0,4210208	0,3215124
50	1,026982	0,7076644	0,56063	0,45221	0,3363644	0,2754712
100	1,000249	0,6556824	0,475973	0,3883464	0,2977492	0,2175484
160	1,021042	0,5873632	0,504192	0,3898316	0,2903232	0,2086372
230	0,979456	0,6393452	0,539837	0,385376	0,2754712	0,2026964
280	1,022527	0,6779604	0,527955	0,4031984	0,2754712	0,2041816

FIGURA B1 ADSORCIÓN DE FENOL EN CARBÓN ACTIVADO

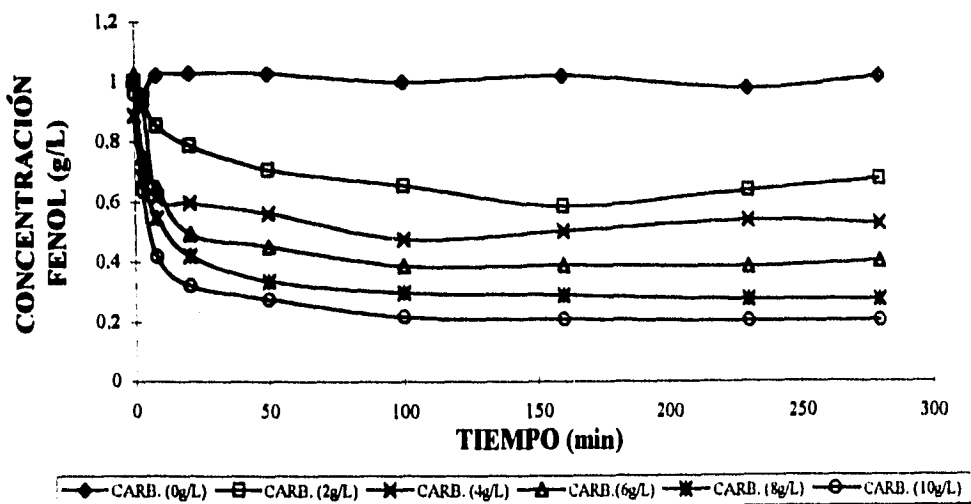


TABLA B2 ISOTEMA DE ADSORCIÓN DE FENOL EN CARBÓN ACTIVADO

X(g/L)	Ceq (g/L)	(X/Ceq)	LOG Ceq	LOG (X/Ceq)	% ADSORCIÓN
2	0,587363	3,405049	-0,2310934	0,53212341	41,58
4	0,475973	8,403835	-0,3224175	0,924477491	52,66
6	0,387851	15,46986	-0,4113351	1,189486335	61,42
8	0,275471	29,04115	-0,5599238	1,463013786	72,6043
10	0,20269	49,33643	-0,6931677	1,693167677	79,84

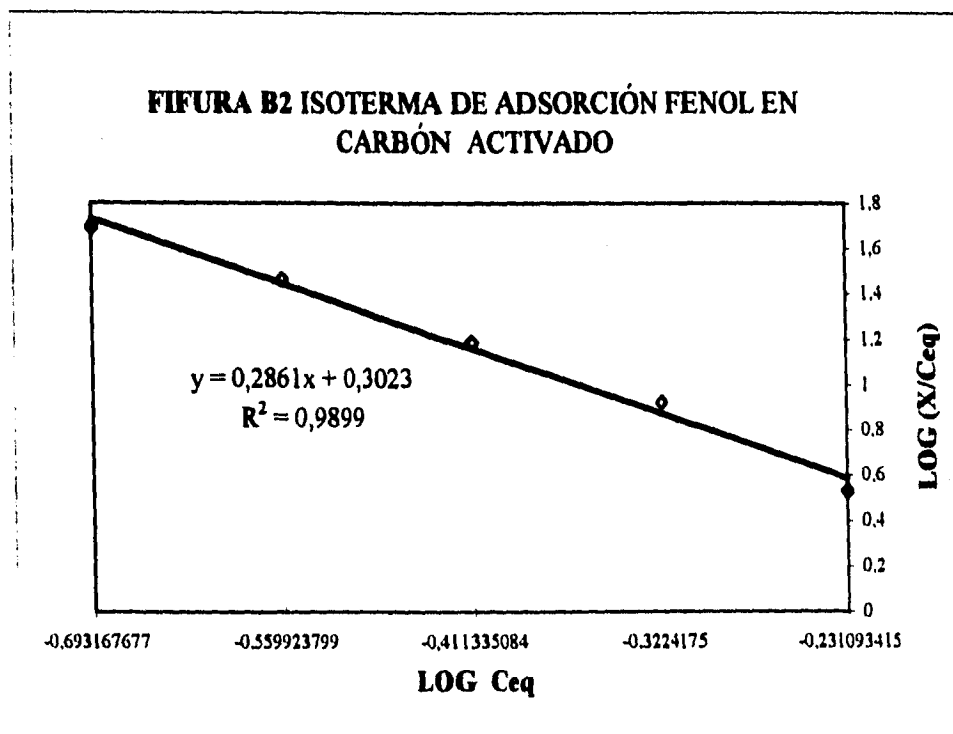


TABLA B3 ADSORCIÓN DE 2-CLOROFENOL EN CARBÓN ACTIVADO

"CONCENTRACIONES"

TIEMPO (min)	CARBÓN (0g/L)	CARBÓN (2g/L)	CARBÓN (4g/L)	CARBÓN (6g/L)	CARBÓN (8g/L)	CARBÓN (10g/L)
0	0,104811	0,106452	0,106042	0,104811	0,103375	0,1039907
1	0,10153	0,09025	0,087584	0,063589	0,008831	0,0203161
3	0,102555	0,081021	0,050053	0,012523	0,007601	0,0059601
5	0,10276	0,034672	0,047387	0,0075		
8	0,103991	0,033236	0,037338			
10	0,098658	0,027084	0,022777			
20	0,092916	0,022777	0,012728			
40	0,088199	0,010677	0,0084			
60	0,086353	0,009241				
90	0,089019	0,009159				

FIGURA B3 ADSORCIÓN DE 2-CLOROFENOL EN CARBÓN ACTIVADO

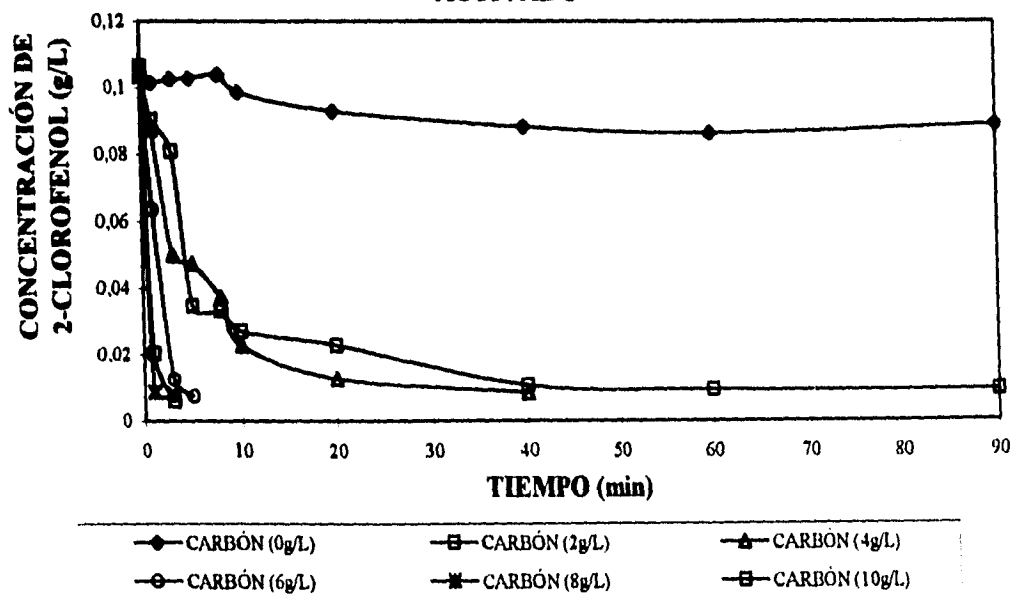


TABLA B4 ISOTERMA DE ADSORCIÓN 2-CLOROFENOL EN CARBÓN

X (g/L)	Ceq (g/L)	Log Ceq	Log (X/Ceq)	% ADSORCIÓN
2	0,00915	-2,03857891	2,339608902	90,85
4	0,0084	-2,07572071	2,677780705	91,6
6	0,0075	-2,12493874	2,903089987	92,5
8	0,0076	-2,11918641	3,022276395	92,4
10	0,0059	-2,22914799	3,229147988	94,1

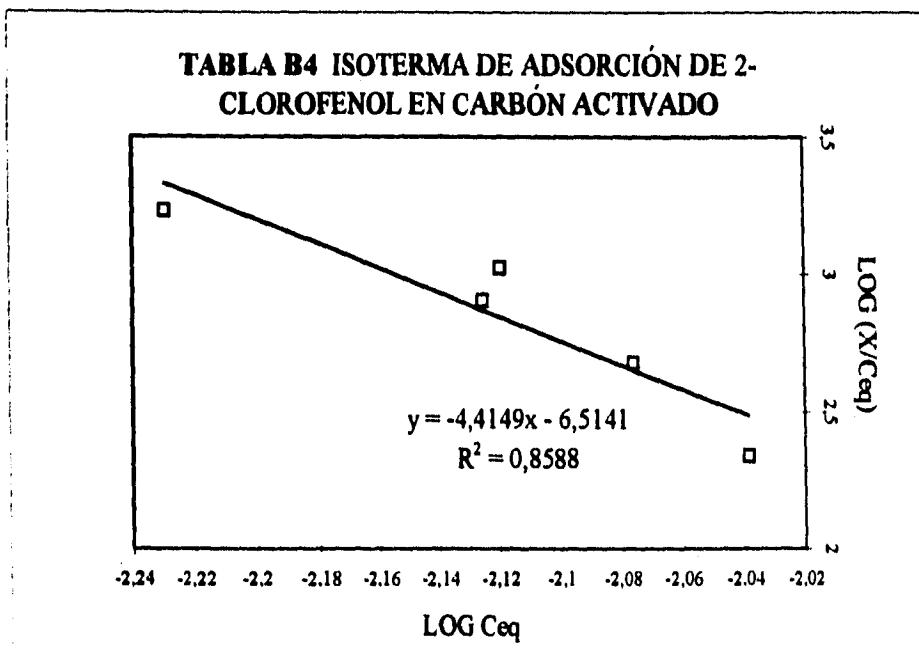
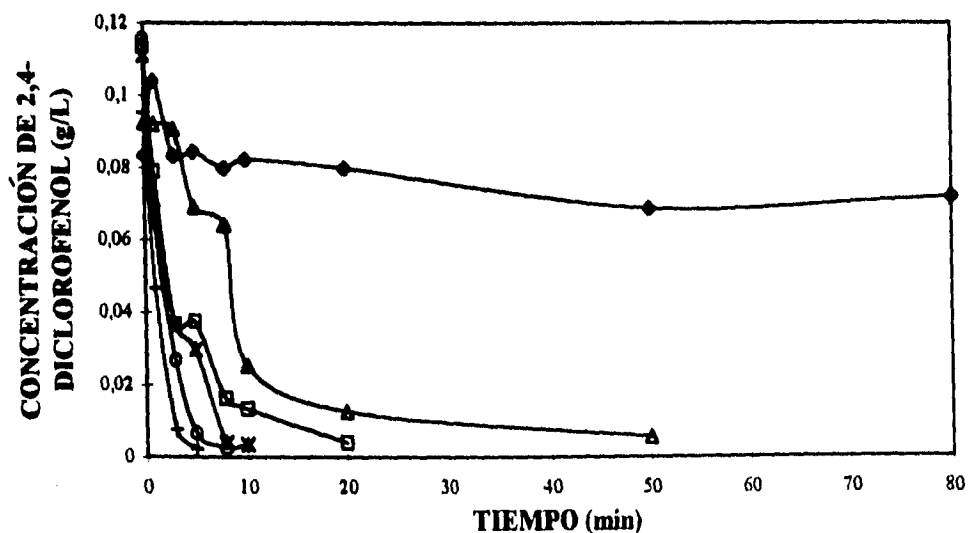


TABLA B5 ADSORCIÓN DE 2,4-DICLOROFENOL EN CARBÓN ACTIVADO

***CONCENTRACIONES**

TIEMPO (min)	CARB. (0g/L)	CARB. (2g/L)	CARB. (4g/L)	CARB. (6g/L)	CARB. (8g/L)	CARB. (10g/L)
0	0,0833346	0,09241	0,113413	0,11108	0,115747	0,09526238
1	0,1040786	0,092151	0,078926	0,068036	0,065184	0,04651398
3	0,0833346	0,090854	0,036661	0,036661	0,026807	0,00761898
5	0,0846311	0,069073	0,037438	0,029659	0,006582	0,00217368
8	0,0799637	0,064146	0,016176	0,003989	0,002433	
10	0,0822974	0,025251	0,013324	0,00347		
20	0,0799637	0,012546	0,003989			
50	0,0688138	0,005545				
80	0,0719254					

TABLA B5 ADSORCIÓN 2,4-DICLOROFENOL EN CARBÓN ACTIVADO



● CARB. (0g/L) ▲ CARB. (2g/L) □ CARB. (4g/L) ✱ CARB. (6g/L) ○ CARB. (8g/L) + CARB. (10g/L)

TABLA B6 ISOTERMA DE ADSORCIÓN 2,4-DICLOROFENOL EN CARBÓN

X(g/l)	Ceq (g/l)	(X/Ceq)	LOG Ceq	LOG (X/Ceq)	% DE ADSORCIÓN
2	0,005545	360,7113	-2,25613	2,55716	99,34769412
4	0,003989	1002,808	-2,39916	3,001218	99,53072941
6	0,00347	1729,007	-2,45965	3,237797	99,59174118
8	0,002433	3288,122	-2,61386	3,516948	99,71376471
10	0,002174	4600,451	-2,6628	3,6628	99,74427059

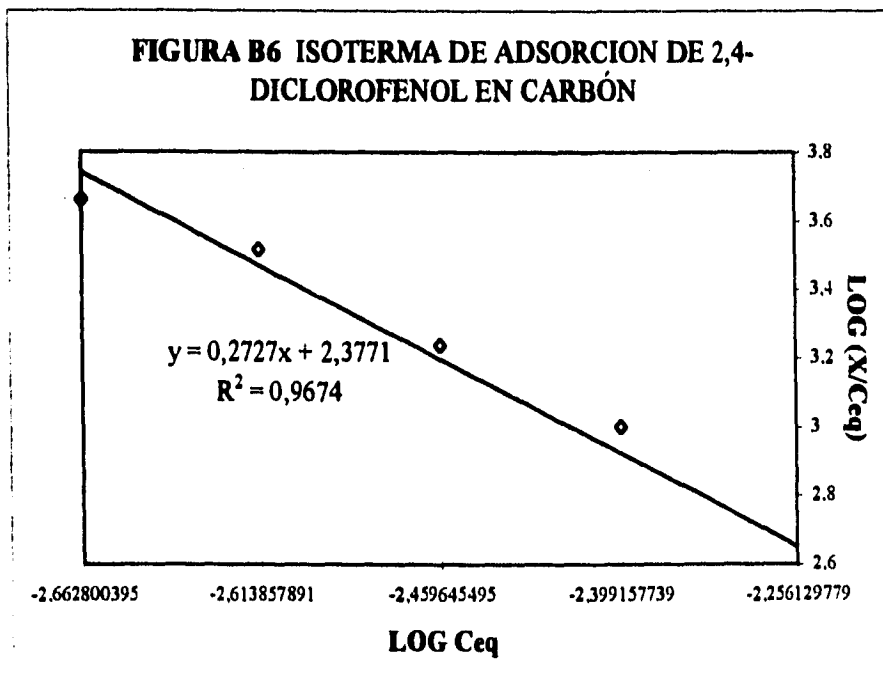


TABLA B7 ADSORCIÓN DE 2,4,6-TRICLOROFENOL EN CARBÓN

"CONCENTRACIONES"

TIEMPO (min)	CARBÓN (0g/l)	CARBÓN (2g/l)	CARBÓN (4g/l)	CARBÓN (6g/l)	CARBÓN (8g/l)	CARBÓN (10g/l)
0	0,10058	0,084776	0,0915013	0,0851125	0,0861213	0,0824225
1	0,099235	0,06561	0,0635925	0,058885	0,0363563	0,03164875
3	0,089484	0,056868	0,0514875	0,042745	0,0218975	0,00141988
5	0,088475	0,06561	0,0272775	0,0363563	0,002395	
8	0,08713	0,041064	0,0343388	0,0141638		
10	0,091838	0,048461	0,03333	0,0034038		
20	0,0952	0,047453	0,0148363			
50	0,092846	0,014164	0,0081113			
80	0,093855	0,013828	0,0017225			

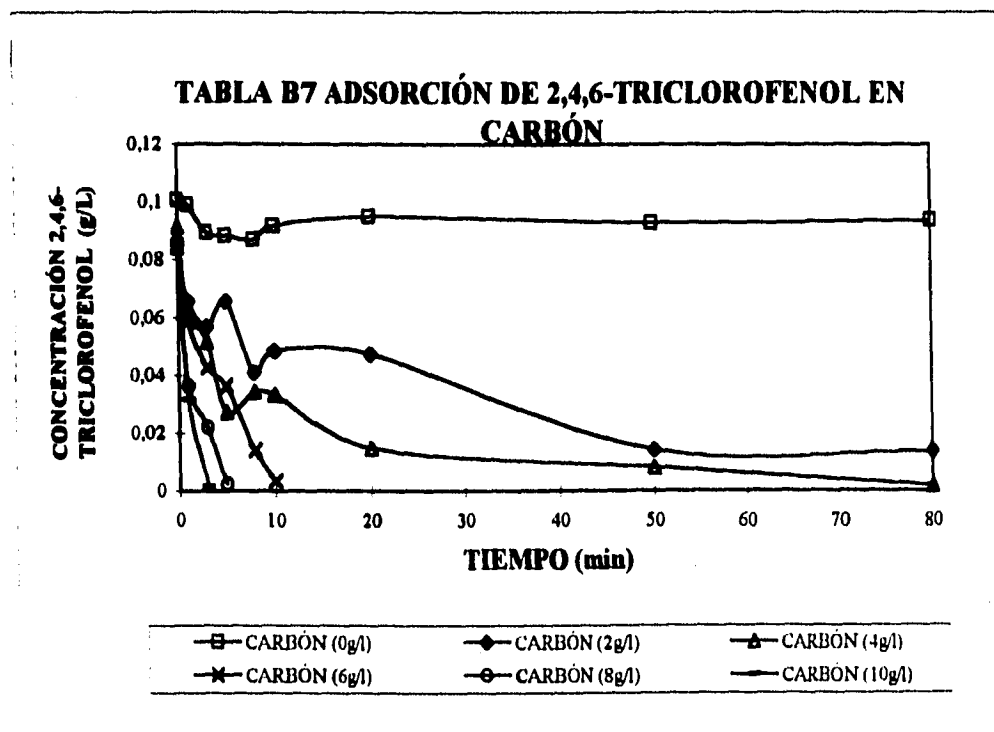


TABLA B8 ISOTERMA DE ADSORCIÓN DE 2,4,6-TRICLOROFENOL EN CARBÓN

X (g/l)	Ceq (g/l)	(X/Ceq)	LOG Ceq (g/l)	LOG (X/Ceq)	% DE ADSORCIÓN
2	0,013828	144,6341	-1,859240629	2,160270625	98,51471536
4	0,001723	2322,206	-2,763840769	3,365900761	99,81498389
6	0,003404	1762,736	-2,468035966	3,246187216	99,63439313
8	0,002395	3340,292	-2,620694482	3,523784469	99,74274973
10	0,00142	7042,749	-2,847742241	3,847742241	99,84748657

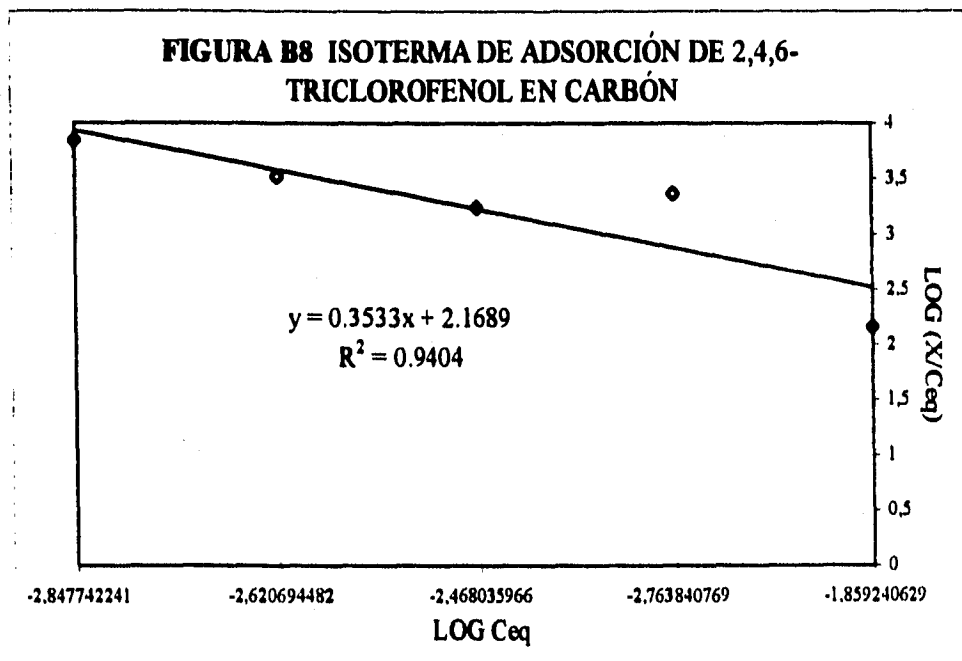


TABLA B9 ADSORCIÓN DE FENOL EN ALGINATO DE CALCIO

"CONCENTRACIONES"

TIEMPO (min)	ALGIN (0g/L)	ALGIN (2g/L)	ALGIN (4g/L)	ALGIN (6g/L)	ALGIN (8g/L)	ALGIN (10g/L)
0	0,992823	0,9809419	0,9779715	0,9779715	0,9764863	0,98094188
2	0,989853	0,9794567	0,9750011	0,9750011	0,9452971	0,93638588
5	0,986883	0,9735159	0,9660899	0,9705455	0,9319303	0,91113748
10	0,989853	0,9720307	0,9616343	0,9794567	0,9096523	0,87846308
30	0,982427	0,9705455	0,9720307	0,9660899	0,8977707	0,85321468
60	0,977971	0,9750011	0,9542083	0,9363859	0,8903447	0,87400748
100	0,980942	0,9720307	0,9616343	0,9274747	0,9022263	0,87697788
150	0,979457	0,9750011	0,9571787	0,9319303	0,9066819	0,89331508
225	0,975001	0,9705455	0,9542083	0,9349007	0,9141079	0,90222628

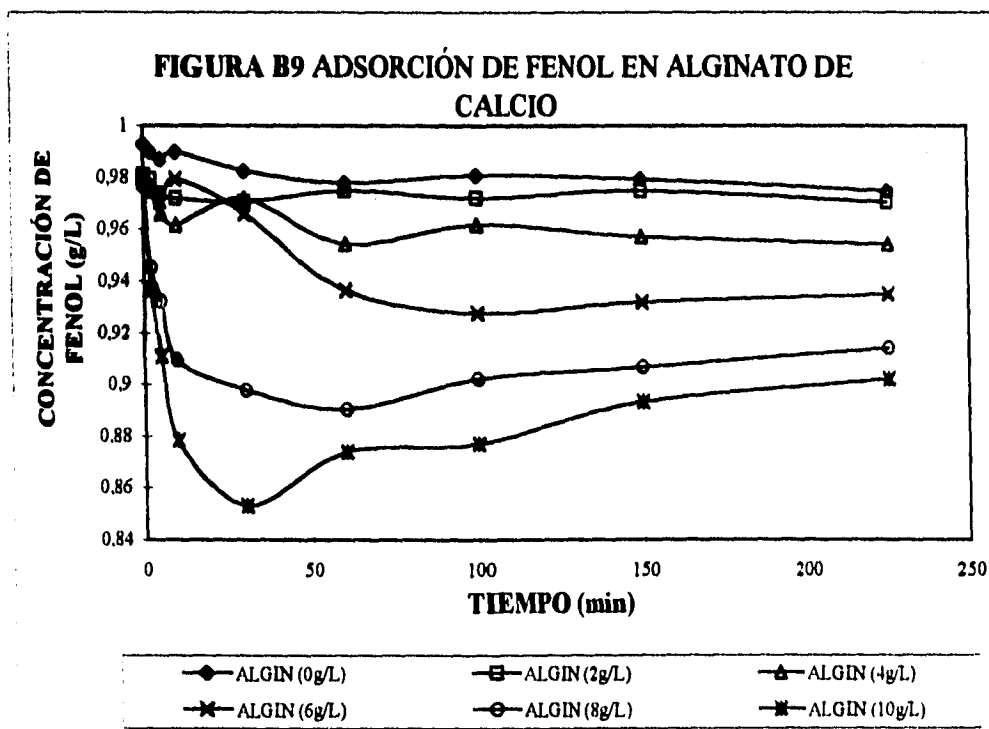


TABLA B10 ISOTERMA DE ADSORCIÓN DE FENOL EN ALGINATO DE CALCIO

X (g/L)	Ceq	(X/Ceq)	LOG Ceq	LOG (X/Ceq)	% DE ADSORCION
2	0,970545	2,0606968	-0,0129841	0,314014	1,277033872
4	0,954221	4,1919018	-0,0203511	0,622411	2,937562812
6	0,927475	6,4691793	-0,0326979	0,810849	5,658154816
8	0,890345	8,9852842	-0,0504418	0,953532	9,434983216
10	0,853215	11,72038	-0,0689417	1,068942	13,21181162

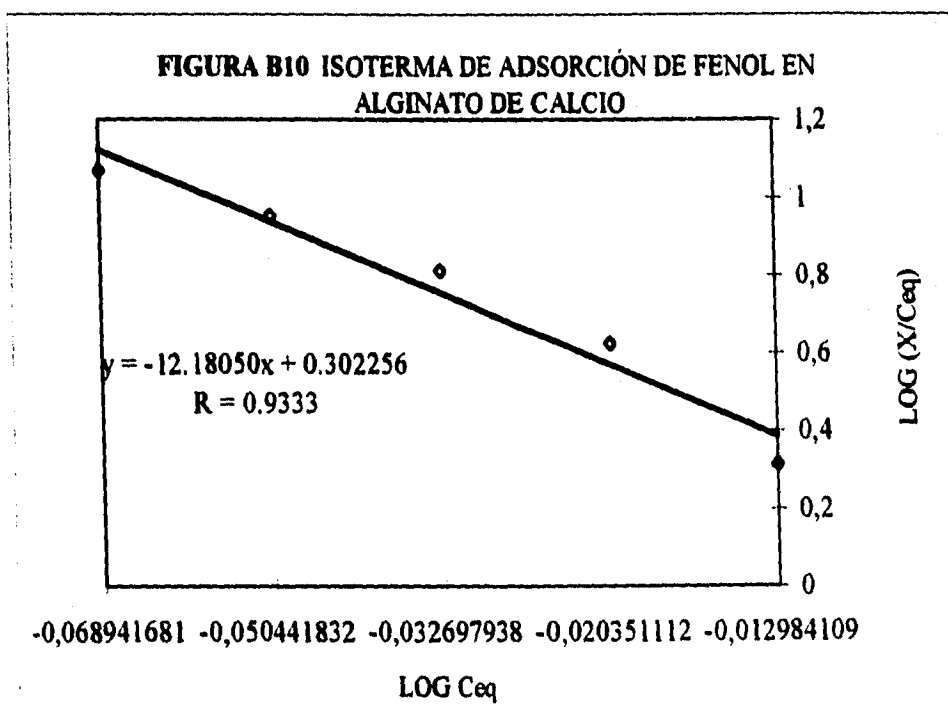
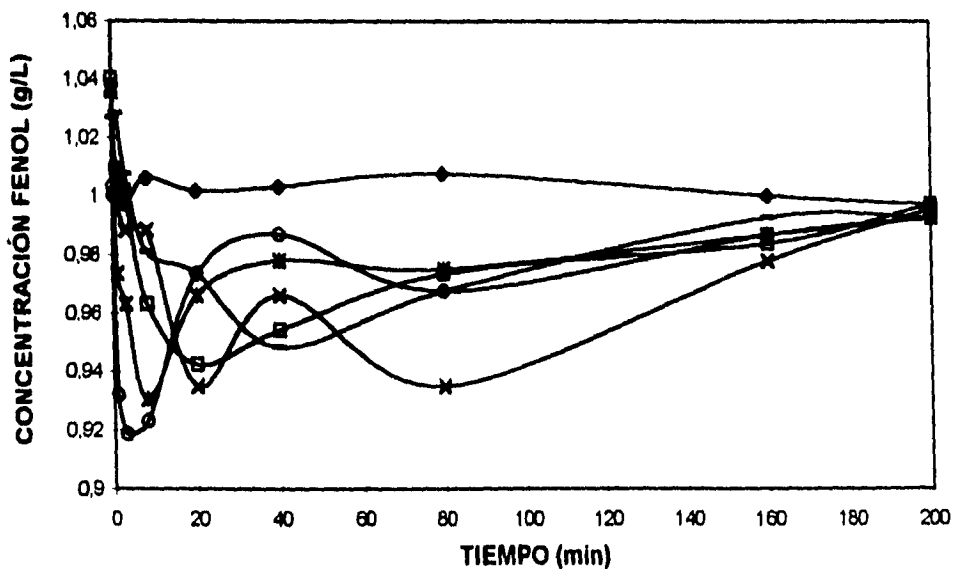


TABLA B11 ADSORCIÓN DE FENOL EN TEZONTLE

"CONCENTRACIONES"

TIEM(min)	TEZ.(0 g/L)	TEZ.(2 g/L)	TEZ.(4 g/L)	TEZ.(6 g/L)	TEZ.(8 g/L)	TEZ.(10 g/L)
0	1,00025	1,02698	1,04035	1,03589	1,03738	1,00322
1	1,00768	1,02847	1,009161	1,00025	0,97352	0,93193
3	0,99728	1,00768	1,001735	0,98837	0,96312	0,918563
8	1,00619	0,98094	0,963119	0,98837	0,93045	0,923019
20	1,00173	0,97352	0,942327	0,9349	0,96609	0,973516
40	1,00322	0,94827	0,954208	0,96609	0,97797	0,986883
80	1,00768	0,96758	0,973516	0,9349	0,975	0,967575
160	1,00025	0,99282	0,983912	0,97797	0,98688	0,986883
200	0,99728	0,99282	0,997279	0,99579	0,99282	0,992823

FIGURA B11 ADSORCIÓN DE FENOL EN TEZONTLE



◆ TEZ.(0 g/L) — TEZ.(2 g/L) —■— TEZ.(4 g/L) —×— TEZ.(6 g/L) —*— TEZ.(6 g/L) —○— TEZ.(10 g/L)

TABLA B12 ISOTERMA DE ADSORCIÓN DE FENOL EN TEZONTLE

X (g/L)	Ceq	(X/Ceq)	LOG Ceq	LOG (X/Ceq)	% DE ADSORCION
2	0,94827	2,1091	-0,023068	0,324098	5,157413233
4	0,94233	4,2448	-0,025797	0,627857	5,751460757
6	0,9349	6,4178	-0,029235	0,8073861	6,494520202
8	0,93049	8,59762	-0,031288	0,9343783	6,935555484
10	0,91856	10,8866	-0,036892	1,0368925	8,128650932

FIGURA B12 ISOTERMA DE ADSORCIÓN DE FENOL EN TEZONTLE

