

01149



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN INGENIERIA
CAMPO DEL CONOCIMIENTO: INGENIERIA AMBIENTAL

EMPLEO DE UN MEDIADOR REDOX (QUINONA) PARA
CATALIZAR LA TRANSFORMACION ANAEROBIA DE
COLORANTES AZO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN INGENIERIA

P R E S E N T A :

I.Q. BALAM JESUS JIMENEZ TOVAR

ASESOR: DR. GERMAN BUITRON MENDEZ

UNAM
POSGRADO



MEXICO, D.F. ,

2004.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

OF.227/2004/SEDEPFI-60.2

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE

Jefe de la Unidad de Administración
del Posgrado
Dirección General de Administración
Escolar, UNAM
P r e s e n t e .

Este Programa informa a usted que el alumno **BALAM JESUS JIMENEZ TOVAR**, ha solicitado autorización para presentar examen con tesis, con el fin de obtener el grado de Maestro en Ingeniería en el campo del conocimiento **INGENIERIA AMBIENTAL**.

El mencionado alumno ha elaborado el trabajo titulado: "**EMPLEO DE UN MEDIADOR REDOX (QUINONA) PARA CATALIZAR LA TRANSFORMACION ANAEROBIA DE COLORANTES AZO**" el cual no tiene valor en créditos académicos.

Tomando en cuenta que el interesado ha cumplido con todos los requisitos que se exigen para sustentar dicho examen, no hay ningún inconveniente en que se lleve a cabo dicho acto ante el jurado integrado por los profesores:

Presidente: DRA. GEORGINA FERNANDEZ VILLAGOMEZ
Vocal: DR. GERMAN BUITRON MENDEZ
Secretario: DR. ALFONSO DURAN MORENO
Suplente: DR. VICTOR LUNA PABELLO
Suplente: DRA. GABRIELA MOELLER CHAVEZ

A t e n t a m e n t e,
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 22 de marzo de 2004

DR. WILFRIDO RIVERA GOMEZ FRANCO
COORDINADOR DEL PROGRAMA

Anexos: cinco votos originales
BJS*jac.

RECONOCIMIENTOS

El gran apoyo que recibí durante estos últimos 2 años ha sido invaluable, por tal motivo, deseo agradecer incansablemente a las siguientes instituciones:

De forma muy especial al **Instituto de Ingeniería** de la UNAM, por la grandiosa oportunidad de poder desarrollar mis estudios de maestría dentro de sus instalaciones en compañía de gente tan profesional y grata de conocer.

Al **programa de maestría y doctorado en ingeniería** (antes DEPMI), por permitirme tomar clases y agregar puntos a mi historial dentro de sus instalaciones, espero que no sea el último lugar para seguir creciendo académicamente.

Al **CONACyT**, por ese gran apoyo otorgado mediante la asignación de una beca, la cual más que un trago de agua en el desierto, fue todo un oasis durante la maestría.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** (UNAM), por seguir siendo el alma mater de mi desarrollo profesional y por que ha visto por mí desde el bachillerato, indudablemente mi segundo hogar y la principal razón de lo que soy, lástima que sigas siendo rehén de aquellas causas ajenas a tu prestigio, de cualquier manera sigues estando a la cabeza de **todas** las instituciones de nivel superior, pésele a quien le pese.

A **México**, por estar lleno de gente sedienta de superación, gente trabajadora y digna, a pesar de ser rehén de injusticias y malhechores que te han saqueado durante cinco siglos, pero que afortunadamente no se han acabado tus riquezas.....
....que la democracia y el estado de derecho verdaderos te bendigan.

Muchas Gracias.

AGRADECIMIENTOS

Es fundamental hacer llegar mis agradecimientos a toda aquella persona que participó directa e indirectamente para que culminará exitosamente el presente trabajo, mencionare a algunas de esas personas sin la intención de herir a nadie por si a caso hago alguna omisión importante:

Al Dr. Germán Buitrón Méndez, por compartir sus conocimientos y brindarme la oportunidad de realizar el presente trabajo bajo su acertada dirección, espero que este trabajo pueda ser útil en el desarrollo de la ingeniería ambiental. Doc, gracias por todo.

A la Dra. Gloria Moreno Rodríguez, por su importante colaboración técnica y humana durante el desarrollo del presente trabajo.

A la M. en C. Isaura Yáñez Noguez, por el apoyo recibido durante la ejecución de las pruebas en el laboratorio, mediante el préstamo de equipo y sus acertados comentarios.

A la QFB Soledad Lucario y el Dr. Peter Trinidad por sus amables atenciones en las adquisiciones materiales para el desarrollo experimental de este trabajo.

A los miembros del comité tutorial, los doctores: Georgina Fernández, Gabriela Moeller, Alfonso Duran y Víctor Luna, por su apoyo para mejorar el contenido de este trabajo.

A todos mis compañeros del grupo de trabajo de la coordinación de bioprocesos ambientales sin nombrar a ninguno por temor a hacer alguna omisión importante.

A todos mis cuates de la generación: Normis, Alex, Anilu, Troncoño, Carlo, Carlitos y... los que me faltaron.

A mis amigos de "El Salto", mi ranchito triste, por esos ratos de ya no borrachera ni diversión, y esos comentarios de "¿por que ya no sales con nosotros?", recuerden que toda persona debe crecer, si no de estatura o \$\$\$\$, si de mentalidad y objetivos, y gracias a un concepto llamado madurez el cual el aplicarlo en mi persona, me ha puesto en mi lugar sin necesidad de olvidar el concepto de humildad, pues para mí siempre serán mis amigos pase lo que pase en nuestras vidas. Recuerden "*Quién no encuentra la alegría dentro de su casa, ¿A dónde la ira a buscar?*"

A mi ahijadazo del alma el buen "Angelito", porque gracias a su existencia, fortaleció la unión con mi carajo compadre y el respeto al amigo caído (QEPD), a ambos... *Gracias y reflexione esto compadre... "Debemos reconocer nuestras cualidades en voz baja y nuestros defectos en voz alta"*

Al buen Juanito Paredes de la Rosa, por permitirme abusar de su confianza y poder realizar mi maestría con su invaluable apoyo de acogerme en su casa y repito acogerme en su casa para que ahí encontrara una familia, la Familia Adame Sánchez y de paso, encontrar en él un hermano y espero que el abuelo no me haya dejado desamparado (QEPD), pues yo también quiero mi terreno, gracias por el ejemplo que me das de ser como eres..... chaparrito, pero grandioso ¿Qué se siente ser papá? o.... ¿esposo?

A la familia Adame Sánchez, por que me abrieron las puertas de su casa y corazón apoyando incondicionalmente este importante proyecto a pesar de no ser con ustedes lo que ustedes han sido conmigo, muchas gracias y QDLB.

A todos los amigos y amigas que ya no he vuelto a ver, por que me han dejado un importante cúmulo de recuerdos y porque mediante este trabajo quiero enviarles mis mejores deseos a donde quiera que se encuentren..... aunque no lo vean, pues finalmente siempre les recordaré y querré como si no se hubiesen ido de mi vida. Mucha, mucha suerte amigos míos!

A todos mis hermanos, por que de ustedes he aprendido a lo largo de todo este tiempo, a llenarme de fortaleza y carácter, además de que me han ayudado a identificar claramente lo que quiero y lo que no quiero hacer en mi vida hacia con mis semejantes, muchas gracias y no olviden que *"La única manera de vivir feliz con la gente, es ignorar sus faltas y admirar sus virtudes"* o... ¿ustedes que creen?

A mi señora **Madre**, por seguir creyendo en mí y en mis proyectos los cuales no hubiesen sido posibles sin su cariño, apoyo y comprensión y por que ni el tiempo ni la distancia me apartarán de su suave regazo ni de su grandioso amor, gracia mamá.

A la memoria de mi **Padre** (QEPD), por que he tomado todo lo bueno que me enseñaste.

A **mi pequeña Natalie**, fuente de inspiración y bellos recuerdos, por que aunque no haya estado a tu lado, yo siempre te he llevado en mi corazón y en mis pensamientos y se que algún día, no se cuando, **Dios** me permitirá verte otra vez y entonces veré a mi lado a esa hermosa y extraordinaria mujer en la que te has convertido y de quién estaré orgulloso, y se que al menos no guardarás odio ni rencor contra mí y...nuevamente.... Perdón, perdón por todo, que Dios te bendiga **hija mía** dondequiera que te encuentres.

A "*El Triunfo*", por ser justamente eso, un triunfo que me permitió cambiar, crecer y mirar de lo que puedo ser capaz, y que junto a mi columna se ha convertido en un verdadero triunfo de nuestras vidas. Gracias por ser fuente de metas realizadas y por que te has de convertir en el primero de muchos otros triunfos en mi vida.....**primero Dios**. Además, jamás olvidare que al iniciar esta increíble aventura **nos pegaron**, pero, pero.... **nunca nos derribaron** y eso les dolió más a ellos (los del bando contrario) que a nosotros, porque la fuerza de nuestro corazón y de nuestra fe siempre han estado presentes y eso nos recompensó con un dulce, **muy dulce triunfo**, *gracias*.

Por ello aprendí que ***hasta en lo más seguro hay riesgo***.

Pero sobretodo....

A quien deseo sea mi columna, **Normis**, fuente de amor incondicional y brisas encantadas, porque el conocerte me ha hecho alguien diferente, porque me has levantado de la lona donde estaba noqueado, porque sólo tu has hecho de mí lo que nadie lograría, ser una mejor persona día a día. Y si que fue emocionante el conocerte y más emocionante fue encontrarte con el corazón, esto fue gracias a Dios. Y.... Por que en las buenas y en las no tan buenas...seguiremos estando juntos, dedico este trabajo especialmente para ti (TACTMC) "¡ya grosera!".

A los que me faltaron.... por que no me acordé de ustedes, de cualquier forma muchas gracias..... y donde andarán ahora?

Y nuevamente....Agradezco a quién siempre me acompaña en mi corazón y en mi fe, quién siempre ha sido motivo de mis logros, fuente de fortaleza espiritual y manto de protección de mi persona: Virgencita de Guadalupe... Gracias.

CONTENIDO

| | Página |
|---|-----------|
| Contenido..... | i |
| Resumen..... | .iii |
| Abstract..... | iv |
| Índice de tablas..... | .vi |
| Índice de figuras..... | .viii |
| Nomenclatura..... | .x |
| | |
| CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| | |
| CAPITULO 2. JUSTIFICACIÓN..... | 3 |
| | |
| 2.1. Problemática de las aguas residuales industriales en México..... | 3 |
| 2.2. Aguas contaminadas con colorantes sintéticos..... | 5 |
| 2.3. Tratamiento de aguas residuales industriales..... | 7 |
| 2.3.1. Procesos físicos..... | 7 |
| 2.3.2. Procesos químicos y/o fisicoquímicos..... | 7 |
| 2.3.3. Procesos biológicos..... | 8 |
| 2.3.3.1. Procesos aerobios..... | 8 |
| 2.3.3.2. Procesos anaerobios..... | 9 |
| | |
| CAPITULO 3. ANTECEDENTES..... | 10 |
| | |
| 3.1. Aplicación del procesos anaerobio/aerobio..... | 10 |
| 3.2. Tratamiento anaerobio/aerobio secuenciado..... | 10 |
| 3.3. Tratamiento anaerobio/aerobio acoplado..... | 12 |
| 3.4. Ventajas-desventajas de los procesos de tratamiento anaerobio/aerobio..... | 15 |
| 3.5. Mediadores de óxido-reducción..... | 17 |
| 3.5.1. Los compuestos húmicos..... | 17 |
| 3.5.2. Las quinonas..... | 18 |
| 3.6. Objetivos..... | 22 |

| | |
|---|-----------|
| 3.6.1. General..... | 22 |
| 3.6.2. Particulares..... | 22 |
| CAPITULO 4. METODOLOGÍA..... | 23 |
| 4.1. Requerimientos..... | 23 |
| 4.1.1. Compuestos modelo..... | 23 |
| 4.1.2. Componentes adicionales de reacción..... | 24 |
| 4.1.2.1. El co-sustrato..... | 24 |
| 4.1.2.2. El inóculo..... | 25 |
| 4.1.2.3. Nutrientes y oligoelementos..... | 25 |
| 4.1.2.4. Agua reducida..... | 27 |
| 4.1.2.5. Inoculación en condiciones de anaerobiosis estricta..... | 27 |
| 4.1.3. Reactores..... | 27 |
| 4.1.4. Condiciones de reacción..... | 28 |
| 4.1.4.1. Incubación..... | 28 |
| 4.1.4.2. Agitación..... | 28 |
| 4.2. Montaje de técnicas analíticas..... | 28 |
| 4.2.1. Determinación de la concentración de colorante..... | 28 |
| 4.2.2. Curvas de calibración..... | 32 |
| 4.3. Pruebas de decoloración..... | 34 |
| 4.3.1. Análisis exploratorios y confirmatorios..... | 35 |
| 4.3.1.1. Para NA-7..... | 35 |
| 4.3.1.2. Para AA-113..... | 36 |
| 4.3.2. Desarrollo experimental..... | 37 |
| 4.3.3. Parámetros a evaluar..... | 38 |
| CAPITULO 5. RESULTADOS..... | 39 |
| 5.1. Pruebas exploratorias..... | 39 |
| 5.1.1. Naranja Ácido-7..... | 39 |
| 5.1.2. Azul Ácido113..... | 40 |
| 5.2. Pruebas confirmatorias..... | 42 |

| | |
|--|-----------|
| 5.2.1. Naranja Ácido-7..... | 42 |
| 5.2.2. Azul Ácido113..... | 44 |
| 5.3. Análisis espectral..... | 46 |
| 5.4. Productos de la decoloración..... | 50 |
| 5.4.1. Naranja Ácido 7..... | 51 |
| 5.4.2. Azul Ácido 113..... | 52 |
| 5.5. Eficiencias de decoloración..... | 53 |
| 5.6. Potencial redox, pH y SSV..... | 55 |
| 5.7. Producción de biogás..... | 57 |
| 5.8. Comportamiento cinético..... | 58 |
| 5.8.1. Modelo de primer orden | 58 |
| 5.8.2. Modelo de Monod..... | 62 |
| 5. 9. Discusión..... | 65 |
| CONCLUSIONES..... | 69 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 71 |
| ANEXOS..... | 79 |

RESUMEN

Se estudió la influencia de un mediador redox sintético en la biotransformación anaerobia de dos colorantes, uno mono azo y un di azo. Durante este estudio se encontró que el tiempo de reacción en la decoloración anaerobia se redujo un 77% para el primero y hasta un 80% para el segundo ambos, en presencia de mediador redox en comparación con la reducción en ausencia del mismo. En el presente trabajo se evaluó la transformación anaerobia del naranja ácido 7 (NA-7) y del azul ácido 113 (AA-113), los cuales fueron utilizados como principales componentes de una solución sintética a concentraciones de 25 mg/L para cada uno en todas las pruebas realizadas. El compuesto húmico modelo empleado en esta investigación fue la 2,6-disulfonato de 9,10-antraquinona (DSAQ). Se realizaron diversas pruebas preliminares con la finalidad de cubrir los requerimientos técnicos para la investigación, una vez cubiertas estas necesidades, se realizaron 80 pruebas de decoloración por triplicado para cada colorante empleando diferentes concentraciones de DSAQ que iban desde 0 μM hasta 2 mM. En todas las pruebas hubo transformación de los colorantes, aun en ausencia del mediador redox. El tiempo invertido en la decoloración completa de las soluciones con NA-7 en ausencia de mediador fue de 28 horas, mientras que el menor tiempo invertido se logró al emplear 18 μM de mediador redox con un tiempo de reacción de 6.5 horas. De igual forma para las soluciones con AA-113, fueron necesarias 172 horas para alcanzar una decoloración completa en ausencia de mediador, mientras que la concentración óptima de mediador redox fue de 230 μM permitiendo un tiempo de transformación de 35 horas. Las velocidades de decoloración encontradas para ambos compuestos en ausencia y con la concentración óptima de mediador redox son de 1.15 y 4.10 mg NA-7/L·h respectivamente y para el AA-113 de 0.1315 y 0.6841 mg AA-113/L·h, respectivamente. El modelo al cual se ajustaron las pruebas de decoloración de ambos compuestos fue al de primer orden, mientras que al modelo de Monod se ajustan únicamente las pruebas que emplean la concentración óptima de mediador redox.

ABSTRACT

The influence of a synthetic redox mediator (9,10-anthraquinone,-2,6-disulfonate, AQDS) was studied during the biotransformation of two azo dyes: acid orange 7, (AO7) and acid blue 113, (AB113). For both dyes, anaerobic biotransformation was studied using an initial concentration of 25 mg colorant/L. For each colorant AQDS was applied between 5 μ M and 2 mM. All the test were carried out by triplicate. Anaerobic sludge from a wastewater treatment plant of a brewery was used as inoculum. It was observed that the use of AQDS produced a reduction in the decoloration time around 80% in respect to the test where no AQDS was added. Time for the decoloration of AO7 (a mono azo dye) was 23 h without AQDS and 5.5h at the optimal concentration of the redox mediator (18 μ M). For the dia-azo dye, AB113, decoloration without redox mediator was 170 h and 35 h when the optimal concentration of AQDS was added (230 μ M). Decoloration kinetics was adjusted to the Monod model at the optimal concentration of AQDS. For the case of AO7, q_m was 5.54 mg/L-h and K_s 2.6 mg/L. In the case of the AA113 q_m was 0.57 mg/L-h and K_s 1.1 mg/L.

ÍNDICE DE TABLAS

| No. de tabla | Página |
|---|--------|
| Tabla 2.1. Tratamientos aplicados a efluentes industriales en México..... | 4 |
| Tabla 3.1. Ventajas – desventajas en la aplicación de tratamientos anaerobio / aerobio secuenciados..... | 16 |
| Tabla 3.2. Ventajas – desventajas en la aplicación de tratamientos anaerobio / aerobio acoplados..... | 16 |
| Tabla 3.3. Oxidación anaerobia de distintos donadores de electrones, reducción del humus o DSAQ como aceptores finales de electrones (Field <i>et al.</i> 1999)..... | 19 |
| Tabla 3.4. Biotransformación anaerobia de xenobióticos en ausencia y con la concentración óptima de DSAQ empleado como mediador redox (Cervantes, 2000)..... | 21 |
| Tabla 4.1. Cantidad de nutrientes, oligoelementos y elementos traza agregados a cada uno de los reactores montados para el presente estudio..... | 26 |
| Tabla 4.2. Eficiencias de extracción (%) del AA-113 con los diferentes solventes orgánicos evaluados..... | 30 |
| Tabla 4.3. Reactores con DSAQ en las concentraciones señaladas (micro moles por litro, μM)..... | 35 |
| Tabla 4.4. Reactores con DSAQ en las concentraciones señaladas (micro moles por litro, μM)..... | 36 |
| Tabla 5.1. Velocidades de decoloración de soluciones con NA-7 en ausencia y con $18\mu\text{M}$ de DSAQ..... | 54 |
| Tabla 5.2. Velocidades de decoloración de soluciones con AA-113 en ausencia y con $230\mu\text{M}$ de DSAQ..... | 55 |
| Tabla 5.3. Variación del potencial redox durante la decoloración anaerobia de soluciones con NA-7 o AA-113 en ausencia y empleando las concentraciones óptimas de DSAQ (medido en milivolts (mV)) | 56 |
| Tabla 5.4. Variación del pH durante la decoloración anaerobia de soluciones con NA-7 o AA-113 en ausencia y empleando las concentraciones óptimas de DSAQ (medido en unidades de pH) | 56 |
| Tabla 5.5. Variación de la concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) durante la decoloración anaerobia del NA-7 y AA-113 en ausencia y empleando las concentraciones óptimas de DSAQ..... | 57 |
| Tabla A-I.1. Datos de la decoloración de soluciones con NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 1, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 79 |
| Tabla A-I.2. Datos de la decoloración de soluciones con NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 2, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 79 |
| Tabla A-I.3. Datos de la decoloración de soluciones con NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 3, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 79 |
| Tabla A-I.4. Datos de la decoloración de soluciones con NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 4, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 80 |

| | |
|---|----|
| Tabla A-I.5. Datos de la decoloración de soluciones con NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 5, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 80 |
| Tabla A-I.6. Datos de la decoloración de soluciones con NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 6, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM) | 80 |
| Tabla A-I.7. Datos de la decoloración de soluciones con NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 7, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 81 |
| Tabla A-I.8. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 1, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 81 |
| Tabla A-I.9. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 2, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 81 |
| Tabla A-I.10. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 3, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 82 |
| Tabla A-I.11. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No.4, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 82 |
| Tabla A-I.12. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No.5, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 82 |
| Tabla A-I.13. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No.6, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 83 |
| Tabla A-I.14. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No.7, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 83 |
| Tabla A-I.15. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No.8, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 83 |
| Tabla A-I.16. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No.9, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 84 |
| Tabla A-II.1. Datos de la decoloración de soluciones con NA-7 obtenidos en la prueba confirmatoria, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 85 |
| Tabla A-II.2. Datos de la decoloración de soluciones con AA-113 obtenidos en la prueba confirmatoria, la Concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)..... | 86 |
| Tabla A-III.1. Valores de las constantes cinéticas (k) y coeficientes de correlación (R^2) obtenidas del ajuste al modelo cinético de primer orden para las pruebas confirmatorias de decoloración de soluciones con NA-7 y AA-113..... | 87 |
| Tabla A-III.2. Valores de las constantes de afinidad (k_s), de la tasa máxima de decoloración (q_m) y los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos del ajuste al modelo cinético de Monod para las pruebas confirmatorias de decoloración de soluciones con NA-7 y AA-113..... | 88 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| No. de Figura | Página |
|--|--------|
| Figura 2.1. Proceso generalizado de elaboración de textiles (Stephenson y Judd, 1994)..... | 5 |
| Figura 3.1. Esquema general de un sistema de tratamiento de aguas residuales industriales empleando como tratamiento biológico un sistema anaerobio/aerobio secuenciado (Cruz y Buitrón, 2000) | 11 |
| Figura 3.2. Esquema general de un sistema de tratamiento de aguas residuales industriales empleando como tratamiento biológico un sistema anaerobio/aerobio acoplado (Melgoza y Buitrón, 2000) | 13 |
| Figura 3.3. Biotransformación anaerobia de un colorante tipo azo en presencia de un co-sustrato de fácil biodegradabilidad y DSAQ como mediador redox (Field <i>et al</i> , 1999)..... | 20 |
| Figura 4.1. Estructuras químicas de los colorantes tipo azo a) Naranja Ácido 7 (NA-7) y b) Azul Ácido 113 (AA-113)..... | 24 |
| Figura 4.2. Estructura química del compuesto húmico modelo, la 2,6-Disulfonato de 9,10-Antraquinona..... | 24 |
| Figura 4.3. Representación esquemática del montaje de los reactores en la reducción anaerobia de colorantes tipo azo empleando DSAQ como mediador redox..... | 27 |
| Figura 4.4. Curva de calibración para la determinación de la concentración del NA-7 disuelto en agua..... | 33 |
| Figura 4.5. Curva de calibración para la determinación de la concentración del NA-7 disuelto en metanol..... | 33 |
| Figura 4.6. Curva de calibración para la determinación de la concentración del AA-113 disuelto en tolueno..... | 34 |
| Figura 4.7. Esquema generalizado del montaje de reactores para llevar a cabo las pruebas de decoloración anaerobia de soluciones con colorantes NA-7 y AA-113 utilizando DSAQ como mediador redox..... | 37 |
| Figura 5.1a. Comportamiento de la decoloración anaerobia de soluciones de NA-7 en la prueba exploratoria No.7 con bajas concentraciones de DSAQ..... | 39 |
| Figura 5.1b. Comportamiento de la decoloración anaerobia de soluciones con NA-7 en la prueba exploratoria No.7 con altas concentraciones de DSAQ..... | 40 |
| Figura 5.2a. Comportamiento de la decoloración anaerobia de soluciones con AA-113 en la prueba exploratoria No 8 | 41 |
| Figura 5.2b. Comportamiento de la decoloración anaerobia de soluciones con AA-113 en la prueba exploratoria No 8..... | 41 |
| Figura 5.3. Comportamiento de la decoloración anaerobia de soluciones con NA-7 empleando DSAQ como mediador redox a diferentes concentraciones en la prueba confirmatoria..... | 42 |
| Figura 5.4. Comportamiento del tiempo invertido al 90% de la transformación anaerobia del NA-7 en función de la concentración de DSAQ empleado como mediador redox..... | 43 |

| | |
|--|----|
| Figura 5.5. Comportamiento de la decoloración anaerobia de soluciones con AA-113 empleando DSAQ como mediador redox a diferentes concentraciones en la prueba confirmatoria..... | 45 |
| Figura 5.6. Comportamiento del tiempo invertido al 90% de la transformación anaerobia del NA-7 en función de la concentración de DSAQ empleado como mediador redox..... | 45 |
| Figura 5.7. Espectrogramas obtenidos en la región uv-visible del espectro electromagnético..... | 47 |
| Figura 5.8. Espectrogramas en el uv-visible para el NA-7 y los productos de su transformación..... | 48 |
| Figura 5.9. Espectrogramas obtenidos en la región uv-visible del espectro electromagnético..... | 49 |
| Figura 5.10. Espectrogramas en el uv-visible para el AA-113 y los productos de su transformación..... | 50 |
| Figura 5.11. Amina aromática, producto de la decoloración de soluciones con NA-7..... | 51 |
| Figura 5.12. Amina aromática, producto de la decoloración de soluciones con NA-7..... | 51 |
| Figura 5.13. Amina aromática, producto de la decoloración de soluciones con AA-113..... | 52 |
| Figura 5.14. Amina aromática, producto de la decoloración de soluciones con AA-113..... | 52 |
| Figura 5.15. Amina aromática, producto de la decoloración de soluciones con AA-113..... | 53 |
| Figura 5.16. Eficiencias de la decoloración de soluciones con NA-7 en ausencia y con 18 μM de DSAQ..... | 53 |
| Figura 5.17. Eficiencias de la decoloración de soluciones con AA-113 en ausencia y con 230 μM de DSAQ..... | 54 |
| Figura 5.18. Aplicación del modelo cinético de primer orden para los datos de la decoloración de soluciones con NA-7 en ausencia de mediador redox (0 μM)..... | 59 |
| Figura 5.19. Aplicación del modelo cinético de primer orden para los datos de la decoloración de soluciones con AA-113 en ausencia de DSAQ como mediador redox (0 μM)..... | 60 |
| Figura 5.20. Comportamiento de la constante (k) en la decoloración de soluciones con NA-7..... | 61 |
| Figura 5.21. Comportamiento de la constante (k) en la decoloración de soluciones con AA-11..... | 61 |
| Figura 5.22. Aplicación del modelo cinético de Monod para los datos de la decoloración de soluciones con el NA-7 empleando 18 μM de DSAQ como mediador redox..... | 64 |
| Figura 5.23. Aplicación del modelo cinético de Monod para los datos de la decoloración de soluciones con AA-113 empleando 230 μM de DSAQ como mediador redox..... | 64 |

NOMENCLATURA

| | |
|--------------------------------------|--|
| AA -113 | Azul Ácido 113 |
| AD-79 | Azul Disperso 79 |
| AGV´s | Ácidos Grasos Volátiles |
| °C | Grados centígrados |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | Cloruro de calcio dihidratado |
| CCl ₄ | Tetracloruro de carbono |
| CNA | Comisión Nacional del Agua |
| CoSO ₄ | Sulfato de cobre |
| CuSO ₄ ·5H ₂ O | Sulfato de cobre pentahidratado |
| DBO | Demanda Bioquímica de Oxígeno |
| DQO | Demanda Química de Oxígeno |
| DSAQ | 2,6 Disulfonato de 9,10 Antraquinona |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | Sulfato férrico heptahidratado |
| h | hora u horas |
| H ₃ BO ₃ | Ácido bórico |
| INEGI | Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática |
| K ₂ HPO ₄ | Fosfato monoácido de potasio |
| KH ₂ PO ₄ | Fosfato diácido de potasio |
| KOH | Hidróxido de potasio |
| LD ₅₀ | Dosis oral letal para el 50 % de individuos |
| LN | Logaritmo natural |
| meOH | Alcohol metílico |
| mg | Miligramos |
| mg/L | Miligramos por litro |
| MgCl ₂ ·6H ₂ O | Cloruro de magnesio hexahidratado |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | Sulfato de Magnesio heptahidratado |
| mL | Mililitros |
| MnSO ₄ ·H ₂ O | Sulfato de manganeso monohidratado |
| µM | Micromoles por litro |
| mM | Milimoles por litro |
| mV | Milivolts |

| | |
|--|--|
| $\text{Na}_2\text{Mo}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | Molibdato disódico dihidratado |
| NA-7 | Naranja Ácido 7 |
| NaCl | Cloruro de sodio |
| NAD | Dinucleótido de Nicotinamida Adenina |
| NH_4Cl | Cloruro de amonio |
| NiCl_2 | Cloruro de níquel |
| nm | Nanómetros |
| NO_3^- | Nitrato |
| BPC's | Bifenilos Policlorados |
| pH | Potencial de hidrógeno |
| PO_4^{-3} | Fosfato |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| SAQ | Sulfonato de Antraquinona |
| SBR | Reactor Discontinuo Secuencial |
| SO_4^{-2} | Sulfato |
| SSV | Sólidos Suspendidos Volátiles |
| UIQPA | Unión Internacional de Química Pura y Aplicada |
| uv | Ultravioleta |
| ZnSO_4 | Sulfato de zinc |

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

En México, según el Centro de Información INEGI (1994), la generación de aguas residuales industriales potencialmente contaminadas es aportada principalmente por las industrias cementera, textil, química, farmacéutica, metálica ferrosa y no ferrosa, entre otras. De acuerdo con Correia *et al.*, (1994), la industria textil es particularmente interesante debido a las grandes descargas de aguas residuales contaminadas con xenobióticos que tienen características como lo es la alta estabilidad a la luz, además de ser potencialmente resistentes a la degradación biológica, un ejemplo típico de estos contaminantes son los colorantes tipo azo, compuestos ampliamente utilizados en esta industria.

En el proceso de teñido, que forma parte de la elaboración de productos textiles, se generan aguas residuales contaminadas principalmente con colorantes y por sus características no pueden reutilizarse, por lo que son descargadas a los cuerpos receptores sin tratamiento alguno. Las pequeñas cantidades de aguas residuales de este tipo que son tratadas, se someten a procesos fisicoquímicos que son eficientes en la remoción de color, pero generan subproductos que requieren de tratamientos adicionales y una disposición especial, lo que los hace poco atractivos debido a los altos costos tanto de energía y equipos, como de mantenimiento y reactivos necesarios para obtener efluentes de buena calidad y con ello poder reutilizarlos (Shaw, *et al.*, 2002).

Una de las vías de tratamiento más eficientes encontradas hasta ahora para la mineralización de xenobióticos particularmente de colorantes tipo azo, es emplear procesos combinados anaerobio-aerobio. Esta combinación, permite incrementar la eficiencia en la reducción anaerobia con la ayuda de compuestos húmicos como aceptores finales de electrones y mediadores redox (Field, *et al.*, 1999). En estudios previos se ha encontrado que existe una influencia positiva por parte de un mediador redox, específicamente la disulfonato de antraquinona, en las reacciones de decoloración anaerobia de colorantes mono-azo como el naranja ácido 7 (NA-7) (Cervantes, *et al.*, 2001a).

En la presente tesis, se estudió el efecto que tiene el compuesto húmico modelo, 2,6 disulfonato de 9,10 antraquinona (DSAQ), en la decoloración anaerobia de soluciones con un colorante mono azo, específicamente el naranja ácido 7 (NA-7) y un colorante di azo, específicamente el azul ácido 113 (AA -113), empleando como inóculo lodos anaerobios provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales de una cervecería.

El principal aporte a la investigación del área ambiental por parte del presente trabajo es comparar experimentalmente las condiciones en las cuáles se lleva a cabo la transformación anaerobia del colorante mono azo y el di azo, siendo este último, un compuesto no estudiado hasta estos momentos por ningún investigador del área.

Capítulo 2

JUSTIFICACIÓN

Los tratamientos a los que actualmente se someten las aguas residuales municipales e industriales son variados y cada vez más eficientes, esto se debe principalmente al gran avance tecnológico que se ha alcanzado en los diversos países que, año con año, invierten importantes cantidades de recursos en investigación y desarrollo para lograr mejores resultados en la continua búsqueda por mejorar la calidad de los efluentes acuosos, su reutilización y con ello, la disminución en el consumo de agua potable.

2.1. Problemática de las aguas residuales industriales en México

Como sucede a muchos países en desarrollo, México enfrenta graves problemas por las importantes descargas de aguas residuales de origen industrial (ver tabla 2.1). Esto se debe a que sólo una pequeña fracción del total de las descargas a nivel nacional recibe un tratamiento completo que permite cumplir con la normatividad aplicable vigente, mientras que otra fracción es sometida a un tratamiento primario, el cual no ofrece la calidad requerida en los efluentes tratados. El resto de las descargas definitivamente no reciben tratamiento alguno y así son descargadas a los cuerpos receptores, representando entonces, el principal motivo por el cual gran parte de los cuerpos de agua nacionales, están contaminados con xenobióticos de origen industrial.

La industria manufacturera en México está integrada por nueve divisiones de actividad que a su vez se subdividen en ramas, hoy día se considera que existen doce ramas, las cuales son las principales generadoras de los efluentes que se descargan a los cuerpos de agua del país, además de que se consideran potencialmente contaminantes del agua con xenobióticos. A continuación se enlistan las ramas industriales potencialmente contaminantes del agua con xenobióticos en México (Centro de información INEGI, 1994).

- | | | | |
|-------------|--------------|----------|-------------|
| ➤ Cementera | ➤ Alimentos | ➤ Vidrio | ➤ Polímeros |
| ➤ Cerámica | ➤ Maquinaria | ➤ Papel | ➤ Ferrosa |
| ➤ Química | ➤ No ferrosa | ➤ Textil | ➤ Otras |

De acuerdo con la **CNA** (1999), la situación respecto a las aguas residuales industriales en México es como sigue:

De un caudal de $22 \text{ m}^3/\text{s}$ de aguas residuales, se tienen inventariadas 1379 plantas de tratamiento, de éstas, 1367 están en operación. En la siguiente tabla se resumen los tratamientos a los que son sometidos los efluentes industriales.

Tabla 2.1. Tratamientos aplicados a efluentes industriales en México (CNA, 1999).

| Tratamiento | Plantas inventariadas | Volumen tratado (m^3/s) |
|-----------------|-----------------------|---|
| Primario | 534 | 5.60 |
| Secundario | 769 | 15.25 |
| Terciario | 54 | 1.15 |
| No especificado | 22 | 0.20 |

Del total de las plantas de tratamiento, cerca del 35% cumplen con las condiciones particulares de descarga fijadas por la **CNA**, tratando un caudal de $7.6 \text{ m}^3/\text{s}$, mientras que el 65% restante no cumplen, siendo su caudal de descarga de $14.4 \text{ m}^3/\text{s}$. Por lo tanto, se puede observar que la cantidad de aguas residuales industriales que se descargan a los cuerpos receptores sin cumplir con las condiciones particulares de descarga, superan por mucho a la cantidad de aguas tratadas que si cumplen con esa normatividad.

Lo anterior, invita a la comunidad investigadora del ramo a redoblar esfuerzos para incrementar la eficiencia de los sistemas de tratamiento en operación y continuar con la búsqueda de nuevas alternativas tecnológicas o la combinación de las ya existentes, a modo de mejorar la calidad de los efluentes industriales tratados. Adicionalmente, permitir el acceso a estos sistemas de tratamiento a toda aquella industria generadora de efluentes acuosos que, por sus condiciones económicas, no puede instalar un sistema que permita la reutilización del agua, que sigue siendo el principal beneficio buscado.

2.2. Aguas contaminadas con colorantes sintéticos

Uno de los indicadores de contaminación del agua es el color y las principales aportaciones de contaminación por color se llevan a cabo en industrias que emplean colorantes sintéticos dentro de sus procesos productivos (Nawar *et al.*, 1989). Por su parte, Jiang y Bishop (1994), mencionan que las principales industrias que utilizan colorantes sintéticos son la industria textil, papelera, alimenticia, cosmética y farmacéutica, además, que los colorantes empleados son los del tipo azo y en el mundo se producen cerca de 3000 tipos diferentes de ellos. Su producción anual, de acuerdo a Zollinger (1987), puede superar las 700,000 toneladas anuales, de las cuales más del 50% son utilizadas en la industria textil en las etapas de teñido o estampado en las cuales, los colorantes no son eficientemente fijados y por tanto, quedan residuos que van de un 12 a un 30% de la cantidad original agregada al agua de teñido y así en la mayoría de los casos es descargada a los cuerpos receptores (Churchley, 1994).

El proceso de elaboración de textiles además de complejo, es uno de los principales generadores de aguas residuales contaminadas con xenobióticos, particularmente colorantes tipo azo. En la figura 2.1. se muestra el proceso generalizado de elaboración de productos textiles según Stephenson y Judd (1994).

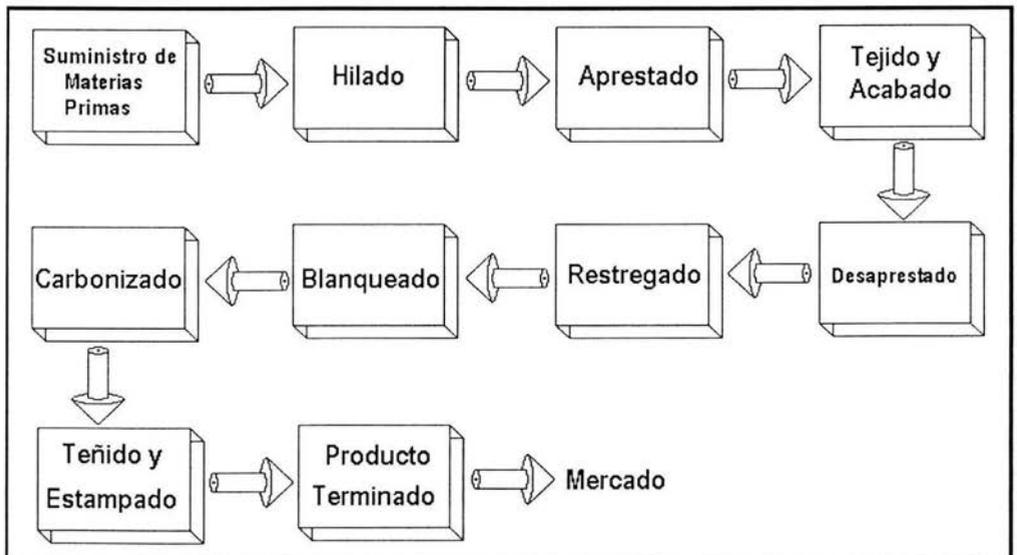


Figura 2.1. Proceso generalizado de elaboración de textiles (Stephenson y Judd, 1994).

La etapa de teñido y estampado es en la cual la tela se somete a grandes cantidades de colorantes disueltos en agua para darle el colorido y con ello las características estéticas requeridas. El agua resultante después del teñido contiene colorantes tipo azo en concentraciones y condiciones tales que impiden su reuso, por lo que debe ser reemplazada por agua con la concentración adecuada del colorante y sin haber sido sometida a altas temperaturas, ya que ésta es la principal razón por la que el colorante residual ya no puede ser utilizado.

En México, dos de los colorantes sintéticos de mayor demanda en la industria textil son el azul ácido 113 (AA-113) y el naranja ácido 7 (NA-7), el primero es utilizado en el teñido y acabado de productos de lana y seda como abrigos, trajes y prendas de uso diario para dama y caballero. Otra aplicación no textil que tiene el AA-113 es en el teñido y acabado de productos de piel como zapatos, cinturones, chamarras y otros productos derivados de piel y cuero de origen animal. Por otro lado, el NA-7 es utilizado para el teñido de lana y seda como productos textiles y de piel, nylon, papel, resina y melanina como no textiles. Adicionalmente se emplea en la manufactura de otros productos de uso diario como jabón, cremas para calzado productos plásticos como contenedores de alimentos, medicinas y/o cosméticos, en el acabado de productos de madera y artesanías.

La industria emplea el NA-7 y el AA-113 en grandes cantidades, siendo ésta la razón por la que las aguas residuales son descargadas con elevadas concentraciones de colorante, provocando con ello altos índices de contaminación por color y por los efectos tóxicos que generan por la presencia de aminas aromáticas al transformarse anaerobiamente y sin ningún tipo de control (Colour Index, 1956).

De acuerdo a O'Neill *et al.* (1999), el grado de fijación de los colorantes tipo azo varía en función del tipo de tela y el colorante que la ha de teñir, por ejemplo, los colorantes azo del tipo básico resultan ser de los que en mayor porcentaje se fijan a fibras como acrílico (95 a 100%), mientras que colorantes del tipo ácido se llegan a fijar entre un 89 y 95% a fibras de poliamida lana, algodón y otras; los colorantes dispersos por su parte, se llegan a fijar entre un 90 y un 100% a fibras como el poliéster y otras.

De acuerdo con la ANIQ (1998), en México, el consumo de colorantes ácidos supera las 1900 toneladas anuales, con una producción de 250 toneladas anuales, una importación superior a las 1800 y una exportación ligeramente superior a las 150 toneladas anuales. Las principales empresas productoras e/o importadoras de este tipo de colorantes son Bayer de México S.A. de C.V., Ciba Especialidades Químicas México S.A. de C.V.

2.3. Tratamiento de aguas residuales industriales

El cumplimiento de la normatividad nacional aplicable vigente es el principal objetivo por el cual las industrias en México tratan los diferentes efluentes generados en sus procesos productivos. Para lograr esto se ha recurrido a los procesos físicos, químicos, biológicos y la combinación de éstos, los cuales se describen a continuación:

2.3.1. Procesos físicos

La principal característica de este tipo de procesos es la aplicación de factores físicos que permiten la separación de varios de los contaminantes presentes en las aguas residuales. Las operaciones unitarias, como se les denomina comúnmente, son cribado, desarenado, mezclado, transferencia de gases, sedimentación, filtración, centrifugación y las variantes de estas (Metcalf y Eddy, 1991).

2.3.2. Procesos químicos y/o fisicoquímicos

La adición de compuestos que promuevan reacciones químicas en combinación con operaciones unitarias de tipo físico en el tratamiento de efluentes industriales es la principal característica de este tipo de procesos. Los procesos y sus aplicaciones son: precipitación química para la remoción de fósforo y sólidos suspendidos en sedimentación primaria; transferencia de gases para la eliminación de gases no deseables disueltos en los efluentes; adsorción de materiales orgánicos y otros compuestos no eliminados en etapas anteriores; desinfección del efluente tratado para eliminar microorganismos no deseables y decoloración para eliminar el excedente de cloro que resulta dañino para el ambiente.

2.3.3. Procesos biológicos

Los procesos biológicos aplicados en el tratamiento de algunos efluentes industriales son los procesos: aerobios, anaerobios, anóxicos y la combinación de algunos de ellos. Estos procesos se basan en la utilización, por los microorganismos, de la energía contenida en la materia contaminante, determinada como demanda química de oxígeno (DQO) o demanda bioquímica de oxígeno (DBO). Los procesos aerobios se caracterizan por requerir oxígeno para que los microorganismos degraden a los materiales contaminantes, produciendo cerca del 65% de la energía contenida en los contaminantes en nuevas células (biomasa) y el resto lo emplean en sus actividades metabólicas; mientras que los procesos anaerobios se desarrollan en ausencia total de oxígeno, esto permite que los microorganismos utilicen cerca de un 10% de la energía contenida en el sustrato (contaminante) en funciones de reproducción (nuevas células), mientras que el resto la utilizan en la producción de biogás (mezcla de metano, bióxido de carbono entre otros). Por su parte, los procesos anóxicos no consideran oxígeno molecular en la biodegradación de contaminantes, pero sí en forma atómica (en forma de especies químicas como NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , entre otros) en donde los microorganismos facultativos toman esta forma de oxígeno como aceptor final de electrones en la biotransformación de los contaminantes (Jiménez, 2001).

2.3.3.1. Procesos aerobios

Dentro de los procesos de tratamiento de aguas residuales por medios biológicos, los tratamientos aerobios son los más desarrollados y sin duda los más aplicados, debido entre muchas otras razones, a las altas eficiencias de remoción de materia orgánica. Los procesos aerobios se caracterizan por ser eficientes y rápidos en la remoción de contaminantes orgánicos simples, además de que generan productos secundarios que casi siempre son químicamente simples y están altamente oxidados, como al anhídrido carbónico y el agua. Existen una gama de arreglos de ingeniería que son empleados en el tratamiento de aguas residuales en ambientes aerobios, entre los que destacan los procesos extensivos empleando lagunas de oxidación, de biomasa en suspensión (lodos activos) y los de biopelícula (percoladores, biodiscos, entre otros).

2.3.3.2. Procesos anaerobios

Estos procesos se caracterizan por emplear bacterias heterótrofas (ácido génicas y metano génicas) y autótrofas. Gujer y Zenhder (1983), proponen las siguientes etapas en la degradación anaerobia de compuestos de alto peso molecular:

1. Hidrólisis de proteínas y carbohidratos
2. Fermentación de azúcares y aminoácidos
3. Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes
4. Oxidación anaerobia de intermediarios como AGV's
5. Conversión del acetato en metano
6. Conversión del hidrógeno en metano

Si la generación de metano durante el proceso anaerobio es suficiente, puede emplearse como energético en función de las necesidades del lugar de ubicación y los recursos disponibles para sus instalaciones.

Los procesos anaerobios son bioquímicamente ineficientes y lentos en la biotransformación de compuestos contaminantes, además de que dan origen a productos secundarios químicamente complejos frecuentemente mal olientes. La evolución en el estudio de los procesos anaerobios ha dado lugar a tres generaciones de reactores: 1. biomasa en suspensión; 2. biomasa fija en un soporte o por características de sedimentación de la biomasa y 3. Biopelícula expandible.

Capítulo 3

ANTECEDENTES

3.1. Aplicación del procesos anaerobio/aerobio

La mayoría de los compuestos xenobióticos que son descargados en las aguas residuales industriales como principales contaminantes, son refractarios bajo condiciones aerobias pero pueden ser fácilmente transformados anaerobiamente y los subproductos generados son mineralizados de manera completa en ambientes aerobios (Gerritse and Gottschal, 1992; Shen *et al.*, 1995; Macarie and Guiot, 1996). Esto ha sugerido que los tratamientos anaerobio y aerobio son complementarios y que la mineralización de xenobióticos puede llevarse a cabo a través de una serie de etapas reductivas y oxidativas en procesos secuenciados o acoplados anaerobio/aerobio en los que la transformación anaerobia es un tratamiento primario para suministrar parcial o totalmente compuestos detoxificados para el pulimento aerobio (Zitomer and Speece, 1993).

En un sistema anaerobio/aerobio secuenciado, las funciones de las bacterias anaerobias y aerobias en unidades separadas se complementan una y otra. En un sistema acoplado, los microorganismos cooperan benéficamente en una sola biopelícula (Zitomer and Shrouf, 1998). En estos sistemas el esquema de operación de las plantas de tratamiento que se sigue favorece la formación de microecosistemas con mecanismos que integran nichos óxicos y anaerobios y crean sinergismo entre los catabolismos de reducción y los de oxidación. La coexistencia de microorganismos anaerobios y aerobios en ambientes óxicos y anaerobios indican la posibilidad de supervivencia de éstos en sistemas combinados (Wu *et al.*, 1987).

3.2. Tratamiento anaerobio/aerobio secuenciado

El proceso anaerobio/aerobio secuenciado consiste en dos reactores independientes uno del otro, en donde al primero se alimenta el agua residual contaminada con xenobióticos (principalmente compuestos tóxicos de alta complejidad química) y ahí se

lleva a cabo la biotransformación anaerobia de los contaminantes en compuestos más sencillos, pero no necesariamente menos tóxicos, los cuales sirven como sustrato al segundo reactor en donde son mineralizados en un ambiente totalmente aerobio, teniendo así un efluente libre tanto de materia orgánica, como de compuestos tóxicos. En la figura 3.1. se muestra un esquema general de un proceso anaerobio/aerobio secuenciado, los reactores están ubicados entre el pretratamiento y el post-tratamiento, los cuales están definidos acorde al tipo de agua residual a tratar y al nivel de tratamiento que se desee obtener.

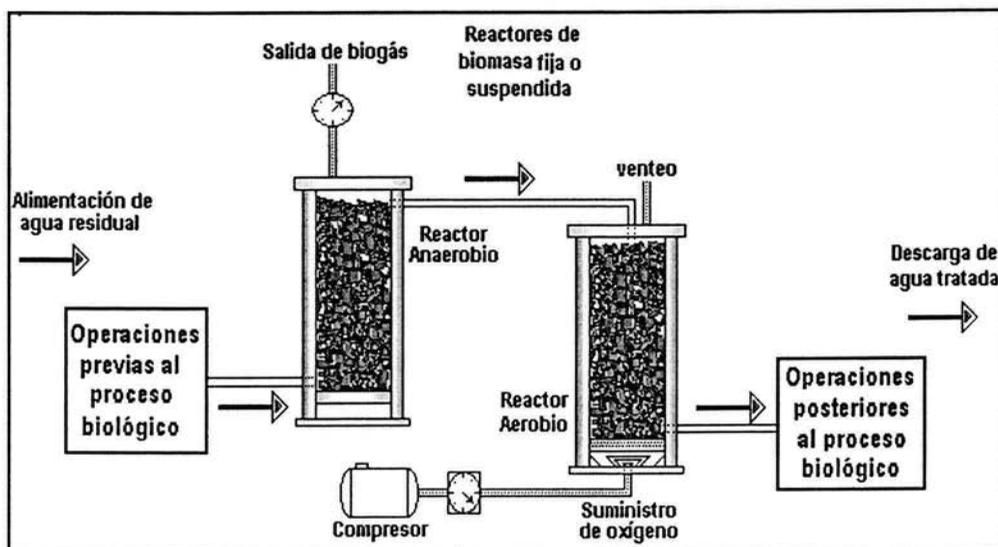


Figura 3.1. Esquema general de un sistema de tratamiento de aguas residuales industriales empleando como tratamiento biológico un sistema anaerobio/aerobio secuenciado (Cruz y Buitrón, 2001).

En el área industrial, los procesos anaerobio/aerobio combinados han tenido varias aplicaciones principalmente en los efluentes de la industria del papel (Kroiss *et al.*, 1992; Fahmy *et al.*, 1991; Puhakka *et al.*, 1994; Driessen and Wasenius, 1994; Ferguson, 1994; Kortekaas *et al.*, 1994) para la mineralización de aromáticos clorados y en general, para la destoxicación del efluente. Huster and Mobius (1990), calcularon costos para un tratamiento anaerobio/aerobio secuenciado para tratar aguas residuales de la industria papelera y encontraron que esta opción tenía un mejor costo efectivo que un tratamiento aerobio únicamente.

Por otro lado, Haberl *et al.* (1991), compararon las eficiencias de remoción de DQO en aguas residuales de la industria alimenticia entre un tratamiento secuenciado anaerobio/aerobio y un tratamiento aerobio, obteniendo las mayores eficiencias con el tratamiento secuenciado. Los procesos secuenciados también han sido exitosos tanto para reducir toxicidad, como para mineralizar parcial o totalmente a los compuestos recalcitrantes como es el caso de los aromáticos policlorados que fueron estudiados por Fathepure y Vogel (1991); los insecticidas y BPC's por Fogel *et al.* (1982); los compuestos nitroaromáticos y aminas aromáticas por Dickel *et al.* (1993); Peres *et al.* (1998) y Berchtold *et al.* (1995).

También los tratamientos secuenciados anaerobio/aerobio en reactores independientes se han empleado en la biodegradación de colorantes tipo azo (N=N) presentes en los efluentes de la industria textil principalmente. Los investigadores que han realizado investigaciones relacionadas con este tema (Brown and Hamburger, 1987; Fitzgerald and Bishop, 1995; Haug *et al.*, 1991; Zoayan *et al.*, 1992; Seshadri and bishop, 1994; Kudlich *et al.*, 1996; Lourenco *et al.*, 1999; Rajaguru *et al.*, 2000; O'neill *et al.*, 2000; Zissi and Liberatos, 2000; Cruz and Buitrón, 2001), emplearon primeramente un reactor en condiciones anaerobias seguido de otro en condiciones aerobias. En fase anaerobia se da la biotransformación reductiva por medio del rompimiento del enlace azo (N=N) y con ello la formación de aminas aromáticas y ácidos orgánicos, los cuales son mineralizados en la fase aerobia. En la mayoría de las investigaciones la decoloración y la carga orgánica fueron medidas y sólo en algunos casos se presentan pruebas de la mineralización de las aminas aromáticas formadas.

3.3. Tratamiento anaerobio/aerobio acoplado

El proceso anaerobio/aerobio acoplado consiste en llevar a cabo tanto la reducción anaerobia de los contaminantes así como su mineralización en un ambiente aerobio todo, en un solo reactor el cual se caracteriza por su operación tipo batch, ya que los ciclos de operación se llevan a cabo de la siguiente manera: al inicio del ciclo el reactor se alimenta con agua residual cruda, una vez llenado se permite la biotransformación de los contaminantes en un ambiente totalmente anaerobio, inmediatamente después de completada la reacción de reducción, se comienza a alimentar oxígeno al reactor,

permitiendo tener condiciones totalmente aerobias, en donde los productos de la reducción anaerobia se mineralizan obteniendo así, un efluente libre tanto de materia orgánica, como de compuestos tóxicos. En la figura 3.2. se muestra un esquema general de un procesos anaerobio/aerobio acoplado, el reactor está ubicado entre el pretratamiento y el post-tratamiento, los cuales están definidos acorde al tipo de agua residual a tratar y al nivel de tratamiento que se desee obtener.

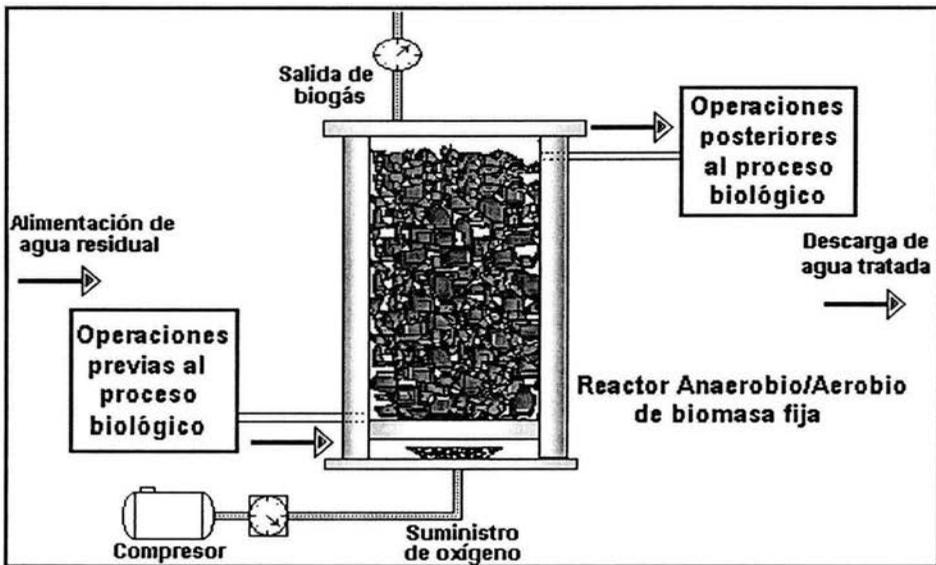


Figura 3.2. Esquema general de un sistema de tratamiento de aguas residuales industriales empleando como tratamiento biológico un sistema anaerobio/aerobio acoplado (Melgoza y Buitrón 2000).

Recientemente se ha comenzado a explorar la biodegradación anaerobia/aerobia acoplada empleando un solo reactor con el fin de mineralizar por completo a los compuestos tóxicos recalcitrantes, mediante el co-metabolismo de las poblaciones bacterianas anaerobias, aerobias y facultativas en un biofilm manteniendo baja difusión y concentración de oxígeno con la finalidad de crear micronichos anaerobios y aerobios (Tan, 2001). Según Tartakovsky *et al.* (1998), este tipo de sistemas son altamente recomendables ya que se pueden acoplar y operar de manera eficiente debido al gradiente de oxígeno. La proximidad de las dos etapas acelera el proceso completo siendo ésta una ventaja que no se puede tener en la operación de dos unidades separadas (proceso secuenciado). En otro estudio realizado por Shen and Guiot (1995),

se demostró que un reactor acoplado anaerobio/aerobio puede ser exitosamente operado bajo condiciones limitadas de oxígeno siendo un ecosistema ideal de ingeniería que integra nichos óxicos y anaerobios. Melgoza (2003) por su parte, empleó un reactor tipo SBR para la degradación del colorante azo azul disperso 79, en donde la primera etapa de reacción funcionaba en condiciones anaerobias y la segunda en condiciones aerobias. Con ello logró una biotransformación en aminas aromáticas del 60% en la etapa anaerobia y la mineralización de éstas hasta de un 90% en la etapa aerobia. Buitrón *et al*, 2003, utilizaron el potencial de óxido-reducción como variable de control de la etapa anaerobia en la mineralización del *p*-Nitrofenol en un proceso anaerobio- aerobio acoplado utilizando un reactor tipo SBR. El potencial de óxido-reducción permite determinar la culminación de la etapa anaerobia, esto es, cuando el compuesto se ha transformado a *p*-aminofenol en prácticamente su totalidad, el valor del potencial redox se ha modificado considerablemente.

La integración de condiciones anaerobias y aerobias en un biorreactor único es una excelente estrategia para la completa mineralización de colorantes azo mediante un biofilm expuesto a oxígeno, siempre y cuando esté presente un co-sustrato, ya que estimula la respiración de oxígeno (Tan *et al.*, 1999a). Haug *et al.* (1999), demostraron la mineralización del colorante sulfonado azo amarillo mordante 3 con un tratamiento anaerobio /aerobio. Bajo condiciones anaerobias, el colorante fue reducido a las aminas 6-amino-2-naftalensulfonato y 5-aminosalicilato. El mismo cultivo que llevó a cabo la reducción fue aireado y así ocurrió la mineralización de dichas aminas en condiciones aerobias. Tan *et al.* (1999a), estudiaron el efecto del oxígeno sobre la reducción del colorante naranja mordante 10, utilizando lodo granular metanogénico expuesto a diferentes concentraciones de oxígeno y como co-sustrato etanol o acetato y reportó la importancia que tiene éste, ya que sin co-sustrato no se logró la reducción del colorante. El mismo autor en otro estudio (Tan *et al.*, 1999b), estudió la degradación de los colorantes azo 4-fenilazofenol y amarillo mordante 10 bajo condiciones integradas anaerobias/aerobias formando co-cultivos con lodo granular anaerobio y cultivos enriquecidos con bacterias degradadoras de aminas aromáticas empleando etanol como cosustrato. Los resultados mostraron la formación de las aminas aromáticas 4-aminofenol y anilina de la reducción del primer colorante y la formación de los ácidos 5-aminosalicílico y sulfanílico de la reducción del amarillo mordante 10, estos

productos fueron fácilmente degradados por bacterias facultativas aerobias presentes en el lodo granular anaerobio.

Tai and Shieh (1999), reportaron la biodegradación del aminobenceno, que fue utilizado como fuente de carbono y nitrógeno en un reactor de lecho fluidizado operado en forma discontinua de modo anóxico/óxico por ciclos de aireación y de no aireación de 6 horas cada uno, incluyendo un experimento de control. El aminobenceno fue removido con eficiencias mayores al 91% y aproximadamente del 53-63% del nitrógeno total. Por su parte, Peres *et al.*, (1998), reportaron la mineralización del nitrobenceno en un reactor único con una población mezclada proveniente de un consorcio reductivo capaz de reducirlo a anilina y ésta fue mineralizada en menos de dos días por el consorcio aerobio presente. La reacción co-metabólica requirió de una mezcla de glucosa y succinato de sodio como donador de equivalentes de reducción.

En un reactor tipo SBR, Fonseca (2002), logró la biotransformación del colorante azo azul disperso 79 en la etapa anaerobia y la mineralización aerobia de las aminas aromáticas, producto de la decoloración, alcanzando eficiencias de decoloración de hasta un 97% y del 100% en la mineralización de las aminas aromáticas. Los tiempos invertidos fueron de dos días para la etapa anaerobia y de un día para la aerobia. La principal ventaja vista en este proceso además del ahorro de espacio por ocupar un solo reactor, fue que se redujeron los problemas de inhibición debido a que la biomasa se encuentra en contacto permanente con los metabolitos producidos.

3.4. Ventajas y desventajas de los procesos de tratamiento anaerobio/aerobio

El tratamiento anaerobio-aerobio secuenciado de cloro aromáticos y colorantes azo en fases separadas ha permitido que su biodegradación pueda ser mejorada por las actividades combinadas de distintos consorcios microbianos. El consorcio puede estar separado en diferentes reactores o en un solo reactor.

La coexistencia de anaerobios y aerobios en co-cultivos no sólo requiere que los anaerobios estén protegidos de la toxicidad del oxígeno sino también deben ser capaces de competir por el sustrato para sobrevivir periodos largos. Los aerobios facultativos heterótrofos que utilizan el oxígeno para la respiración, pueden obtener

grandes niveles de energía del sustrato y consecuentemente se espera que crezcan más rápido que las bacterias anaerobias que compiten por el mismo sustrato (Field *et al.*, 1995).

Tabla 3.1. Ventajas y desventajas en la aplicación de tratamientos anaerobio / aerobio secuenciados.

| Ventajas | Desventajas |
|---|---|
| Su alimentación es continua | La operación se lleva a cabo en dos reactores independientes |
| Control más sencillo en el arranque | Ocupa más espacio para su instalación |
| Requiere de periodos cortos de aclimatación del inóculo | Ofrece eficiencias menores que un acoplado anaerobio/aerobio. |
| Los ciclos de tratamiento no requieren estar controlados para optimizar los tiempos de reacción | La aclimatación del inóculo no le permite ser flexible al reducir y mineralizar el sustrato con distintos tipos de microorganismos. |
| Control de operación sencillo, una vez estabilizados ambos reactores. | Intercambio de metabolitos perjudicial |
| No tiene problemas iniciales con el cultivo de bacterias, pues se inoculan independientemente. | Requiere de mayor inversión en equipos, operación y mantenimiento |

Tabla 3.2. Ventajas y desventajas en la aplicación de tratamientos anaerobio / aerobio acoplados.

| Ventajas | Desventajas |
|---|---|
| La operación se lleva a cabo en el mismo reactor. | Su alimentación es tipo batch. |
| Ocupa menor espacio para su instalación con respecto a un secuenciado | Control más delicado en el arranque. |
| Ofrece eficiencias altas, según el sustrato. | Requiere de largos periodos de aclimatación del inóculo |
| Es más eficiente que un sistema anaerobio/aerobio como tratamiento único o que un secuenciado anaerobio/aerobio | Los ciclos de tratamiento deberán estar perfectamente controlados para optimizar los tiempos de reacción. |
| Control de operación sencillo, una vez estabilizado. | Problemas iniciales con el cultivo simultáneo de bacterias anaerobias y aerobias. |
| La aclimatación del inóculo le permite ser flexible al reducir y mineralizar el sustrato con el mismo tipo de microorganismos | |
| Intercambio continuo de metabolitos | |
| Requiere de menor inversión en equipos, operación y mantenimiento | |

3.5. Mediadores de óxido-reducción

3.5.1. Los compuestos húmicos

Cervantes (2002), menciona que el humus es la fracción orgánica más abundante en la biosfera, ya que está compuesto de estructuras complejas en las que polímeros recalcitrantes prevalecen por décadas incluso siglos pues es materia acumulada en el suelo por la descomposición de residuos orgánicos. Generalmente es de color oscuro, amorfo y de alto peso molecular, resultado de la biotransformación y repolimerización de los componentes fenólicos y aromáticos presentes en los residuos orgánicos y que incluyen a sus metabolitos secundarios. A pesar de ser recalcitrantes, las sustancias húmicas juegan un papel importante en la transformación anaerobia de sustratos orgánicos mediante su participación en la respiración microbiana como aceptores de electrones. Estas sustancias se caracterizan por estar expandidas en ambientes terrestres y acuáticos, el tiempo de residencia para su formación es mayor en ambientes acuáticos, debido a que se trata de ambientes totalmente anaerobios (Cervantes *et al.*, 2000a).

La interacción de sustancias húmicas con microorganismos han sido objeto de investigación por cerca de 30 años. Inicialmente fueron estudiados en casi todas las fuentes de carbono o micro nutrientes con la finalidad de determinar el impacto sobre los microorganismos. Posteriormente se descubrió que la materia orgánica, específicamente los ácidos húmicos y los modelos quinoides como la Sulfonato de Antraquinona (SAQ) y la Disulfonato de Antraquinona (DSAQ) pueden ser mediadores en la reducción de contaminantes orgánicos como los nitroaromáticos o halogenados (Benz *et al.*, 1998). Se ha reportado que el humus tiene importantes efectos en la biotransformación anaerobia de xenobióticos en el fondo de los ríos y otros cuerpos receptores de aguas residuales industriales, ya que se observó que la concentración de los contaminantes disminuía más rápidamente en comparación con la disminución del mismo proveniente de la misma descarga en zonas en donde compuestos húmicos estaban ausentes (Lovley *et al.*, 1996a; Bradley *et al.*, 1998; Coates *et al.*, 1998; Van der Zee, 1999; Cervantes *et al.*, 2000b; Cervantes *et al.*, 2000c; Cervantes *et al.*, 2002b). Las evidencias encontradas en diversos estudios y observaciones, indican que el humus, al actuar como aceptor de electrones y mediador redox, puede jugar papeles

importantes en la estabilización de materia orgánica y en la biorremediación intrínseca de acuíferos u otros ambientes contaminados.

3.5.2. Las quinonas

Las quinonas son los grupos funcionales que aceptan los electrones directamente durante la reducción microbiana del humus. Las quinonas presentes en el humus no solamente sirven como aceptores de electrones en la respiración microbiana, si no también, como mediadores de óxido-reducción (redox) durante la transferencia de electrones en las reacciones químicas y microbianas (Cervantes *et al.*, 2000b). Existen compuestos sintéticos llamados Quinonas análogos al humus y que dentro de su estructura química también incluyen a los mismos grupos funcionales, estos compuestos juegan un papel central tanto en la teoría, como en la práctica de la química orgánica desde 1840, su aplicación hasta hace poco se limitaba solamente en la industria de la fotografía, síntesis de colorantes y sus derivados. Actualmente y en pro de optimizar los procesos de tratamiento anaerobio para la biotransformación de contaminantes tóxicos o recalcitrantes, se ha encontrado una aplicación importante a las Quinonas, ya que éstas han mostrado poseer excelentes propiedades redox, además de que en laboratorios de química y biología se emplean como oxidantes (Kirk-Othmer, 1991).

Estos compuestos a pesar de ser sintéticos son totalmente inertes, lo que permite emplearse en reacciones químicas y microbianas sin problemas de contaminación de los sistemas de reacción o formación de productos indeseables. Nuevas evidencias indican que los compuestos sintéticos análogos al humus, también tienen papeles activos en la biotransformación anaerobia de materia orgánica, ya que han mostrado tres distintos papeles como transportadores de electrones como soporte de la biotransformación abiótica y biológica de contaminantes importantes (xenobióticos) y son (Field *et al.*, 1999):

- ✓ Aceptores finales de electrones para la respiración microbiana
- ✓ Mediadores redox para en los procesos de reducción anaerobia
- ✓ Donadores de electrones para los microorganismos

Respecto al primer punto, tanto el humus, como sus análogos sintéticos han demostrado ser importantes aceptores finales de electrones en la biotransformación anóxica y/o anaerobia de xenobióticos como lo es el benceno en presencia de acetato, entre otros. En la tabla 3.3. se muestra la oxidación anaerobia de diferentes donadores de electrones (contaminantes xenobióticos), completando la reducción del humus o quinona (específicamente DSAQ) como aceptores finales de electrones así como sus referencias.

Tabla 3.3. Oxidación anaerobia de distintos donadores de electrones, reducción del humus o DSAQ como aceptores finales de electrones (Field *et al.*, 1999).

| Donador de e ⁻ | Aceptor final de e ⁻ | Microorganismos | Referencia |
|---------------------------------------|---------------------------------|---|------------------------------|
| 1. Respiración | | | |
| Acetato | DSAQ o Humus | <i>Geobacter metallireducens</i> | Lovley <i>et al.</i> 1996a |
| Lactato | DSAQ o Humus | <i>Shewanella alga</i> | Lovley <i>et al.</i> 1996a |
| Acetato, etanol, piruvato, lactato | DSAQ o Humus | <i>Geobacter sp</i> JW-3 | Coates <i>et al.</i> 1998 |
| Acetato | DSAQ o Humus | <i>Geobacter sp.</i> TC-4 | Coates <i>et al.</i> 1998 |
| Acetato, etanol, propionato | DSAQ | <i>Desulfuromonas sp.</i> SDB-1 | Coates <i>et al.</i> 1998 |
| Acetato, etanol, propionato | DSAQ | <i>Desulfuromonas sp.</i> FD-1 | Coates <i>et al.</i> 1998 |
| Cloruro de vinilo | DSAQ o Humus | Sedimentos ricos en MO | Bradley <i>et al.</i> , 1998 |
| Dicloroetano | Humus | Sedimentos ricos en MO | Bradley <i>et al.</i> , 1998 |
| Benceno | Humus | Sedimentos anaerobios | Lovley <i>et al.</i> , 1996b |
| 2. Fermentación | | | |
| Lactato, propionato | Humus | <i>Propionibacterium</i> <i>Freudenreichii</i> | Benz <i>et al.</i> , 1998 |
| Glucosa | Humus | <i>Enterococcus cecorum</i> | Benz <i>et al.</i> , 1998 |
| Glucosa | Humus | <i>Lactococcus lactis</i> | Benz <i>et al.</i> , 1998 |

Tanto el humus, como sus análogos quinonas además de funcionar como aceptores finales de electrones para la oxidación de contaminantes, funcionan como mediadores redox para estimular la biotransformación reductiva de contaminantes como son los

colorantes azo y compuestos poli halogenados o nitroaromáticos por el intercambio de electrones entre un donador externo y los contaminantes. Se ha comprobado que en condiciones anaerobias y en presencia de un co-sustrato fácilmente biodegradable, los colorantes azo son transformados en aminas aromáticas a partir de la ruptura del enlace azo (N=N). En presencia de compuestos húmicos (humus o DSAQ) esta biotransformación es más eficiente, debido a que los microorganismos utilizan a estos compuestos en un proceso redox para acelerar la producción de NAD (Di nucleótido de Nicotinamida Adenina), el cual se encarga de transportar protones (H⁺) que facilitan la ruptura del enlace azo y por consiguiente la producción de las aminas aromáticas. En la figura 3.3. se muestra el procesos de biotransformación anaerobia de un colorante tipo azo en presencia de un co-sustrato y DSAQ como mediador redox.

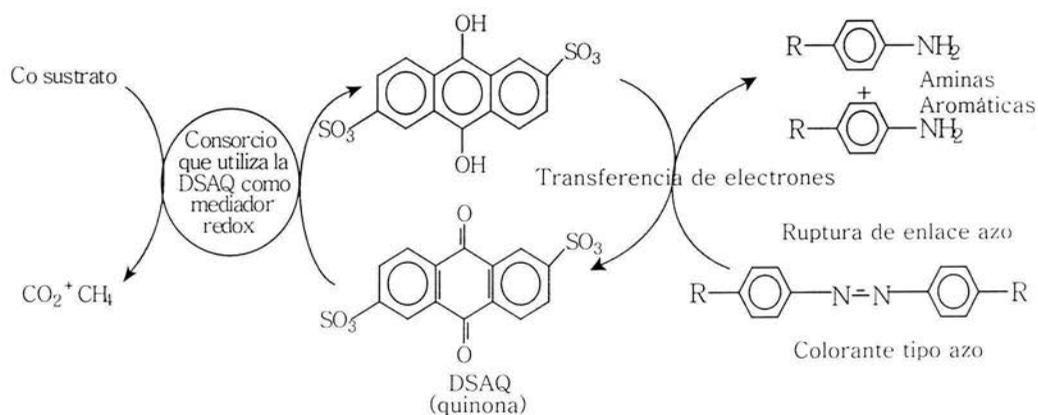


Figura 3.3. Biotransformación anaerobia de un colorante tipo azo en presencia de un co-sustrato de fácil biodegradabilidad y DSAQ como mediador redox (Field *et al.*, 1999).

En la tabla 3.4 se muestran las eficiencias y los tiempos empleados en la biotransformación anaerobia de algunos xenobióticos en ausencia y con las concentraciones óptimas de mediador redox encontradas en los estudios realizados por Cervantes (2000).

Tabla 3.4. Biotransformación anaerobia de xenobióticos en ausencia y con la concentración óptima de DSAQ empleado como mediador redox (Cervantes (2000)).

| Contaminante | DSAQ (μM) | Transformación (%) @ t |
|---------------------------|--|-------------------------------|
| CCl₄ | 0 | 25% @ 15 días; |
| | 20 | 87% @ 15 días; |
| Fenol | 0 | 32% @ 65 días |
| | 280 | 88.2% @ 65 días |
| Para- cresol | 0 | 33% @ 66 días |
| | 320 | 68% @ 66 días |
| Colorante mono azo | 0 | 88% @ 4 horas |
| | 3 | 97% @ 4 horas |

3.6. Objetivos

3.6.1. General

Evaluar la influencia del compuesto húmico modelo 2,6-disulfonato de 9,10-antraquinona (DSAQ) sobre el tiempo y porcentaje de decoloración anaerobia de un colorante mono azo y uno di azo.

3.6.2. Particulares

- ✓ Implementar las técnicas analíticas necesarias para el seguimiento de la decoloración de soluciones de NA-7 y AA-113
- ✓ Determinar las condiciones óptimas para la reducción anaerobia de los colorantes NA-7 (mono azo) y AA-113 (diazó) empleando DSAQ como mediador redox
- ✓ Determinar el orden de reacción al que se ajustan las cinéticas de decoloración anaerobia de soluciones con ambos compuestos.

Capítulo 4

METODOLOGÍA

La estrategia experimental estuvo conformada de dos etapas, en la primera, se llevaron a cabo pruebas de decoloración con el fin de montar las técnicas para la presente investigación, una vez que se perfeccionaron estas técnicas y como segunda etapa, se realizaron alrededor de 80 pruebas de decoloración por triplicado para cada colorante, empleando diferentes concentraciones de DSAQ que iban desde $0 \mu\text{M}$ y hasta 2 mM .

El total de las pruebas de la segunda etapa permitieron establecer las concentraciones de mediador redox a las cuales se invierte el menor tiempo de decoloración anaerobia para una concentración de 25 mg/L en ambos colorantes.

En los siguientes apartados se muestran a detalle los requerimientos tanto materiales, como técnicos para este estudio.

4.1. Requerimientos

Como el presente trabajo se ha limitado únicamente a estudiar el efecto que tiene un compuesto húmico sintético en la reducción anaerobia de compuestos xenobióticos, los principales requerimientos materiales son:

4.1.1. Compuestos modelo

Los compuestos modelo como contaminantes del agua son los colorantes tipo azo, naranja ácido 7 (NA-7) y azul ácido 113 (AA-113) que son colorantes comúnmente utilizados en la industria textil para el teñido y acabado de telas e hilados, además de que se caracterizan particularmente por tratarse de colorantes que en su estructura química contienen respectivamente uno y dos enlaces azo ($\text{N}=\text{N}$), ver figura 4.1.

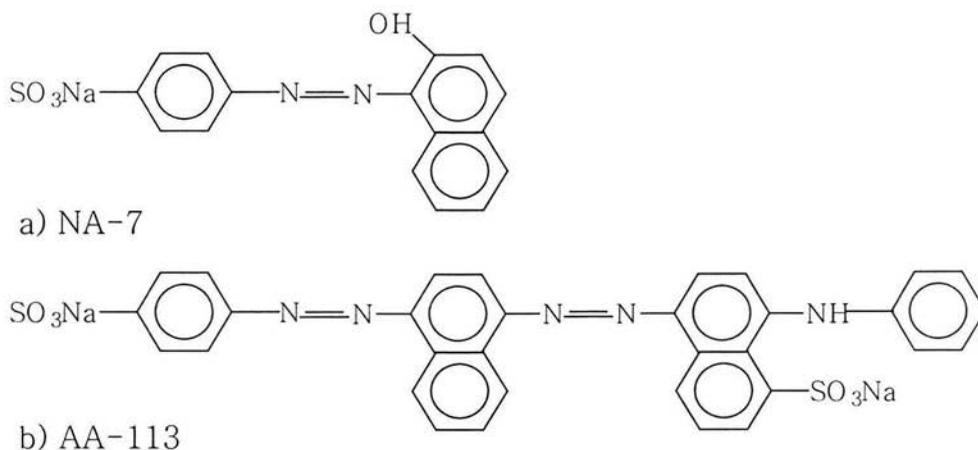


Figura 4.1. Estructuras químicas de los colorantes tipo azo a) Naranja Ácido 7 y b) Azul Ácido 113.

Por otra parte, el compuesto húmico modelo utilizado en el presente estudio fue la 2,6-disulfonato de 9,10-antraquinona (DSAQ) que es un compuesto distribuido por Sigma-Aldrich y su estructura química está representada en la figura 4.2. Las concentraciones en que fue adicionado a cada reactor están indicadas en micro moles por litro (μM) en el apartado 4.3. relativo a las pruebas de decoloración.

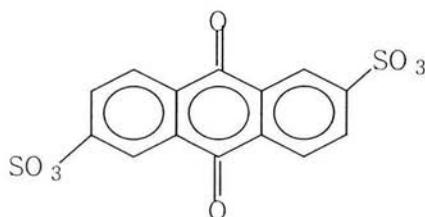


Figura 4.2. Estructura química del compuesto húmico modelo, la 2,6-disulfonato de 9,10-antraquinona.

4.1.2. Componentes adicionales de reacción

4.1.2.1. Co-sustrato

Tomando en cuenta los trabajos realizados por Cervantes (2002a) quién utilizó como co-sustrato en la reducción anaerobia del colorante azo naranja ácido 7 una mezcla de ácidos Propiónico, Butírico y Acético, en una relación 1:1:1. Para esta investigación se utilizó una proporción co-sustrato / colorante de 25/1, tanto para el NA-7 y el AA-113

(mg de Propiónico, Butírico y Acético / mg de colorante). Los ácidos grasos fueron utilizados en iguales proporciones.

4.1.2.2. Inóculo

Los reactores empleados en la transformación anaerobia de los colorantes NA-7 y AA-113 se inocularon con lodos anaerobios provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales de una cervecería. Este inóculo fue seleccionado con base en los resultados obtenidos por Moreno-Andrade and Buitrón (2002) quienes en estudios de biodegradabilidad anaerobia con inóculos de distintos orígenes, demostraron que el inóculo utilizado en esta investigación resultó tener las mejores propiedades como lo son mayor actividad metanogénica específica (0.48 gCH₄/gSSV.d), mayor cantidad de bacterias por gramo de SSV en los diferentes grupos tróficos, mayores porcentajes de biodegradabilidad, menor tiempo de latencia y menor inhibición en la biodegradación de sustratos tóxicos. La concentración de microorganismos aplicada a cada reactor en las distintas pruebas de decoloración fue aproximada a 3000 mg/L de SSV; el inóculo fue aclimatado a etanol previamente a su utilización para mantener la actividad degradadora de los microorganismos.

4.1.2.3. Nutrientes y oligoelementos

Estos fueron agregados de acuerdo a Balch *et al.*, (1979), excepto las vitaminas, ya que en estudios recientes, se ha comprobado su función como mediadores redox y para evitar interferencias con respecto al compuesto modelo (DSAQ), se eliminará su utilización. A continuación se enlistan los nutrientes, oligoelementos y elementos traza que fueron agregados durante la inoculación de los reactores en condiciones de anaerobiosis estricta.

Tabla 4.1. Cantidad de nutrientes, oligoelementos y elementos traza agregados a cada uno de los reactores montados para el presente estudio.

| Componente | Cantidad por cada reactor (150 mL de mezcla de reacción) |
|---|---|
| K ₂ HPO ₄ | 45mg |
| KH ₂ PO ₄ | 45mg |
| NH ₄ Cl | 18mg |
| NaCl | 90mg |
| MgCl ₂ · 6H ₂ O | 15.75mg |
| CaCl ₂ · 2H ₂ O | 1.2mg |
| Acido nitrilotriacético | 2.25mg |
| MgSO ₄ · 7 H ₂ O | 4.5mg |
| MnSO ₄ · H ₂ O | 0.75mg |
| NaCl | 1.5mg |
| FeSO ₄ · 7 H ₂ O | 0.15mg |
| CoSO ₄ | 0.15mg |
| CaCl ₂ · 2H ₂ O | 0.15mg |
| ZnSO ₄ | 0.15mg |
| CuSO ₄ · 5 H ₂ O | 0.015mg |
| AlK (SO ₄) ₂ | 0.015mg |
| H ₃ BO ₃ | 0.015mg |
| Na ₂ Mo ₄ · 2H ₂ O | 0.015mg |
| Extracto de levadura | 150mg |
| Peptona de caseína | 300mg |
| Sol. FeSO ₄ · 7 H ₂ O (2%) | 0.15mL |
| Sol. NiCl ₂ (5 mg/100 mL) | 1.5mL |
| Cisteína | 7.5mg |
| Resarzurina (0.1%) en agua destilada | 0.15mL. |

La preparación de las soluciones minerales se llevó a cabo en condiciones anaerobias, y se preservaron a 4°C

4.1.2.4. Agua reducida

Resulta importante mencionar que todos los componentes que requerían ser disueltos antes de ser agregados al medio de reacción, fueron disueltos en agua destilada reducida (neutralizada previamente con KOH), así como el faltante para completar el volumen predeterminado (150 mL).

4.1.2.5. Inoculación en condiciones de anaerobiosis estricta

Después de inocular dentro de una cámara anaerobia en un ambiente totalmente libre de oxígeno, se llevó a cabo la purga del oxígeno remanente mediante el burbujeo de nitrógeno en el seno del medio de reacción, posteriormente se agregó resazurina como detector de contaminación por oxígeno y cisteína para reducir el potencial de óxido-reducción.

4.1.3. Reactores

- ✓ Matraces Erlenmeyer de 250mL de capacidad y 150 mL de volumen de reacción
- ✓ Tapones de goma (provistos de 2 tubos que permiten la toma de muestra líquida y la purga del biogás) para el sellado de los reactores
- ✓ Válvulas de paso tipo pinza mhor para control de toma de muestras líquidas y/o gaseosas y para evitar el paso de aire, ver figura 4.3.

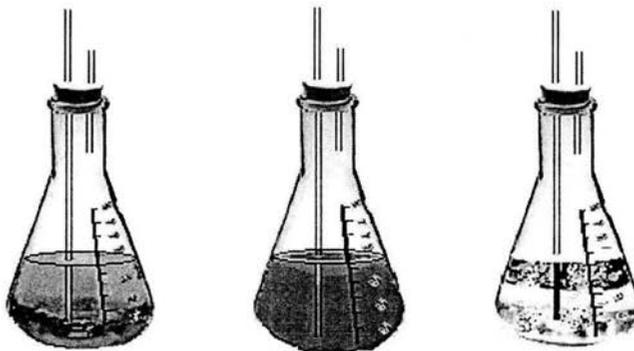


Figura 4.3. Representación esquemática del montaje de los reactores en la reducción anaerobia de colorantes tipo azo empleando DSAQ como mediador redox.

4.1.4. Condiciones de reacción

4.1.4.1. Incubación

Todos los reactores de estudio fueron mantenidos dentro de un cuarto caliente y/o una incubadora que permitía llevar a cabo las reacciones de decoloración a una temperatura constante de 35°C.

4.1.4.2. Agitación

Para procurar condiciones de un reactor continuo y mejorar el proceso de biotransformación anaerobia, se optó por llevar a cabo las reacciones de decoloración con la ayuda de agitación tipo orbital a 120rpm en dos agitadores con capacidad para 30 reactores cada uno.

4.2. Montaje de técnicas analíticas

4.2.1. Determinación de la concentración de colorante

Se realizaron varias pruebas iniciales en donde se montaron reactores para llevar a cabo la reducción anaerobia de los colorantes ya mencionados, durante la realización de las cinéticas de decoloración, se presentaron problemas en la determinación de la concentración del colorante AA-113, ya que al seguir la técnica sugerida por Fonseca (2000), las concentraciones obtenidas eran totalmente erróneas. Esto se debió a la presencia de turbidez que no pudo eliminarse con la centrifugación a la que se sometían las muestras (5000 rpm). Para la determinación de la concentración del colorante NA-7, la técnica sugerida funcionó sin presentar ningún problema

Para mejorar la determinación de la concentración del colorante AA-113 a lo largo de la reacción de decoloración anaerobia, se evaluaron diferentes solventes orgánicos con capacidad de disolver colorantes empleados en la industria textil. La aplicación de estos solventes en esta estrategia experimental es básicamente para extraer el colorante en el líquido y el adsorbido por la biomasa deberá ser removido por el solvente de manera eficiente.

Los solventes evaluados fueron:

- Acetona
- Benceno
- Diclorometano
- Etanol
- Hexano
- Metanol
- m-Xileno
- m-Xilol
- o-Xileno
- o-Xilol
- Tolueno
- Xilenos

El metanol, la acetona, el diclorometano y el etanol, al ser solventes miscibles en el agua, no funcionaron para la extracción del AA-113 en agua, solamente funcionaron para extracción del colorante adsorbido en la biomasa. Para el resto de los solventes que son inmiscibles en agua se evaluaron realizando el procedimiento que a continuación se describe:

Primeramente se prepararon soluciones del colorante AA-113 a distintas concentraciones para verificar por un lado, la miscibilidad de los solventes en las soluciones sintéticas y por otro, la capacidad de extracción del colorante, esta actividad, se realizó utilizando 3 mL de solvente por cada 3 mL de muestra, la mezcla resultante se sometía a agitación durante 90 segundos en un vortex a 2000 rpm, inmediatamente después se permitía la separación de las fases durante 90 segundos o más si fuera necesario. Para los solventes inmiscibles, se cuantificó la presencia del colorante tanto en la fase orgánica como en la acuosa y con ello, se pudo determinar cuantitativamente la eficiencia de extracción de cada solvente (ver tabla 4.2.). Una vez determinado este parámetro, se procedió a seleccionar a aquellos solventes que mostraron las eficiencias de extracción del AA-113 más altas, para ahora evaluarlos con muestras que incluían biomasa.

Tabla 4.2. Eficiencias de extracción (%) del AA-113 con los diferentes solventes orgánicos evaluados.

| Solvente | % de extracción del AA-113 de las soluciones en las concentraciones dadas (mg/L) | | | | | | | |
|----------|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 5mg/L | 10mg/L | 15mg/L | 20mg/L | 25mg/L | 30mg/L | 40mg/L | 50mg/L |
| Benceno | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Xilenos | 100.0 | 95.7 | 80.8 | 64.2 | 41.3 | 29.9 | 14.5 | 10.4 |
| Tolueno | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| o-Xilol | 100.0 | 93.7 | 85.2 | 62.1 | 33.2 | 28.7 | 18.9 | 14.6 |
| m-Xilol | 100.0 | 81.3 | 64.8 | 30.6 | 25.4 | 22.1 | 15.3 | 11.2 |
| Hexano | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 90.3 | 40.0 | 34.5 | 29.7 | 25.8 |
| m-Xileno | 100.0 | 100.0 | 94.2 | 80.5 | 64.7 | 40.8 | 33.6 | 19.3 |
| o-Xileno | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 93.1 | 73.6 | 55.3 | 38.2 | 25.7 |

Como se puede observar, los solventes que ofrecieron la mayor eficiencia de extracción del AA-113 a concentraciones por arriba de los 20 mg/L fueron el benceno y el tolueno, aunque el resto de los solventes evaluados extraían al colorante, estos tendieron a saturarse del colorante a concentraciones por debajo de los 20 mg/L aunque la agitación se prolongara hasta por 5 minutos y con ello quedaron descartados para ser utilizados en las determinaciones de la concentración del AA-113 en las distintas pruebas de biotransformación anaerobia que posteriormente se realizarían. A continuación se llevaron a cabo las pruebas para determinar la eficiencia de extracción del colorante pero con la variante de que ahora ya se incluía biomasa anaerobia en el seno de la solución con AA-113.

Para estas pruebas, se emplearon muestras con distintas concentraciones de AA-113 y perfectamente mezcladas con la biomasa anaerobia agregada, esto, para que la adsorción del colorante en la biomasa fuera más evidente. A muestras de 3 mL de agua contaminada (que incluía biomasa), se les agregaba igual cantidad de solvente (tolueno o benceno), se sometieron en agitación en el vortex a 2000 rpm durante 3 minutos y por último se permitía la separación de las fases. Para eficientar la separación entre las fases, se optó por centrifugar las muestras a 5000 rpm durante 5 minutos debido a que el solvente penetraba en los espacios ofrecidos por la biomasa y el simple reposo de las muestras no era suficiente. Al separar la fase orgánica y percatarse que en la fase

acuosa prácticamente se había eliminado el colorante, se procedió a realizar una prueba de extracción a la pastilla de la biomasa formada por la centrifugación. Para este efecto se utilizó metanol, que ofrece una capacidad de disolución del colorante AA-113 más alta incluso que el agua. Con ello se determinó la cantidad de colorante que cada solvente no pudo extraer de la biomasa.

Una vez realizado lo anterior, se procedió a seleccionar al solvente que permitiera llevar a cabo las determinaciones de concentración del colorante con la mayor eficiencia, pero sobretodo, que las características de toxicidad y manejo de residuos se minimizaran debido a que fueron particularmente importantes para el presente trabajo de investigación

Aunque tanto el tolueno, como el benceno siguieron ofreciendo excelentes características de extracción del AA-113 aun con biomasa incluida en el seno del líquido, se optó por seleccionar al tolueno como el solvente para aplicarlo en todas las muestras para extracción que se llevaron a cabo durante el desarrollo de las pruebas de biotransformación anaerobia del AA-113. La principal razón por la que se optó por trabajar con este solvente aparte de cumplir con las expectativas de extracción, fue por que la toxicidad del tolueno es menor respecto a la del benceno, esto es, que la LD₅₀ del tolueno es de 7.53 mL/kg, mientras que la del benceno es de 3.8mL/kg (The Merck Index, 1996), una diferencia significativa que permitió seleccionar al tolueno como solvente de extracción.

Ya seleccionado al compuesto de extracción, se procedió a perfeccionar la técnica que permitió la extracción a cualquier concentración del colorante la cual incluyó la realización de la curva de calibración del colorante disuelto en tolueno y que se muestra en el siguiente apartado. La técnica para la determinación de la concentración del colorante AA-113 se describe brevemente a continuación:

Se tomaron muestras de 3 mL por triplicado y perfectamente homogenizadas con la biomasa inoculada, se les agregaron 3 gotas de ácido fosfórico para detener la cinética de biotransformación del colorante, posteriormente se les agregaron 3 mL de tolueno, se agitaron en un vortex a 2000 rpm durante 3 minutos, se centrifugaron las mezclas a

5000 rpm durante 5 minutos, se extrajeron las fase orgánicas con mucho cuidado para evitar interferencias por la presencia de fase acuosa, con el espectrofotómetro se midió la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorbancia mostrada por el colorante disuelto en tolueno (646 nm) y para calcular la concentración del colorante presente se recurrió a la ecuación de la curva de calibración previamente realizada y por último se reportaron estos resultados para su posterior ordenamiento y análisis.

En cuanto a la técnica para la determinación de la concentración del colorante NA-7 , esta se describe brevemente a continuación:

De los reactores se tomaron muestras de 3 mL por triplicado procurando que la biomasa estuviera perfectamente homogenizada con el medio, la reacción de biotransformación anaerobia se detuvo al agregarle 3 gotas de una solución de ácido fosfórico, una vez obtenido el total de muestras, éstas se sometieron a centrifugación a 5000 rpm durante 5 minutos, al líquido se le midió la absorbancia en el espectrofotómetro a la longitud de onda de máxima absorbancia (484 nm) para el NA-7 disuelto en agua, se tomó el valor y por último se recurrió a la ecuación de la curva de calibración para calcular la concentración del colorante disuelto en en el líquido. A la pastilla de biomasa se le adicionaron 3 mL de metanol, se taparon perfectamente para evitar evaporaciones, se agitaron en un vortex a 2500 rpm durante 1 minuto para incrementar aún más la eficiencia de extracción; se volvió a centrifugar a 5000 rpm durante 5 minutos, al liquido se le midió la absorbancia en el espectrofotómetro a la longitud de onda de máxima absorbancia mostrada por el colorante disuelto en metanol (480 nm) y para calcular la concentración del colorante presente se recurrió a la ecuación de la curva de calibración previamente realizada y por último se reportaron estos resultados para su posterior ordenamiento y análisis.

Es importante comentar que para estas pruebas se observó, que el colorante NA-7 fue absorbido por la biomasa prácticamente en su totalidad, por lo que la técnica en la determinación de su concentración conforme se desarrollaban las reacciones de biotransformación se realizaban únicamente con la extracción del colorante absorbido en la biomasa, pues la concentración en el líquido fue prácticamente imperceptible para el espectrofotómetro desde el inicio y hasta el final de las reacciones

4.2.2. Curvas de calibración

Para la determinación de la concentración del NA-7 se realizaron las curvas de calibración correspondiente al colorante disuelto en agua y en metanol, este último por la extracción del colorante adsorbido en la biomasa. Las curvas de calibración se muestran a continuación:

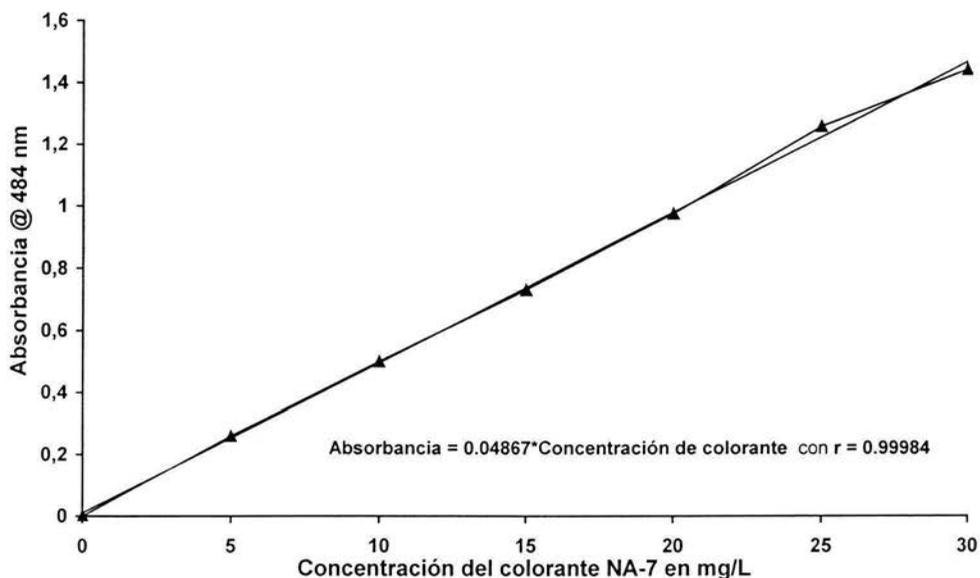


Figura 4.4. Curva de calibración para la determinación de la concentración del NA-7 disuelto en agua

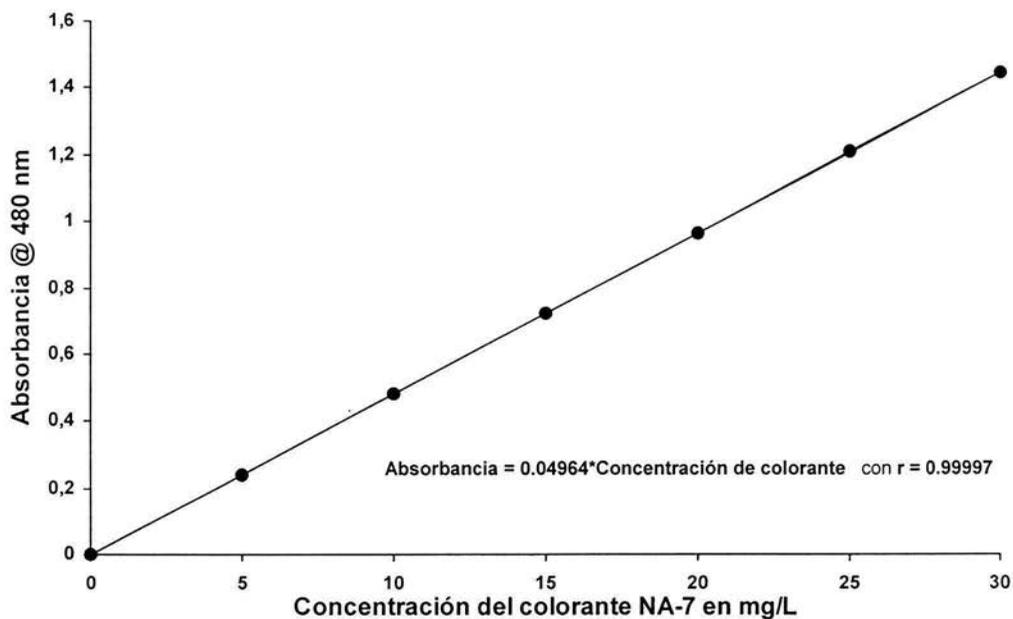


Figura 4.5. Curva de calibración para la determinación de la concentración del NA-7 disuelto en metanol

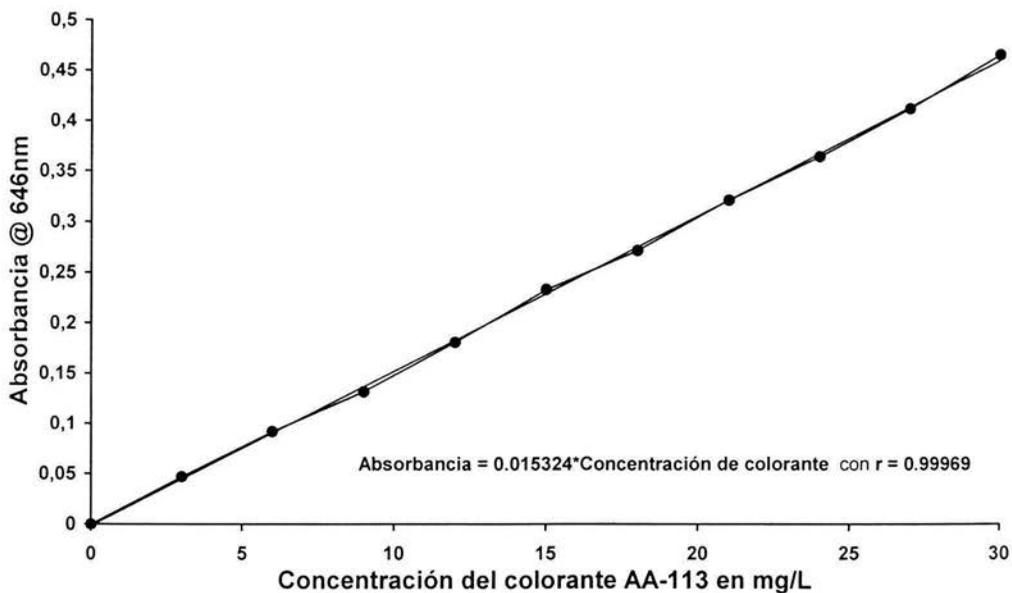


Figura 4.6. Curva de calibración para la determinación de la concentración del AA-113 disuelto en tolueno

Los coeficientes de extinción o absorptividad molar (ϵ) calculados para cada uno de los colorantes son:

- Para NA-7 disuelto en metanol @ 480 nm $\epsilon = 17.37 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ NA-7
- Para AA-113 disuelto en tolueno @ 646 nm $\epsilon = 10.22 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ AA-113

4.3. Pruebas de decoloración

Se realizaron distintas pruebas de decoloración utilizando los colorantes azo arriba mencionados, las primeras pruebas fueron realizadas con la finalidad de montar las técnicas para la determinación de la concentración de cada colorante, así también, como del montaje de reactores para la biotransformación de los mismos en condiciones anaerobias. En este apartado se mostrarán las pruebas exploratorias empleando distintas concentraciones del mediador redox (DSAQ), así como las pruebas confirmatorias que determinan las concentraciones óptimas de DSAQ para cada colorante.

4.3.1. Análisis exploratorios y confirmatorios

Las pruebas de decoloración se llevaron a cabo empleando concentraciones de DSAQ que van desde 0 hasta 2500 micro moles por litro (μM) y culminando la evaluación con concentraciones por arriba de 500 y hasta 2500 micro moles por litro, esto, debido a que se desconocía el comportamiento de la decoloración en condiciones anaerobias, por lo que se evaluó la decoloración comenzando con valores pequeños del mediador redox, posteriormente se incrementó de modo que los resultados obtenidos mostraran el comportamiento óptimo que es el que se busca al emplear el mediador redox. En las siguientes tablas se muestran las concentraciones de DSAQ que fueron evaluadas durante las pruebas de decoloración del NA-7 y AA-113.

4.3.1.1. Naranja Ácido 7

Tabla 4.3. Reactores con DSAQ en las concentraciones señaladas (micro moles por litro, μM).

| | | | | | | | | | | |
|---------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----------|
| Prueba No. 1 | 0** | 3 | 5 | 8 | 10 | 13 | 15 | 18 | 20 | Testigo* |
| Prueba No. 2 | 0** | 10 | 12 | 15 | 18 | 20 | 23 | 25 | 28 | Testigo* |
| Prueba No. 3 | 0** | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 40 | 50 | Testigo* |
| Prueba No. 4 | 0** | 50 | 75 | 100 | 125 | 150 | 175 | 200 | 225 | Testigo* |
| Prueba No. 5 | 0** | 250 | 300 | 350 | 400 | 450 | 500 | 600 | 700 | Testigo* |
| Prueba No. 6 | 0** | 500 | 750 | 1000 | 1250 | 1500 | 1750 | 2000 | 2500 | Testigo* |
| Prueba No. 7 | 0** | 15 | 18 | 20 | 22 | 25 | 500 | 1000 | 2000 | Testigo* |
| Confirmatoria | 0** | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 24 | Testigo* |

4.3.1.2. Azul Ácido 113

Tabla 4.4. Reactores con DSAQ en las concentraciones señaladas (micro moles por litro, μM).

| | | | | | | | | | | |
|---------------|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|----------|
| Prueba No. 1 | 0** | 3 | 5 | 8 | 10 | 13 | 15 | 18 | 20 | Testigo* |
| Prueba No. 2 | 0** | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 40 | 50 | Testigo* |
| Prueba No. 3 | 0** | 50 | 75 | 100 | 125 | 150 | 175 | 200 | 225 | Testigo* |
| Prueba No. 4 | 0** | 100 | 150 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 | 450 | Testigo* |
| Prueba No. 5 | 0** | 200 | 250 | 500 | 600 | 700 | 800 | 900 | 1000 | Testigo* |
| Prueba No. 6 | 0** | 500 | 750 | 1000 | 1250 | 1500 | 1750 | 2000 | 2500 | Testigo* |
| Prueba No. 7 | 0** | 150 | 180 | 200 | 230 | 250 | 280 | 420 | 450 | Testigo* |
| Prueba No. 8 | 0** | 210 | 220 | 230 | 240 | 250 | 410 | 430 | 440 | Testigo* |
| Prueba No. 9 | 0** | 225 | 230 | 235 | 240 | 420 | 425 | 430 | 435 | Testigo* |
| Confirmatoria | 0** | 228 | 229 | 230 | 231 | 428 | 429 | 430 | 431 | Testigo* |

*El testigo está referido a aquellos reactores que operaron en condiciones abióticas y sin DSAQ manteniendo el mismo volumen y condiciones de reacción.

**En cada prueba realizada, se montaron reactores en ausencia de DSAQ para seguir la decoloración sin ningún tipo de catalizador

4.3.2. Desarrollo experimental

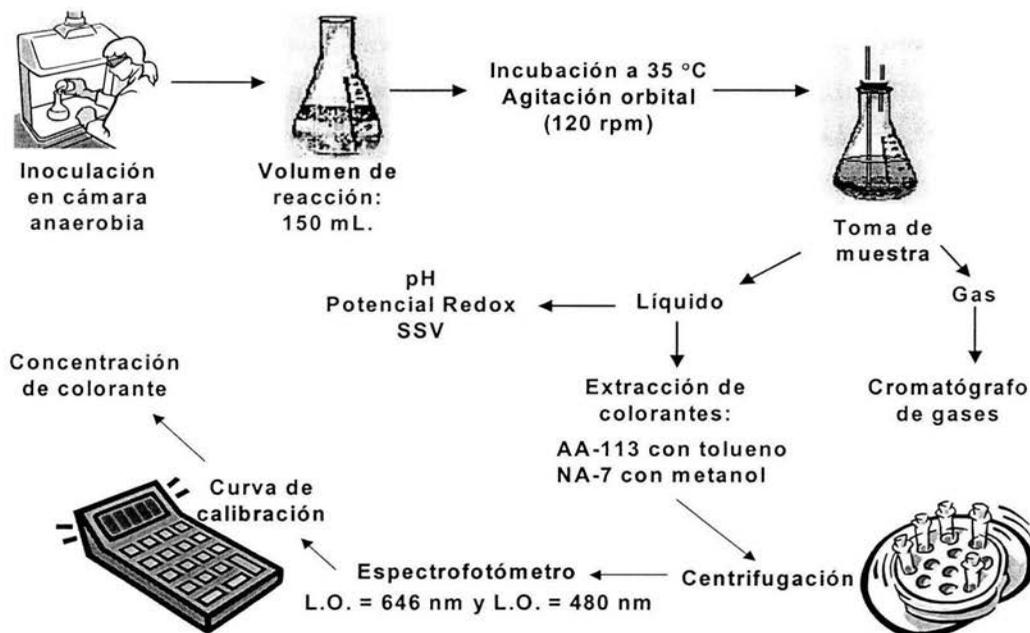


Figura 4.7. Esquema generalizado del montaje de reactores para llevar a cabo las pruebas de decoloración anaerobia de los colorantes NA-7 y AA-113 utilizando DSAQ como mediador redox.

Es importante remarcar que en todas las pruebas, todos los reactores con las concentraciones de colorante y de DSAQ que se estudiaron, se montaron por triplicado excepto los que estaban en ausencia de DSAQ y los testigos, los cuáles en todas las pruebas se comportaron similarmente, por lo que se optó por montarlos como únicos reactores en cada prueba, Estos reactores se llegaron a montar por triplicado, únicamente en las pruebas confirmatorias.

Las pruebas tanto exploratorias, como confirmatorias se realizaron en mayor número que el indicado en las tablas anteriores, solo que se omitieron debido a que algunos de los reactores presentaron problemas para llevar a cabo las reacciones de biotransformación. Los principales problemas detectados fueron la contaminación con oxígeno, incremento abrupto del potencial redox, disminución o incremento abruptos del pH y expulsión del tapón del reactor por exceso de biogás presente en el reactor

4.3.3. Parámetros a evaluar

- ✓ Concentración de colorante, llevando acabo las técnicas previamente descritas y empleando los siguientes equipos: Agitador vortex marca Fisher; Centrífuga marca Sol-Bat J-600; Espectrofotómetro marca Beckman Du-650,
- ✓ SSV, de acuerdo a APHA (1992), con la ayuda de una estufa marca Felisa y una mufla marca Lindberg.
- ✓ pH, empleando un potenciómetro marca Orion modelo 620
- ✓ Potencial Redox empleando un potenciómetro marca Orion modelo 720
- ✓ Determinación cualitativa de biogás con la ayuda de un cromatógrafo de gases marca Fisher modelo 1200

Capítulo 5

RESULTADOS

5.1. Pruebas exploratorias

Debido a que la cantidad de información obtenida en las pruebas exploratorias se consideró suficiente, en este apartado únicamente se mostrarán los comportamientos gráficos de la prueba que se considera más ilustrativa para cada colorante estudiado, los datos obtenidos sobre estas pruebas se mostrarán en el anexo A-I.

5.1.1. Naranja Ácido 7

En la figura 5.1 (a y b) se muestra el comportamiento de la transformación de las soluciones que contenían al colorante naranja ácido 7 empleando DSAQ como mediador redox para la prueba exploratoria número 7. La concentración de DSAQ esta reportada en micro moles por litro (μM) y la del NA-7 en miligramos por litro (mg/L).

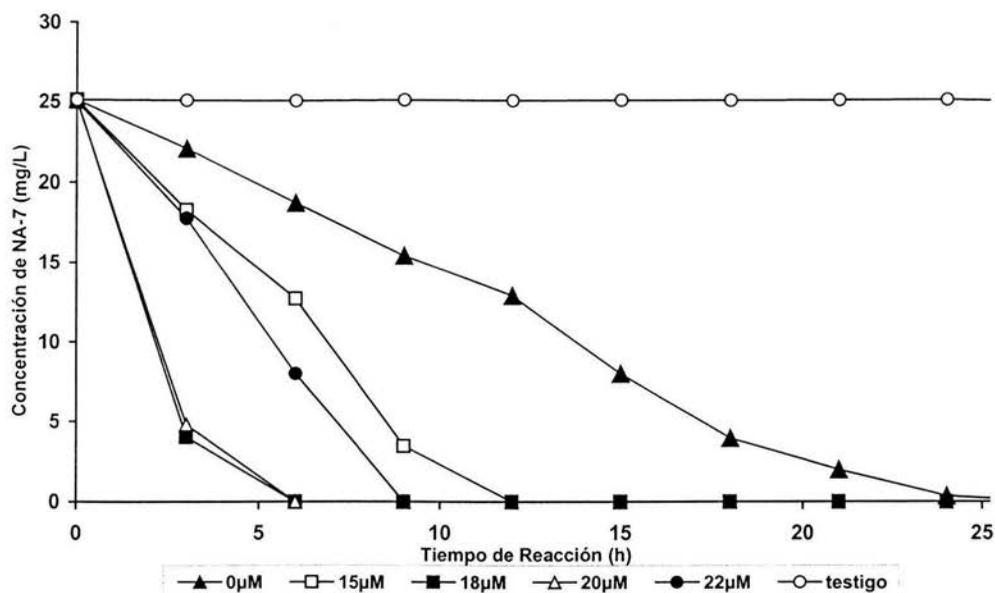


Figura 5.1a. Comportamiento de la decoloración anaerobia del NA-7 en la prueba exploratoria No.7 con bajas concentraciones de DSAQ

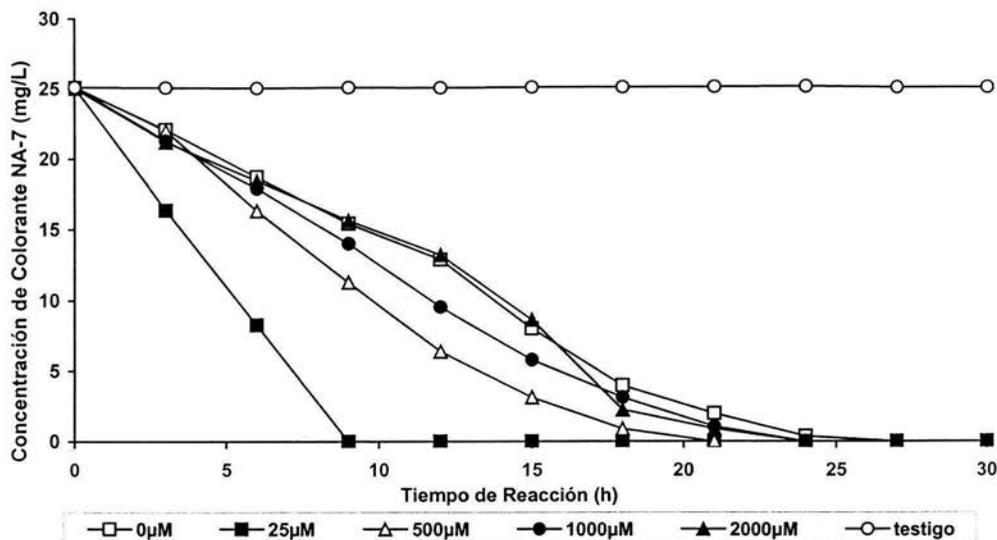


Figura 5.1b. Comportamiento de la decoloración anaerobia del NA-7 en la prueba exploratoria No.7 con altas concentraciones de DSAQ.

Como se puede observar, el tiempo invertido en la transformación anaerobia del NA-7 se reduce conforme se incrementa la concentración de DSAQ, este comportamiento continua hasta alcanzar una concentración próxima a 18 µM, al superar esta concentración, la velocidad de transformación disminuye nuevamente, sólo que ésta disminución es, comparativamente hablando, menos gradual que el incremento de velocidad cuando la concentración de DSAQ se acerca a 18µM partiendo de la ausencia de éste.

Cabe mencionar que los muestreos y el correspondiente análisis de cada una de las pruebas para ambos colorantes, se realizaron de manera programada para que las cinéticas se evaluaran a 20, 25 y hasta 30 horas continuas y así obtener su comportamiento completo tanto en ausencia, como en presencia del mediador redox.

5.1.2. Azul Ácido 113

En la figura 5.2 (a y b) se muestra el comportamiento de la transformación del azul ácido 113 empleando DSAQ como mediador redox en la corrida exploratoria número 8. La concentración de DSAQ está reportada en micro moles por litro (µM), mientras que la del NA-7 en miligramos por litro (mg/L).

Es importante mencionar que cada una de las pruebas exploratorias y las confirmatorias se llevaron a cabo en una sola serie para cada colorante, sólo que muestran sus comportamientos en dos gráficos para una mejor visualización de los comportamientos cinéticos y con ello una mayor percepción de lo que se desea obtener de la investigación.

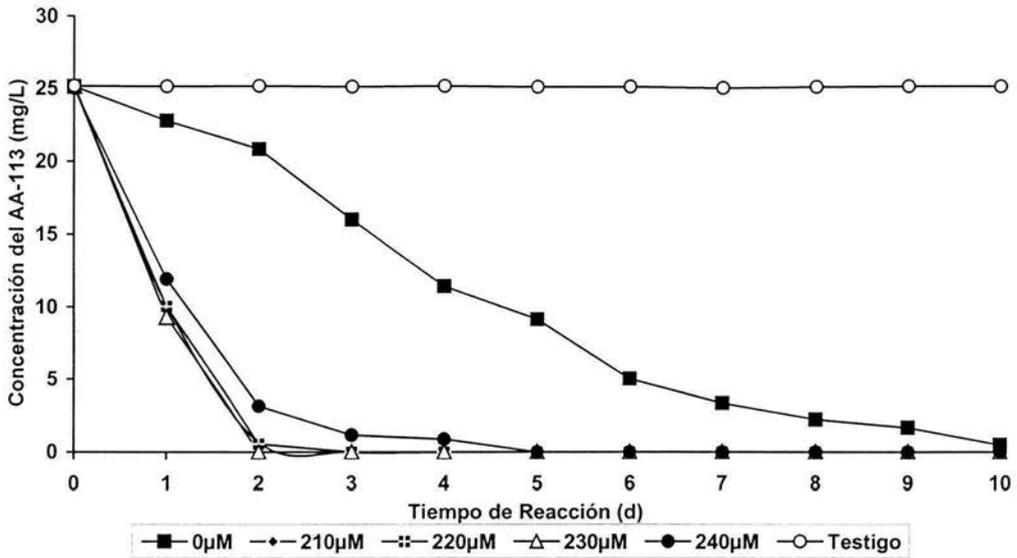


Figura 5.2a. Comportamiento de la decoloración anaerobia del AA-113 en la prueba exploratoria No.8.

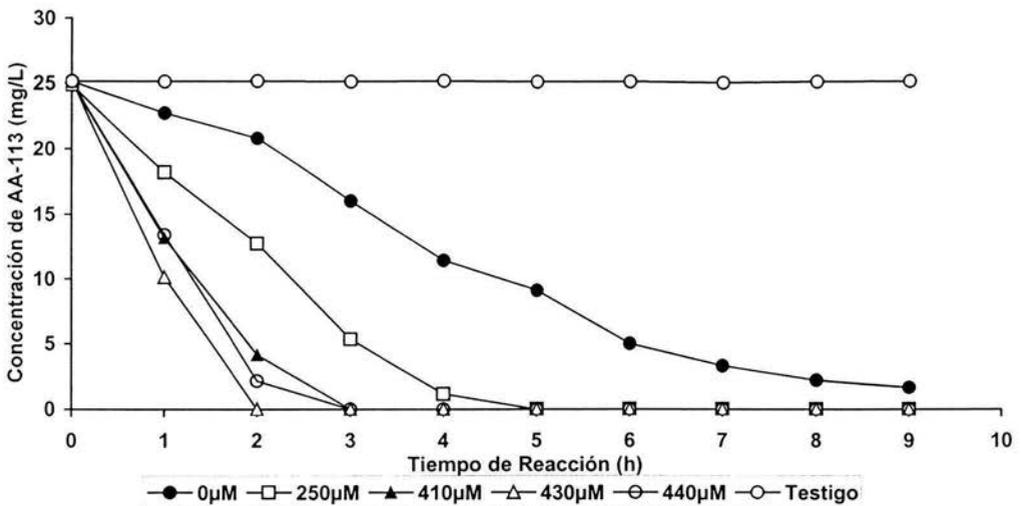


Figura 5.2b. Comportamiento de la decoloración anaerobia del AA-113 en la prueba exploratoria No.8

De igual manera, el tiempo invertido en la transformación anaerobia del AA-113 se reduce conforme se incrementa la concentración de DSAQ, este comportamiento continua hasta alcanzar una concentración de 230 μM , al superar esta concentración, la velocidad de transformación disminuye nuevamente, sólo que ésta disminución es, comparativamente hablando, menos gradual que el incremento de velocidad cuando la concentración de DSAQ se acerca a 230 μM partiendo de la ausencia de éste. Cabe mencionar que existe otro incremento en la velocidad de transformación del colorante al aproximarse a 430 μM , pero con tiempos de reacción mayores que el mostrado a 230 μM y de ahí en adelante, se vuelve a reducir la velocidad al incrementar la concentración de mediador redox.

5.2. Pruebas confirmatorias

La estrategia primordial de estas pruebas, fue la de llevar a cabo muestreos y sus correspondientes determinaciones cuantitativas a tiempos iguales de una hora para el NA-7 y de 4 para el AA-113, para así poder definir el comportamiento cinético que gobierna la biotransformación de los colorantes.

5.2.1. Naranja Ácido 7

En la figura 5.3. se observa el comportamiento de la transformación anaerobia del NA-7 en la prueba confirmatoria, mostrando que la concentración óptima de DSAQ empleada en este proceso es de 18 μM con un tiempo de transformación completa de 6.5 horas, mientras que en ausencia del mediador redox el tiempo de biotransformación total fue ligeramente superior a las 28 horas, esto muestra la marcada diferencia en los tiempos invertidos en la reacción a las mismas condiciones.

En la figura 5.4. se muestra de forma más clara la disminución en el tiempo de reacción empleado durante la transformación anaerobia del colorante NA-7 conforme la concentración de DSAQ se aproxima a 18 μM por ambos lados. En este gráfico se toma como base al 90% de transformación del colorante en todas las concentraciones de DSAQ consideradas.

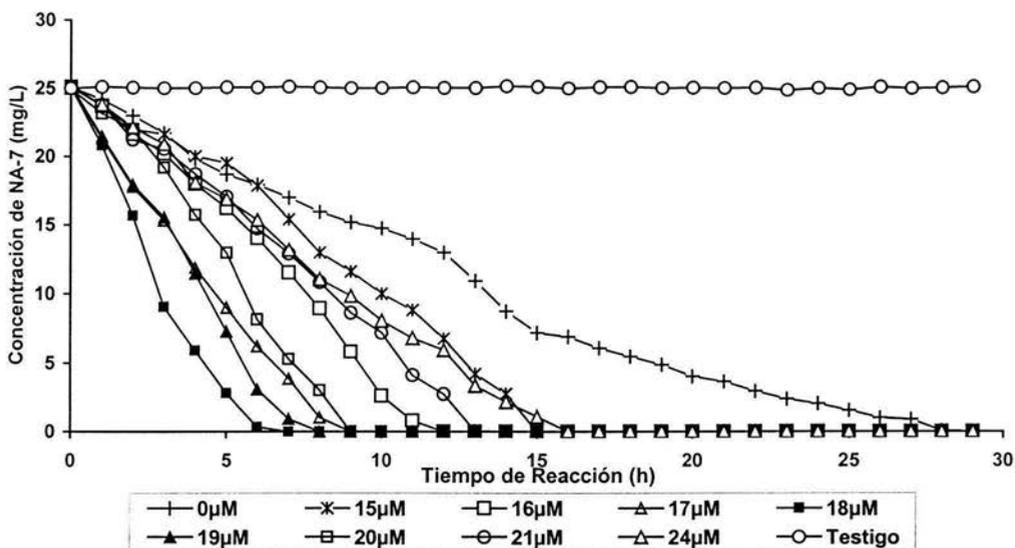


Figura 5.3. Comportamiento de la biotransformación anaerobia del NA-7 empleando DSAQ como mediador redox a diferentes concentraciones en la prueba confirmatoria.

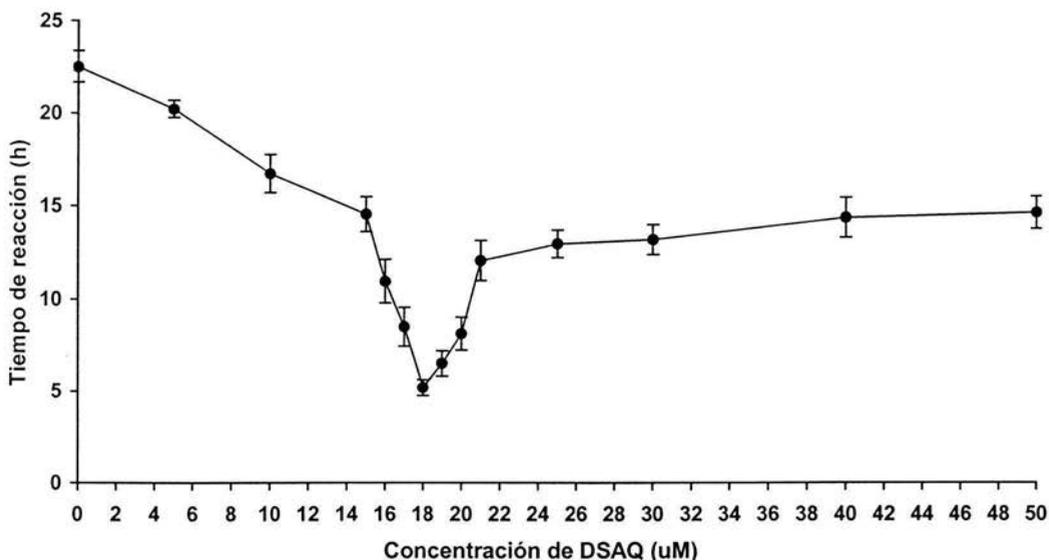


Figura 5.4. Comportamiento del tiempo invertido al 90% de la transformación anaerobia del NA-7 en función de la concentración de DSAQ empleado como mediador redox.

Se observa que la presencia de mediador redox en el medio de reacción permite un incremento considerable en rapidez de eliminación del color, siendo más notorio este

incremento en las concentraciones próximas a $18\mu\text{M}$, esto es un indicativo de que el compuesto modelo empleado como mediador redox ha influido positivamente en la transformación anaerobia del NA-7. Por otro lado, muestra que a concentraciones superiores a $18\mu\text{M}$ el proceso comienza a requerir de más tiempo para alcanzar el mismo nivel de transformación esto es, que la velocidad disminuye conforme la concentración de DSAQ se incrementa por arriba de $18\mu\text{M}$. Esto se relaciona por un lado, con algún tipo de inhibición competitiva, en donde el compuesto húmico a concentraciones por arriba de $18\mu\text{M}$ comienza a saturar los espacios activos dentro de la molécula tanto del co-sustrato, como del colorante por consiguiente, la transferencia de los electrones se ve afectada y con ello, la velocidad de decoloración de las soluciones con NA-7 se reduce, esto es más notorio conforme la concentración de DSAQ sigue incrementándose.

5.2.2. Azul Ácido 113

En la figura 5.5. se observa el comportamiento de la transformación anaerobia del AA-113 en la prueba confirmatoria, mostrando que la concentración óptima de DSAQ empleada en este proceso es de $230\mu\text{M}$ con un tiempo de transformación completa de 36.5 horas, mientras que en ausencia del mediador redox el tiempo de biotransformación total fue ligeramente superior a los 9 días, esto muestra la marcada diferencia en los tiempos invertidos en la reacción a las mismas condiciones.

En la figura 5.6. se muestra de forma más clara la disminución en el tiempo de reacción empleado durante la transformación anaerobia del colorante AA-113 conforme la concentración de DSAQ se aproxima a $230\mu\text{M}$ por ambos lados. En este gráfico se toma como base al 90% de transformación del colorante en todas las concentraciones de DSAQ consideradas.

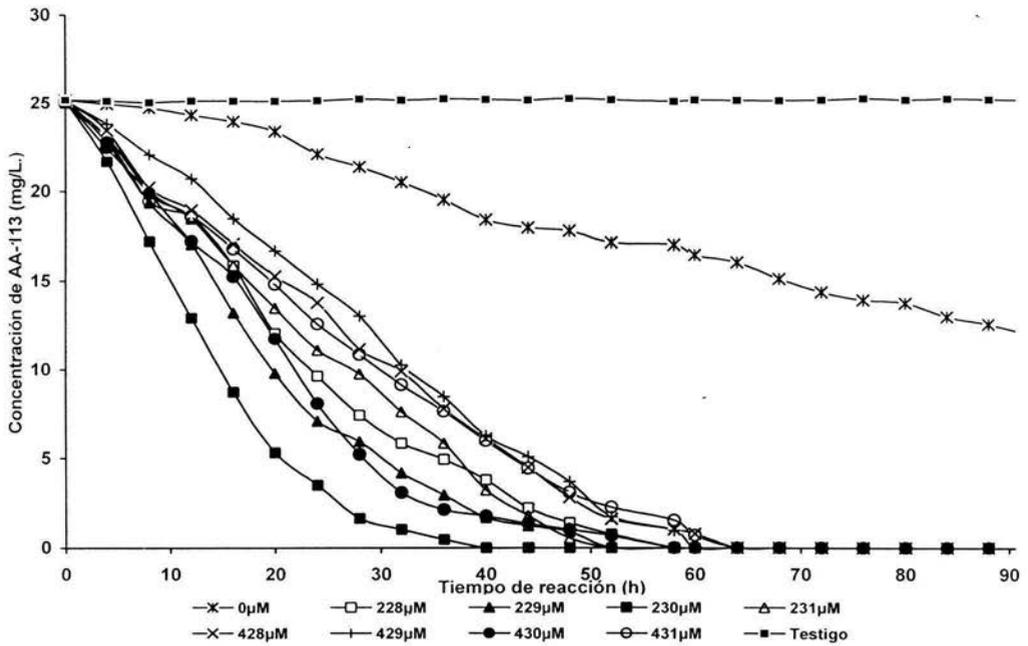


Figura 5.5. Comportamiento de la biotransformación anaerobia del AA-113 empleando DSAQ como mediador redox a diferentes concentraciones en la prueba confirmatoria.

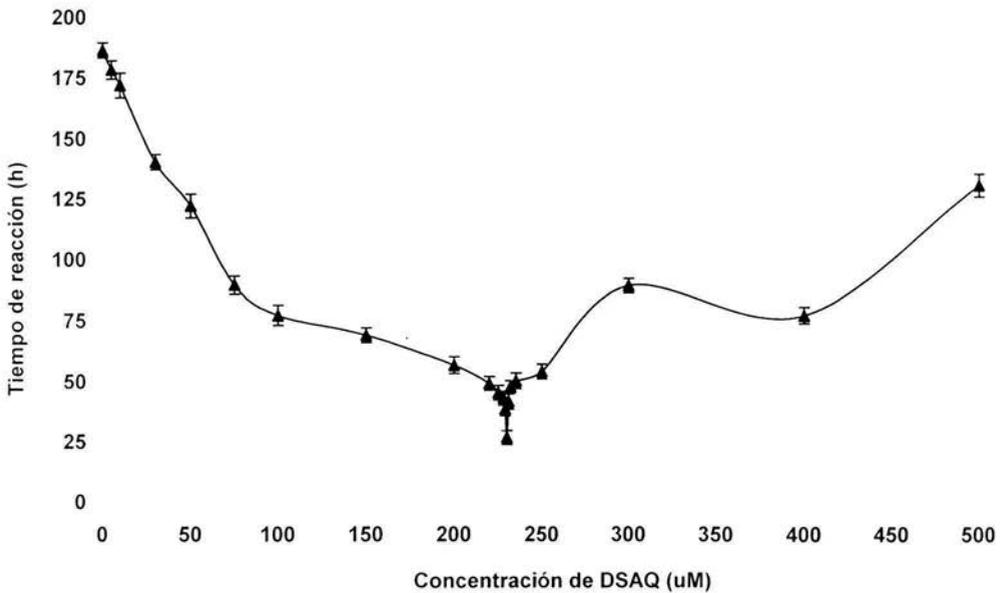


Figura 5.6. Comportamiento del tiempo invertido al 90% de la transformación anaerobia del AA-113 en función de la concentración de DSAQ empleado como mediador redox.

Para entender el gráfico 5.6, se toma como base el 90% de la eliminación del color y se observa claramente el comportamiento del tiempo invertido en la reacción de transformación anaerobia del AA-113, mostrando que la presencia del mediador redox en el medio de reacción permite un incremento considerable en la velocidad de transformación y que esta alcanza su máximo cuando se ha llegado una concentración de DSAQ de 230 μM . Esto muestra nuevamente que el compuesto modelo también influyó positivamente en la transformación anaerobia de este colorante. Por otro lado, también se encuentra que a concentraciones superiores a 230 μM el tiempo para alcanzar el mismo nivel de transformación se incrementó conforme la concentración del mediador redox superaba éste valor. Aquí también se presenta inhibición competitiva, en donde el compuesto húmico a concentraciones por arriba de 230 μM comienza a saturar los espacios activos dentro de la molécula tanto del co-sustrato, como del colorante por consiguiente, la transferencia de los electrones se ve afectada y con ello, la velocidad de decoloración de las soluciones con AA-113 se reduce.

Las diferencias en tiempo observadas para la transformación anaerobia de cada uno de los colorantes y utilizar diferentes concentraciones óptimas de DSAQ se puede explicar por el número de grupos azo presentes en la estructura de cada colorante y por otro, la afinidad que los microorganismos mostraron ante cada uno de los colorantes. Aunado a esto, la desaclimatación de los microorganismos se puede agregar como una causa importante para las diferencias encontradas.

5.3. Análisis espectral

Las estrategias empleadas en la determinación de la concentración de los colorantes al inicio, durante y concluidas las reacciones de decoloración anaerobia, son relativamente distintas. Para el caso del NA-7 la determinación se realizó con base en la extracción del compuesto que estaba absorbido en la biomasa inoculada, ya que en la mayoría de los reactores la cantidad de colorante en el medio acuoso fue imperceptible. Una vez extraído con metanol, se procedió a realizar las mediciones de absorbancia en el espectrofotómetro, finalmente se recurrió a la curva de calibración correspondiente para el cálculo de la concentración del colorante.

Para el caso del AA-113, la estrategia fue distinta, ya que este colorante estuvo presente en el medio acuoso en mucho mayor medida, a pesar de que se trabajó con la misma concentración que el colorante NA-7 (25 mg/L.), de tal forma que el montaje de la técnica para la extracción del AA-113 en ambos medios (acuoso y biomasa) fue correctamente aplicada debido a que cumplió con los requerimientos experimentales.

En la figura 5.7 se muestran los espectros de absorción obtenidos en la región uv-visible del espectro electromagnético, aquí se observa el comportamiento cinético de la decoloración anaerobia del NA-7, empleando la concentración óptima de DSAQ (18 μ M).

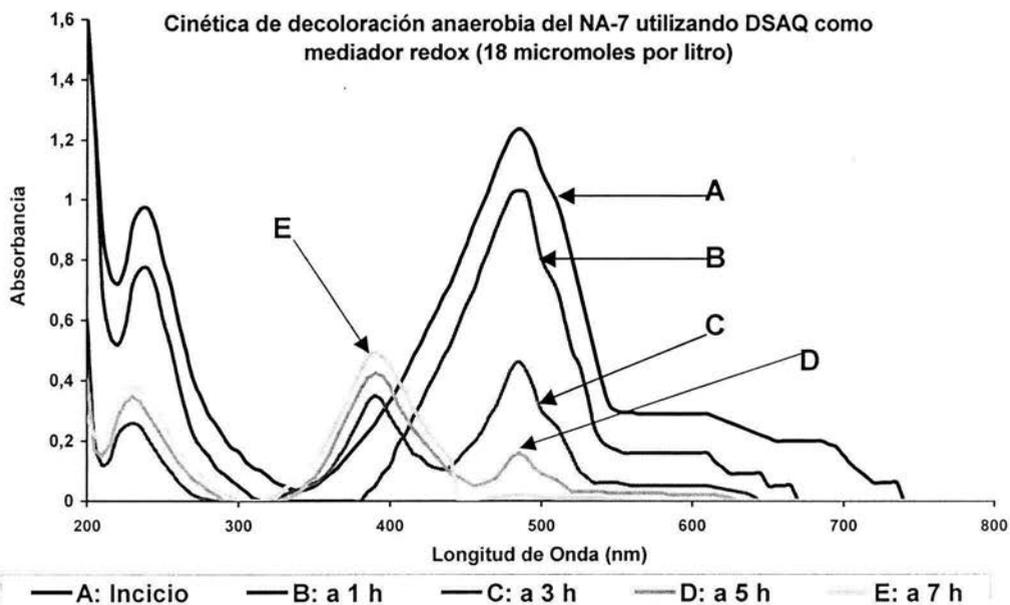


Figura 5.7. Espectrogramas obtenidos en la región uv-visible del espectro electromagnético.

Como se puede observar, al inicio de la reacción el pico de máxima absorbancia para el NA-7 disuelto en metanol está presente a 480 nm y otro pico de menor altitud a 240 nm, conforme transcurre la reacción, ambos picos decrecen. Paralelo a este hecho van formándose nuevos picos correspondientes a los productos de la decoloración. De éstos, el más notable es a 394 nm y otro no menos importante a 230 nm, estos picos son bastante notorios al final de la reacción, ya que los picos iniciales han desaparecido

en su totalidad, indicando la ausencia total del colorante NA-7 y la presencia de los productos de la decoloración. En la figura 5.8 se pueden observar los espectrogramas obtenidos en la región uv-visible del espectro electromagnético correspondientes al reactivo (colorante) y a los productos (aminas aromáticas) obtenidos después de llevarse a cabo la decoloración anaerobia del NA-7.

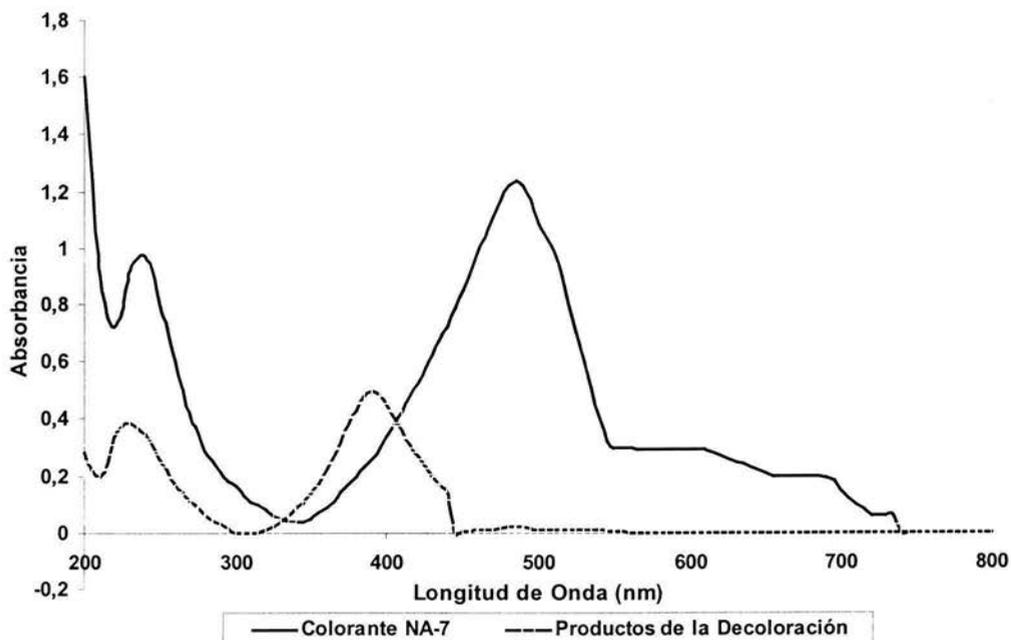


Figura 5.8. Espectrogramas en el uv-visible para el NA-7 y los productos de su decoloración.

Con respecto a las pruebas de decoloración anaerobia del AA-113, se observó que parte de éste fue absorbido por la biomasa, mientras que el resto, quedaba disuelto en el medio acuoso indicando que la biomasa estaba saturada, algo que no ocurrió con el NA-7, razón por la cual fue necesario el montaje de la técnica para llevar a cabo la extracción del colorante absorbido y del disuelto en una sola operación. En la figura 5.9 se muestran los espectrogramas obtenidos en la región uv-visible del espectro electromagnético así como el comportamiento cinético de la decoloración anaerobia del AA-113 en esta región.

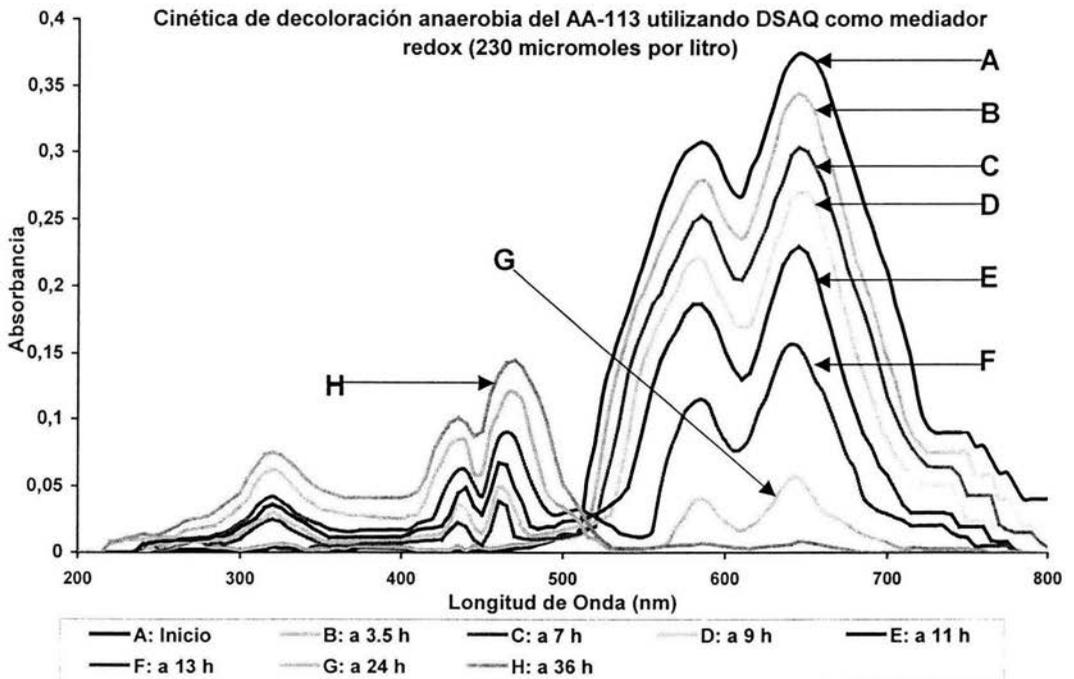


Figura 5.9. Espectrogramas obtenidos en la región uv-visible del espectro electromagnético.

Cabe mencionar que el solvente empleado en las operaciones de extracción del colorante a distintos tiempos de avance de reacción, fue almacenado en un recipiente especial después de ser utilizado con la finalidad de que al término del trabajo experimental de ésta tesis se canalizara para darle el tratamiento y la disposición adecuados.

Se observa que los picos de máxima absorbancia para el AA-113 disuelto en tolueno son a 646 nm el más importante y otro a 585 nm, conforme transcurre la reacción, éstos comienzan a disminuir notablemente su altitud, a su vez, tres nuevos picos comienzan a formarse siendo los dos más notables a 472 nm y a 435 nm, un tercer pico no menos importante se forma a 322 nm. Estos picos son bastante notorios al finalizar el proceso de decoloración, ya que para entonces los picos iniciales han desaparecido completamente, indicando la ausencia total del colorante AA-113 y la presencia de los productos de la decoloración.

En la figura 5.10 se pueden observar los espectrogramas obtenidos en la región uv-visible del espectro electromagnético correspondientes al reactivo (colorante) y a los productos (aminas aromáticas) obtenidos después de llevarse a cabo la decoloración anaerobia del AA-113.

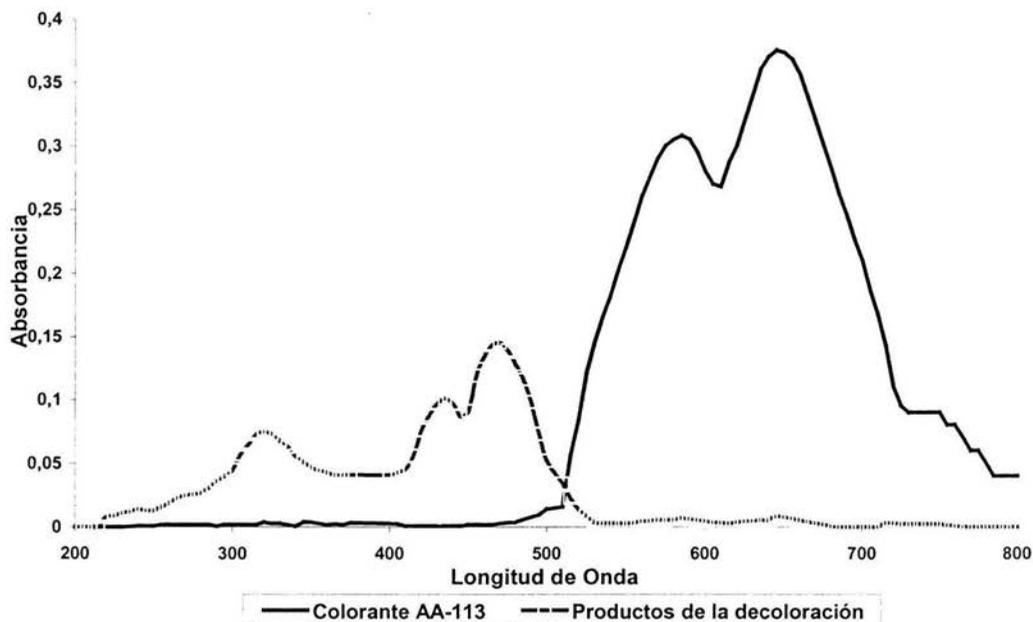


Figura 5.10. Espectrogramas en el uv-visible para el AA-113 y los productos de su decoloración.

5.4. Productos de la decoloración

Como no se consideró dentro de los alcances del presente proyecto el utilizar estándares para la identificación de las aminas aromáticas, se emplearon como base las investigaciones realizadas por Cruz and Buitrón (2001) en donde se demostró con los estándares respectivos, que los productos de la transformación en condiciones anaerobias del colorante azul disperso 79 (AD-79) fueron las aminas aromáticas correspondientes después de la ruptura de los enlaces azo presentes en la estructura química del colorante. Por lo que se asume que los productos generados en los estudios del presente proyecto son las aminas correspondientes después de la ruptura del (los) enlace(s) azo. A continuación se muestran las estructuras y los nombres

común y UIQPA de los compuestos generados por cada colorante al finalizar el proceso de biotransformación anaerobia.

5.4.1. Naranja Ácido 7

Las aminas generadas por el NA-7 al biotransformarse anaerobiamente son:

Nombre común: para aminobencensulfonato de sodio

Nombre UIQPA: 4-aminobencensulfonato de sodio



Figura 5.11. Amina aromática, producto de la decoloración del NA-7.

Nombre común: 2-hidroxi-1-naftilamina

Nombre UIQPA: 1-amino-2-hidroxinaftaleno

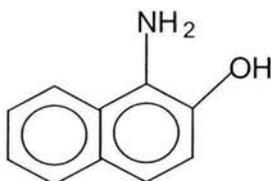


Figura 5.12. Amina aromática, producto de la decoloración del NA-7.

5.4.2. Azul Ácido 113

Las aminas generadas por el AA-113 al biotransformarse anaerobiamente son:

Nombre común: para aminobencensulfonato de sodio

Nombre UIQPA: 4-aminobencensulfonato de sodio



Figura 5.13. Amina aromática, producto de la decoloración del AA-113.

Nombre común: 1-4-naftildiamina

Nombre UIQPA: 1-4-diaminanaftaleno

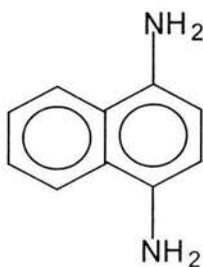


Figura 5.14. Amina aromática, producto de la decoloración del AA-113.

Nombre común: N-(4-aminonaftalen)-anilina

Nombre UIQPA: N-(4-aminonaftalen) amino benceno

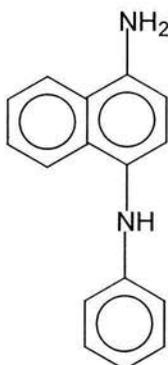


Figura 5.15. Amina aromática, producto de la decoloración del AA-113.

5.5. Eficiencias de decoloración

En las figuras 5.16 y 5.17, se pueden observar las eficiencias de decoloración en las pruebas realizadas para los colorantes NA-7 y AA-113 respectivamente. En ambos casos se muestra el comportamiento de la biotransformación cuando se emplea la concentración óptima de DSAQ y en ausencia de éste, con la finalidad de visualizar el grado de influencia que tiene el mediador redox en el desarrollo de las reacciones de decoloración.

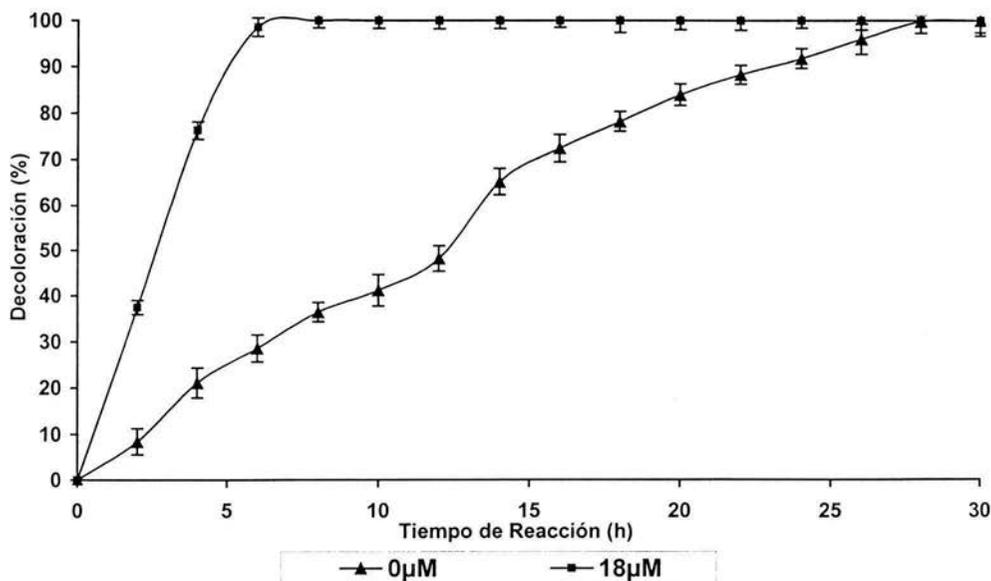


Figura 5.16. Eficiencias de la decoloración anaerobia del NA-7 en ausencia y con 18 µM de DSAQ.

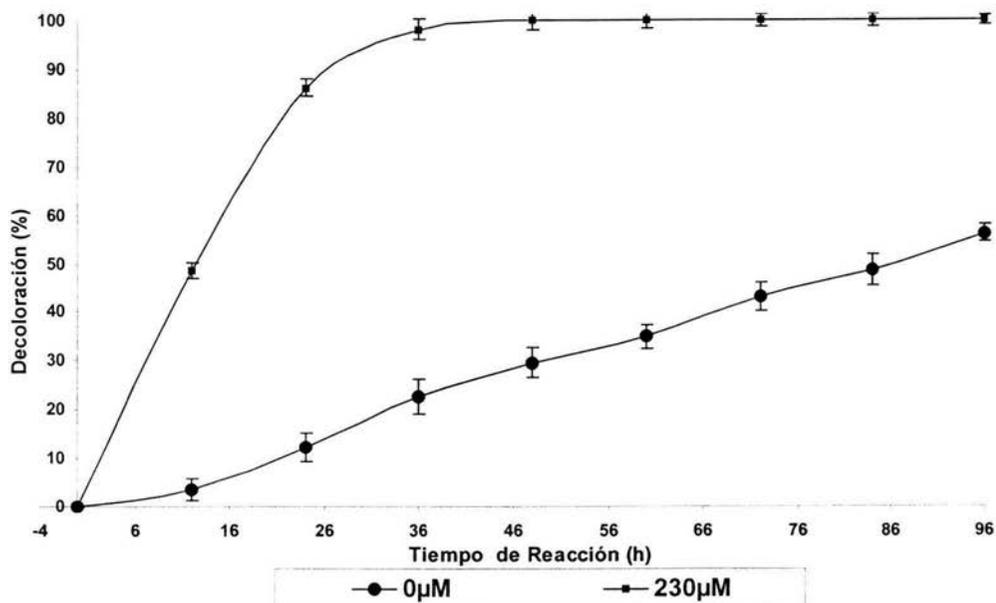


Figura 5.17. Eficiencias de la decoloración anaerobia del AA-113 en ausencia y con 230 μM μM de DSAQ.

Como se puede observar, la biotransformación del NA-7 en condiciones anaerobias se lleva a cabo más rápidamente que la que se lleva a cabo empleando el colorante AA-113. Para el primer caso, la decoloración total de un agua residual conteniendo 25 mg/L de NA-7 preparada sintéticamente en ausencia de mediador redox tarda entre 27.5 y 28.5 horas, mientras que la reacción en presencia de mediador redox en la concentración óptima encontrada en el presente estudio (18 μM) invierte un tiempo de entre 5.5 y 6.5 horas, esto es, cerca de 20 horas menos que en ausencia del mediador redox. En la tabla 5.1. se reportan las velocidades de decoloración del NA-7 en ausencia y con la concentración óptima de mediador redox.

Tabla 5.1. Velocidades de decoloración del NA-7 en ausencia y con 18 μM de DSAQ.

| Concentración de DSAQ (μM) | V (mg NA-7/ L·h) |
|----------------------------|------------------|
| 0 | 1.15 |
| 18 | 4.10 |

La decoloración de agua residual preparada sintéticamente con 25 mg/L de AA-113 en ausencia de mediador redox se completa después de transcurridos cerca de 10 días, mientras que en presencia de DSAQ como mediador redox en la concentración encontrada como óptima en el presente estudio (230 μM), se completa después de transcurridas 36.5 a 37.5 horas, una diferencia importante en los tiempos invertidos de cerca de 8 días. En la tabla 5.2 se reportan las velocidades de decoloración del AA-113 en ausencia y con la concentración óptima de mediador redox.

Tabla 5.2. Velocidades de decoloración del AA-113 en ausencia y con 230 μM de DSAQ.

| Concentración de DSAQ (μM) | V (mg AA-113/ L·h) |
|---|--------------------|
| 0 | 0.1315 |
| 230 | 0.6841 |

Como se puede observar, existe una diferencia marcada entre las velocidades de decoloración en ausencia de mediador redox en relación con las velocidades obtenidas con la concentración óptima del mismo, así también se observa una diferencia marcada entre las velocidades de decoloración del NA-7 y el las del AA.113, esto se relaciona en gran parte con la complejidad en la estructura química de cada compuesto.

5.6. Potencial redox, pH y SSV

Durante el desarrollo de las pruebas de decoloración anaerobia además de determinar la concentración del colorante presente en el medio de reacción, se determinaron los valores correspondientes del potencial de óxido-reducción, el potencial de hidrógeno y la concentración de sólidos suspendidos volátiles. Con relación al potencial redox, este mostró una ligera disminución entre el inicio y el final de las reacciones de decoloración para ambos compuestos estudiados, esto garantizó en todo momento condiciones reductivas. En la tabla 5.3 se encuentran reportados los valores de potencial redox al inicio y al final de la reacción de decoloración anaerobia para cada uno de los compuestos estudiados en ausencia y empleando la concentración óptima de mediador redox.

Tabla 5.3. Variación del potencial redox durante la transformación anaerobia del NA-7 y AA-113 en ausencia y empleando las concentraciones óptimas de DSAQ (medido en milivolts (mV)).

| Colorante | Naranja ácido 7 | | Azul ácido 113 | |
|---------------|----------------------|--------------------|----------------------|---------------------|
| | 0 μ M | 18 μ M | 0 μ M | 230 μ M |
| Reacción | Potencial Redox (mV) | | Potencial Redox (mV) | |
| Inicio | -247.02 \pm 3.44 | -285.85 \pm 7.12 | -303.67 \pm 4.98 | -322.82 \pm 7.18 |
| Final | -279.19 \pm 5.12 | -352.61 \pm 6.33 | -321.21 \pm 2.87 | -362.23 \pm 10.48 |

Nota: Los datos aquí reportados fueron adquiridos en las pruebas confirmatorias por razones de homogeneidad de resultados, aunque de las pruebas exploratorias se tienen resultados similares.

En cuanto al pH se refiere, este parámetro mostró también una ligera disminución en sus valores entre el inicio y el término de las reacciones de transformación para ambos compuestos estudiados, y estas diferencias también estuvieron presentes tanto en ausencia, como en presencia de la concentración óptima de mediador redox para cada colorante. En la tabla 5.4 se muestran estas disminuciones de pH entre el inicio y el final de las reacciones estudiadas, aunque estadísticamente, las desviaciones estándar permiten aproximar estos valores entre sí por lo que puede decirse que en realidad hubo una variación mínima en los valores de pH entre el inicio y el final de dichas reacciones.

Tabla 5.4. Variación del potencial de hidrógeno (pH) durante la transformación anaerobia del NA-7 y AA-113 en ausencia y empleando las concentraciones óptimas de DSAQ (medido en unidades de pH).

| Colorante | Naranja ácido 7 | | Azul ácido 113 | |
|---------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|
| | 0 μ M | 18 μ M | 0 μ M | 230 μ M |
| Reacción | Potencial de Hidrógeno (pH) | | Potencial de Hidrógeno (pH) | |
| Inicio | 7.23 \pm 0.09 | 7.41 \pm 0.15 | 7.11 \pm 0.08 | 7.26 \pm 0.16 |
| Final | 6.78 \pm 0.13 | 7.03 \pm 0.11 | 6.49 \pm 0.17 | 6.89 \pm 0.14 |

Nota: Los datos aquí reportados fueron adquiridos en las pruebas confirmatorias por razones de homogeneidad de resultados, aunque de las pruebas exploratorias se tienen resultados similares.

Respecto a la concentración de sólidos suspendidos volátiles en el medio conforme trascurría la reacción, no se mostraron diferencias significativas entre sí, ya que los promedios de la concentración entre el inicio y el final de las reacciones diferían, pero el valor de las desviaciones estándar permiten el traslape de los valores. Esto indica por

un lado, que los muestreos se realizaron correctamente al extraer del medio de reacción muestras homogéneas que permitieron que su análisis fisicoquímico no fuera erróneo, así también, muestra la escasa o prácticamente nula producción de biomasa durante el desarrollo del proceso de biotransformación en condiciones anaerobias. En la tabla 5.5 se muestran los valores de las concentraciones de sólidos suspendidos volátiles (SSV) al inicio y al término de las reacciones de decoloración para ambos colorantes, tanto en ausencia, como empleando las concentraciones óptimas de DSAQ empleado como mediador redox.

Tabla 5.5. Variación de la concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) durante la transformación anaerobia del NA-7 y AA-113 en ausencia y con las concentraciones óptimas de DSAQ

| Colorante | Naranja ácido 7 | | Azul ácido 113 | |
|-----------|---------------------------------------|---------------------|---------------------------------------|------------------|
| | 0 μ M | 18 μ M | 0 μ M | 230 μ M |
| Reacción | Sólidos Suspendidos Volátiles (mg/L.) | | Sólidos Suspendidos Volátiles (mg/L.) | |
| Inicio | 3007.89 \pm 19.33 | 3078.03 \pm 36.57 | 2985.41 \pm 20.91 | 3085 \pm 28.34 |
| Final | 2978.53 \pm 15.13 | 3013.25 \pm 19.21 | 3006.49 \pm 19.17 | 3011 \pm 44.73 |

Nota: Los datos aquí reportados fueron adquiridos en las pruebas confirmatorias por razones de homogeneidad de resultados, aunque de las pruebas exploratorias se tienen resultados similares.

5.7. Producción de biogás

Como se mencionó en el capítulo anterior, se realizaron determinaciones cualitativas de biogás a los reactores que llevaban a cabo la decoloración tanto en las pruebas exploratorias como en las confirmatorias, el gas obtenido fue analizado en el cromatógrafo de gases ya mencionado y en términos generales se puede decir que existió producción de metano y bióxido de carbono, pero sus cantidades fueron pequeñas y están relacionadas con la degradación del co-sustrato agregado al medio de reacción y no con la decoloración de los compuestos de estudio. Por otra parte, resulta importante mencionar que estos análisis se realizaron de esta manera ya que su determinación cuantitativa no fue prioridad para el proyecto de investigación, ya que se requería confirmar la actividad de los microorganismos al momento de ser agregados al medio de reacción, así como también verificar que la decoloración se llevaba a cabo por la propia actividad de los microorganismos.

5.8. Comportamiento cinético

Como parte de los objetivos del presente trabajo está el de mostrar a que modelo cinético se ajusta en mayor proporción el comportamiento de la decoloración de los compuestos de estudio tanto en ausencia, como empleando la concentración óptima de mediador redox, se propone en el siguiente apartado el verificar si se ajustan los comportamientos cinéticos a un modelo de orden uno o al modelo cinético desarrollado por Monod (Metcalf y Eddy, 1991). Para esto, se utilizarán los datos obtenidos en las pruebas confirmatorias, ya que para éstas se llevó un seguimiento en la determinación de los distintos parámetros fisicoquímicos a cada hora para el NA-7 y cada 4 horas para el AA-113 teniendo así mayores detalles en el comportamiento de la decoloración.

5.8.1. Modelo de primer orden

Para verificar si en las pruebas de decoloración de los compuestos de estudio se ajustan a un modelo de primer orden, primero se plantea el modelo matemático como a continuación se enuncia:

En una reacción en donde el elemento “A” desaparece y la variación de su concentración respecto al tiempo es proporcional a la concentración del mismo está expresado por la ecuación (1).

$$\frac{dC}{dt} \propto C_A \dots (1)$$

Al eliminar el símbolo de proporcionalidad, se genera una constante para igualar los términos y así tener una ecuación diferencial lineal de orden uno (2).

$$\frac{dC}{dt} = -k * C_A \dots (2)$$

En donde el signo (-) se refiere a que el componente “A” desaparece

Como es una ecuación de variables separables, se sigue la mecánica para resolver la ecuación diferencial (3).

$$\frac{dC}{C_A} = -k dt \dots (3)$$

Las condiciones en la frontera para el desarrollo de esta ecuación son los siguientes

$$t = 0, C_A = C_{A0}$$

$$t = t, C = C_A$$

Integrando ambos términos de la ecuación con los límites ya definidos se tiene que

$$\ln \left(\frac{C_A}{C_{A0}} \right) = -k \cdot t \dots(4)$$

Simplificando términos se tiene que

$$\ln(C_A) = \ln(C_{A0}) - k \cdot t \dots(5)$$

En donde k es la pendiente de la línea de tendencia del comportamiento de desaparición del compuesto "A" (en este caso, de los colorantes NA-7 y AA-113) al relacionar gráficamente a LN (C_A) versus tiempo de reacción, para ejemplificar lo anterior, en las figuras 5.18 y 5.19 se puede observar el comportamiento cinético de la decoloración del NA-7 y AA-113 ajustados al modelo de primer orden, además se muestra la línea de tendencia con su correspondiente ecuación y con ello los valores de la constante cinética y del coeficiente de correlación (R²). El mayor ajuste a este modelo cinético lo dictaminan los coeficientes de correlación (R²) si estos se aproximan en mayor medida a la unidad.

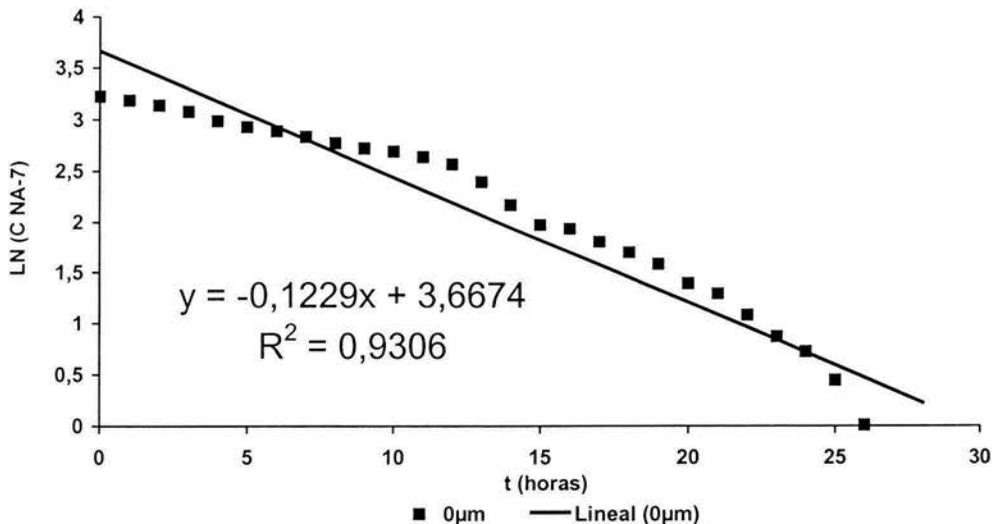


Figura 5.18. Aplicación del modelo cinético de primer orden para los datos de la decoloración del NA-7 en ausencia de mediador redox (0µM).

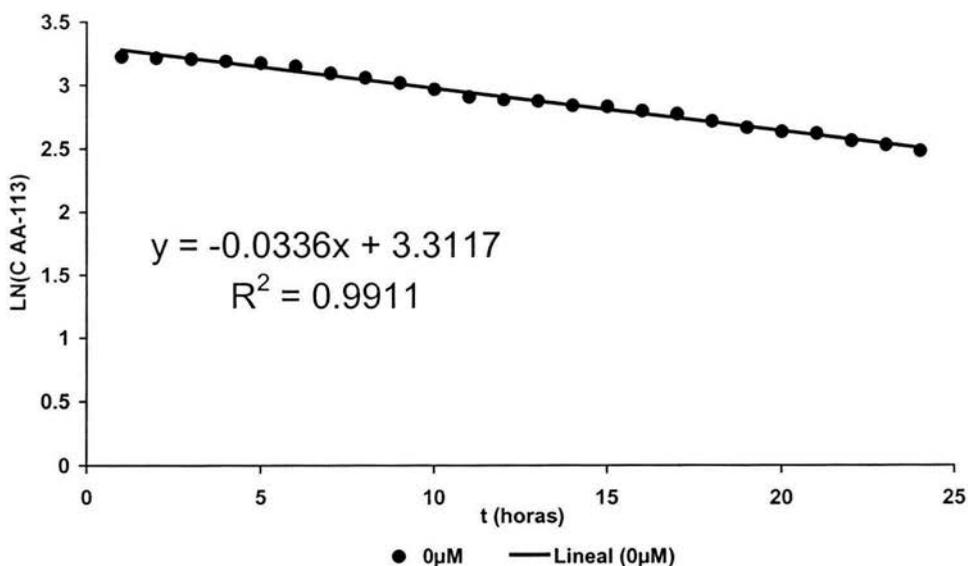


Figura 5.19. Aplicación del modelo cinético de primer orden para los datos de la decoloración del AA-113 en ausencia de DSAQ como mediador redox (0 μM).

En la tabla A-III.1 del anexo 3, se reportan los valores de las constantes cinéticas (k) para el modelo de orden uno, así como los valores de los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos en el ajuste para cada concentración de mediador redox empleado en las pruebas confirmatorias de ambos compuestos de estudio. Asimismo, el comportamiento gráfico de estas constantes cinéticas respecto a la concentración de DSAQ se observarán en las figuras 5.20 y 5.21.

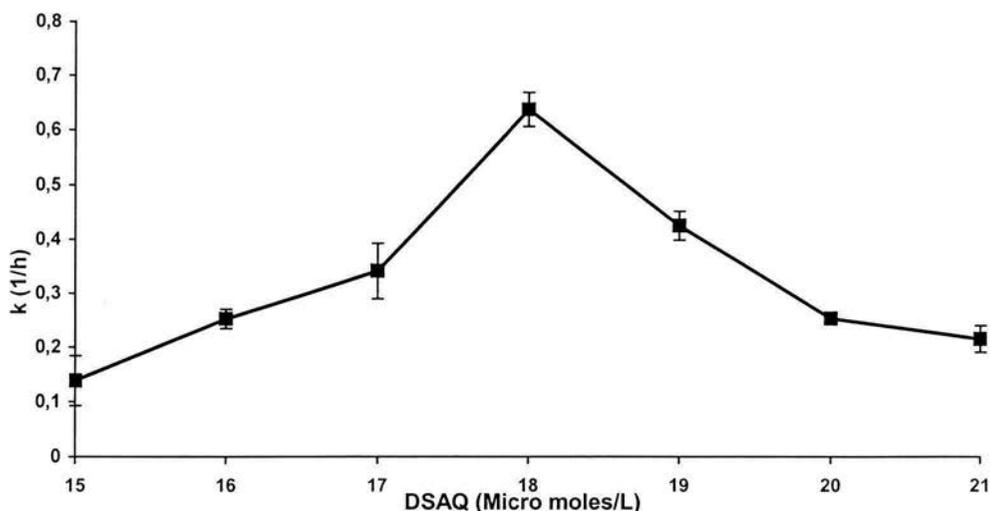


Figura 5.20. Comportamiento de la constante cinética (k) en la decoloración anaerobia del NA-7.

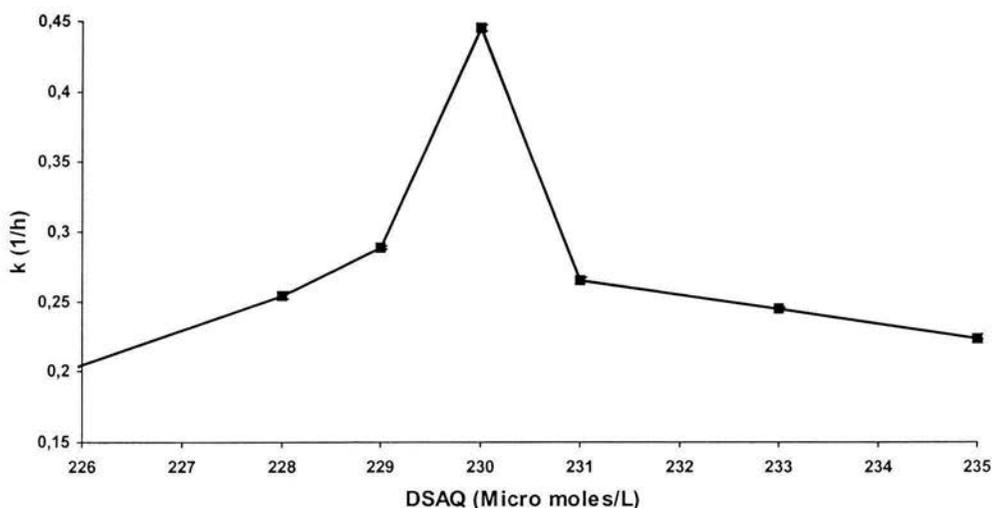


Figura 5.21. Comportamiento de la constante cinética (k) en la decoloración anaerobia del AA-113.

Como se puede observar, el valor de las constantes cinéticas para el modelo de primer orden en la decoloración anaerobia del NA-7 y AA-113 incrementa conforme se aproximan a la concentración óptima de mediador redox (18 μ M y 230 μ M respectivamente), llegando a su máximo en esas concentraciones de DSAQ, volviendo a disminuir (más gradualmente) conforme se incrementa la concentración de éste. En

cuanto al valor de los coeficientes de correlación, los más aproximados a la unidad son los correspondientes a la decoloración en ausencia de mediador redox, pero en términos generales, todas las pruebas tanto exploratorias como confirmatorias se ajustan al modelo de primer orden.

5.8.2. Modelo de Monod

Para verificar si en las pruebas de decoloración de los compuestos de estudio se ajustan al modelo desarrollado por Monod (Metcalf and Eddy, 1991), en donde el crecimiento bacteriano está sujeto a cantidades limitadas de alimento (substrato o nutrientes), el modelo está conformado como a continuación se enuncia:

$$\mu = \mu_m \frac{S}{S + K_s} \dots\dots (6)$$

Donde: μ = tasa específica de crecimiento, tiempo⁻¹

μ_m = tasa máxima de crecimiento, tiempo⁻¹

S = Concentración del sustrato, masa / volumen

K_s = Constante de afinidad, masa / unidad de volumen

La tasa de crecimiento está dada por:

$$r_g = \frac{dX}{dt} = \mu X = \mu_m \frac{S}{S + K_s} X \dots\dots (7)$$

Para este estudio se consideró que la tasa de mortandad de microorganismos no es significativa (k_d)

Donde: r_g = tasa de crecimiento bacteriano, tasa / volumen unitario * tiempo = $\mu \cdot X$

X = Concentración de microorganismos, masa / volumen unitario

Como aquí se pretende verificar si los datos obtenidos en la transformación anaerobia del NA-7 y AA-113 se ajustan a este modelo en mayor medida que el modelo de orden uno, en vez de utilizar la tasa de crecimiento específico (nuevas células), se empleará la tasa de decoloración que involucra de manera indirecta a los microorganismos y que se denotará como q (masa de sustrato/ volumen * tiempo), por lo tanto la ecuación (7), se transforma en:

$$q = q_m \frac{S}{S + K_s} \dots\dots\dots (8)$$

ya que $\frac{dX}{dt} = \frac{dS}{dt} * \frac{1}{Y}$; $q = \frac{\mu}{Y} \dots\dots\dots(9)$

$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu_{max}}{Y} * \frac{S}{K_s + S} * X \dots\dots\dots(10)$ Considerando que durante la prueba Y no varía significativamente:

$$q_m = \frac{\mu_{max}}{Y} * X \dots\dots\dots(11)$$

$$q = \frac{q_m * S}{S + k_s} \dots\dots\dots(12)$$

Donde: q = tasa de decoloración específica, $\frac{Masa}{volumen * Tiempo}$

q_m = tasa máxima de decoloración, $\frac{Masa}{volumen * Tiempo}$

k_s = Constante de afinidad, $\frac{Masa}{volumen}$

Para aplicar correctamente el modelo a los datos obtenidos en las pruebas de decoloración, la ecuación (8) se lineariza quedando de la siguiente manera:

$$\frac{1}{q} = \frac{k_s}{q_m} * \frac{1}{S} + \frac{1}{q_m} \dots\dots\dots(13)$$

En donde se relacionarán gráficamente 1/q versus 1/S, para ejemplificar lo anterior, en las figuras 5.22 y 5.23 se puede observar el comportamiento cinético de la decoloración del NA-7 y AA-113 ajustados al modelo de Monod, además se muestra la línea de tendencia con su correspondiente ecuación y con ello los valores de la constante de afinidad (k_s), de la máxima tasa de decoloración (q_m) y del coeficiente de correlación (R^2). El ajuste a este modelo cinético lo dictaminan los coeficientes de correlación (R^2)

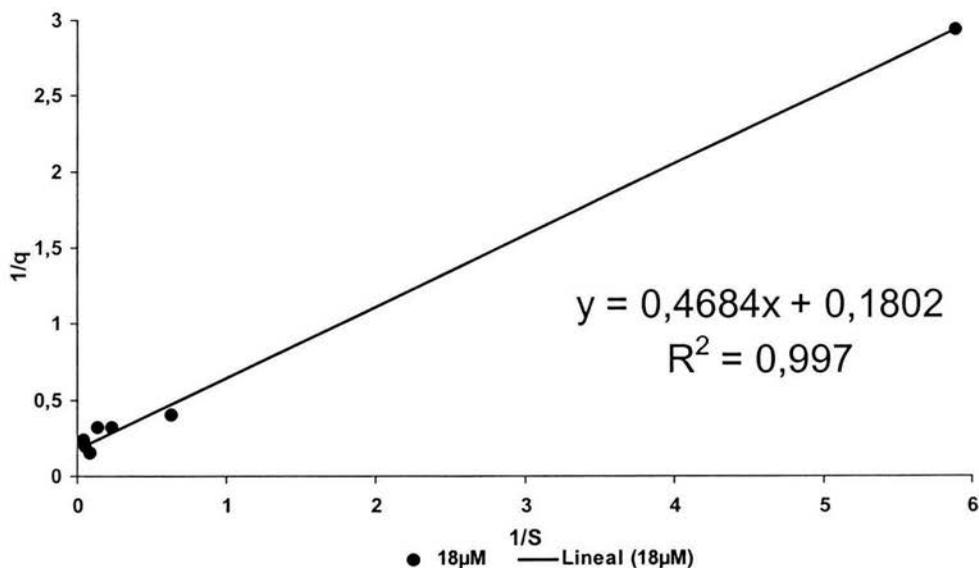


Figura 5.22. Aplicación del modelo cinético de Monod para los datos de la decoloración del NA-7 empleando 18µM de DSAQ como mediador redox.

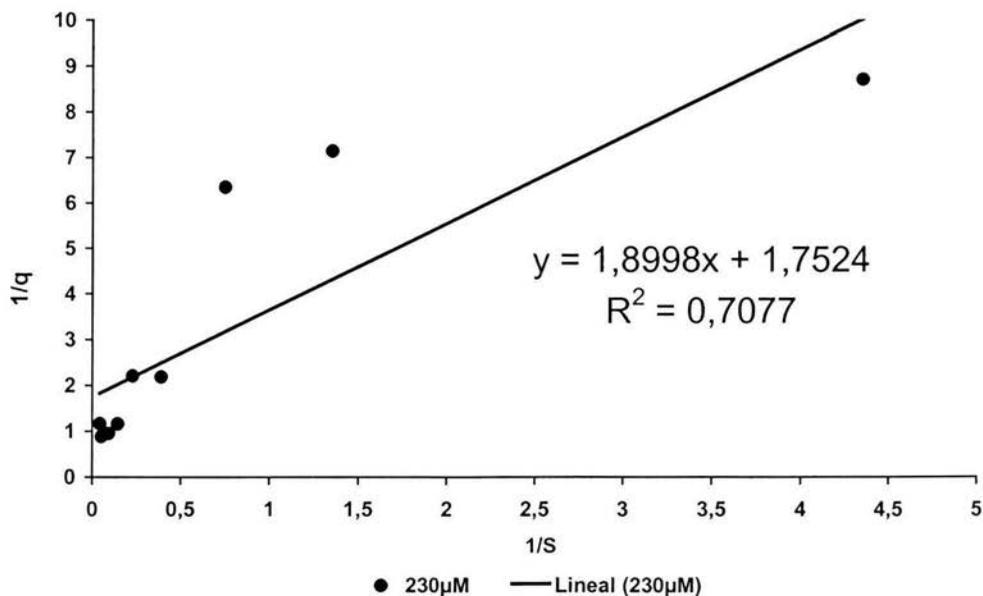


Figura 5.23. Aplicación del modelo cinético de Monod para los datos de la decoloración del AA-113 empleando 230µM de DSAQ como mediador redox.

En la tabla A-III.2 del anexo 3, se reportan los valores de la constante de afinidad (k_s) y de la máxima tasa de decoloración (q_m), así como los valores de los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos en el ajuste para cada concentración de mediador redox empleado en las pruebas confirmatorias de ambos compuestos de estudio.

Como se podrá observar, los coeficientes de correlación de mayor valor corresponden a las pruebas realizadas con las concentraciones óptimas de mediador redox, si bien, estos no son tan cercanos a la unidad como los obtenidos con el modelo de orden uno, pero existe, en términos numéricos, una diferencia mayor en relación con los de menor valor encontrado para este modelo.

Aunado a este hecho, se observa que las mismas pruebas poseen los valores más altos para las constantes k_s y q_m (ver anexo A-III). Con esta información se confirma una vez más que las concentraciones de DSAQ empleado como mediador redox en la decoloración anaerobia de los colorantes azo NA-7 y AA-113 son 18 y 230 μ M respectivamente.

5. 9. Discusión

Al realizar las pruebas iniciales con el colorante diazo (AA-113) e identificar los diversos problemas técnicos que se presentaron, se pudo recurrir al adecuado montaje de una técnica que permitiría mejorar la determinación de su concentración a cualquier nivel del avance de la reacción. Para el mono azo (NA-7), no se tuvieron inconvenientes en la determinación de la decoloración, siguiendo la técnica sugerida por Fonseca (2002) que, aunque él la aplicó para un colorante disperso, funcionó perfectamente para éste que es un colorante ácido.

Una vez satisfechos todos los requerimientos tanto técnicos como materiales y llevando a cabo el estudio sobre la influencia que tiene el DSAQ como mediador redox en la biotransformación anaerobia de los dos colorantes tipo azo, se puede decir lo siguiente:

La reacción de biotransformación anaerobia se lleva a cabo aún en ausencia de DSAQ, pero la velocidad de reacción fue menor en comparación con las reacciones en donde se agregó el mediador redox.

En la biotransformación del colorante NA-7, la concentración de DSAQ que permite una mayor velocidad de biotransformación es la de 18 μM , esto se pudo comprobar de manera adicional en los valores de las constantes cinéticas obtenidas para dichas reacciones.

De igual manera, los valores de las constantes cinéticas indican que la concentración de DSAQ a la que la biotransformación del AA-113 se lleva a cabo más rápidamente es a 230 μM , siendo ésta, una concentración muy superior a la encontrada como óptima para la decoloración del colorante mono azo.

En las distintas pruebas de biotransformación anaerobia que se llevaron a cabo, la DSAQ tuvo una influencia positiva sobre la velocidad de reacción incluso en concentraciones extremas, sólo que esas concentraciones no fueron precisamente las óptimas para aplicarse en procesos en escala real ni en las condiciones a las que se trabajó.

En cuanto a la interrogante que resultó del por qué para la decoloración del NA-7 se encuentra una concentración óptima de DSAQ (18 μM) con un tiempo de biotransformación de entre 6 y 7 horas y para la del AA-113 (230 μM) con mayor tiempo de biotransformación anaerobia (entre 36 y 37 horas), la respuesta puede estar basada en los análisis reportados por Zimmermann *et al.* (1982) en su trabajo sobre degradación de colorantes azo y que a continuación se enuncian.

La especificidad de la enzima azorreductasa puede jugar un papel importante para determinar cuál colorante azo es susceptible de ser atacado por las bacterias. Las características estructurales generalizadas que influyen en la eficiencia de decoloración son como a continuación se enlistan Zimmermann *et al.*(1982):

- El grupo hidroxilo en la posición 2 del anillo naftol es un prerrequisito para que la reacción ocurra. El NA-7 tiene contenido un grupo hidroxilo en la posición 2 del anillo naftol, lo que facilita la reacción de reducción anaerobia, no así el AA-113, lo que lo hace menos susceptible para las bacterias.
- Grupos cargados en proximidad a los grupos azo, obstaculizan la reacción. Ambos colorantes carecen de grupos cargados en posiciones aproximadas a los grupos azo, pero el AA-113 tiene una estructura mucho más compleja por tener 2 grupos azo y 2 anillos naftol uno sustituido y el otro no, lo que permite que el ataque microbiano sea aún más complicado.
- Un segundo sustituyente polar en la molécula del colorante, disminuye la afinidad para la enzima y con ello impide la reacción. El NA-7 tiene solamente un primer sustituyente polar que no afecta al ataque microbiano. En cambio, el AA-113 tiene un segundo sustituyente polar en uno de los anillos naftol, lo que complica aún más el ataque microbiano a la molécula de colorante.

Por otro lado, como ya se comentó en los espectrogramas analizados en el apartado 5.3, la desaparición de los picos correspondientes a los colorantes y la aparición de nuevos picos correspondientes a cromóforos es la evidencia más clara de la biotransformación anaerobia que se llevó a cabo durante las pruebas de decoloración de soluciones con NA-7 y AA-113. Como se comentó anteriormente, la identificación de las aminas aromáticas no se realizó para el presente estudio pues no formaron parte de los alcances del proyecto, pero se consideró aceptado por las demostraciones hechas por Cruz y Buitrón (2001).

En cuanto a los demás parámetros determinados se puede comentar que en ambos procesos el potencial redox disminuyó ligeramente conforme las reacciones de decoloración se llevaban a cabo, garantizando así, condiciones reductoras para que la reacción continuara llevándose a cabo en condiciones anaerobias

Por su parte, el potencial de hidrógeno (pH) disminuyó ligeramente entre el inicio y el final de las reacciones, esto se relaciona de manera directa a la producción de AGV's durante la biotransformación anaerobia.

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) no se vieron modificados, esto debido a que se llevó a cabo un proceso en condiciones netamente anaerobias, por lo que la producción de nuevas células fue mínima. Aunado a esto, se puede agregar que los valores de SSV se mantuvieron gracias a las muestras tomadas de manera perfectamente homogénea.

Con los datos obtenidos durante las pruebas de decoloración anaerobia del Na-7 y del AA-113, se compararon 2 modelos cinéticos, el de primer orden y el relativo al modelo de Monod. El comportamiento de las pruebas para ambos colorantes se apegó en mayor medida a una cinética de primer orden. Al corroborar el comportamiento de la constante cinética respecto a la concentración de DSAQ, se observa que la constante de mayor valor para dichas pruebas son precisamente las que se refieren a las concentraciones óptimas de DSAQ para la decoloración anaerobia de los compuestos de estudio

CONCLUSIONES

Dentro de las investigaciones realizadas con relación a la influencia de los mediadores redox para acelerar la biotransformación anaerobia de xenobióticos, se tienen reportados hasta antes del presente trabajo, resultados obtenidos de investigaciones con colorantes mono azo u otros compuestos xenobióticos, de tal manera que uno de los principales aportes de esta investigación es precisamente el haber estudiado esa influencia con un colorante di azo y así poder compararla en las mismas condiciones con la influencia para un colorante mono azo dentro de la misma investigación.

Con lo obtenido en este proyecto de investigación se puede decir lo siguiente:

- El compuesto húmico modelo (DSAQ) tuvo una influencia positiva en las reacciones de biotransformación de los colorantes tipo azo, naranja ácido 7 (NA-7) y azul ácido 113 (AA-113) ya que aceleró el proceso de decoloración hasta en un 77% para el NA-7 y cerca del 80% para el AA-113, ambos, en condiciones anaerobias y con las concentraciones encontradas como óptimas.
- Las técnicas analíticas implementadas en el presente estudio, fueron gran utilidad y aporte para eliminar las diversas problemáticas que surgieron previamente a su montaje, ofreciendo total confiabilidad en los resultados obtenidos.
- Las concentraciones óptimas de DSAQ que se encontraron durante el presente estudio son 18 μM para la decoloración anaerobia de las soluciones con NA-7 y alrededor de 230 μM para la decoloración anaerobia de soluciones con AA-113, esto se observa tanto en los comportamientos gráficos en las pruebas de decoloración, como en los valores de las constantes cinéticas de dichas reacciones.
- El orden de reacción al que mejor se ajustan las cinéticas de decoloración para ambos compuestos evaluados fue el modelo de primer orden.

- La disminución en los valores de velocidad de reacción de transformación anaerobia para ambos colorantes a concentraciones de DSAQ superiores a las encontradas como óptimas, está relacionada con algún tipo de inhibición competitiva, ya que a mayor concentración del mediador redox, las velocidades de transformación de los colorantes disminuía.

- Las diferencias en tiempo y concentraciones óptimas de DSAQ para ambos colorantes estudiados, están relacionadas por un lado con los grupos azo presentes en las estructuras de ambos colorantes y por otro, con la afinidad que los microorganismos mostraron ante la presencia de uno u otro de los compuestos

BIBLIOGRAFÍA

- Asociación Nacional de Ingenieros Químicos (ANIQ) (1998). Anuario Estadístico de la Industria Química Mexicana, Edición 1998, 287-303.
- APHA, AWWA, WPCF. (1992). Standard methods for examination of water and wastewater. American Public Health Association. 18th ed. New York.
- Armenante M. P., Kafkewitz D., Lewandowski G. A. and Jou C-J. (1999). Anaerobic – aerobic treatment of halogenated phenolic compounds. *Water Research*. **33**(3), 681-692.
- Bahorsky M.S. and Bryant D.H. (1993). Textiles. *Water Environment Reserarch*. **67** (4), 544-546.
- Balch W., Fox G., Magrum L., Woese C. and Wolfe R. (1979). Methanogens: Reevaluation of a unique biological group. *Microbiology Review*., **43**: 260-269.
- Benz M., Schink B. and Brune A. (1998). Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**(11), 4507-4512.
- Berchtold S.R., Vander Loop S.L., Suidan M.T. and Maloney S.W. (1995). Treatment of 2,4-dinitrotoluene using 1 two-stage system: Fluidised-bed anaerobic granular activated carbon reactors and aerobic activated sludge reactors. *Water Environmental Resource*. **67**:1081
- Bradley P.M., Chappelle F.H. y Lovley D.R., (1998). Humic acids as electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of vinyl chloride and dichloroethene. *Applied Environmental Microbiology*. **64**:3102-3105
- Bromley-Challenor K.C. A., Knapp J. S., Zhang Z., Gray N. C. C. Hetheridge M. J. and Evans M. R. (2000). Decolorization of an azo dye by unacclimated activated sludge under anaerobic conditions. *Water Research*. **34**(18), 4410-4418.
- Brown D. and Hamburger B. (1987). The degradation of dyestuffs: part III – Investigations of their ultimate degradability. *Chemosphere*. **16**(7): 1539-1553.
- Buitrón G. and Capdeville B. (1995). Enhancement of the biodegradation activity by the acclimation of the inoculum. *Environment Technology*. **16**, 1175-1184.
- Buitrón G., Betancur M.J., Moreno G. and Moreno J.A. (2003). Oxidation-reduction potential as a control variable for the anaerobic-aerobic *p*-nitrophenol degradation. *Biotechnology Progress*. In press.

- Centro de Información INEGI. D.F. (1994). Cap. I. Estadísticas sobre Condiciones Básicas. Estadísticas del Medio Ambiente., México., pp 47-50.
- Cervantes F.J., Van der Velde S., Lettinga G. and Field J. (2000a). Competition between methanogenesis and quinone respiration for ecologically important substrates in anaerobic consortia. *FEMS Microbiology Ecology*. **34**:161-171.
- Cervantes F.J., Van der Velde S., Lettinga G. and Field J. (2000b). Role of quinones in the biodegradation of priority pollutants: a review. *Water Science and Technology*. **42**(5-6), 215-222.
- Cervantes F.J., Van der Velde S., Lettinga G. and Field J. (2000c). Quinones as terminal electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of phenolic compounds. *Kluwer Academic Publishers*.**11**: 313-321.
- Cervantes F. J., Van der Zee F. P., Lettinga G. and Field J. (2001a). Enhanced decolourisation of acid orange 7 in a continuous UASB reactor with quinones as redox mediators. *Water Science and Technology*. **44**(4), 123-128.
- Cervantes F. J., Dijkstra W., Duong-Dac T., Ivanova A., Lettinga G. and Field J. (2001b). Anaerobic mineralization of toluene by enriched sediments with quinones and humus as terminal electron acceptors. *Applied Environmental microbiology*.**67**: 4471-4478.
- Cervantes F.J. (2002). Quinones as electron acceptors and redox mediators for the anaerobic biotransformation of priority pollutants. Tesis Doctoral
- Cervantes F. J., de Bok F.A.M., Duong-Dac T., Stams A.J.M., Lettinga G. and Field J. (2002b). Reduction of humic substances by halo-respiring, sulfate-reducing and methanogenic microorganisms. *Applied Environmental microbiology*. **4**: 51-57
- Chinwetkitvanich S., Tuntoolvest M. and Panswad T., (1999). Anaerobic decolorization of reactive dyebath effluents by a two-stage UASB system with tapioca as a co-substrate. *Water Research*. **34** (8): 2223-2232
- Churchley J. (1994). Removal of dyewaste colour from sewage effluent-the use of a full scale ozone plant. *Water Science and Technology*, **30**(3), 275-284.
- CNA, Comisión Nacional del Agua (1999). *Inventario Nacional de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Industriales*. Subdirección General Técnica. Gerencia de Saneamiento y Calidad del Agua.

- Coates J.D., Ellis D.J., Roden E., Gaw k., Blunt-Harris E.L. and Lovley D.R., (1998). Recovery of humics-reducing bacteria from a diversity of sedimentary of environments. *Applied Environmental Microbiology*. **64**:1504-1509.
- Colour Index (1956). The Society of Dyers and Colourists. The American Association of Textile Chemists and Colourists. Second Edition. USA.
- Correia V.M., Stephenson T., Judd S.J. (1994). Characterization of Textile Wastewater- A Review. *Environment Technology*. **15**(1994). 917-929.
- Costerton J. W., Lewandowsky Z., De Beer D., Cadwell D., Korber D. and James G.(1994). Biofilms, the customized microniche. *Journal of Bacteriology*. 176 (8) 2137-2142.
- Coughlin M.F., Kinkler B.K., Tepper A. and Bishop P.L. (1997). Characterization of Aerobic azo Dye-Degrading Bacteria and their Activity in Biofilms. *Water Science and Technology*. **36**(1), 215-220.
- Cruz A. and Buitrón G. (2001). Biodegradation of disperse blue 79 using sequenced anaerobic/aerobic biofilters. *Water Science and Technology*. **44**(4), 159-166.
- Deleé W., O'Neil C., Hawkes F.R. and Pinheiro H.M. (1998). Anaerobic treatment of textile effluents: A review. *Journal Chemical Technology and Biotechnology*. 73:323-335.
- Dickel O., Haug W. and Knackmus H.J. (1993). Biodegradation of nitrobenzene by a sequential anaerobic-aerobic process. *Biodegradation* 4: 187-194.
- Drissen W.J.B.M. and Wasenius C.O. (1994). Combined anaerobic/aerobic treatment of peroxide bleached TMP mill effluent. *Water Science and Technology*. 29 (5-6):381-389.
- Fahmy M., Heinzle E. and Kut O. (1991). Degradation of chlorophenols contained in pulp bleaching effluents using anaerobic-aerobic fluidized biofilm systems. *International Symposium Environmental Biotechnology*. Costeud. Belgium I: 95-98.
- Fatpure B.Z. and Vogel T.M. (1988). Complete degradation of polychlorinated hydrocarbons by a two-stage biofilm reactor. *Applied and environmental Microbiology*. 57: 3418-3422.
- Ferguson J.F. (1994) Anaerobic and aerobic treatment for AOX removal. *Water Science and Technology*. 29 (5-6): 149-162.
- Field J.A. (2001). Anaerobic biodegradation of xenobiotic compounds. *Water Science and Technology* **44**(4), 123.

- Field J.A., Cervantes F., Van der Zee F. P. And Lettinga G. (1999). Role of quinones in the biodegradation of priority pollutants: a review. *Water Science and Technology*. **40**(4), 123-128.
- Field J.A., Stams A. J. M. Kato M. and Schraa G. (1995)., Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Antoine Van Leewenhooek*. **67**, pp 47-77.
- FitzGerald S. W. and Bishop P.L. (1995). Two stage anaerobic/aerobic treatment of sulfonated azo dyes. *Journal of Environmental Science and Health*. **A30**(6), 1251-1276.
- Fogel S., Lancione R.L. and sewall A.E. (1982). Enhanced biodegradation of methoxychlor in soil under sequential environmental conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. **44** (1): 113-120.
- Fonseca Z. A. (2002). Mineralización del colorante azo azul disperso 79 en un sistema discontinuo anaerobio/aerobio. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Gerritse J. and Gottschal J.C. (1992). Mineralization of the herbicide 2,3,6-trichlorobenzoic acid by a co-culture of anaerobic and aerobic bacteria. *FEMS Microbiology Ecology* 101:89-98.
- Ghoropade A. J. and Spencer H.T. (1993). Azo Dyes Metabolism by *Pseudomonas putida*. 48th Purdue Ind. Conf. Proc., Lewis pub. Chelsea Mich. 699-714.
- Gujer W. and Zehnder A. (1983). Conversión procesos in anaerobic digestión. *Water Science and Technology*. **15**:127-167.
- Haberl R., Atanasoff K. and Braun, R. (1991). Anaerobic-aerobic treatment of organic high strength industrial wastewater. *Water Science and Technology*. **23**:1909-1918.
- Hollinger C. (1999). Reductive dechlorination in the energy metabolism of anaerobic bacteria. *FEMS Microbiology and Ecology*. **22**. pp 383-398.
- Haug W., Notremann B., Hempel D.C., Stolz A. and Knackmuss H. J. (1991). *Applied and Environmental Microbiology*. **57**, 3144-3149.
- Huster R. and Mobius H. (1990). Performance increase of aerobic-biological wastewater treatment plants in paper mills by anaerobic pretreatment of high strength partial flows. *Water Science and Technology*. **22**:287-288.

- Jian H. And Bishop P. L. (1994). Aerobic biodegradation of azo dyes in biofilms. *Water Science and Technology*. **29**(10-11), 525-530.
- Jiménez Cisneros B. (2001). La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada. 1ª edición. Ed., *Limusa*, México D.F.
- Kirk Othmer. (1991). *Encyclopedia of Chemical Technology*. Anthraquinone. 2a edición. *Jhon Wiley & Son Inc*. New York. 1.
- Kortekaas S., Doma H.S., Potapenco S.A., Field J.A. and Lettinga G. (1994) Sequenced anaerobic-aerobic treatment of hemp black liquors. *Water science and technology*. **29** (5-6): 409-419.
- Kroiss H., Svardal K. and Nowak O. (1992). Anaerobic-aerobic pre-treatment of waste paper mill effluent. *Water Science and Technology*. **25**(11):23-30.
- Kudlich M., Bishop P. L., Knackmuss H. J. and Stolz A. (1996). Simultaneous anaerobic and aerobic degradation of the sulfonated azo dye Mordant Yellow 3 by immobilized cells from a naphthalenesulfonate-degrading mixed culture. *Applied Microbiology and biotechnology*. **46**(5-6), 597-603.
- Kulla H. G. (1981). Aerobic Bacterial Degradation of Azo Dyes. Microbial degradation of xenobiotics and recalcitrants compounds. FEMS Symp. No. 12. Academic Press, Ed. by *Leisinger R. Hütter*, A.M. Cook and Nuesh, London, 387-399.
- Lewis R.J. (1999). Sax's dangerous properties of industrial materials. *John Wiley and sons* 10th ed. EE.UU.
- Li X.Z. and Zhao Y.G., (1997). On-site treatment of dyeing wastewater by a biophotoreactor system. *Water Science and Technology*. **36** (2-3): 165-172.
- Li X.Z. y Zhao Y.G., (1999). Advanced treatment of dyeing wastewater for reuse. *Water Science and Technology*. **39** (10-11): 249-255.
- Lovley D.R., Coates J.D., Blunt-Harris E.L., Phillips E.J.P. and Woodward J.C., (1996a). Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*. **382**: 445-448.
- Lovley D.R., Woodward J.C. and Chapelle F.H. (1996b). Rapid anaerobic benzene oxidation with a variety of chelated Fe (III) forms. *Applied Environmental Microbiology*. **62**: 228-291.
- Lourenco N.D., Novais J.M. and Pinheiro H.M. (2000). Reactive textile dye colour removal in a sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*. **42** (5-6):321-328.

- Macarie H. and Guiot S. (1996). Degradación del pentaclorofenol mediante un proceso aerobio / anaerobio simultáneo: una nueva tecnología para el tratamiento de aguas residuales. En *Fronteras en biotecnología y bioingeniería*, pp.317-324. E. Galindo, *Sociedad Mexicana de biotecnología y bioingeniería A. C.*
- Melgoza R.M. and Buitrón G. (2000). Degradation of P-Nitrophenol in a batch biofilter under sequential anaerobic/aerobic environments. *Water Science and Technology*. **42** (8), 223-232.
- Melgoza R.M. (2003) Biodegradación de compuestos nitroaromáticos y un colorante azo por medio de un biofiltro discontinuo anaerobio / aerobio. Tesis doctoral. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. Universidad Nacional autónoma de México, UNAM.
- Metcalf and Eddy (1991). *Wastewater Engineering Treatment, Disposal and Reuse*. 3rd edition. *McGraw- Hill International Editions*. USA. 456-458.
- Moreno G., Cruz and Buitrón G. (1999). Influence of So/Xo ratio on anaerobic activity test. *Water Science and Technology*. **40**(8), 9-15.
- Moreno G., Sánchez C., Noyola A., Santiago L. y Buitrón G. (1996). Automatización de una prueba de biodegradabilidad anaerobia En: *Memorias del X Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, SMIAAC*. Toluca, México.
- Moreno-Andrade I. and Buitron G. (2002). Influence of the origin of the inoculum on the anaerobic biodegradability test. 5th IWA *Chemical Industry Group Conference*. November 13-15, Nimes - France.
- O'Neil C., Hawkes F.R., Hawkes D.L., Steves S. and Wilcox S.J., (1999). Anaerobic and aerobic of simulated textile effluent, *Journal Chemical Technology and Biotechnology*. **74**: 993-999.
- O'Neil C., Hawkes F.R., Hawkes D.L., Steves S. and Wilcox S.J., (2000). Anaerobic-aerobic biotreatment of simulated textile effluent containing varied ratios of starch and azo dyes. *Water Research*. **34** (8): 2355-2361.
- Pasti-Grigbsy M. B., Pascynski A., Goszczyński S., Crawford D. L. and Crawford R.L. (1992). Influence of aromatic substitution patterns of azo dye degradability by *Streptomyces ssp.* And *Phanerochaete chrysosporium*. *Environmental Microbiology*. **58**(11), 3605-3613.

- Peres C.M., Naveau H. and Agathos S.N. (1998). Biodegradation of nitrobenzene by its simultaneous reduction into aniline and mineralization of the aniline formed. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 49: 343-349.
- Puhakka J.A., Markinen P.M., Lundin M. and Ferguson J.F. (1994). Aerobic and anaerobic biotransformation and treatment of chlorinated pulp bleach waste constituents. *Water Science and Technology*. 29 (5-6):73-80.
- Quezada C. M. (2000). Biodegradación aerobia de colorantes tipo azo. Tesis para obtener el grado de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Razo F. E. (1997). Biotransformation and biodegradation of N-substituted inmethanogenic granular sludge. Tesis para obtener el grado de doctor. Landbouwniversiteit Wageningen, Holanda.
- Shaw C.B., Carliell C.M. and Wheatley A.D. (2002). Anaerobic/Aerobic treatment of coloured textile effluents using sequencing batch reactors. *Water Research*. 36 1993 – 2001.
- Shen C.F., Summer R.D. and Guiot S.R. (1995). Feasibility of synchronous aerobic/anaerobic processes with a single up flow sludge bed system. Proc. 50th Industrial Waste Conference, Purdue University
- Seshadri S. and Bishop P.L. (1994). Anaerobic/aerobic treatment of selected azo dyes in wastewater. *Waste Management*. 14 (2):127-137.
- Tai S. K. and Shieh W. K. (1999). Anoxic/oxic biodegradation of aminobenzene. *Journal of environmental Engineering*. 125 (7):602-607.
- Tan N. C. G., Prenafeta-Boldú F.X., Opsteeg, J.L., Lettinga G. and Field J.A. (1999a). Biodegradation of azo dyes in cocultures of anaerobic granular sludge with aerobic aromatic amine degrading enrichment cultures. *Applied Microbiology Biotechnology*. 51:865-871.
- Tan N. C. G., Lettinga G. and Field J.A. (1999b). Reducción of the azo dye Mordant Orange 1 by methanogenic granular sludge exposed to oxygen. *Bioresource Technology*. 67:35-42.
- Tan N. C. G. (2001). Integrated and secuential anaerobic/aerobic biodegradation of azo dyes. Tesis para obtener el grado de doctor. Wageningen University. Wageningen, The Netherlands, 104 pages.
- Tartakovsky B., Guiot S.R. and Sheintuch M. (1998). Modeling and analysis of co-immobilized anaerobic/aerobic mixed cultures. *Biotechnology Progress*. 14:672-679.

- The Merck Index, (1996). An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 12th Edition, Published by Merck Research Laboratories Division of Merck & Co., Inc.
- Van der Zee F.P., Field J.A. and Lettinga G., (1999). The role of (auto)catalysis in the mechanism of anaerobic azo reduction.
- Weber W.J.J. (1978). Control del Agua y Procesos Físicoquímicos. *Edit. Reverté. España.* 211-217.
- Weber E.J. and Adams R.L. (1995). Chemical and sediment mediated reduction of azo dye disperse blue 79. *Environmental. Science and Technology.* 29(5), 1163-1170.
- Whurmann K., Mechsner K. and Kappeler T. (1980). Investigation of rate-determining factors in the microbial reduction of azo dyes. *Eur. J. Applied. Microbiology and. Biotechnology.* 9(325-338). reduction of azo dyes.
- Wu W., Hu J., Gu X., Zhao Y., Zhang H. and Gu G. (1987). Cultivation of anaerobe granular sludge in UASB reactors with aerobic activated sludge as seed. *Water Resource.* 21:789-799.
- Zimmermann T., Kulla H.G. and Leisinger T. (1982). Properties of purified orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by pseudomonas kf46. *European Journal Biochemistry.* 129: 197-203.
- Zitomer D. H. and Speece R. H. (1993). Sequential environments for enhanced biotransformation of aqueous contaminants. *Environmental. Science and Technology.* 27(2), 227-244.
- Zitomer D.H. and Shrout J.D. (1998). Feasibility and benefits of methanogenesis under oxygen-limited conditions. *Waste Management.* 18 (2): 107-116.
- Zoayan Y., Ke S., Guangliang S. Fan Y., Jinshan D. and Huanian M. (1992). Anaerobic-aerobic treatment of a dye wastewater by combination of RBC with activated sludge. *Water Science and technology.* 26 (9-11):238-242.
- Zollinger H. (1987). Colour Chemistry-Synthesis, properties and application or Organic Dyes and Pigments. VCH, New York, pp. 92–102.

Anexos

A-I

Tabla A-I.1. Datos de la decoloración del NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 1, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (h) | 0 μM | 3 μM | 5 μM | 8 μM | 10 μM | 13 μM | 15 μM | 18 μM | 20 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
| 0 | 25.27±0.012 | 25.37±0.023 | 25.15±0.017 | 25.09±0.014 | 25.01±0.011 | 25.08±0.019 | 25.03±0.011 | 25.13±0.026 | 25.11±0.018 | 25.10±0.008 |
| 5 | 19.95±0.109 | 19.65±0.027 | 17.48±0.022 | 17.22±0.031 | 16.23±0.017 | 16.98±0.028 | 17.22±0.033 | 3.96±0.031 | 4.48±0.023 | 25.03±0.027 |
| 10 | 15.83±0.141 | 16.11±0.019 | 11.65±0.031 | 10.17±0.028 | 8.23±0.021 | 9.21±0.044 | 9.14±0.04 | 0 | 0 | 25.11±0.023 |
| 15 | 9.15±0.123 | 9.01±0.013 | 7.08±0.027 | 5.23±0.019 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.17±0.021 |
| 20 | 4.19±0.118 | 3.87±0.008 | 2.43±0.004 | 1.67±0.003 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.06±0.015 |
| 25 | 1.97±0.103 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.05±0.012 |
| 30 | 0.09±0.009 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.17±0.017 |
| 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.14±0.019 |
| 40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.19±0.013 |
| 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.014 |

Tabla A-I.2. Datos de la decoloración del NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 2, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (h) | 0 μM | 10 μM | 12 μM | 15 μM | 18 μM | 20 μM | 23 μM | 25 μM | 28 μM | Testigo |
|-------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
| 0 | 25.13±0.013 | 25.1±0.018 | 25.06±0.014 | 25.09±0.025 | 25.05±0.025 | 25.13±0.033 | 25.12±0.041 | 25.04±0.036 | 25.17±0.024 | 25.07±0.019 |
| 5 | 19.88±0.011 | 17.31±0.015 | 17.17±0.022 | 5.23±0.033 | 3.71±0.037 | 4.02±0.046 | 17.33±0.52 | 15.03±0.044 | 13.4±0.033 | 25.03±0.020 |
| 10 | 15.75±0.021 | 9.04±0.023 | 9.84±0.037 | 0 | 0 | 0 | 7.81±0.58 | 8.19±0.051 | 9.35±0.041 | 25.16±0.014 |
| 15 | 9.28±0.025 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.11±0.059 | 25.02±0.016 |
| 20 | 4.44±0.027 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.06±0.019 |
| 25 | 2.04±0.009 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 26.03±0.018 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.17±0.017 |
| 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.12±0.015 |
| 40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.011 |
| 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.06±0.021 |

Tabla A-I.3. Datos de la decoloración del NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 3, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T(h) | 0 μM | 5 μM | 10 μM | 15 μM | 20 μM | 25 μM | 30 μM | 40 μM | 50 μM | Testigo |
|------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
| 0 | 25.27±0.012 | 25.37±0.01 | 25.01±0.009 | 24.97±0.006 | 25.11±0.008 | 25.08±0.019 | 25.17±0.013 | 25.03±0.008 | 25.08±0.02 | 25.17±0.022 |
| 5 | 19.95±0.019 | 19.65±0.018 | 15.14±0.013 | 11.19±0.010 | 12.03±0.023 | 16.03±0.026 | 14.83±0.017 | 15.03±0.013 | 13.4±0.016 | 25.03±0.018 |
| 10 | 15.83±0.022 | 16.11±0.023 | 8.23±0.011 | 0 | 0 | 9.21±0.030 | 7.81±0.021 | 8.19±0.017 | 9.35±0.015 | 25.09±0.020 |
| 15 | 9.15±0.02 | 9.01±0.021 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.17±0.023 | 2.41±0.020 | 3.11±0.022 | 25.17±0.021 |
| 20 | 4.19±0.026 | 3.87±0.015 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.019 |
| 25 | 1.97±0.034 | 0.86±0.005 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.05±0.015 |
| 30 | 0.09±0.001 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.03±0.024 |
| 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.14±0.027 |
| 40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.19±0.017 |
| 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.06±0.023 |

Tabla A-I.4. Datos de la decoloración del NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 4, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| (h) | 0 μM | 50 μM | 75 μM | 100 μM | 125 μM | 150 μM | 175 μM | 200 μM | 225 μM | Testigo |
|-----|-----------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| 0 | 25.14±0.023 | 25.13±0.013 | 25.04±0.015 | 25.06±0.018 | 25.17±0.019 | 25.11±0.006 | 25.13±0.022 | 25.05±0.005 | 25.15±0.013 | 25.16±0.027 |
| 3 | 21.8±0.021 | 16.13±0.010 | 15.36±0.017 | 16.33±0.022 | 16.04±0.025 | 16.18±0.011 | 16.86±0.027 | 17.22±0.008 | 17.45±0.011 | 25.14±0.025 |
| 6 | 19.02±0.020 | 4.65±0.016 | 5.22±0.020 | 7.11±0.024 | 7.18±0.029 | 10.92±0.014 | 12.03±0.032 | 11.94±0.007 | 12.82±0.014 | 25.13±0.031 |
| 9 | 16.31±0.022 | 1.41±0.019 | 2.01±0.026 | 2.03±0.028 | 4.02±0.032 | 7.34±0.016 | 9.31±0.035 | 8.44±0.010 | 9.26±0.0019 | 25.09±0.028 |
| 12 | 13.91±0.025 | 0 | 0 | 0 | 1.65±0.038 | 3.08±0.015 | 5.22±0.041 | 4.65±0.011 | 5.76±0.021 | 25.16±0.025 |
| 15 | 8.45±0.028 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.76±0.014 | 1.21±0.043 | 2.28±0.014 | 3.21±0.026 | 25.13±0.022 |
| 18 | 4.84±0.031 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.78±0.019 | 1.09±0.030 | 25.09±0.026 |
| 21 | 3.04±0.033 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.15±0.027 |
| 24 | 1.11±0.038 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.16±0.029 |
| 27 | 0.61±0.036 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.024 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tabla A-I.5. Datos de la decoloración del NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 5, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| (h) | 0 μM | 250 μM | 300 μM | 350 μM | 400 μM | 450 μM | 500 μM | 600 μM | 700 μM | Testigo |
|-----|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| 0 | 25.17±0.007 | 25.01±0.002 | 25.07±0.021 | 25.17±0.011 | 25.14±0.017 | 25.11±0.021 | 25.13±0.019 | 25.14±0.027 | 25.09±0.008 | 25.01±0.011 |
| 3 | 21.25±0.009 | 15.23±0.006 | 15.76±0.023 | 16.94±0.014 | 19.85±0.020 | 20.11±0.026 | 19.83±0.022 | 22.09±0.023 | 21.65±0.012 | 25.1±0.014 |
| 6 | 18.34±0.011 | 7.34±0.009 | 8.02±0.027 | 8.54±0.010 | 15.50±0.019 | 15.81±0.029 | 16.19±0.025 | 18.34±0.020 | 18.45±0.014 | 25.13±0.019 |
| 9 | 16.07±0.014 | 4.12±0.013 | 4.59±0.030 | 4.07±0.019 | 13.25±0.023 | 10.93±0.032 | 11.01±0.029 | 16.05±0.022 | 15.99±0.017 | 24.98±0.015 |
| 12 | 14.21±0.017 | 1.67±0.015 | 1.71±0.029 | 1.16±0.024 | 7.13±0.026 | 6.01±0.034 | 6.11±0.035 | 14.04±0.025 | 13.87±0.021 | 25.11±0.017 |
| 15 | 8.12±0.015 | 0.22±0.019 | 0.26±0.035 | 0.26±0.018 | 2.13±0.024 | 2.05±0.037 | 2.45±0.043 | 9.56±0.029 | 9.07±0.025 | 25.01±0.013 |
| 18 | 4.71±0.017 | 0 | 0 | 0 | 0.35±0.021 | 0.76±0.040 | 0.54±0.051 | 5.98±0.033 | 5.21±0.029 | 25.11±0.012 |
| 21 | 3.03±0.019 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.87±0.037 | 3.31±0.033 | 25.14±0.018 |
| 24 | 1.25±0.020 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.78±0.039 | 1.29±0.039 | 25.07±0.015 |
| 27 | 0.91±0.022 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.14±0.018 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 23.03±0.019 |

Tabla A-I.6. Datos de la decoloración del NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 6, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (h) | 0 μM | 500 μM | 750 μM | 1000 μM | 1250 μM | 1500 μM | 1750 μM | 2000 μM | 2500 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| 0 | 25.01±0.012 | 25.11±0.031 | 25.05±0.021 | 25.1±0.017 | 25.17±0.009 | 25.19±0.005 | 25.08±0.012 | 25.03±0.034 | 25.12±0.022 | 25.12±0.018 |
| 3 | 22.54±0.012 | 21.98±0.038 | 22.01±0.023 | 20.71±0.020 | 21.61±0.012 | 21.13±0.009 | 21.17±0.17 | 17.25±0.039 | 21.38±0.030 | 25.16±0.020 |
| 6 | 18.81±0.015 | 16.33±0.041 | 17.29±0.027 | 15.73±0.025 | 18.34±0.016 | 18.21±0.012 | 18.32±0.021 | 10.02±0.047 | 18.34±0.046 | 25.11±0.021 |
| 9 | 15.86±0.018 | 11.28±0.047 | 12.34±0.029 | 9.21±0.028 | 16.05±0.021 | 15.77±0.014 | 16.05±0.025 | 3.09±0.055 | 16.05±0.061 | 25.09±0.020 |
| 12 | 13.04±0.021 | 6.39±0.055 | 7.02±0.033 | 2.82±0.030 | 13.31±0.028 | 13.87±0.019 | 13.21±0.029 | 0 | 13.22±0.070 | 25.12±0.019 |
| 15 | 7.77±0.020 | 3.13±0.061 | 3.88±1.038 | 0 | 9.32±0.033 | 9.07±0.022 | 8.88±0.033 | 0 | 7.99±0.083 | 25.05±0.016 |
| 18 | 3.14±0.024 | 0.89±0.073 | 0.8±1.041 | 0 | 5.98±0.035 | 5.21±0.026 | 5.01±0.040 | 0 | 3.27±0.088 | 25.03±0.009 |
| 21 | 2.01±0.023 | 0 | 0 | 0 | 2.97±0.040 | 3.31±0.034 | 2.9±0.045 | 0 | 0.54±0.094 | 25.1±0.021 |
| 24 | 1.34±0.027 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.023 |
| 27 | 0.07±0.022 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.01±0.016 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.05±0.018 |

Tabla A-1.7. Datos de la decoloración del NA-7 obtenidos en la prueba exploratoria No. 7, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (h) | 0 μM | 15 μM | 18 μM | 20 μM | 22 μM | 25 μM | 500 μM | 1000 μM | 2000 μM | Testigo |
|-------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| 0 | 25.11±0.019 | 25.1±0.035 | 25.14±0.023 | 25.04±0.051 | 25.01±0.037 | 25.09±0.009 | 25.16±0.007 | 25.15±0.019 | 25.03±0.027 | 25.13±0.011 |
| 3 | 22.07±0.026 | 18.26±0.046 | 4.02±0.041 | 4.81±0.073 | 17.76±0.042 | 16.36±0.021 | 21.98±0.010 | 21.29±0.027 | 21.19±0.033 | 15.09±0.016 |
| 6 | 18.71±0.028 | 12.7±0.055 | 0 | 0 | 8.01±0.058 | 8.27±0.042 | 16.33±0.016 | 17.9±0.034 | 18.45±0.040 | 25.06±0.014 |
| 9 | 15.43±0.034 | 3.45±0.071 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11.28±0.027 | 14.01±0.041 | 15.64±0.046 | 25.11±0.010 |
| 12 | 12.89±0.039 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6.39±0.033 | 9.56±0.047 | 13.21±0.053 | 25.08±0.021 |
| 15 | 8.01±0.045 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.13±0.039 | 5.81±0.055 | 8.64±0.059 | 25.11±0.015 |
| 18 | 3.96±0.059 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.89±0.048 | 3.12±0.060 | 2.25±0.066 | 25.10±0.014 |
| 21 | 1.99±0.067 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.05±0.066 | 0.89±0.078 | 25.13±0.017 |
| 24 | 0.36±0.071 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.16±0.011 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.07±0.013 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09±0.011 |

Tabla A-1.8. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 1, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (d) | 0 μM | 3 μM | 5 μM | 8 μM | 10 μM | 13 μM | 15 μM | 18 μM | 20 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
| 0 | 25.01±0.006 | 25.16±0.011 | 25.11±0.009 | 25.05±0.017 | 25.19±0.014 | 25.09±0.005 | 25.03±0.013 | 25.06±0.017 | 25.22±0.018 | 25.13±0.008 |
| 1 | 22.18±0.018 | 22.97±0.021 | 22.22±0.017 | 22.87±0.022 | 23.44±0.022 | 23.11±0.012 | 22.19±0.019 | 23.12±0.013 | 23.16±0.012 | 25.25±0.022 |
| 2 | 19.14±0.015 | 20.05±0.017 | 19.67±0.026 | 18.99±0.027 | 19.19±0.028 | 18.89±0.026 | 19.12±0.024 | 18.68±0.016 | 18.11±0.018 | 25.1±0.016 |
| 3 | 15.19±0.017 | 16.11±0.025 | 15.76±0.029 | 15.13±0.030 | 15.03±0.033 | 14.67±0.032 | 14.98±0.027 | 14.92±0.021 | 15.03±0.025 | 25.01±0.014 |
| 4 | 11.55±0.022 | 12.38±0.031 | 12.16±0.024 | 12.54±0.036 | 12.34±0.039 | 11.98±0.028 | 11.37±0.029 | 10.79±0.016 | 9.47±0.021 | 25.11±0.021 |
| 5 | 7.78±0.029 | 8.56±0.036 | 8.43±0.031 | 8.01±0.041 | 7.51±0.045 | 7.78±0.044 | 7.03±0.031 | 6.44±0.023 | 6.25±0.027 | 25.10±0.015 |
| 6 | 4.21±0.031 | 6.02±0.038 | 5.31±0.042 | 5.17±0.048 | 4.23±0.053 | 5.05±0.051 | 3.28±0.034 | 3.21±0.014 | 4.27±0.023 | 25.07±0.018 |
| 7 | 2.16±0.034 | 4.07±0.042 | 3.29±0.038 | 4.44±0.056 | 3.2±0.067 | 3.21±0.053 | 2.91±0.039 | 2.80±0.024 | 3.32±0.036 | 25.01±0.010 |
| 8 | 1.9±0.038 | 2.88±0.049 | 2.21±0.053 | 3.19±0.062 | 2.47±0.075 | 2.29±0.067 | 2.17±0.042 | 1.91±0.028 | 2.26±0.031 | 25.11±0.016 |
| 9 | 1.43±0.044 | 1.76±0.058 | 2.02±0.062 | 1.98±0.074 | 1.76±0.087 | 1.77±0.073 | 1.72±0.047 | 1.05±0.033 | 1.54±0.045 | 24.85±0.017 |
| 10 | 1.37±0.051 | 1.06±0.066 | 1.27±0.075 | 1.22±0.079 | 1.31±0.091 | 0.95±0.080 | 1.04±0.051 | 0.91±0.056 | 1.02±0.057 | 25.11±0.013 |

Tabla A-1.9. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No.2, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (d) | 0 μM | 5 μM | 10 μM | 15 μM | 20 μM | 25 μM | 30 μM | 40 μM | 50 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
| 0 | 25.07±0.029 | 25.19±0.007 | 25.11±0.010 | 25.11±0.016 | 25.17±0.012 | 25.04±0.009 | 25.17±0.011 | 25.01±0.016 | 24.99±0.021 | 25.11±0.012 |
| 1 | 22.11±0.023 | 22.35±0.014 | 23.41±0.012 | 22.07±0.021 | 22.81±0.022 | 22.90±0.012 | 23.15±0.017 | 23.19±0.027 | 23.81±0.033 | 25.25±0.019 |
| 2 | 19.2±0.034 | 19.75±0.012 | 19.13±0.019 | 18.95±0.019 | 17.73±0.018 | 18.22±0.019 | 18.45±0.015 | 19.21±0.021 | 18.83±0.019 | 24.98±0.027 |
| 3 | 15.33±0.038 | 15.89±0.032 | 14.95±0.014 | 15.03±0.026 | 14.40±0.026 | 13.81±0.015 | 14.14±0.023 | 15.07±0.029 | 14.31±0.026 | 25.01±0.016 |
| 4 | 11.72±0.045 | 12.04±0.027 | 12.14±0.028 | 11.07±0.031 | 8.93±0.021 | 9.07±0.021 | 8.31±0.029 | 8.13±0.032 | 9.70±0.031 | 25.11±0.012 |
| 5 | 7.97±0.056 | 8.03±0.029 | 7.33±0.026 | 6.81±0.038 | 5.69±0.029 | 4.74±0.027 | 3.97±0.033 | 3.23±0.040 | 2.93±0.037 | 25.10±0.019 |
| 6 | 4.01±0.067 | 5.24±0.038 | 4.41±0.036 | 3.59±0.037 | 3.21±0.037 | 3.17±0.038 | 2.17±0.030 | 1.78±0.051 | 1.83±0.042 | 25.07±0.015 |
| 7 | 2.25±0.073 | 3.41±0.042 | 3.47±0.046 | 3.07±0.028 | 2.91±0.044 | 2.84±0.045 | 2.03±0.039 | 1.30±0.058 | 1.25±0.050 | 25.01±0.014 |
| 8 | 1.88±0.075 | 2.11±0.054 | 2.73±0.050 | 2.77±0.030 | 2.64±0.050 | 2.41±0.041 | 1.47±0.045 | 1.23±0.072 | 0.93±0.044 | 25.11±0.011 |
| 9 | 1.44±0.091 | 1.95±0.048 | 1.85±0.047 | 1.93±0.035 | 1.99±0.061 | 2.10±0.056 | 1.03±0.056 | 1.08±0.076 | 0.63±0.051 | 24.85±0.012 |
| 10 | 1.30±0.083 | 1.17±0.061 | 1.29±0.061 | 1.34±0.037 | 1.40±0.066 | 1.31±0.060 | 0.99±0.063 | 0.8±0.088 | 0.25±0.062 | 25.06±0.018 |

Tabla A-I.10. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 3, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM)

| T (d) | 0 μM | 50 μM | 75 μM | 100 μM | 125 μM | 150 μM | 175 μM | 200 μM | 225 μM | Testigo |
|-------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| 0 | 25.01±0.021 | 25.14±0.012 | 24.98±0.013 | 25.16±0.010 | 25.18±0.012 | 25.03±0.017 | 25.22±0.014 | 25.03±0.018 | 25.17±0.011 | 25.17±0.029 |
| 1 | 23.01±0.025 | 19.71±0.019 | 16.54±0.019 | 13.85±0.015 | 12.48±0.019 | 11.92±0.025 | 11.26±0.022 | 11.01±0.030 | 10.93±0.054 | 25.12±0.016 |
| 2 | 20.14±0.023 | 14.84±0.025 | 9.13±0.029 | 2.88±0.017 | 2.06±0.023 | 1.67±0.035 | 1.44±0.025 | 0.98±0.044 | 0 | 25.07±0.023 |
| 3 | 15.91±0.030 | 9.22±0.030 | 4.12±0.036 | 0.38±0.024 | 0.18±0.030 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.01±0.028 |
| 4 | 11.38±0.028 | 6.31±0.042 | 2.03±0.049 | 0.14±0.021 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 24.98±0.019 |
| 5 | 8.81±0.033 | 2.85±0.051 | 0.14±0.054 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.023 |
| 6 | 4.53±0.037 | 1.40±0.059 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.15±0.039 |
| 7 | 3.10±0.044 | 0.35±0.074 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.07±0.026 |
| 8 | 2.49±0.052 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.19±0.020 |
| 9 | 1.95±0.073 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.03±0.027 |
| 10 | 1.41±0.084 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.01±0.021 |

Tabla A-I.11. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 4, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (d) | 0 μM | 100 μM | 150 μM | 200 μM | 250 μM | 300 μM | 350 μM | 400 μM | 450 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| 0 | 25.11±0.012 | 25.16±0.019 | 25.03±0.017 | 25.14±0.023 | 25.23±0.031 | 25.17±0.023 | 25.23±0.013 | 25.11±0.025 | 25.16±0.021 | 25.21±0.017 |
| 1 | 23.22±0.014 | 13.85±0.026 | 11.92±0.029 | 11.01±0.038 | 11.11±0.056 | 11.68±0.019 | 12.87±0.022 | 11.94±0.033 | 12.54±0.028 | 25.08±0.021 |
| 2 | 20.09±0.020 | 2.88±0.038 | 1.67±0.045 | 0.98±0.057 | 0.98±0.077 | 2.77±0.045 | 3.98±0.041 | 1.52±0.046 | 3.16±0.037 | 25.17±0.027 |
| 3 | 15.73±0.023 | 0.38±0.051 | 0 | 0 | 0 | 0.38±0.068 | 0.78±0.069 | 0.12±0.060 | 0.15±0.049 | 25.15±0.024 |
| 4 | 11.08±0.021 | 0.14±0.067 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.19±0.029 |
| 5 | 9.02±0.027 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.022 |
| 6 | 4.83±0.032 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09±0.019 |
| 7 | 3.61±0.048 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.16±0.026 |
| 8 | 2.99±0.056 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.018 |
| 9 | 1.68±0.067 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.03±0.015 |
| 10 | 1.14±0.079 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.16±0.020 |

Tabla A-I.12. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 5, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (d) | 0 μM | 200 μM | 250 μM | 500 μM | 600 μM | 700 μM | 800 μM | 900 μM | 1000 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------|
| 0 | 25.14±0.012 | 25.11±0.017 | 25.23±0.016 | 25.17±0.025 | 25.07±0.031 | 25.01±0.008 | 25.09±0.014 | 25.1±0.019 | 25.19±0.012 | 25.25±0.011 |
| 1 | 22.84±0.020 | 10.56±0.028 | 11.03±0.027 | 22.15±0.027 | 17.44±0.029 | 21.81±0.012 | 19.76±0.019 | 23.01±0.024 | 22.11±0.015 | 25.11±0.012 |
| 2 | 19.71±0.033 | 0.65±0.041 | 0.93±0.041 | 17.88±0.022 | 15.42±0.038 | 16.72±0.020 | 14.26±0.023 | 19.76±0.030 | 18.76±0.022 | 25.01±0.017 |
| 3 | 15.05±0.027 | 0 | 0 | 11.94±0.031 | 11.82±0.043 | 10.13±0.027 | 9.43±0.029 | 14.01±0.036 | 15.15±0.029 | 25.21±0.020 |
| 4 | 10.98±0.038 | 0 | 0 | 8.65±0.037 | 9.91±0.049 | 7.49±0.031 | 6.13±0.032 | 10.01±0.043 | 10.19±0.037 | 25.13±0.015 |
| 5 | 7.01±0.052 | 0 | 0 | 4.24±0.036 | 4.12±0.054 | 4.01±0.040 | 3.65±0.038 | 5.13±0.051 | 6.23±0.043 | 25.07±0.017 |
| 6 | 4.97±0.062 | 0 | 0 | 2.17±0.048 | 1.71±0.062 | 1.91±0.035 | 1.56±0.037 | 2.12±0.068 | 3.21±0.050 | 25.11±0.014 |
| 7 | 3.90±0.055 | 0 | 0 | 0.99±0.060 | 0.09±0.078 | 0.13±0.052 | 0 | 0 | 0.79±0.061 | 25.17±0.014 |
| 8 | 3.34±0.077 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.011 |
| 9 | 1.19±0.080 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.013 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.18±0.018 |

Tabla A-I.13. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 6, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (d) | 0 μM | 500 μM | 750 μM | 1000 μM | 1250 μM | 1500 μM | 1750 μM | 2000 μM | 2500 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| 0 | 25.14±0.010 | 25.04±0.016 | 25.01±0.013 | 25.18±0.019 | 25.23±0.023 | 25.09±0.019 | 25.05±0.017 | 25.01±0.022 | 25.15±0.010 | 25.19±0.012 |
| 1 | 22.12±0.014 | 22.15±0.019 | 21.81±0.015 | 22.11±0.028 | 22.18±0.028 | 23.13±0.025 | 22.78±0.021 | 23.26±0.029 | 22.83±0.013 | 25.11±0.015 |
| 2 | 18.99±0.017 | 17.88±0.017 | 16.72±0.021 | 18.76±0.034 | 18.7±0.034 | 21.23±0.033 | 20.97±0.026 | 19.29±0.038 | 19.18±0.019 | 25.01±0.013 |
| 3 | 15.25±0.022 | 11.94±0.028 | 10.13±0.026 | 15.15±0.044 | 15.03±0.037 | 17.81±0.038 | 18.02±0.030 | 16.14±0.035 | 15.63±0.032 | 25.4±0.015 |
| 4 | 10.88±0.025 | 8.65±0.041 | 7.49±0.031 | 10.19±0.055 | 8.95±0.043 | 14.1±0.044 | 15.22±0.034 | 13.12±0.041 | 12.47±0.043 | 25.13±0.011 |
| 5 | 7.17±0.027 | 4.24±0.057 | 4.01±0.036 | 6.23±0.060 | 3.93±0.049 | 8.15±0.049 | 12.19±0.031 | 8.47±0.053 | 8.82±0.058 | 25.07±0.017 |
| 6 | 5.02±0.033 | 2.17±0.066 | 1.91±0.042 | 3.21±0.061 | 0.91±0.056 | 2.17±0.058 | 8.81±0.041 | 5.29±0.061 | 5.44±0.069 | 25.11±0.014 |
| 7 | 3.84±0.042 | 0.99±0.075 | 0.13±0.066 | 0.79±0.069 | 0 | 0.83±0.068 | 5.44±0.048 | 3.32±0.075 | 2.58±0.074 | 25.11±0.016 |
| 8 | 1.89±0.056 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.77±0.055 | 1.01±0.083 | 0.93±0.086 | 25.13±0.018 |
| 9 | 0.78±0.070 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.23±0.063 | 0 | 0 | 25.11±0.012 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.01±0.011 |

Tabla A-I.14. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 7, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (d) | 0 μM | 150 μM | 180 μM | 200 μM | 230 μM | 250 μM | 280 μM | 420 μM | 450 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| 0 | 25.05±0.029 | 25.17±0.019 | 25.27±0.015 | 25.06±0.017 | 25.23±0.022 | 25.11±0.012 | 25.14±0.019 | 25.11±0.018 | 25.29±0.022 | 25.06±0.018 |
| 1 | 22.91±0.035 | 11.74±0.033 | 10.78±0.027 | 10.45±0.035 | 7.98±0.041 | 10.26±0.018 | 11.72±0.033 | 12.45±0.031 | 13.47±0.034 | 25.12±0.020 |
| 2 | 20.45±0.047 | 1.59±0.051 | 1.02±0.042 | 0.67±0.049 | 0 | 0.78±0.027 | 3.14±0.051 | 0.97±0.028 | 3.08±0.041 | 25.07±0.014 |
| 3 | 16.01±0.059 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.87±0.042 | 0 | 0 | 25.01±0.016 |
| 4 | 12.03±0.071 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.15±0.021 |
| 5 | 9.22±0.066 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09±0.017 |
| 6 | 5.09±0.078 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.04±0.019 |
| 7 | 3.18±0.081 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.07±0.013 |
| 8 | 2.34±0.085 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.011 |
| 9 | 1.58±0.089 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.012 |
| 10 | 0.34±0.095 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.12±0.018 |

Tabla A-I.15. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 8, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (d) | 0 μM | 210 μM | 220 μM | 230 μM | 240 μM | 250 μM | 410 μM | 430 μM | 440 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| 0 | 25.13±0.021 | 25.16±0.016 | 25.06±0.019 | 25.17±0.024 | 25.01±0.029 | 24.88±0.031 | 25.11±0.027 | 25.21±0.018 | 25.17±0.017 | 25.16±0.009 |
| 1 | 22.77±0.028 | 10.11±0.025 | 10.04±0.027 | 9.30±0.048 | 11.94±0.034 | 18.19±0.049 | 13.16±0.037 | 10.15±0.034 | 13.41±0.026 | 25.14±0.012 |
| 2 | 20.83±0.035 | 0.68±0.032 | 0.55±0.043 | 0 | 3.14±0.038 | 12.75±0.057 | 4.16±0.046 | 0 | 2.18±0.043 | 25.17±0.010 |
| 3 | 16.01±0.031 | 0 | 0 | 0 | 1.16±0.040 | 5.34±0.068 | 0 | 0 | 0 | 25.12±0.017 |
| 4 | 11.44±0.042 | 0 | 0 | 0 | 0.89±0.056 | 1.18±0.074 | 0 | 0 | 0 | 25.17±0.013 |
| 5 | 9.12±0.048 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09±0.012 |
| 6 | 5.02±0.055 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.12±0.011 |
| 7 | 3.33±0.050 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.03±0.014 |
| 8 | 2.22±0.061 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.015 |
| 9 | 1.67±0.072 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.17±0.011 |
| 10 | 0.48±0.077 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.17±0.010 |

Tabla A-I.16. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba exploratoria No. 9, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (d) | 0 μm | 225 μm | 230 μm | 235 μm | 240 μm | 420 μm | 425 μm | 430 μm | 435 μm | Testigo |
|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 0 | 25.01 \pm 0.018 | 25.04 \pm 0.010 | 25.07 \pm 0.023 | 25.09 \pm 0.019 | 25.11 \pm 0.016 | 25.04 \pm 0.019 | 25.12 \pm 0.017 | 25.22 \pm 0.023 | 25.19 \pm 0.016 | 25.09 \pm 0.012 |
| 1 | 22.45 \pm 0.023 | 10.35 \pm 0.043 | 9.05 \pm 0.048 | 10.11 \pm 0.045 | 10.18 \pm 0.021 | 13.01 \pm 0.034 | 12.06 \pm 0.029 | 9.82 \pm 0.052 | 12.77 \pm 0.022 | 25.1 \pm 0.011 |
| 2 | 20.47 \pm 0.029 | 0.04 \pm 0.013 | 0 | 0.09 \pm 0.009 | 3.64 \pm 0.031 | 3.27 \pm 0.048 | 3.01 \pm 0.051 | 0 | 2.41 \pm 0.049 | 25.11 \pm 0.010 |
| 3 | 15.89 \pm 0.036 | 0 | 0 | 0 | 1.02 \pm 0.061 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09 \pm 0.017 |
| 4 | 11.62 \pm 0.042 | 0 | 0 | 0 | 0.12 \pm 0.008 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.12 \pm 0.015 |
| 5 | 9.16 \pm 0.048 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09 \pm 0.018 |
| 6 | 5.14 \pm 0.046 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13 \pm 0.010 |
| 7 | 3.27 \pm 0.052 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.06 \pm 0.011 |
| 8 | 2.09 \pm 0.058 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.06 \pm 0.015 |
| 9 | 1.29 \pm 0.063 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.12 \pm 0.013 |
| 10 | 0.09 \pm 0.070 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.16 \pm 0.017 |

A-II

Tabla A-II.1. Datos de la decoloración del NA-7 obtenidos en la prueba confirmatoria, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (h) | 0 μM | 15 μM | 16 μM | 17 μM | 18 μM | 19 μM | 20 μM | 21 μM | 24 μM | Testigo |
|-------|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|
| 0 | 25.11±0.021 | 25.03±0.012 | 25.13±0.009 | 25.17±0.015 | 25.05±0.010 | 25.19±0.016 | 24.97±0.022 | 25.06±0.020 | 25.11±0.018 | 25.01±0.014 |
| 1 | 24.19±0.022 | 23.82±0.02 | 23.72±0.012 | 21.34±0.021 | 20.83±0.014 | 21.51±0.020 | 23.17±0.026 | 23.83±0.027 | 23.82±0.026 | 25.13±0.012 |
| 2 | 23.01±0.019 | 22.01±0.02 | 21.67±0.014 | 17.79±0.019 | 15.67±0.018 | 17.94±0.019 | 22.04±0.024 | 21.25±0.031 | 22.17±0.030 | 25.07±0.012 |
| 3 | 21.73±0.017 | 21.65±0.02 | 20.22±0.016 | 15.32±0.027 | 9.07±0.025 | 15.55±0.024 | 19.20±0.034 | 20.56±0.038 | 20.91±0.033 | 25.01±0.016 |
| 4 | 19.83±0.025 | 20.04±0.02 | 18.01±0.015 | 11.88±0.033 | 5.93±0.029 | 11.47±0.028 | 15.73±0.039 | 18.74±0.046 | 18.09±0.037 | 25.01±0.013 |
| 5 | 18.70±0.023 | 19.54±0.02 | 16.22±0.017 | 9.02±0.037 | 2.82±0.032 | 7.31±0.035 | 12.97±0.044 | 17.07±0.050 | 16.88±0.034 | 25.09±0.014 |
| 6 | 17.94±0.027 | 17.88±0.02 | 14.03±0.020 | 6.23±0.041 | 0.34±0.039 | 3.09±0.038 | 8.17±0.047 | 14.73±0.056 | 15.36±0.041 | 25.07±0.012 |
| 7 | 16.99±0.022 | 15.43±0.02 | 11.54±0.025 | 3.87±0.046 | 0 | 0.93±0.044 | 5.29±0.051 | 12.91±0.048 | 13.19±0.047 | 25.13±0.017 |
| 8 | 15.96±0.015 | 12.98±0.02 | 8.96±0.023 | 1.04±0.045 | 0 | 0 | 3.03±0.066 | 10.85±0.057 | 11.07±0.050 | 25.08±0.011 |
| 9 | 15.20±0.026 | 11.62±0.02 | 5.82±0.029 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8.65±0.063 | 9.85±0.055 | 25.01±0.010 |
| 10 | 14.76±0.029 | 10.02±0.02 | 2.61±0.032 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7.21±0.067 | 8.07±0.061 | 25.03±0.014 |
| 11 | 13.99±0.031 | 8.84±0.02 | 0.83±0.035 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4.12±0.070 | 6.83±0.065 | 25.11±0.017 |
| 12 | 13.01±0.025 | 6.79±0.02 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2.75±0.061 | 5.95±0.069 | 25.07±0.015 |
| 13 | 10.95±0.028 | 4.22±0.02 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.04±0.017 | 3.35±0.074 | 25.08±0.011 |
| 14 | 8.75±0.030 | 2.76±0.02 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2.18±0.060 | 25.20±0.019 |
| 15 | 7.21±0.033 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.09±0.054 | 25.15±0.011 |
| 16 | 6.93±0.035 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.01±0.013 |
| 17 | 6.09±0.039 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.012 |
| 18 | 5.48±0.037 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.017 |
| 19 | 4.87±0.038 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.04±0.016 |
| 20 | 4.03±0.041 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.07±0.012 |
| 21 | 3.65±0.045 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.03±0.014 |
| 22 | 2.95±0.043 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.08±0.016 |
| 23 | 2.39±0.049 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 24.89±0.013 |
| 24 | 2.06±0.050 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.03±0.014 |
| 25 | 1.56±0.055 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 24.93±0.015 |
| 26 | 1.01±0.053 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.011 |
| 27 | 0.90±0.038 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.02±0.009 |
| 28 | 0.05±0.012 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.07±0.010 |
| 29 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.14±0.017 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09±0.012 |

Tabla A-II.2. Datos de la decoloración del AA-113 obtenidos en la prueba confirmatoria, la concentración de DSAQ está indicada en micro moles por litro (μM).

| T (h) | 0 μM | 228 μM | 229 μM | 230 μM | 231 μM | 428 μM | 429 μM | 430 μM | 431 μM | Testigo |
|-------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|
| 0 | 25.17±0.009 | 25.13±0.011 | 25.11±0.018 | 25.09±0.021 | 25.01±0.017 | 25.16±0.026 | 25.14±0.018 | 25.11±0.009 | 25.04±0.024 | 25.19±0.012 |
| 4 | 24.92±0.010 | 23.44±0.015 | 22.98±0.023 | 21.67±0.018 | 23.09±0.020 | 23.43±0.022 | 23.79±0.014 | 22.45±0.012 | 22.78±0.027 | 25.11±0.016 |
| 8 | 24.69±0.013 | 19.86±0.017 | 19.34±0.029 | 17.19±0.023 | 20.01±0.029 | 20.19±0.028 | 22.06±0.016 | 19.87±0.014 | 19.43±0.021 | 25.01±0.013 |
| 12 | 24.28±0.010 | 18.58±0.021 | 17.02±0.034 | 12.92±0.029 | 18.44±0.031 | 18.92±0.033 | 20.67±0.023 | 17.19±0.019 | 18.59±0.033 | 25.10±0.021 |
| 16 | 23.89±0.016 | 15.83±0.024 | 13.21±0.037 | 8.73±0.032 | 15.85±0.045 | 17.03±0.037 | 18.45±0.028 | 15.21±0.025 | 16.76±0.045 | 25.08±0.014 |
| 20 | 23.34±0.012 | 12.04±0.029 | 9.78±0.042 | 5.29±0.040 | 13.48±0.061 | 15.23±0.040 | 16.66±0.034 | 11.73±0.029 | 14.79±0.060 | 25.07±0.019 |
| 24 | 22.05±0.015 | 9.63±0.031 | 7.07±0.047 | 3.48±0.059 | 11.09±0.070 | 13.76±0.045 | 14.81±0.043 | 8.06±0.036 | 12.56±0.079 | 25.1±0.011 |
| 28 | 21.33±0.019 | 7.41±0.037 | 5.91±0.050 | 1.65±0.064 | 9.73±0.074 | 11.12±0.049 | 13.02±0.047 | 5.19±0.040 | 10.82±0.084 | 25.17±0.018 |
| 32 | 20.45±0.021 | 5.82±0.040 | 4.16±0.056 | 1.02±0.077 | 7.59±0.081 | 9.88±0.056 | 10.24±0.051 | 3.07±0.045 | 9.12±0.078 | 25.11±0.014 |
| 36 | 19.47±0.025 | 4.91±0.046 | 2.93±0.062 | 0.46±0.082 | 5.82±0.088 | 7.76±0.063 | 8.45±0.057 | 2.12±0.052 | 7.62±0.086 | 25.17±0.025 |
| 40 | 18.35±0.023 | 3.77±0.051 | 1.68±0.069 | 0 | 3.21±0.076 | 6.06±0.078 | 6.22±0.062 | 1.76±0.058 | 5.95±0.091 | 25.14±0.011 |
| 44 | 17.91±0.026 | 2.22±0.054 | 1.23±0.073 | 0 | 1.79±0.069 | 4.45±0.080 | 5.05±0.068 | 1.34±0.067 | 4.41±0.073 | 25.09±0.017 |
| 48 | 17.73±0.029 | 1.39±0.059 | 0.89±0.065 | 0 | 0.54±0.060 | 2.81±0.076 | 3.67±0.074 | 1.02±0.071 | 3.07±0.065 | 25.19±0.011 |
| 52 | 17.09±0.027 | 0.76±0.063 | 0 | 0 | 0 | 1.61±0.084 | 1.73±0.064 | 0.67±0.079 | 2.26±0.071 | 25.11±0.016 |
| 58 | 16.95±0.032 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.03±0.089 | 0.97±0.067 | 0 | 1.54±0.064 | 25.01±0.018 |
| 60 | 16.38±0.036 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.78±0.064 | 0 | 0 | 0.69±0.052 | 25.10±0.013 |
| 64 | 15.98±0.039 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.08±0.010 |
| 68 | 15.07±0.035 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.07±0.011 |
| 72 | 14.34±0.033 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.10±0.012 |
| 76 | 13.89±0.038 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.17±0.019 |
| 80 | 13.72±0.041 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.014 |
| 84 | 12.95±0.047 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.17±0.016 |
| 88 | 12.53±0.042 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.14±0.019 |
| 92 | 11.95±0.044 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09±0.014 |
| 96 | 11.28±0.049 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.017 |
| 100 | 10.87±0.052 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.08±0.026 |
| 104 | 10.51±0.058 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.05±0.022 |
| 108 | 10.16±0.051 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.011 |
| 112 | 9.81±0.056 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.14±0.010 |
| 116 | 9.49±0.059 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.14±0.015 |
| 120 | 9.04±0.062 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 24.18±0.013 |
| 124 | 8.68±0.066 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.019 |
| 128 | 7.99±0.069 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.04±0.016 |
| 132 | 7.52±0.068 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09±0.021 |
| 136 | 6.93±0.075 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.13±0.019 |
| 140 | 6.07±0.071 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.18±0.012 |
| 144 | 5.02±0.078 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.16±0.011 |
| 148 | 4.61±0.074 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.06±0.015 |
| 152 | 4.34±0.079 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.11±0.017 |
| 156 | 4.06±0.085 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.18±0.014 |
| 160 | 3.62±0.088 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.16±0.015 |
| 164 | 3.28±0.083 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.09±0.010 |
| 168 | 3.09±0.088 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25.15±0.012 |

A-III

Tabla A-III.1. Valores de las constantes cinéticas (k) y coeficientes de correlación (R^2) obtenidas del ajuste al modelo cinético de orden cero para las pruebas confirmatorias de decoloración del NA-7 y AA-113

| Colorante | DSAQ (μM) | k (h^{-1}) | R^2 |
|-----------------|------------------------|-------------------------|--------|
| Naranja Ácido 7 | 0 | 0.1229 | 0.9306 |
| | 15 | 0.1383 | 0.8746 |
| | 16 | 0.2522 | 0.7775 |
| | 17 | 0.3416 | 0.8610 |
| | 18 | 0.6382 | 0.8467 |
| | 19 | 0.4261 | 0.8485 |
| | 20 | 0.2541 | 0.8911 |
| | 21 | 0.2166 | 0.5557 |
| | 24 | 0.1798 | 0.8769 |
| Azul Ácido 113 | 0 | 0.0336 | 0.9911 |
| | 228 | 0.2544 | 0.9434 |
| | 229 | 0.2887 | 0.9727 |
| | 230 | 0.4457 | 0.9609 |
| | 231 | 0.2658 | 0.8411 |
| | 428 | 0.2258 | 0.9087 |
| | 429 | 0.2075 | 0.8771 |
| | 430 | 0.2981 | 0.9727 |
| | 431 | 0.2123 | 0.9154 |

Tabla A-III.2. Valores de las constantes de velocidad media de decoloración (k_s), de la tasa máxima de decoloración (q_m) y los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos del ajuste al modelo cinético de Monod para las pruebas confirmatorias de decoloración del NA-7 y AA-113.

| Colorante | DSAQ (μM) | K_s / q_m | $1/q_m$ | k_s (mg/L) | q_m mg/L*h | R^2 |
|------------------------|------------------------|-------------|---------|--------------|-----------------|--------|
| Naranja Ácido 7 | 0 | 1.4162 | 1.2926 | 1.0955 | 0.7736 | 0.1401 |
| | 15* | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 16 | 0.2967 | 0.4499 | 0.6594 | 2.2227 | 0.6745 |
| | 17 | 0.3410 | 0.2964 | 1.1504 | 3.3738 | 0.9365 |
| | 18** | 0.4684 | 0.1802 | 2.5992 | 5.5493 | 0.9970 |
| | 19 | 0.3812 | 0.2526 | 1.5090 | 3.9588 | 0.9419 |
| | 20* | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 21 | 0.4892 | 0.5326 | 0.9184 | 1.8775 | 0.9976 |
| | 24 | 0.1712 | 0.6665 | 0.2568 | 1.5003 | 0.1228 |
| Azul Ácido 113 | 0* | -- | -- | -- | -- | -- |
| | 228 | 2.5053 | 2.2053 | 1.1359 | 0.4534 | 0.7209 |
| | 229 | 2.6966 | 2.4052 | 1.1209 | 0.4157 | 0.2612 |
| | 230** | 1.8998 | 1.7524 | 1.0840 | 0.5706 | 0.9577 |
| | 231 | 1.5100 | 1.8435 | 0.8190 | 0.5424 | 0.9128 |
| | 428 | 2.0919 | 2.6062 | 0.8026 | 0.3837 | 0.3105 |
| | 429 | 0.5397 | 2.5385 | 0.2125 | 0.3939 | 0.0343 |
| | 430 | 3.5657 | 3.1186 | 1.1431 | 0.3206 | 0.3829 |
| | 431 | 1.2604 | 2.6850 | 0.4693 | 0.3724 | 0.2296 |

*El modelo no se ajustó a los datos de éstas concentraciones de DSAQ

** Concentraciones de DSAQ a las cuales el modelo se ajustó en mejor forma