



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.
División de Ciencias Ambientales**

**“Modificación Química de Fibras de Carbón Activado y su
Aplicación en procesos de Óxido-Reducción”**

Tesis que presenta

Esther Emilia Ríos Del Toro

**Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Ambientales**

Codirectores de la Tesis

Dra. María de Lourdes Berenice Celis García

Dr. José René Rangel Méndez

San Luis Potosí, S.L.P., Septiembre 2012



Constancia de Aprobación de la Tesis

La presente tesis de Maestría en Ciencias, en la especialidad de Ciencias Ambientales fue elaborada por Esther Emilia Ríos Del Toro y aprobada el **28 de Septiembre de 2012** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ingeniería Ambiental y Manejo de Recursos Naturales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dra. Ma. de Lourdes Berenice Celis García

Dr. José René Rangel Méndez

Codirectores de la tesis

Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo
Asesor de la tesis

Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz
Asesor de la tesis

Créditos institucionales

Esta tesis fue elaborada en la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección de la Dra. María de Lourdes Berenice Celis García y el Dr. José René Rangel Méndez

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT 375938).

Este trabajo fue desarrollado gracias al financiamiento obtenido de los proyectos SEP-CONACYT 155656 otorgado al Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo y SEP-CB-2008-1-105920 otorgado al Dr. José René Rangel Méndez.

El posgrado en Ciencias Aplicadas con opción en Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica se encuentra inscrito dentro del Programa Nacional de Posgrados del CONACYT.



Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 063 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Aplicadas en la opción de Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 28 días del mes de septiembre del año 2012, se reunió a las 16:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. Francisco Javier Cervantes Carrillo	Presidente	IPICYT
Dr. Luis Felipe Cházaro Ruiz	Secretario	IPICYT
Dr. José René Rangel Méndez	Sinodal	IPICYT
Dra. María de Lourdes Berenice Celis García	Sinodal	IPICYT

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS APLICADAS
EN LA OPCION DE CIENCIAS AMBIENTALES**

sustentó la C.

Esther Emilia Rios del Toro

sobre la Tesis intitulada:

Modificación Química de Fibras de Carbón Activado y su Aplicación en procesos de Óxido Reducción

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dra. María de Lourdes Berenice Celis García
Dr. José René Rangel Méndez**

El Jurado, después de deliberar, determinó

APROBARLA

Dándose por terminado el acto a las 18:10 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 20 días del mes de septiembre de 2012.


Dr. Marcial Bonilla Martín
Secretario Académico




Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento del Posgrado

Agradecimientos

Por la Gracia de Dios y el apoyo de aquellos que han cobijado con tanto entusiasmo, cariño y respeto mi carrera, se ha podido hacer realidad este proyecto. En él deposito mi entero agradecimiento, a ustedes quienes a lo largo del camino me brindaron los medios para llevar a cabo los sueños, los consejos para dirigirlos y el impulso para lograrlos.

Por supuesto, mi eterna gratitud a mi familia. Imposible sería tratar de poner en papel el inmenso cariño, respeto y admiración hacia ellos.

El más humilde y sincero reconocimiento para mis directores de tesis que siempre estuvieron al pendiente de mí.

A mis compañeros y amigos, por el incondicional apoyo brindado y sus invaluable contribuciones. De ninguna manera hubiera sido posible conseguirlo sin su ayuda. Para ustedes, mi aprecio y respeto.

De manera especial agradezco a las autoridades del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica por los recursos y las facilidades prestadas para la realización de esta investigación. Así como a quienes de una forma u otra contribuyeron en este esfuerzo.

A todos ustedes...

Muchas Gracias.

Índice

Créditos Institucionales	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Índice de Tablas	x
Índice de Figuras	xii
Anexos	xiv
Nomenclatura	xv
Resumen	xvii
Abstract	xviii
1 Introducción	1
2 Marco Teórico	4
2.1 Colorantes Azo	4
2.1.2 Usos Industriales de los colorantes y tipos de agua en las que se encuentra	5
2.1.3 Repercusiones a la salud humana y al medio ambiente	6
2.2 Tratamientos biológicos de los colorantes	7
2.3 Mediadores redox en procesos de óxido reducción	10
2.4 El carbón activado como mediador redox.	13
2.5 Fibras de carbón activado (FCA)	18
3 Justificación	21
4 Hipótesis y Objetivos	23

5 Materiales y Métodos	25
5.1 Materiales	25
5.1.1 Fibra de carbón activado	25
5.1.2 Carbón activado	25
5.1.3 Rojo de metilo	26
5.1.4 Lodo granular	27
5.1.5 Medio de cultivo	27
5.2 Métodos	27
5.2.1 Oxidación de la fibra de carbón activado con ácido nítrico (HNO_3)	27
5.2.2 Caracterización de las fibras de carbón activado	28
5.2.2.1 Análisis elemental	28
5.2.2.2 Fisisorción de nitrógeno	29
5.2.2.3 Infrarrojo con transformada de Fourier	30
5.2.2.4 Punto de carga cero	31
5.2.2.5 Sitios activos	31
5.2.3 Capacidad Aceptora de Electrones (CAE)	33
5.2.3.1 Capacidad aceptora de electrones de las fibras reducidas químicamente con hidrógeno en presencia de paladio	33
5.2.3.2 Capacidad aceptora de electrones de las fibras reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio	34
5.2.4 Reducción de Rojo de metilo (RM)	35
5.2.4.1 Reducción química del rojo de metilo con Na_2S como donador de electrones	35
5.2.4.2 Reducción biológica del rojo de metilo con lodo granular anaerobio y glucosa como donador de electrones	36
5.2.5 Formación de la bio-película en las fibras de carbón activado	37
5.2.6. Reducción de rojo de metilo en presencia de biomasa y de FCA suspendida y con bio-película adherida a las FCA	37

5.2.6.1. Reducción de rojo de metilo en presencia de biomasa suspendida y de FCA	38
5.2.6.2 Reducción del rojo de metilo con bio-película adherida a las FCA	38
5.2.7 Cinética de consumo de sustrato	39
5.3 Análisis	40
5.3.1. Determinación de hierro (III) por la técnica de la ferrocina	40
5.3.2. Cuantificación de la concentración de rojo de metilo	40
5.3.3 Determinación de los sólidos suspendidos volátiles	41
5.3.4 Determinación de azúcares reductores	42
5.4 Cálculos	42
6 Resultados y Discusión	44
6.1 Oxidación de la fibra de carbón activado con ácido nítrico (HNO ₃)	44
6.2 Caracterización de las fibras de carbón activado	45
6.2.1 Análisis Elemental	45
6.2.2 Fisisorción de nitrógeno	46
6.2.3 Infrarrojo con transformada de Fourier	50
6.2.4 Punto de carga cero (PCC)	51
6.2.5 Sitios activos	53
6.3 Capacidad Aceptora de Electrones (CAE)	55
6.3.1 Capacidad aceptora de electrones de las fibras reducidas químicamente con hidrógeno	55
6.3.2 Capacidad aceptora de electrones de las fibras reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio	57
6.4 Reducción de Rojo de metilo	60
6.4.1 Reducción química	61
6.4.2 Reducción Biológica	65

6.5 Formación de la bio-película en las fibras de carbón activado	68
6.6 Comparación de la reducción biológica de rojo de metilo con biomasa en suspensión y en bio-película	72
6.6.1 Reducción biológica con biomasa suspendida	73
6.6.2 Reducción biológica con bio-película	76
6.7 Comparación entre los tratamientos biológicos con, biomasa suspendida, bio-película y el control sin mediador redox	79
6.8 Cinética de consumo de sustrato	82
7 Conclusiones	87
8 Referencias bibliográficas	88
9 Anexos	94

Índice de Tablas

Tabla 2.1. Mediadores redox utilizados en la reducción de colorantes azo con lodo granular anaerobio en experimentos en lote.	11
Tabla 2.2. Carbón activado como mediador redox en la reducción de diferentes colorantes azo.	17
Tabla 5.1. Especificaciones del proveedor de la fibra de carbón activado comercial, KoTHmex TC-66 C.	25
Tabla 5.2. Especificaciones del proveedor del carbón activado, Filtrasorb F-400.	25
Tabla 5.3. Caracterización del carbón activado Filtrasorb F-400.	26
Tabla 6.1. Condiciones de tratamiento de cada una de las fibras, peso inicial y final.	44
Tabla 6.2. Análisis elemental de la fibra sin oxidar y las oxidadas	45
Tabla 6.3. Propiedades físicas y de textura de la fibra sin oxidar y oxidadas con HNO ₃ .	48
Tabla 6.4. Desplazamiento en la señal de grupos carbonilo en la fibra sin oxidar y oxidadas con HNO ₃ .	51
Tabla 6.5. Punto de carga cero de las cinco fibras de carbón activado.	52
Tabla 6.6. Contenido de grupos oxigenados de las fibras.	54
Tabla 6.7. Capacidad final aceptora de electrones de las fibras de carbón activado reducidas químicamente con H ₂ .	56
Tabla 6.8. Descripción de los experimentos realizados para determinar la CAE en las fibras de carbón activado reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio.	58
Tabla 6.9. Capacidad final aceptora de electrones de las fibras reducidas de forma biológica con lodo granular anaerobio.	58
Tabla 6.10. Descripción de los experimentos realizados en la reducción química del rojo de metilo.	61

Tabla 6.11. Valores de la constante de velocidad de primer orden (k) para la reducción química de rojo de metilo con tres diferentes fibras de carbón activado.	62
Tabla 6.12. Descripción de los experimentos realizados en la reducción biológica del rojo de metilo.	66
Tabla 6.13. Valores de la constante de primer orden de la reducción biológica de rojo de metilo con tres tipos de FCA.	68
Tabla 6.14. Experimentos realizados en la reducción biológica del rojo de metilo con biomasa suspendida.	73
Tabla 6.15. Constante de primer orden de la reducción biológica de rojo de metilo con lodo granular anaerobio suspendido, y con tres tipos de FCA.	74
Tabla 6.16. Descripción de los experimentos realizados en las cinéticas de reducción de rojo de metilo con tres tipos de FCA y bio-película adherida.	76
Tabla 6.17. Constante de primer orden de la reducción biológica de rojo de metilo con el lodo granular formando una bio-película en la fibra de carbón activado.	78
Tabla 6.18. Comparación de la constante de velocidad, entre los sistemas sin mediador redox, con biomasa suspendida y en bio-película, con la fibra sin oxidar y oxidada por 1 y 2 horas.	80
Tabla 6.19. Experimentos llevados a cabo en la cinética de remoción de sustrato.	82

Índice de Figuras

Figura 2.1. Estructura molecular de colorantes azo	5
Figura 2.2. Mecanismo general de reacción en la reducción biológica de compuestos electrofílicos en presencia de mediadores redox.	12
Figura 2.3. Carbón activado.	14
Figura 2.4. Posibles estructuras de los grupos funcionales oxigenados en la superficie de las fibras de carbón activado.	14
Figura 2.5. Representación esquemática de los principales grupos superficiales que pueden encontrarse en carbón activado.	15
Figura 2.6. Fibras de carbón activado.	18
Figura 2.7. Reacciones de donación de protones de grupos ácidos.	19
Figura 5.1. Estructura química de rojo de metilo.	26
Figura 5.2. Esquema del reactor de reflujo usado para oxidar la fibra de carbón activado con ácido nítrico.	28
Figura 5.3. Esquema de los pasos involucrados en la reducción de colorantes utilizando fibra de carbón activado como mediador redox. Donde MO = microorganismos.	36
Figura 6.1. Gráfica BET de la fibra sin oxidar.	47
Figura 6.2. Isoterma de adsorción-desorción de nitrógeno a 77 K sobre la fibra sin oxidar.	49
Figura 6.3. Espectros de Infrarrojo de la fibra sin oxidar y las fibras modificadas. Fibra se refiere a la fibra sin oxidar y los tiempos representan el tiempo de oxidación.	50
Figura 6.4. Contenido de grupos oxigenados de la fibra sin oxidar y modificadas.	54
Figura 6.5. Relación entre la CAE y la concentración de sitios activos en la FCA sin modificar y las modificadas con HNO ₃ .	60

Figura 6.6. Reducción química de rojo de metilo con Na ₂ S y tres diferentes FCA.	62
Figura 6.7. Reducción biológica del rojo de metilo con lodo granular anaerobio con tres tipos de FCA	66
Figura 6.8. Crecimiento de microorganismos sobre las FCA	69
Figura 6.9. Fibras de carbón activado sin biomasa adherida y con bio-película después de 3 semanas de contacto.	72
Figura 6.10. Reducción biológica de rojo de metilo con lodo granular anaerobio (0.074 g SSV/L), y con tres tipos de FCA	74
Figura 6.11. Reducción biológica de rojo de metilo con el lodo granular formando una bio-película en la fibra de carbón activado	78
Figura 6.12. Desaparición del color en los experimentos de reducción de rojo de metilo con bio-película en las FCA.	82
Figura 6.13. Comparación de la remoción de sustrato por el lodo granular anaerobio, entre el sistema sin bio-película (biomasa y fibra suspendida) y con bio-película en las FCA.	83
Figura 6.14. Mecanismo de reacción en la reducción biológica de rojo de metilo en presencia de fibras de carbón activado como mediadores redox.	84
Figura 6.15. Comparación de tamaños entre la fibra de carbón activado, grupos funcionales, rojo de metilo y los microorganismos.	86

Anexos

Anexo 1. Experimentos realizados para determinar la capacidad aceptora de electrones neta de las fibras de carbón activado reducidas químicamente con hidrógeno.

Anexo 2. Experimentos realizados para determinar la capacidad aceptora de electrones neta de las fibras reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio.

Nomenclatura

AQDS	Antraquinona-2,6-disulfonato
BET	Brunauer-Emmet-Teller
B + RM	Bio-película + Rojo de metilo
CA	Carbón activado
CA + S + RM	Carbón activado + Sulfuro + Rojo de metilo
CAE	Capacidad aceptora de electrones
DNS	ácido 3,5 dinitrosalicílico
DQO	Demanda química de oxígeno
FCA	Fibra de carbón activado
F + S + RM	Fibra + Sulfuro + Rojo de metilo
F + RM	Fibra + Rojo de metilo
Glu + L + F + RM	Glucosa + Lodo + carbón activado + Rojo de metilo
Glu + L + RM	Glucosa + Lodo + Rojo de metilo
Glu + F + RM	Glucosa + Fibra + Rojo de metilo
L + F	Lodo + Fibra
L + F + RM	Lodo + Fibra + Rojo de metilo
mM	Mili molar
MO	Microorganismos
Meq	Miliequivalentes
PAN	Poliacrilonitrilo
PCC	Punto de carga cero
S + B + RM	Sustrato + Bio-película + Rojo de metilo
S + F	Sustrato + Fibra
S + L	Sustrato + Lodo
S + L + F	Sustrato + Lodo + Fibra

SSV	Sólidos suspendidos volátiles
S + RM	Sulfuro + Rojo de metilo
S ₂ + RM	Sustrato + Rojo de metilo
RM	Rojo de metilo
TRH	Tiempo de retención hidráulico
UASB	Upflow anaerobic sludge blanket (reactor anaerobio de flujo ascendente)

Ríos Del Toro Esther Emilia (2012). Modificación Química de Fibras de Carbón Activado y su Aplicación en procesos de Óxido Reducción. Tesis de Maestría. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. México.

Palabras clave: colorantes azo, oxidación-reducción, fibras de carbón activado, mediador redox, modificación química.

Resumen

Este trabajo reporta por primera vez el uso de fibras de carbón activado FCA modificadas químicamente como mediador redox MR en la reducción de rojo de metilo RM. Así como el efecto de la formación de una bio-película en las FCA sobre la reducción del mismo colorante. Para evaluar el efecto del grado de oxidación de las FCA en la velocidad de reducción del RM, la FCA se modificó químicamente con HNO₃ durante 0.5, 1, 1.5 y 2 horas. El tiempo de oxidación incrementó el porcentaje de oxígeno de la FCA comercial desde 12.29% hasta 28.07% para la fibra con el mayor tiempo de oxidación. Así mismo, la concentración de sitios activos totales incrementó (4.46, 7.24, 8, 8.38 y 8.84 meq/g, fibra sin oxidar y oxidadas 0.5, 1, 1.5 y 2 h respectivamente). Además, el área superficial y el punto de carga cero disminuyeron conforme aumentó el tiempo de oxidación. El área superficial disminuyó de 1099.3 hasta 919.2 m²/g, mientras que el punto de carga cero de pH 4.76 a 1.97. En los ensayos de reducción química y biológica del RM con la FCA modificada durante 2 horas, la reducción química aumentó 3.1 veces la velocidad de reducción del RM, mientras que en las pruebas biológicas, la FCA aumentó 13 veces la velocidad de reducción del RM respecto al control sin MR. Al evaluar el efecto de la formación de bio-película sobre la reducción de RM, se encontró que la velocidad de reducción del RM en los experimentos sin biopelícula fueron 8 veces mayor que con biopelícula. Es decir, la formación de una biopelícula en las FCA disminuyó su capacidad como MR. Lo anterior se comprobó con cinéticas de consumo de sustrato que demostraron que la segunda etapa del proceso, transporte de electrones de la FCA al RM, fue la limitante.

Ríos Del Toro Esther Emilia (2012). Modificación Química de Fibras de Carbón Activado y su Aplicación en procesos de Óxido Reducción. Master thesis. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. México.

Keywords: azo dyes, oxidation-reduction, activated carbon fibers, redox mediator, chemical modification.

Abstract

This study reports for the first time the use of activated carbon fibers FCA chemically modified as redox mediator RM in reducing methyl red MR. As the effect of the formation of a biofilm on the FCA on the dye reduction. To evaluate the effect of degree of oxidation of the FCA in the speed of reduction of MR, the FCA was chemically modified with HNO₃ for 0.5, 1, 1.5 and 2 hours. The oxidation time increased the percentage of oxygen in the commercial FCA from 12.29% to 28.07% for the fiber with the highest oxidation time. Likewise, the total concentration of active sites increased (4.46, 7.24, 8, 8.38 and 8.84 meq / g, unoxidized and oxidized fiber 0.5 1, 1.5 and 2 h respectively). Furthermore, the surface area and the point of zero load time decreased as increased oxidation. The surface area decreased from 1099.3 to 919.2 m² / g, while the point of zero charge from pH 4.76 to 1.97. In tests of chemical and biological reduction of MR with the amended FCA for 2 hours, the chemical reduction increased 3.1 times the rate of reduction of MR, while in the biological tests, the FCA increased 13 times the speed reduction of MR with respect to control without MR. When evaluating the effect of biofilm formation on MR reduction was found that the rate of reduction of MR without biofilm experiments was 8 times greater than with biofilm. That is, the formation of a biofilm on the FCA decreased its capacity as RM. This was checked with substrate consumption kinetics showed that the second stage of the process, the electron transport from FCA to MR, was the limiting.

1. Introducción

Los colorantes azo representan el 70% de la cantidad total de colorantes existente en el mundo, se caracterizan por contener en su estructura química uno o más enlaces cromóforos $-N=N-$. Dichos colorantes son elaborados químicamente para que sean altamente persistentes, lo que hace que sean recalcitrantes y permanezcan durante largos periodos de tiempo en ecosistemas contaminados por aguas residuales industriales que los desechan (Van der Zee, 2002).

Dentro de las industrias que los utilizan se encuentran las textiles, papeleras, farmacéuticas y de curtiduría. Siendo la industria textil, el principal consumidor de colorantes azo y al mismo tiempo el mayor productor de agua residual. Lo anterior es debido a la gran demanda de telas y a las implicaciones ambientales y económicas que conlleva su producción. Se estima que la manufactura de telas a nivel mundial es de más de un millón de toneladas anuales (dos Santos *et al.*, 2005), y que por cada kg de tela producida se generan de 40 a 60 L de agua residual. En dicha agua, alrededor del 40% de los colorantes termina en los efluentes debido a la pobre fijación de muchos de estos productos. (Mezohegyi *et al.*, 2007). Lo anterior hace que a nivel mundial existan grandes cantidades de agua residual de la industria textil contaminada con colorantes azo.

Estos colorantes causan graves daños a la vida acuática de los ambientes naturales en los que son descargados, ya que inhiben la fotosíntesis, además del efecto estético desagradable de tener aguas coloreadas. También, los subproductos de su degradación pueden ser carcinogénicos, mutagénicos o bien causar reacciones alérgicas (Chung y Stevens, 1993; Van der Zee, 2002).

Se sabe que estos contaminantes bajo condiciones aerobias son pobremente degradados debido a que el oxígeno compite con los enlaces $-N=N-$ impidiendo su reducción. En sistemas de tratamiento anaerobio, es conocido que bajo estas condiciones los colorantes azo pueden ser reducidos a sus respectivas aminas

aromáticas. Dichos estudios señalan la eficacia de estos sistemas anaerobios de tratamiento de agua para la reducción de contaminantes aceptores de electrones (Razo-Flores *et al.*, 1997; Cervantes *et al.*, 2001; Van der Zee *et al.*, 2003; dos Santos *et al.*, 2005). Sin embargo, estos procesos biológicos son aún muy lentos para alcanzar la reducción total del colorante, lo que hace que no sean económicamente viables a escalas reales en biorreactores. Los últimos estudios que se han hecho para mejorar las velocidades de reducción de estos contaminantes involucran el uso de mediadores redox que aceleran la transferencia de electrones durante procesos anaerobios de decoloración. Se han utilizado diversos mediadores redox como AQDS, sustancias húmicas y riboflavina, con los cuales se han obtenido tasas de decoloración mayores al 90%, en sistemas operados en continuo (dos Santos *et al.*, 2005; Cervantes *et al.*, 2001).

Recientemente, se han utilizado materiales a base de carbono, como el carbón activado (CA), como mediadores redox ya que es un material versátil y económico. Además de sus propiedades fisicoquímicas, tiene grupos oxigenados en su superficie tales como los grupos quinónicos los cuales son los responsables de transportar los electrones hacia un contaminante (van der Zee *et al.*, 2003; Mezohegyi *et al.*, 2010). También con el fin de incrementar capacidad de transferir electrones, los carbones activados pueden ser modificados mediante diversos métodos (HNO_3 , O_2 , H_2) con resultados favorables al incrementar la concentración de grupos oxigenados y promover una mayor velocidad de reducción de colorantes azo (Pereira *et al.*, 2010). Sin embargo, a pesar de las grandes ventajas que presentan los materiales como el CA, para su uso en biorreactores anaerobios, esto aún no se ha podido llevar a cabo a escala real. Una estrategia que resolvería este problema es el uso de Fibras de Carbón Activado (FCA) como mediador redox ya que cuenta con las mismas propiedades del CA, contiene grupos activos que actúan como mediadores redox, y no habría la necesidad de un material de soporte para los microorganismos. Además, las fibras tienen características importantes

que las hacen de uso potencial en ingeniería de biorreactores: se manipulan fácilmente, lo que les permite colocarse en cualquier posición dentro del biorreactor, cuentan con elevada resistencia mecánica y tienen en su superficie grupos oxigenados como los quinónicos que son los responsables de transportar los electrones.

Por lo anterior, en el presente trabajo se utilizó una FCA de poliacrilonitrilo y se modificó con HNO_3 (ácido nítrico) para producir materiales con diferente concentración de grupos oxigenados.

Las propiedades fisicoquímicas de las fibras se evaluaron mediante fisisorción de N_2 , análisis elemental, espectroscopia de infrarrojo y la concentración de sitios ácidos con el método de Boehm. Posteriormente, las FCA modificadas y sin modificar se emplearon como acarreadores de electrones para reducir químicamente y biológicamente un colorante azo modelo (rojo de metilo). También, se evaluó el efecto de la formación de una biopelícula en las FCA en su capacidad redox, lo cual se corroboró llevando a cabo una cinética de consumo de sustrato con FCA sin biomasa adherida y con FCA con biopelícula.

2. Marco Teórico

2.1 Colorantes Azo

En general los colorantes se catalogan en 15 clases distintas de acuerdo al grupo funcional que contengan en su estructura (-C=C-, -C=N-, -C=O,-N=N,-NO₂,-NH₃,-COOH, -SO₃H y -OH). Los colorantes azo, en particular, contienen en su configuración química enlaces cromóforos -N=N-, los cuales pueden intensificar o causar el color de la estructura mediante la alteración de la energía de los sistemas de electrones.

Los colorantes azo representan una amplia clase de colorantes orgánicos (60 - 70% del total de colorantes sintetizados) listados en el índice de color editado desde 1924 por la "Sociedad de Colorantes y Colorizantes" y la "Asociación Americana de Textiles Químicos y Colorantes". Dentro de los colorantes azo, se encuentran los colorantes ácidos, directos, reactivos, complejos metálicos, básicos mordientes, dispersos, y los pigmentos, todos ellos ampliamente encontrados en las aguas residuales de diferentes industrias químicas (van der Zee, 2002).

Estos compuestos son indeseables en el medio ambiente no sólo por su color si no porque la mayor parte de los colorantes y sus productos de descomposición son tóxicos y mutagénicos para el ser humano (van der Zee *et al.*, 2003).

En la siguiente Figura se esquematiza la estructura de tres diferentes colorantes azo.

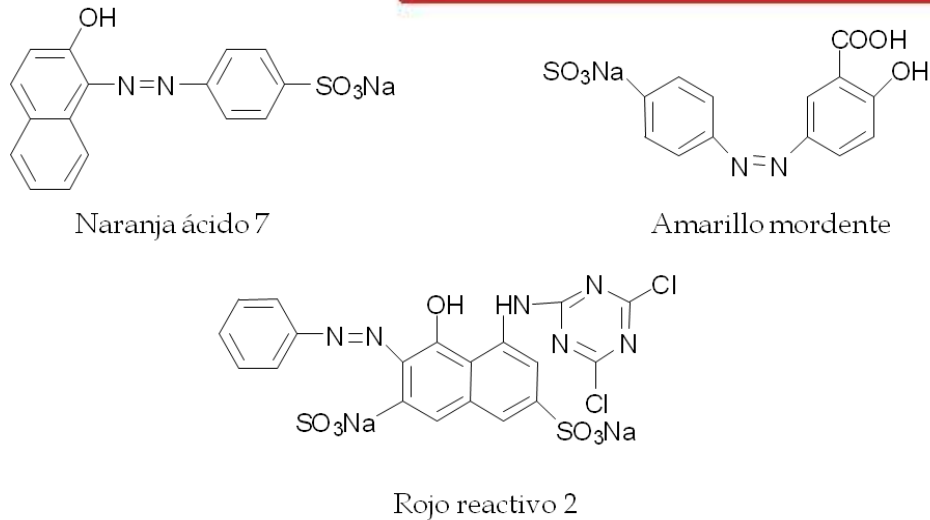


Figura 2.1. Estructura molecular de colorantes azo

2.1.2 Usos industriales de los colorantes y tipos de agua en las que se encuentran

Los colorantes son producidos principalmente por la industria química siendo actualmente la cifra de más de 8 000 tipos de colorantes utilizados. Las industrias que más consumen colorantes son textiles, papeleras, farmacéuticas y de curtiduría. Estos sectores industriales utilizan grandes cantidades de agua en sus procesos de manufactura, por lo que contribuyen en mayor medida a la descarga de este tipo de contaminantes a los cuerpos de agua (Anjaneyulu *et al.*, 2005).

De las anteriores, es la industria textil la principal fuente de colorantes azo, la cual representa uno de los sectores industriales más importantes alrededor del mundo, debido a la gran demanda de telas y a las implicaciones económicas de su producción. Se estima que la manufactura de telas a nivel mundial es de más de un millón de toneladas anuales, de las cuales el principal exportador es el continente asiático, seguido por Europa y Norte América. Dentro del proceso de manufactura de las telas se necesita una gran cantidad de agua, entre 40 a 60 L de agua residual por kg de tela producida (Mezohegyi *et al.*, 2007). Por lo tanto, las aguas residuales de la industria textil están altamente contaminadas con colorantes y representan

volúmenes importantes que tienen que ser tratados (dos Santos *et al.*, 2005). Así también, es importante destacar que durante el proceso de tinción de telas, alrededor del 40% de los colorantes termina en los efluentes debido a la pobre fijación de muchos de estos productos.

2.1.3 Repercusiones a la salud humana y al medio ambiente

La mayoría de los colorantes son visibles en agua a concentraciones muy bajas (1 mg/L). Las concentraciones de colorantes que se encuentran típicamente en efluentes de la industria textil son entre 100 y 200 mg/L, de aquí que la descarga de colorantes en cuerpos de agua sea un problema estético visual poco agradable en ríos, lagos, lagunas, etc.

En el proceso de manufactura, los colorantes son diseñados para que sean químicamente estables, por lo que son altamente persistentes en ambientes naturales y son considerados contaminantes altamente recalcitrantes (dos Santos *et al.*, 2005).

Otra de las repercusiones al medio ambiente causada por los colorantes es que inhiben la fotosíntesis en los cuerpos de agua receptores de las descargas de las aguas residuales que contienen colorantes, especialmente la industria textil con un contenido mayor al 50%. Además, de introducir un peligro potencial de bioacumulación que puede eventualmente afectar a los seres humanos por su transporte a través de la cadena alimenticia.

Otro aspecto importante es que, la reducción de colorantes azo conlleva a la formación de aminas aromáticas, y la mayoría de éstas son mutagénicas y carcinogénicas o bien pueden ocasionar reacciones alérgicas (Chung y Stevens, 1993; Van der Zee, 2002).

2.2 Tratamientos biológicos de los colorantes

Ya se han reportado sistemas de tratamiento para la eliminación de colorantes, los cuales incluyen tratamientos fisicoquímicos y biológicos. El uso de un determinado tratamiento depende de varios factores como:

- Tipo de colorante
- Composición del agua residual
- Dosis y costos de químicos requeridos
- Costos operacionales (energía, material)
- Destino ambiental y costo de manejo de subproductos generados

Dentro de los procesos fisicoquímicos se incluye la coagulación, floculación, filtración con membranas, adsorción e intercambio iónico, reducción química, oxidación avanzada y métodos electroquímicos. Dentro de los métodos biológicos se encuentra el uso de microorganismos capaces de degradar el contaminante (biorremediación), lo que puede ocurrir bajo diferentes condiciones, aerobias, anaerobias, y por diferentes rutas vía enzimática, deshalogenación reductiva, halorespiración y cometabolismo. Cada uno de los procesos anteriores tiene sus ventajas y desventajas. Los procesos fisicoquímicos presentan costos elevados y los procesos biológicos necesitan tiempos largos de reacción de acuerdo al sistema utilizado (Rittman y McCarty 2001; Volke Sepúlveda y Velasco Trejo 2002). Sin embargo, en la actualidad no existe aún un tratamiento único y adecuado para tratar estos efluentes a escala industrial, y la liberación de este tipo de compuestos al medio ambiente ocasiona, como se mencionó anteriormente, severos problemas ambientales y de salud pública (Mezohegyi *et al.*, 2007).

En general, cada tratamiento tiene sus limitaciones. El uso de un proceso en específico puede ser a menudo insuficiente o no alcanza una decoloración completa. Las estrategias de remoción consisten, por lo tanto, mayormente en la combinación de diferentes procesos.

Los procesos de biodegradación son los más utilizados por las ventajas que presentan: son amigables con el medio ambiente, económicos ya que los gastos operacionales que se requieren son bajos. Sin embargo, los que hasta hace pocos años se conocían eran los procesos biológicos aerobios en los que específicamente los colorantes azo son pobremente degradados, debido a que el oxígeno compite con los enlaces $-N=N-$ por los electrones disponibles, impidiendo su reducción. Actualmente, con el desarrollo de los procesos biológicos anaerobios se sabe que dichos contaminantes pueden ser reducidos a sus respectivas aminas aromáticas, las cuales son incoloras, por lo que la reducción de los colorantes está directamente relacionada con la desaparición del color (Field *et al.*, 1995). Las aminas aromáticas son en algunas ocasiones más tóxicas que el colorante de procedencia; sin embargo, bajo condiciones aerobias, éstas son fácilmente mineralizadas a NO_3^- , N_2 , CO_2 , H_2O y biomasa y sus características carcinogénicas y mutagénicas son eliminadas (Morales y Melgoza, 2009). Por lo que una secuencia adecuada para lograr la mineralización de los colorantes azo es la combinación de un tratamiento anaerobio para la reducción del enlace $N=N$, seguido de un tratamiento aerobio para degradar las aminas producidas.

Desde el primer reporte de la reducción completa de colorantes azo en ausencia de oxígeno por Razo-Flores *et al.*, (1997), donde redujeron al azodisalicilato, colorante utilizado en la industria farmacéutica y constituido por dos moléculas de 5-ácido amino salicílico, los estudios acerca de la reducción anaerobia de colorantes se incrementaron de forma exponencial.

En la actualidad existen múltiples reportes que señalan la eficacia de los sistemas biológicos anaerobios de tratamiento de agua para llevar a cabo la reducción de los compuestos azo (Cervantes *et al.*, 2001; Van der Zee *et al.*, 2001; Dos Santos *et al.*, 2005). Sin embargo, muchos de los colorantes utilizados específicamente en la industria textil demandan un largo tiempo de residencia hidráulico para obtener

su decoloración total y en reactores a escala industrial esto implica tiempos de retención largos (30-50 d) que hacen el proceso poco atractivo.

Otro inconveniente es que existen algunos colorantes que debido a su toxicidad y lenta reducción ocasionan el deterioro paulatino de reactores de tratamiento anaerobio o incluso hasta su colapso total (Van der Zee *et al.*, 2001). Es por eso que es necesario que la reducción anaerobia del enlace -N=N- de los colorantes azo se realice en periodos de tiempo más cortos (Mezohegyi *et al.*, 2007) y de esta forma el uso de reactores anaerobios sea una realidad a escala industrial.

Para el tratamiento de los colorantes azo, se distinguen entonces dos etapas, primero la reducción de los enlaces -N=N- que genera aminas aromáticas como subproducto (proceso biológico anaerobio) y segundo la mineralización de las aminas aromáticas producidas (proceso biológico aerobio). De las dos etapas, la limitante es la primera, que involucra el rompimiento de los enlaces cromóforos de los colorantes en el proceso anaerobio (dos Santos *et al.*, 2005).

Actualmente se conocen varios mecanismos mediante los cuales se reducen los enlaces -N=N- en los colorantes azo. El proceso más estudiado implica la reducción biológica de colorantes azo por una amplia gama de microorganismos anaerobios. Al respecto, se conocen diferentes mecanismos de reducción microbiana; en algunos casos la reducción se lleva a cabo en el citoplasma de las bacterias, mientras que en otros casos, la reducción de los colorantes está asociada a enzimas de la membrana celular (dos Santos *et al.*, 2006). Otro mecanismo de reducción de colorantes azo involucra la participación de distintos mediadores redox que canalizan los electrones generados por microorganismos, gracias a la oxidación de diferentes sustratos, hacia los enlaces azo de los colorantes. Se han reportado diversos mediadores redox capaces de acarrear los electrones durante procesos de reducción de colorantes azo, entre los que destacan aquellos que incluyen en su estructura quinonas o flavinas (dos Santos *et al.*, 2005).

En la última década, se ha visto que una de las opciones más viables para reducir el tiempo de reacción requerido en sistemas de tratamiento de aguas es el uso de mediadores redox o acarreadores de electrones para acelerar la transferencia de electrones entre las reacciones de óxido-reducción necesarias para lograr la reducción de contaminantes recalcitrantes como los colorantes azo.

2.3 Mediadores redox en procesos de óxido reducción

Un mediador redox, es una sustancia, molécula o elemento que tiene la capacidad de aumentar la velocidad de una reacción de óxido-reducción sin consumirse en la reacción. A este proceso se le llama catálisis. Los mediadores redox no afectan la estequiometría general de la reacción. Una reacción catalizada se realiza por un mecanismo diferente del que sigue la reacción no catalizada. Dicho mecanismo tiene una energía total de activación menor que el no catalizado, lo cual explica la mayor rapidez de la velocidad de la reacción (Mortimer, 2001).

La catálisis puede ser de dos tipos:

- Homogénea: la cual tiene lugar cuando los reactivos y el catalizador se encuentran en la misma fase, sea líquida o gaseosa. En este tipo de catálisis se tiene un acceso más fácil al mecanismo de reacción y por consecuencia se puede dominar mejor el proceso catalítico correspondiente.
- Heterogénea: el catalizador y reactivo se encuentran en distintas fases. En estos procesos las moléculas reaccionantes son adsorbidas sobre la superficie del catalizador y la reacción se verifica sobre esa superficie (Mortimer, 2001).

En la actualidad se han estudiado diferentes materiales sólidos, o inmovilizados en un soporte como mediadores redox en la reducción de diferentes contaminantes. Algunos son compuestos quinónicos modelo como la AQDS (antraquinona-2, 6

disulfonato) (Rau *et al.*, 2002), riboflavinas (dos Santos *et al.*, 2005); otros son las sustancias húmicas (Keum and Li, 2004), carbón activado (Van der Zee *et al.*, 2003) y grafito (Mezohegyi *et al.*, 2007).

En la Tabla 2.1 se enlistan algunos estudios realizados con mediadores redox como acarreadores de electrones para la reducción de colorantes.

Tabla 2.1. Mediadores redox utilizados en la reducción de colorantes azo con lodo granular anaerobio en experimentos en lote. (Tomada de Van der Zee y Cervantes 2009).

Colorante azo	Donador de electrones ^a	Mediador Redox ^b	Resultados ^c	Referencia
Naranja reactivo 14	Glucosa	Riboflavina	1.5 - 2 x	Cervantes <i>et al.</i> (2006)
Rojo reactivo 2	AGV	AQDS	7 x	Van der Zee <i>et al.</i> (2001)
Rojo reactivo hidrolizado 2	Glucosa , AGV	AQDS	AGV: 1.4 x; glucosa: 2.3 x; glucosa/AGV: 1.6 x	Dos Santos <i>et al.</i> (2003)
Rojo reactivo hidrolizado 2	Glucosa	AQS	AQS: 3.8 x y 2.3 x a 30 y 55 °C respec;	Dos Santos <i>et al.</i> (2005)
Rojo reactivo 2 Rojo reactivo 4 Naranja reactivo 14	Glucosa	Riboflavina	RR 2: 1.7 x; RR 4: no presentó diferencia; NR 14: 2.9 x	Dos Santos <i>et al.</i> (2006)
Rojo reactivo 24 Rojo reactivo 2 Rojo ácido 1 Rojo ácido 14	Extracto de levadura/ Peptona	Ácido bromoamina	RR 24: 1.9 x; RR 2: 1.7 x; RA 1: 1.5 x; RA 14: 1.3 x	Guo <i>et al.</i> (2007)
Naranja ácido 7	Acetato	Grafito	88% de decoloración en 20 h	Mezohegyi <i>et al.</i> (2007)

^a AGV = ácidos grasos volátiles

^b AQDS = 9,10 Antraquinona-2-6-disulfonato; AQS = 9, 10-Antraquinona-2 sulfonato

^c “x” significa el aumento en la constante de velocidad de primer orden comparado con el control sin mediador.

RR = rojo reactivo, RA = rojo ácido, NR = naranja reactivo

Un proceso biológico en el que se encuentran involucrados mediadores redox consiste de: un donador de electrones el cual es oxidado anaerobiamente por microorganismos, un mediador redox que acepta los electrones de dicha oxidación y los transporta a un aceptor final de electrones el cual es reducido. En la Figura 2.2 se muestra esquemáticamente dicho mecanismo.

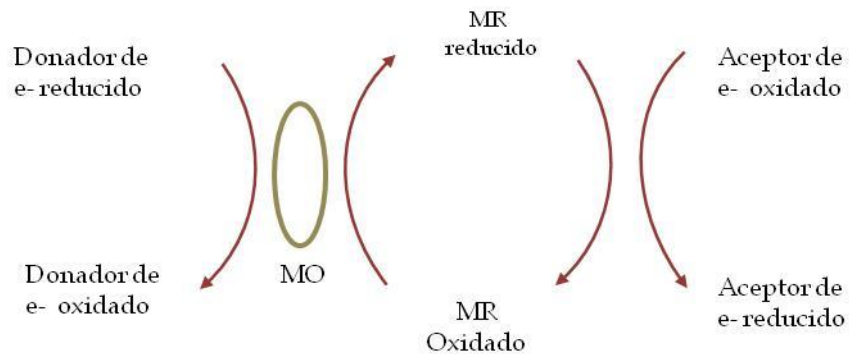


Figura 2.2. Mecanismo general de la reducción biológica de compuestos electrofílicos en presencia de mediadores redox. Donde MO se refiere a microorganismos y MR a mediador redox.

El uso de mediadores redox ha permitido reducir considerablemente el tiempo requerido para lograr la reducción de diferentes colorantes azo (Cervantes *et al.*, 2001; dos Santos *et al.*, 2005). En algunos casos, inclusive la aplicación de un mediador redox ha permitido la recuperación de la actividad de sistemas anaerobios que fueron colapsados debido a la toxicidad de colorantes azo (Van der Zee *et al.*, 2001). Gracias a las propiedades catalíticas de diferentes mediadores redox, como antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS) y riboflavina, se han obtenido excelentes procesos de decoloración (>90% de decoloración) en sistemas operados en continuo a tiempos de residencia hidráulica (TRH) de 2 horas (Cervantes *et al.*, 2001, dos Santos *et al.*, 2005).

Sin embargo, a pesar de la gran ventaja que representa la aplicación de mediadores redox en procesos de decoloración, su empleo a nivel mundial es muy escaso, ya

que presentan algunas limitaciones, por las cuales no son utilizados en sistemas de tratamiento de aguas residuales. Dichas limitaciones están en función de los costos de operación ya que los mediadores solubles como el AQDS, no son retenidos en los reactores y es necesario la adición continua al sistema.

2.4 El carbón activado como mediador redox.

El carbón activado (CA), en el sentido más amplio, es un término que incluye una gran variedad de materiales carbonaceos amorfos, los cuales tienen un alto grado de porosidad y un área superficial interpartícula extendida. Se obtienen mediante combustión, combustión parcial o descomposición térmica de una variedad de sustancias carbonaceas. Se pueden obtener carbones activados de forma granular y en polvo (Figura 2.3) también en la actualidad se preparan de diferentes formas que pueden ser esféricas, en fibras, y en forma de tela para aplicaciones especiales (Bansal y Goyal, 2005).

El carbón activado está disponible esencialmente en dos intervalos de tamaño de partículas: el carbón activado en polvo (tamaño promedio de partícula de 20 a 50 μm) y carbón activado granular (tamaño promedio de partícula de 0.5 a 3 mm) (Crittenden *et al.*, 2005). En la Figura 2.3 se observan los diferentes tamaños de partícula del carbón activado.

En general, el carbón activado es un adsorbente único y versátil, y es utilizado extensivamente para la remoción de compuestos que causan mal olor y sabor. También, el CA se ha utilizado para la eliminación de otros compuestos orgánicos e inorgánicos de aguas residuales domésticas e industriales, de la recuperación de solventes, purificación de aire de restaurantes y de la industria química (Bansal y Goyal, 2005).



Figura 2.3. Carbón activado.

El carbón activado presenta propiedades catalíticas, gracias a la variedad de grupos funcionales que presenta en su superficie y que le permiten actuar como mediador redox en la transformación de contaminantes (ver Figura 2.4).

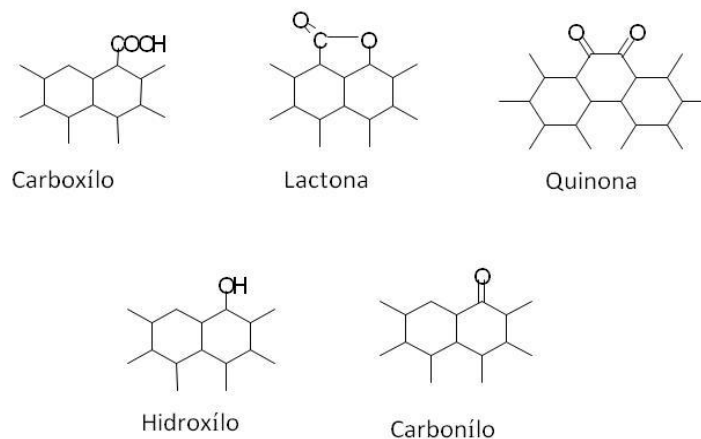


Figura 2.4. Posibles estructuras de los grupos funcionales oxigenados en la superficie del carbón activado.

El hecho de contar con grupos oxigenados es una de las ventajas del carbón activado, otra ventaja es que dentro de los grupos funcionales con los que cuenta se encuentra el grupo quinónico, el cual ha sido reportado que lleva a cabo la transferencia de electrones en las reacciones redox. Otra ventaja es que el carbón activado es un material económico y versátil. Gracias a ello se le pueden realizar diversas modificaciones químicas, empleando agentes químicos como ácidos con HNO_3 , con O_2 , o con H_2 . Esto con el propósito de aumentar la concentración de

grupos funcionales, lo que incrementa su capacidad catalítica (van der Zee *et al.*, 2003; Mezohegy *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2010). La distribución de los grupos funcionales en el carbón activado se representa en la Figura 2.5. Uno de los estudios que demostró la función del carbón activado como mediador redox se llevó a cabo en un reactor UASB (0.25 L) que trataba 0.073 Mm de colorante en presencia de 2.5 g de CA con una eficiencia de decoloración de 97%, comparado con el mismo sistema en el que no había CA en donde la eficiencia de decoloración sólo fue de 60% (Van der Zee *et al.*, 2003).

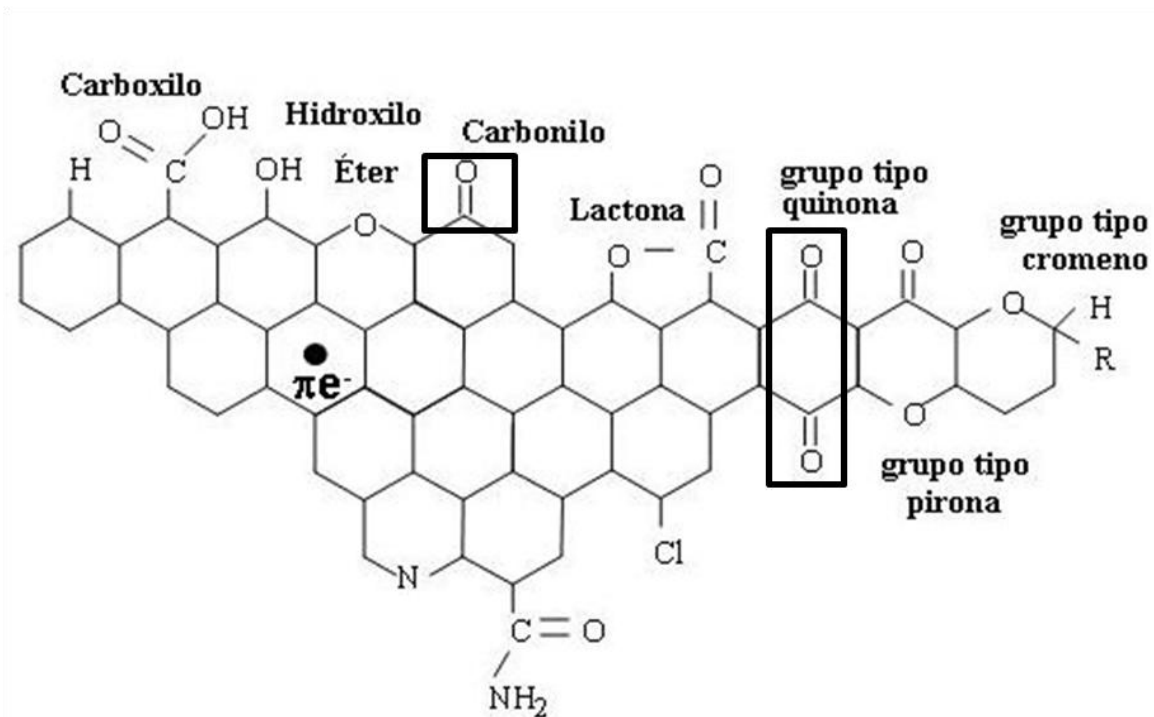


Figura 2.5. Representación esquemática de los principales grupos superficiales que pueden encontrarse en carbón activado.

Otro estudio fue realizado por Pereira *et al.* (2010) quienes encontraron que la modificación térmica de carbón activado con H₂ incrementó la capacidad catalítica del carbón activado para reducir colorantes azo. En experimentos de reducción química del CA éste incrementó 4 veces la tasa de decoloración del amarillo mordente 10 (MY10) a pH 7 (0.3 mM de MY10 y 0.1 g/L de CA).

En experimentos de reducción con microorganismos y un sustrato orgánico de CA éste aumentó 4.5 veces la reducción del rojo reactivo-2 a pH 7.

Recientemente Mezohegyi *et al.* (2010), realizaron la reducción de naranja II y Negro 5 en un reactor de lecho agitado de flujo ascendente. Utilizaron CA modificado y microorganismos anaerobios donde alcanzaron eficiencias de reducción superiores a 88%, comparado con los controles sin CA donde las eficiencias siempre permanecieron debajo de 50%. En la Tabla 2.2 se presentan estudios donde se ha usado carbón activado como mediador redox para la reducción de diferentes contaminantes (aceptores de electrones). Algunos realizaron modificaciones al CA y otros lo utilizaron sin tratamiento previo.

Tabla 2.2. Carbón activado como mediador redox en la reducción de diferentes colorantes azo (Tomada de Cervantes *et al.* 2009).

Contaminante ^a	Mediador Redox	Modificación Química ^b	Resultados ^c	Referencia
OII, RB5	Carbón Activado (pellets 0.8 mm)	Gasificación de CO ₂ , oxidación con HNO ₃ y tratamiento térmico	>88% de conversión para ambos colorantes utilizando CA. La ER fue influenciada por las características de textura del CA.	Mezohegyi <i>et al.</i> 2010
RR2, AO7, MY10, DB71	Carbón Activado (pellets 0.5 mm)	Oxidación con HNO ₃ y O ₂ ; y tratamiento térmico con flujo de H ₂ and N ₂	Reducción Química: se mejoró 9 veces la reducción, utilizando sulfuro y 0.1 g CA L ⁻¹ , comparado con el control sin CA. Reducción Biológica: el MY10 mejoró 2 veces y el RR2 4.5 veces, con CA modificado en presencia de H ₂	Pereira <i>et al.</i> 2010
,TT, OII, OG, AR, RB5, SY	Carbón Activado (pellets 0.8 mm)	-	Altas tasas de reducción con ≥80% de ER en ~2 min.	Mezohegyi <i>et al.</i> 2009
AO7	Carbón Activado (pellets 0.8 mm)	-	99% de ER en 2 min.	Mezohegyi <i>et al.</i> 2007
RR2, AO7	Carbón Activado (Comercial)	-	ER en el reactor sin CA ~35%, y ER en los reactores con CA ~45% y ~95% con 0.4 and 10 g CA L ⁻¹ , respectivamente	Van der Zee <i>et al.</i> 2003

^a OII, naranja II; RB5, negro reactivo; RR2, rojo reactivo 2; AO7, naranja ácido 7; MY10, amarillo mordante 10; DB71, azul directo 71; DNT, TT, Tartrazina; NG, nitroglicerina.

^b - Carbones activados utilizados sin modificación alguna.

^c CA, carbón activado; ER, eficiencia de remoción.

2.5 Fibras de carbón activado (FCA)

El carbón activado en forma de tela (Figura 2.6) puede ser elaborado a partir de la carbonización y activación de diferentes precursores como, poliacrilonitrilo, nylon, resinas fenólicas, celulosa y brea de alquitrán. Las características específicas de las FCA dependen del material polimérico que se utilizó para elaborarlas, así como de las condiciones en las que el material fue carbonizado y activado (Suzuki, 1994).



Figura 2.6. Fibras de carbón activado.

Las FCA presentan ventajas muy importantes respecto al carbón activado granular y en polvo en aplicaciones ambientales para la reducción biológica de contaminantes aceptores de electrones, estas ventajas son:

Fácil manipulación: por sus propiedades físicas similares a una tela, ésta se puede manejar y colocar en cualquier posición para ser utilizada como material de empaque en un biorreactor.

Elevada resistencia mecánica: las FCA presentan resistencia a las variaciones de temperatura, a la tensión, compresión y al impacto. Por lo tanto, se considera un material adecuado para la formación de una biopelícula sin afectar sus características de resistencia, y además a los cambios, que pueda tener el biorreactor a través del tiempo.

Grupos funcionales en su superficie: las fibras de carbón activado cuentan con grupos funcionales en su superficie tales como carboxilo, lactónicos, fenólicos, carbonilo. Esta característica es muy importante, ya que hasta el momento sabemos que los grupos funcionales responsables de transportar

electrones en la superficie de carbón activado son los quinónicos. A su vez, oxidando el material con HNO_3 , se favorece en mayor medida la formación de grupos funcionales ácidos, en la superficie de la fibra como los que se muestran en la (Figura 2.7).

Con la formación de grupos funcionales en la fibra, como los grupos quinónicos, se incrementa la transferencia de electrones debido a que estos grupos transfieren electrones en las reacciones de óxido-reducción.

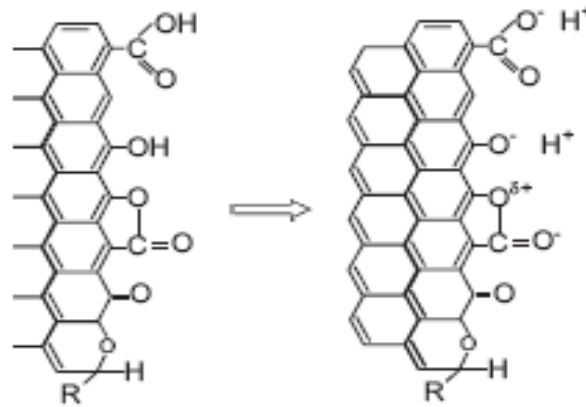


Figura 2.7. Reacciones de donación de protones de grupos ácidos.

Debido a estas ventajas, las fibras de carbón activado son un candidato apropiado para aplicarse en tratamientos biológicos de reducción de contaminantes como mediador redox. De esta forma, se espera incrementar las velocidades de reducción al ser aplicados en sistemas de tratamiento de aguas residuales.

Un ejemplo de uso de FCA es el estudio de Rangel y Streat, (2002), en donde se modificaron las FCA (obtenidas a partir de poliacrilonitrilo) mediante diferentes métodos como oxidación con HNO_3 o con ozono, y mediante una oxidación electroquímica. Lo anterior para evaluar cual modificación presentaba un mejor desempeño en la adsorción de cadmio. La que obtuvo el mayor incremento fue la oxidación electroquímica con un factor de 13 comparada con la fibra sin modificar. También, encontraron que la modificación con ozono daña de forma muy severa

las propiedades físicas de la fibra, lo que no sucede con la modificación con ácido nítrico y con la oxidación electroquímica.

En otro estudio reciente con FCA, Leyva-Ramos y colaboradores (2011) reportaron que el precursor de la fibra de carbón activado afecta en gran medida la capacidad de adsorción, y argumentan que la oxidación de la tela con HNO_3 efectivamente aumenta la cantidad de grupos oxigenados en el material, lo que es bastante favorable ya que la capacidad de la fibra de carbón activado para adsorber Pb (II) fue proporcional a la concentración de grupos carboxílicos.

Sin embargo, no existen reportes de FCA como mediador redox para el tratamiento de colorantes y son escasos los estudios que reportan el uso de carbón activado. El primer estudio que utilizó al carbón activado como mediador redox fue el realizado por Van der Zee. (2003). Otro estudio que utilizó CA fue el de Pereira *et al.* (2010), en donde se demostró que modificar las características fisicoquímicas del carbón activado aumentó su capacidad catalítica para la reducción de cuatro colorantes azo (rojo reactivo 2, naranja ácido 7, amarillo mordiente 10 y azul directo 71).

3. Justificación

Existen diferentes métodos fisicoquímicos mediante los cuales se pueden tratar los efluentes de agua residual industrial como procesos de coagulación, adsorción y oxidación con ozono; sin embargo, para el caso particular de efluentes de la industria textil, que contienen una alta concentración de colorantes azo, se ha reportado que un primer tratamiento biológico anaerobio es el más adecuado, ya que los métodos fisicoquímicos son costosos y poco amigables con el medio ambiente (Razo-Flores, 1997; Pereira *et al.*, 2010).

Por otro lado, los sistemas de tratamiento biológicos anaerobios poseen un serio problema para su aplicación a gran escala para el tratamiento de efluentes industriales, debido a que se necesitan tiempos de retención hidráulicos bastante largos (30-50 d) para alcanzar la reducción completa de los contaminantes (Pereira *et al.*, 2010). Mientras que en un sistema anaerobio convencional para eliminar fósforo el tiempo de retención es de ~ 6 d (Rittmann y McCarty, 2001).

La adición de mediadores redox que aceleren la reducción de los contaminantes es una solución viable para disminuir el tiempo de retención hidráulico requerido en un sistema de tratamiento anaerobio. La limitante del uso de mediadores redox que aceleren la transferencia de electrones es que se necesita una dosificación continua en los biorreactores, lo que lo hace un tratamiento poco efectivo y de alto costo; además de que implica la descarga continua de compuestos recalcitrantes al medio ambiente (Cervantes *et al.*, 2001; Van der Zee *et al.*, 2003).

Se ha demostrado que el carbón activado es un mediador redox eficaz, ya que una de las ventajas que presenta, en comparación con el AQDS es que puede ser retenido junto con el lodo permitiendo de esta forma que se inmovilice en los sistemas de tratamiento (Mezohegyi *et al.*, 2007).

Una alternativa poco explorada, es el uso de fibras de carbón activado para la reducción de colorantes azo, presentes en efluentes industriales como los de la industria textil. Las FCA cuentan con propiedades similares al CA y, además, tienen las ventajas de ser de fácil manipulación y su superficie puede ser modificada químicamente, aumentando el número de grupos oxigenados y con ello su desempeño en sistemas de tratamiento; ya que incrementan las reacciones óxido-reducción (Rangel y Streat, 2002).

Por lo anterior, en el presente trabajo se utilizaron fibras de carbón activado, modificadas con un agente ácido, para aumentar la cantidad de grupos oxigenados en su superficie, para utilizarlas como mediador redox; y al mismo tiempo como soporte de una biopelícula de lodo anaerobio, para el tratamiento de compuestos de tipo azo presentes en efluentes de la industria textil.

4. Hipótesis y Objetivos

4.1 Hipótesis

La modificación química de las fibras de carbón activado con HNO_3 aumentará la cantidad de grupos oxigenados disponibles, lo que propiciará un aumento en la capacidad de transferencia de electrones, lo cual se traducirá en un aumento de la velocidad de reducción del rojo de metilo. Así mismo, la capacidad catalítica de las fibras de carbón activado no se afectará por la formación de una biopelícula en su superficie.

4.2 Objetivo general

Evaluar la capacidad de fibras de carbón activado modificadas y sin modificar como mediador redox en la reducción de rojo de metilo en un sistema químico y biológico, utilizando sulfuro de sodio y lodo granular anaerobio en conjunto con un sustrato orgánico como donador de electrones.

4.3 Objetivos específicos

- Modificar químicamente la superficie de las fibras de carbón activado con ácido nítrico (HNO_3) a diferentes tiempos de oxidación para aumentar la concentración de grupos funcionales redox.
- Caracterizar las fibras de carbón activado en términos de porosidad, área específica y análisis elemental para conocer las características que se verán afectadas en la modificación.
- Caracterizar las fibras modificadas y sin modificar mediante métodos de titulación potenciométrica para conocer la concentración de grupos funcionales oxigenados.

- Evaluar la capacidad catalítica de las fibras sin modificar y modificadas reduciéndolas químicamente con sulfuro de sodio para reducir al rojo de metilo.
- Evaluar a las fibras de carbón activado como mediador redox en un sistema biológico utilizando lodo granular anaerobio y un sustrato orgánico como donador de electrones.
- Formar una biopelícula madura sobre las fibras de carbón activado y medir su crecimiento a través del tiempo para medir el efecto que tiene la biopelícula en las fibras de carbón activado durante la reducción del rojo de metilo.
- Evaluar la capacidad catalítica de las fibras de carbón activado que contengan una biopelícula para compararla con un sistema con biomasa suspendida.

Materiales y Métodos

5.1 Materiales

5.1.1 Fibra de carbón activado

La fibra que se utilizó para todos los experimentos fue obtenida a partir de Poliacrilonitrilo (PAN), de la marca KoTHmex modelo TC-66 C, con las siguientes especificaciones.

Tabla 5.1. Especificaciones del proveedor de la fibra de carbón activado comercial, KoTHmex TC-66 C.

Especificación	TC - 66 C
Área específica (m ² /g)	1 000 ~ 1 100
Diámetro de poro (Å)	19 ~ 20
Peso (g/m ²)	95 ~ 105
Grosor (mm)	0.40 ~ 0.50
Textura	Plana
Temperatura de descomposición (°C)	> 500

5.1.2 Carbón activado

Se utilizó carbón activado granular de origen bituminoso Filtrasorb F-400 marca CALGON.

Tabla 5.2. Especificaciones del proveedor del carbón activado, Filtrasorb F-400.

Especificación	Filtrasorb F-400
Numero de Yodo (mg/g)	1000
Tamaño efectivo mm	0.55 - 0.75
Densidad aparente (g/cc)	0.52

Tabla 5.3. Caracterización del carbón activado Filtrasorb F-400.

Especificación	Filtrasorb F-400
Área específica (m ² /g)	926.8
Microporos (cm ³ /g)	0.330
Mesoporos (cm ³ /g)	0.074
Macroporos (cm ³ /g)	0.0029
Diámetro promedio de poro (nm)	3.49
PCC (pH)	8.2

5.1.3 Rojo de metilo

El rojo de metilo (RM) es un colorante azo cuya fórmula desarrollada se presenta en la Fig. 5.1. Es utilizado como indicador ya que es rojo a pHs menores a 4.4, amarillo a pH mayores a 6.2 y anaranjado a pH 4.4 - 6.2. El RM que se utilizó fue de la marca HYCEL de México con peso molecular de 269.3 g/mol y un pKa de 5.1.

En este trabajo se usó como un modelo de colorante azo, para ser reducido en las cinéticas con un donador de electrones químico, y en las cinéticas de reducción biológica.

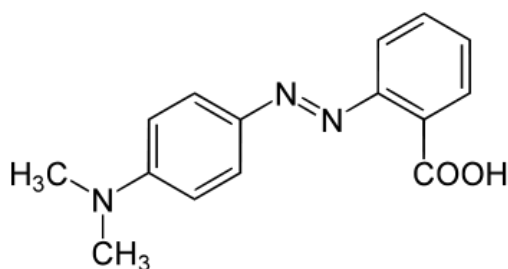


Figura 5.1. Estructura química de rojo de metilo.

5.1.4 Lodo granular

Se utilizó lodo granular anaerobio, proveniente de un reactor UASB de una planta cervecera del estado de Sonora como fuente de biomasa. El lodo granular se disgregó antes de ser utilizado, haciéndolo pasar por una jeringa varias veces. El porcentaje de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el lodo fue 9.7%. Se utilizó en las mediciones de la capacidad aceptora de electrones de las FCA, y en las cinéticas de reducción biológica del rojo de metilo.

5.1.5 Medio de cultivo

El medio mineral fue el mismo para todos los experimentos con la siguiente composición (g L^{-1}) NH_4Cl (0.28), K_2HPO_4 (0.25), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.1), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.01), NaHCO_3 (5) y 1 ml de elementos traza. La composición de los elementos traza fue (g L^{-1}) $\text{Fe Cl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (2), H_3BO_4 (0.05), ZnCl_2 (0.05), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.038), $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (0.5), $(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (0.05), $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (0.09), $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (2), $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (0.092), $\text{Na}_2\text{SeO}_5 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (0.162), EDTA 1 ml, y HCl 36% 1 mL.

El medio mineral contiene en su composición bicarbonato de sodio (NaHCO_3) a una concentración de 60 mM lo que asegura un sistema de amortiguamiento para la obtención de un pH de entre 6 y 8 en las botellas utilizando una mezcla de N_2/CO_2 (80%/20%) en la fase gaseosa.

5.2 Métodos

5.2.1 Oxidación de la fibra de carbón activado con ácido nítrico (HNO_3)

La fibra de carbón activado fue oxidada poniéndola en contacto con HNO_3 (medio ácido) 8 M, de acuerdo al procedimiento establecido por Rangel y Streat en 2002. En un reactor de reflujo, como el que se muestra en la Figura 5.2, se colocaron 80

mililitros (mL) de HNO_3 y 2 gramos (g) de fibra en un matraz bola de tres bocas, conectado a un condensador en la boca central; las otras dos bocas se sellaron con tapones de vidrio para evitar la salida de vapores.

El matraz fue sumergido en un baño que contenía agua a una temperatura controlada de 85 °C. Para obtener diferentes grados de oxidación en la fibra, se llevaron a cabo 4 procesos de oxidación a diferentes tiempos: 0.5, 1, 1.5 y 2 horas (h). Después de cada periodo de tiempo, el matraz bola se retiró y se colocó en un baño que contenía hielo para evitar que la oxidación siguiese avanzando fuera del tiempo estipulado. Se retiró el exceso de ácido, se recuperó la fibra y se lavó con suficiente agua desionizada hasta que el agua de enjuague alcanzó un pH neutro (5.5-7.5). Por último, la fibra se secó en una estufa a 60 °C durante 48 h.

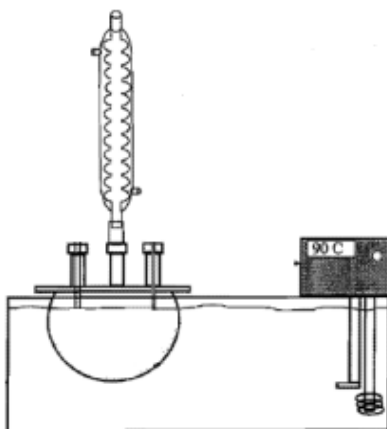


Figura 5.2. Esquema del reactor de reflujo usado para oxidar la fibra de carbón activado con ácido nítrico.

5.2.2 Caracterización de las fibras de carbón activado

5.2.2.1 Análisis elemental

La composición elemental de las fibras (oxidadas y sin oxidar), se determinó en el analizador elemental Combustion System (COSTECH instrument) donde se obtuvieron porcentajes de los elementos carbono, hidrógeno y nitrógeno presentes en la fibra. El porcentaje de oxígeno se calculó por diferencia. Las muestras de fibra

se secaron durante 24 h a 100 °C para que estuvieran libres de humedad. Se pesaron 0.01 g de fibra y se colocaron en los portamuestras de aluminio especiales para el equipo. Las muestras se analizaron por triplicado.

5.2.2.2 Fisisorción de nitrógeno

El área superficial, el diámetro y volumen de poro se determinaron mediante isotermas de adsorción y desorción de nitrógeno (N₂) a 77 K en el equipo de fisisorción ASAP 2020 (Micromeritics). El área específica se midió empleando la ecuación de Brunauer-Emmet-Teller (BET):

$$\frac{P}{V \cdot (P_0 - P)} = \left(\frac{1}{V_{MC} \cdot C} \right) + \left[\left(\frac{C - 1}{V_{MC} \cdot C} \right) \cdot \left(\frac{P}{P_0} \right) \right]$$

ec. 1

$$C = \exp \left[\frac{E_1 - E_2}{R \cdot T} \right]$$

ec. 2

Donde:

E₁ = Calor de adsorción de la primera capa del adsorbato, cal/mol

E₂ = Calor de licuefacción del gas, cal/mol

P = Presión del N₂ en equilibrio con el N₂ adsorbido sobre el sólido, atm

P₀ = Presión del N₂ requerido para la saturación a la temperatura del experimento, atm

R = Constante de los gases ideales, cal/mol K

T = Temperatura absoluta, K

V = Volumen del N_2 adsorbido a presión P , m^3/g

V_{MC} = Volumen de N_2 requerido para formar una monocapa sobre la superficie del adsorbente, m^3/g

Para obtener el área específica (S) de las fibras (área BET) se utiliza V_{MC} y el área proyectada que ocupa una molécula de nitrógeno, con la ecuación:

$$S = \left(\frac{P_e \cdot V_{MC}}{R \cdot T_e} \right) (N_A \cdot S_{N_2}) \quad \text{ec.} \quad 3$$

Donde:

S = Área específica, m^2/g

N_A : Número de Avogadro 6.023×10^{23} , moléculas/mol

P_e = Presión estándar, 1 atm

R = Constante de los gases ideales, 0.08206 L atm/mol K

S_{N_2} = Área proyectada que ocupa una molécula de N_2 , $1.62 \text{ nm}^2/\text{molécula}$

T_e = Temperatura estándar, 273.15 K

Por último la distribución del tamaño de poro fue proporcionada por el software del equipo (ASAP 2020) que se basa en la teoría funcional de la densidad (DFT).

5.2.2.3 Infrarrojo con transformada de Fourier

La presencia de los principales grupos funcionales de la fibra y los cambios que éstos sufrieron después de su modificación, fueron analizados por espectroscopia de infrarrojo. Se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de

Fourier Thermo Nicolet 6 700 (ATR-FT-IR) en el intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , utilizando 32 escaneos.

5.2.2.4 Punto de carga cero

El punto de carga cero de las fibras se determinó de la siguiente forma: Se colocaron 20 mg de fibra con 3 mL de agua desionizada en tubos de propileno de 15 mL. El agua desionizada se burbujeó con nitrógeno (99.9%) durante 10 minutos para evitar la presencia de oxígeno. Los tubos se sellaron y se dejaron en agitación durante 72 horas, después de este tiempo se midió el pH de cada una de las muestras, el cual corresponde al punto de carga cero del material (asumiendo que la cantidad de fibra se encontraba en exceso), es decir el pH al cual la suma de las cargas positivas y negativas es igual a cero.

5.2.2.5 Sitios activos

Los sitios activos se cuantificaron mediante el método ya bien conocido de Boehm, que se basa en titulaciones ácido-base (1994). Las ecuaciones siguientes muestran la solución neutralizante utilizada para cada uno de los sitios activos y cómo se calcula cada uno de ellos.

$$C_{SC} = C_{SC} \quad \text{NaHCO}_3, 0.1 \text{ N} \quad \text{ec. 4}$$

$$C_{SCL} = C_{SC} + C_{SL} \quad \text{Na}_2\text{CO}_3, 0.1 \text{ N} \quad \text{ec. 5}$$

$$C_{SCLF} = C_{SC} + C_{SL} + C_{SF} \quad \text{NaOH}, 0.1 \text{ N} \quad \text{ec. 6}$$

$$C_{SAT} = C_{SC} + C_{SL} + C_{SF} + C_{SCa} \quad \text{NaOC}_2\text{H}_2, 0.1 \text{ N} \quad \text{ec. 7}$$

Donde:

C_{SC} = Concentración de sitios carboxílicos, (meq/g)

C_{SCL} = Concentración de sitios carboxílicos y lactónicos, (meq/g)

C_{SL} = Concentración de sitios lactónicos, (meq/g)

C_{SCLF} = Concentración de sitios carboxílicos, lactónicos y fenólicos, (meq/g)

C_{SF} = Concentración de sitios fenólicos, (meq/g)

C_{SAT} = Concentración de sitios ácidos totales, (meq/g)

C_{SCa} = Concentración de sitios carbonilos, (meq/g)

Para cada una de las determinaciones se utilizó la cantidad de 0.1 g de fibra en 25 mL de solución neutralizante, los cuales se colocaron en tubos de propileno de 50 mL, se sellaron y se dejaron en agitación constante a 150 rpm durante 5 días, para después filtrar la solución y titularla con HCl 0.1 N.

Las concentraciones de los sitios activos en la superficie de la fibra se calcularon con la siguiente ecuación:

$$C_{SA} = \frac{V_{in} (C_{in} - C_{fn})}{m} \times 1000$$

Donde:

C_{SA} = Concentración de sitios activos, (meq/g)

V_{in} = Volumen inicial de la solución neutralizante, (L)

C_{in} = Concentración inicial de la solución neutralizante, (eq/L)

C_{fn} = Concentración final de la solución neutralizante. (eq/L)

m = Masa de la fibra. (g)

La concentración final (C_{fn}) de la solución a neutralizar fue determinada con los datos de titulación y utilizando la ecuación:

$$C_{fn} = \frac{V_T \cdot C_T}{V_m}$$

Donde:

V_T = Volumen utilizado de la solución titulante, (mL)

C_T = Concentración de la solución titulante, (eq/L)

V_m = Volumen de la muestra de la solución neutralizante, (mL)

El volumen utilizado, en la solución titulante se identifica con la gráfica de la segunda derivada, para la cual se utiliza:

$$D^2 = \frac{d^2 pH}{dV^2} = \frac{\Delta pH_2 - \Delta pH_1}{V_{T3} - V_{T2}}$$

5.2.3 Capacidad Aceptora de Electrones (CAE)

La CAE fue determinada para corroborar que la FCA, tiene la capacidad de reducirse y de esta forma actuar como mediador redox y transferir electrones hacia el rojo de metilo.

5.2.3.1 Capacidad aceptora de electrones de las fibras reducidas químicamente con hidrógeno en presencia de paladio

La capacidad aceptora de electrones (CAE) está relacionada con la cantidad de grupos funcionales redox de la FCA y cuantifica la cantidad de electrones que puede recibir durante un proceso de reducción. Se cuantifica indirectamente al medir la cantidad de hierro (II) producido al reaccionar la FCA previamente reducida con citrato férrico mediante la técnica de la ferrocina. La CAE de las fibras modificadas y sin modificar se determinó en botellas serológicas de 60 mL.

Cada botella contenía 10 mL de medio basal, 7 pellets de paladio (3.2 mm) y pequeños fragmentos de fibra para obtener una concentración final de 200 mg/L de fibra. Las botellas se cerraron con tapones de caucho y sellos de aluminio. La atmósfera de las botellas se intercambia durante 15 min por una atmósfera de H₂ (99.9 %) ya que éste fue el donador de electrones o agente reductor. El pH inicial fue de 6.5. Las botellas se incubaron a 30 °C y 160 rpm durante 7 días, pasado este tiempo se determinó la CAE por la técnica de la ferrocina.

Cabe señalar que también se midió la CAE al tiempo 0, es decir sin dar tiempo a que ocurriera una reducción de las fibras por parte del hidrógeno. También, se realizaron controles sin hidrógeno para la correcta determinación de la capacidad reductora. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

5.2.3.2 Capacidad aceptora de electrones de las fibras reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio

La capacidad final de aceptar electrones de las fibras modificadas y sin modificar también se ensayó en experimentos en los cuales intervinieron microorganismos. El ensayo fue similar al anterior, en botellas serológicas de 60 mL se colocaron: 0.1 g SSV/L de lodo granular anaerobio, 200 mg/L de fibra de carbón activado, 3 g/L de glucosa como donador de electrones y 10 mL de medio basal. El pH inicial fue de 6.5. Las botellas se sellaron con tapones de hule y aros metálicos y se les intercambia la atmósfera del espacio cabeza con una mezcla de gases N₂/CO₂ (80/20 %), durante 5 min. Posteriormente, se incubaron durante siete días a 30 °C y 160 rpm y después se determinó la cantidad de hierro (III) reducido mediante la técnica de la ferrocina. Es importante señalar que se realizaron controles sin donador de electrones (glucosa), abióticos (sin lodo granular), sin mediador (sin fibra), y solo con lodo. Todos los experimentos fueron hechos por triplicado.

5.2.4 Reducción del rojo de metilo (RM)

La reducción del RM se realizó con dos diferentes donadores de electrones. Primero se utilizó un donador de electrones químico, (Na_2S) y posteriormente un sistema biológico con lodo granular anaerobio y glucosa como donador de electrones.

5.2.4.1 Reducción química del rojo de metilo con Na_2S como donador de electrones

Los efluentes de la industria textil contienen sulfuro, debido a esto se utiliza como agente reductor químico de colorantes además se realiza para evaluar si las FCA tenían la capacidad de transportar electrones.

En estos experimentos primero se llevó a cabo la reducción química de la fibra con Na_2S y posteriormente se adicionó el colorante. Se usaron botellas serológicas de 60 mL de capacidad, que contenían: 200 mg/L de fibra, 1g/L de sulfuro de sodio, y 50 mL de medio de basal. El pH inicial fue de 6.5. También se realizaron controles sin fibra y sin sulfuro para poder evaluar la adsorción del colorante y para verificar la estabilidad del mismo. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Las botellas se sellaron y se les intercambiaron la atmósfera del espacio cabeza con la mezcla de gases N_2/CO_2 (80/20 %), durante 5 min. Las botellas se incubaron en agitación (180 rpm) y 28 °C por un periodo de 7 días, pasado este tiempo se agregó el rojo de metilo a partir de una solución stock (2.5 mM) para obtener una concentración de 0.2 mM dentro de la botella. Inmediatamente después de la adición del colorante se comenzó con la cuantificación del rojo de metilo en intervalos de 3 h, durante 15 horas.

5.2.4.2 Reducción biológica del rojo de metilo con lodo granular anaerobio y glucosa como donador de electrones

En el sistema biológico con FCA como mediador redox el mecanismo ocurre como se muestra en la siguiente Figura.

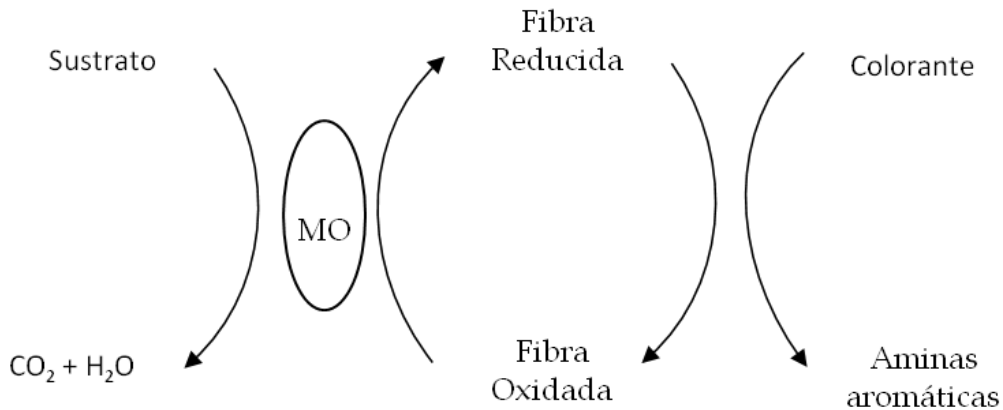


Figura 5.3 Esquema de los pasos involucrados en la reducción de colorantes utilizando fibra de carbón activado como mediador redox. Donde MO = microorganismos.

Los experimentos se llevaron a cabo en botellas serológicas de 60 mL. Las botellas contenían 50 mL de medio basal, 0.5 g SSV/L de lodo granular anaerobio, 200 mg/L de fibra y 3 g DQO/L de glucosa. Las botellas se sellaron y se les intercambiaron la atmósfera del espacio cabeza con la mezcla de gases N_2/CO_2 (80/20 %), durante 5 min. Después con una jeringa se agregó el rojo de metilo desde una solución stock (10 mM) para obtener una concentración final de 0.2 mM en los cultivos. Inmediatamente después de la adición del colorante se comenzó con su cuantificación en intervalos de 15 min, durante 90 min. Las botellas se mantuvieron en agitación (180 rpm) y a 30 °C durante el seguimiento de la medición del rojo de metilo. Así mismo, se ensayaron controles sin mediador redox, controles abióticos (sin lodo granular), controles sin donador (sin glucosa), y controles de adsorción (fibra y rojo de metilo). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

5.2.5 Formación de la biopelícula en las fibras de carbón activado

Además de funcionar como mediador redox, una de las ventajas que presenta el uso de FCA en sistemas de tratamiento de agua es que las fibras pueden servir de soporte para microorganismos. De esta forma el mediador redox permanece inmovilizado dentro del biorreactor junto con microorganismos que son capaces de reducir sus grupos aceptores de electrones.

Para ello, en botellas serológicas de 120 mL se colocaron ~ 0.5 g de fibra recortada en cuadros de 1 cm², 1 g SSV/L de lodo granular anaerobio disgregado, y 1g DQO/L de ácidos grasos volátiles (acético:propionico:butírico, 1:1:1) en un volumen total de 90 mL de medio de cultivo basal. Las fibras que se utilizaron fueron, la fibra sin oxidar y oxidada por 2 horas. La biomasa adherida a las fibras se cuantificó indirectamente como SSV. La cuantificación de los sólidos se realizó semanalmente durante un periodo total de siete semanas.

Para tener una evidencia visual de la formación de la biopelícula en las fibras se tomaron fotos con un microscopio óptico Motic 102M y uno estereoscópico Nikon 115. Las fotos se tomaron a la tela sin bio-película y con bio-película después de 3 y 7 semanas.

5.2.6. Reducción de rojo de metilo en presencia de biomasa y de FCA suspendida y con bio-película adherida a las FCA

Después de la formación de la bio-película en las fibras de carbón activado, se procedió a realizar cinéticas de reducción del rojo de metilo con estas fibras con biomasa adherida. Para evaluar si la bio-película en las FCA afectaba de alguna forma su capacidad como mediador redox, se realizaron también cinéticas de reducción del colorante con la misma concentración de biomasa adherida a la fibra

pero la biomasa se encontraba separada de la fibra, es decir, los microorganismos no formaban una bio-película sino que se encontraban en suspensión.

5.2.6.1. Reducción de rojo de metilo en presencia de biomasa suspendida y de FCA

Para evaluar la reducción del rojo de metilo en un sistema biológico usando FCA como mediadores redox se realizaron experimentos en lote con biomasa suspendida. Se utilizaron botellas serológicas de 60 mL a las cuales se le agregaron 200 mg/L de fibra, 0.44 g/L de glucosa, 0.074 g SSV/L de lodo granular disgregado y 50 mL de medio basal. El pH inicial fue de 6.5. Las botellas se sellaron con tapones de hule y aros metálicos, se les intercambio la atmósfera del espacio cabeza con la mezcla de gases N₂/CO₂ (80/20 %), durante 5 minutos. Después, se les agregó el rojo de metilo (0.2 mM), y se comenzó el seguimiento de la desaparición de color espectrofotométricamente, a diferentes intervalos de tiempo (cada hora durante 10 horas). De la misma forma se realizaron los controles correspondientes: sin mediador redox (lodo granular + glucosa + rojo de metilo), sin lodo granular (glucosa + fibra + rojo de metilo), sin glucosa (lodo granular + fibra + rojo de metilo) y el control de adsorción (fibra + rojo de metilo). Los experimentos se realizaron por triplicado.

5.2.6.2 Reducción del rojo de metilo con biopelícula adherida a las FCA

Para determinar si la bio-película disminuyó la capacidad de transportar electrones de las FCA se realizaron ensayos en lote con fibras sobre las cuáles se había desarrollado una bio-película.

En botellas serológicas de 60 mL se colocó un cuadro de fibra de aproximadamente 1 cm² sobre la cual se había formado bio-película, 0.44 g/L de glucosa y 50 mL de

medio basal. La concentración de fibra en el ensayo correspondió a 200 mg/L de fibra y la concentración de sólidos suspendidos volátiles adheridos a la fibra resultaron en una concentración de 0.074 g SSV/L. De tal forma que las concentraciones de todos los componentes del ensayo fueron las mismas que para los experimentos con biomasa suspendida.

Cuando se agregó el cuadro de fibra con bio-película, desde la botella donde se encontraba formándose hacia la botella nueva con 50 ml de medio basal, todo el proceso se llevó a cabo dentro de una cámara anaerobia (atmósfera N₂/H₂, 95%/5%) y lo más rápido posible para evitar la oxidación de la fibra, también ahí mismo se agregó la glucosa, y se taparon las botellas con tapón de hule y aro metálico. Se les intercambió la atmósfera del espacio de cabeza con la mezcla de gases N₂/CO₂ (80/20 %), durante 5 minutos. Posteriormente, se agregaron los 0.2 mM de rojo de metilo, para comenzar con la cinética a los mismos intervalos de tiempo que se siguió en la cinética de forma suspendida, esto con el fin de comparar correctamente entre un experimento y otro. Los experimentos se realizaron por triplicado así como los controles sin bio-película y sin glucosa.

5.2.7 Cinética de consumo de sustrato

Como último experimento, se realizó una cinética de consumo de sustrato para comparar entre el sistema con bio-película y con biomasa suspendida. En botellas serológicas de 60 mL se adicionaron 0.44 g/L de glucosa en 50 mL de medio basal. Dependiendo del experimento también se adicionaron 200 mg/L de fibra y 0.074 g SSV/L de lodo granular disgregado (biomasa suspendida) ó 200 mg/L de fibra con bio-película. Las botellas se sellaron con tapones de hule y aros metálicos y se les intercambió la atmósfera del espacio cabeza con la mezcla de gases N₂/CO₂ (80/20 %), durante 5 minutos. La cinética se comenzó desde el momento en que las

botellas se encontraron selladas y se siguió el consumo de glucosa midiendo azúcares reductores.

5.3 Análisis

5.3.1. Determinación de hierro (II) por la técnica de la ferrocina

La reducción de FCA se determinó por la técnica de la ferrocina de acuerdo con el método de Stookey, (1970), la cual consiste en cuantificar el Fe (II), generado al reaccionar la FCA reducida con citrato férrico. Para evitar la oxidación de la muestra, esta técnica se realizó dentro de una cámara anaerobia con atmósfera de N₂/H₂ (95/5 %). La técnica de la ferrocina se utilizó en las secciones 5.2.3.1 y 5.2.3.2 para medir la CAE de las fibras.

Las botellas se abrieron dentro de la cámara anaerobia y se les agregó 10 ml de citrato férrico dejando un tiempo de reacción de 30 minutos. Después de este tiempo, a las botellas se le agregaron 10 mL de ácido clorhídrico 0.5 M para fijar y poder medir el Fe (II), y se dejaron reposar por un espacio de tiempo de 15 min. Finalmente, se utilizó el reactivo ferrocina [4,4'-[3-(2-piridinil)-1,2,4-triazina-5,6-dil]bis-sal mono-sódica) preparado como solución amortiguadora con [4-(2-hidroxietil)piperazina-1-ácido etanosulfónico] (HEPES) para colorear las muestras y medir el Fe (II) espectrofotométricamente a una longitud de onda de 562 nm. Cabe señalar que se tomaron en cuenta experimentos sin citrato férrico para restarle este valor a los experimentos con citrato férrico.

5.3.2. Cuantificación de la concentración de rojo de metilo

La concentración de rojo de metilo se cuantificó por espectrofotometría ultravioleta-visible a 422 nm que es la longitud de onda máxima de absorción,

determinada en un barrido de 200 - 700 nm con una solución de 10 mg/L de rojo de metilo. Se realizó una curva estándar con concentraciones de 5 hasta 50 mg/L para determinar la concentración del contaminante en las cinéticas de reducción.

5.3.3 Determinación de los sólidos suspendidos volátiles

Los sólidos suspendidos volátiles se determinaron de acuerdo al manual de métodos estándar. Se utilizaron cápsulas de porcelana que se llevaron a peso constante, se pesaron las capsulas y se registró dicho peso como peso C, después se colocaron de 2-3 g de lodo granular en la cápsula (previamente decantado para extraer la mayor cantidad de agua posible) y se registró el peso como peso X. Las cápsulas con el lodo se secaron durante 12 h a 105 °C y también se anotó el peso como peso E. Por último, para determinar los sólidos volátiles se colocó la cápsula con el residuo seco del peso E en una mufla a 550°C y se calcinaron durante 1 hora.

El porcentaje de sólido se calculó de la siguiente forma:

$$\text{Sólidos totales (\%)} = (E-C)*100/X$$

$$\text{Sólidos volátiles (\%)} = (E-M)*100/X$$

$$\text{Sólidos fijos o cenizas (\%)} = (M-C)*100/X$$

La cantidad de biomasa adherida a las fibras se realizó de forma similar al método de los sólidos suspendidos volátiles del lodo granular anaerobio. En cápsulas de porcelana de 4 x 1 cm, a peso constante se colocó un cuadro de fibra con bio-película y se registró como peso B. La cápsula con la fibra con biomasa adherida se secó en un horno durante 48 h a 105 °C y se registró el peso (X). Después, esta misma cápsula con la fibra con bio-película se colocó en una mufla a 550°C durante 1 hora para calcinar la fibra con bio-película.

Los cálculos fueron:

$$\text{Biomasa} = \text{peso B} - \text{peso seco de la fibra}$$

$$\text{g biomasa/g fibra} = \text{biomasa/peso seco de la fibra}$$

5.3.4 Determinación de azúcares reductores

La determinación de azúcares reductores se realizó con el método de Miller (1959) ácido DNS (ácido 3,5 dinitro-salicílico). En el cual primero se prepara el reactivo DNS, disolviendo 7 g de NaOH, 2.7 g de fenol, 2.54 g de meta-bisulfito de sodio y 14.5 g de tartrato de sodio en 500 ml de agua destilada. Para llevar a cabo las mediciones, se mezcla 1 mL de muestra (de las incubaciones en las botellas), y 3 mL de reactivo DNS en tubos Hach. Los tubos se colocan en baño de temperatura a ebullición durante 5 minutos, inmediatamente se retiran y se enfrían a temperatura ambiente, para adicionarle 6 mL de agua destilada. Por último, se midió la absorbancia a 575 nm, y con la curva de calibración (100–1000 mg/L) se lee la concentración de azúcares reductores.

5.4 Cálculos

La constante de velocidad de primer orden “k” se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$A_t = A_0 e^{-kt}$$

Donde:

A_t = absorbancia en el tiempo t

A_0 = absorbancia inicial en tiempo 0

k = constante de velocidad de primer orden

t = tiempo transcurrido.

6. Resultados y Discusión

6.1 Oxidación de la fibra de carbón activado con ácido nítrico (HNO_3)

La oxidación de la fibra con ácido nítrico se realizó bajo cuatro diferentes condiciones de tiempo 0.5, 1, 1.5 y 2 h. Los pesos iniciales (antes de la oxidación) y finales se muestran en la Tabla 6.1.

Tabla 6.1. Condiciones de tratamiento de cada una de las fibras, peso inicial y final. El nombre de la muestra corresponde al tiempo de oxidación en horas.

Muestra	Tiempo de Oxidación (h)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Pérdida de peso (%)
0.5	0.5	2.00	2.00	0.21
1	1	2.06	2.03	1.55
1.5	1.5	2.09	2.00	4.36
2	2	2.01	2.00	0.31

Las fibras, después de haber sido sometidas a condiciones ácidas y alta temperatura, no presentaron daño físico visual. Es por ello que se eligió la modificación con HNO_3 concentrado ya que en la actualidad es una de las técnicas más usadas para oxidar materiales de carbono. También, se eligió porque ayuda a la formación de grupos oxigenados en la superficie de los carbones tales como lactónicos, fenólicos, carbonilos, carboxílicos y quinónicos. Además, comparado con otros agentes oxidantes ya utilizados, como el ácido sulfúrico, el gas ozono, y métodos electroquímicos, éstos pueden modificar significativamente la estructura física de los carbones y causar un daño mecánico (Rangel y Streat, 2002).

De acuerdo a la Tabla 6.1 las FCA no mostraron una pérdida de peso considerable ya que la que obtuvo mayor pérdida de peso fue la fibra con un tiempo de oxidación de 1.5 h y sólo fue de 4.3%. El porcentaje de pérdida de peso de las fibras con tiempos de oxidación de 0.5, 1 y 2 h fue menor al 2%, lo que significa que el tiempo de tratamiento aplicado no deteriora significativamente el material. Lo

anterior coincide con el trabajo de Leyva-Ramos *et al.* (2004), los cuales también oxidaron fibras de carbón activado con ácido nítrico con una pérdida de peso menor al 5% y las utilizaron para la remoción de cadmio con resultados favorables.

6.2 Caracterización de las fibras de carbón activado

Las técnicas utilizadas para la caracterización de las FCA fueron, análisis elemental, fisisorción de nitrógeno, infrarrojo, punto de carga cero y sitios activos.

6.2.1 Análisis elemental

La técnica de análisis elemental nos permite determinar la composición de materiales sólidos como las fibras de carbón activado. La cantidad de oxígeno no puede ser cuantificada directamente mediante esta técnica; sin embargo, se calculó por la diferencia, entre el total (cien porciento) y la suma de los resultados del analizador elemental de porcentaje de carbono, hidrógeno, nitrógeno y cenizas. Los resultados con el cálculo de oxígeno se muestran en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2. Análisis elemental de la fibra sin oxidar y las oxidadas. En el tipo de material, Sin oxidar se refiere a la que no está oxidada y el número al tiempo de oxidación en horas. La abreviatura ND se refiere a no detectado por el analizador elemental.

Material	%C	%H	%O	%N	%cenizas ^a
Sin oxidar	80.22	ND	14.80	4.64	0.3402
0.5	74.98	ND	20.01	4.52	0.4903
1	69.42	ND	25.73	3.96	0.8828
1.5	65.25	ND	30.12	3.37	1.2534
2	62.84	ND	35.57	1.42	0.1622

^a El % de cenizas se calculó mediante análisis termo gravimétrico.

Los resultados obtenidos muestran claramente el incremento en el porcentaje de oxígeno de las fibras conforme aumenta el tiempo de oxidación, comparadas con la

fibra sin oxidar. Los valores fueron $14.80 < 20.01 < 25.73 < 30.12 < 35.57$, de porcentaje de oxígeno para la fibra sin oxidar, y oxidada durante 0.5, 1, 1.5 y 2 horas, respectivamente. Lo anterior está directamente relacionado con la formación de grupos oxigenados (carbonílicos, carboxílicos, lactónicos, fenólicos) en la superficie del material.

En las FCA la cantidad de oxígeno aumenta, caso contrario en el porcentaje de carbono el cual disminuye de acuerdo al siguiente orden, fibra sin oxidar, oxidada 0.5, 1, 1.5 y 2 horas con valores de $80.22 > 74.98 > 69.42 > 65.25 > 62.84$ de porcentaje de carbono. Este orden de los datos, en los que se incrementa la cantidad de oxígeno y disminuye el porcentaje de carbono son los esperados. Como ya se mencionó, el aumento en la cantidad de oxígeno es debido a la formación de grupos oxigenados, esto propicia la destrucción de la estructura gráfica de las fibras mediante reacciones electrofílicas lo que ocasiona una disminución en la cantidad de carbono (Zhang *et al.*, 2003). Las reacciones entre el ácido nítrico y las fibras de carbón activado envuelven especies en solución altamente electrofílicas, las cuales forman óxidos de nitrógeno que eventualmente se reducen a N_2 a través de la oxidación del carbón (Zawadski, 1980). Como resultado, el contenido de oxígeno incrementa. Lo anterior explica la formación de grupos oxigenados en la superficie de las fibras. Finalmente, el porcentaje de hidrógeno se marcó como no detectado ya que fue el resultado determinado por el analizador elemental.

6.2.2 Fisisorción de nitrógeno

Las propiedades de textura como área específica, volumen promedio de poros y diámetro promedio de poros en las fibras tratadas con ácido nítrico y sin ningún tratamiento se presentan en la Tabla 6.3. Para el cálculo del área específica se han utilizado distintas teorías que interpretan los resultados de isotermas de adsorción

de un gas de forma diferente; sin embargo, la teoría más utilizada es la de Brunauer, Emmet y Teller (BET). Esta teoría está basada en la formación de multicapas y supone que el calor de adsorción de la monocapa es distinto al resto de las otras capas, las cuales presentan el mismo calor de adsorción. La teoría BET es preferentemente utilizada para materiales con una área específica alta como lo es el caso de las fibras de carbón, las cuales presentan áreas superficiales de entre 1000 y 2 000 m²/g. Sin embargo, la linealidad de este modelo es limitada sólo a una parte de la isoterma. Generalmente, la gráfica de acuerdo a BET debe ser entre 0.05 y 0.3 de valores de P/P₀, aunque para el grafito y carbones con microporos principalmente, esto debe estar relacionado con la presión relativa < 0.1. En la Figura 6.1 se muestra la gráfica de BET para la fibra sin oxidar.

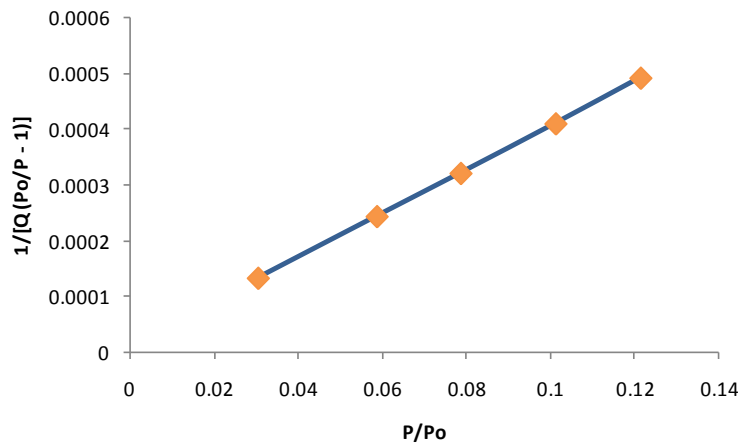


Figura 6.1 Gráfica BET de la fibra sin oxidar.

En la Tabla 6.3 se presentan los resultados de área específica para las fibras oxidadas y sin oxidar.

Tabla 6.3. Propiedades físicas y de textura de la fibra sin oxidar y oxidadas con HNO₃. El nombre de las muestras se refiere a Fibra, que es la fibra sin oxidar, y el número corresponde al tiempo de oxidación en horas.

Material	Área específica S_{BET} m ² /g	Volumen promedio de poro V_p cm ³ /g	Diámetro promedio de poro d_p nm	%Microporos
Fibra	1099.3	0.4915	1.78	95
0.5	1053.1	0.4695	1.78	89.15
1	1012.4	0.4478	1.76	89.03
1.5	1046.6	0.4426	1.79	88.17
2	919.2	0.4186	1.82	85.71

En la segunda columna se muestra el área específica de las fibras, la cual va disminuyendo conforme aumenta el tiempo de contacto con ácido nítrico, resultados que se esperaban ya que de acuerdo a distintos autores (Rangel y Streat, 2002; Leyva-Ramos et al., 2011) el área BET se ve disminuida debido al bloqueo de los microporos por los complejos formados durante la reacción química con HNO₃. También, la disminución de área indica el daño hecho al material por el ácido, por lo que en este caso podemos decir que, aunque el área disminuye, el valor no es significativo ya que la fibra sin oxidar cuenta con un área de 1099.3 m²/g y después de 2 h de tratamiento el valor de área cae a sólo 919.2 m²/g, valor que sólo representa el 16% de pérdida de área específica comparado con la fibra sin oxidar. De acuerdo a Rangel y Streat. (2002), quienes además de oxidar las fibras con ácido nítrico, también realizaron modificaciones oxidando con ozono y oxidación electroquímica, reportaron que la menor pérdida de área específica se presentó en el caso de la oxidación con ácido nítrico comparada con los otros métodos.

En la tercera columna de la Tabla 6.3 tenemos los valores de volumen de poro, los cuales tienen la misma tendencia que los valores de área específica, ya que

disminuyen ligeramente conforme aumenta el tiempo de oxidación, podemos decir que el volumen de poro disminuye conforme el área específica disminuye. Sin embargo, en este caso la disminución no es importante, ya que la disminución de volumen sólo representa el 14%. Además, en este estudio el área que se utiliza principalmente es el área externa de la FCA, que estará en contacto con los microorganismos para intercambiar electrones mediante el consumo de sustrato.

En cuanto a los valores de diámetro promedio de poro, sabemos que se encuentran en la clasificación de los microporos ya que los valores son menores a 2 nm (Bansal y Goyal, 2005). Dichos valores son lo esperado para las fibras de carbón activado. Además, el porcentaje de microporos es casi el total de poros del material.

Para confirmar esta afirmación observamos en la Figura 6.2, que la isoterma de adsorción-desorción es de tipo I, lo cual es característico de los materiales microporosos. Esto nos confirma una vez más que la estructura de las fibras está en su mayoría conformada por microporos.

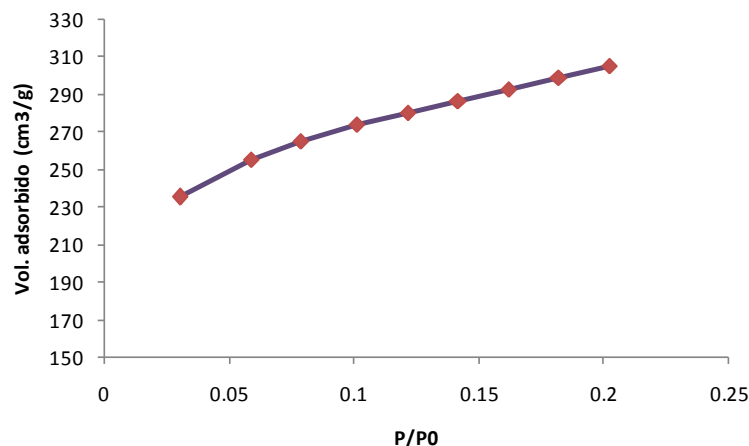


Figura 6.2 Isoterma de adsorción-desorción de nitrógeno a 77 K sobre la fibra sin oxidar.

6.2.3 Infrarrojo con transformada de Fourier

En la Figura 6.3 se comparan los espectros de infrarrojo de la fibra sin oxidar y las modificadas con ácido nítrico.

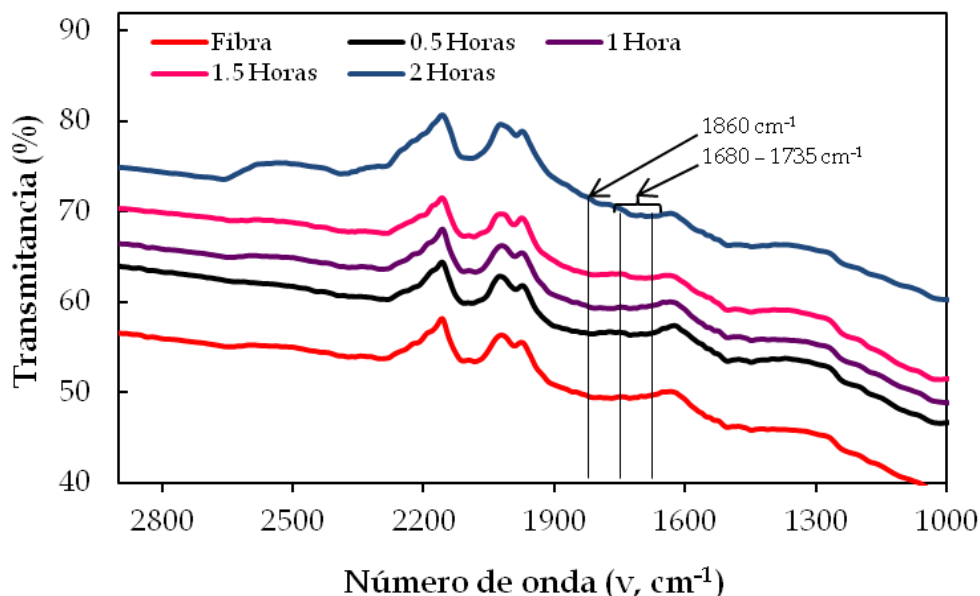


Figura 6.3 Espectros de Infrarrojo de la fibra sin oxidar y las fibras modificadas. Fibra se refiere a la fibra sin oxidar y los tiempos representan el tiempo de oxidación.

En estos espectros visualizamos de forma cualitativa un aumento de grupos oxigenados en la superficie de los materiales modificados, que concuerda con los resultados de análisis elemental en cuanto al incremento de oxígeno en las fibras oxidadas.

Principalmente se observa por el desplazamiento que se localiza en el intervalo de 1680 cm^{-1} en la fibra sin oxidar hasta 1735 cm^{-1} en la fibra oxidada durante 2 horas (ver Tabla 6.4). Esta señal es característica de una vibración de estiramiento de grupos carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) asociados con carboxilos contenidos en estructuras aromáticas. Aunque los desplazamientos fueron pequeños, este comportamiento se puede atribuir al contenido de los diferentes grupos funcionales que se encuentran en la periferia del $\text{C}=\text{O}$, como los grupos quinona o cetona conjugada (Moreno-Castilla *et al.*, 2000).

Tabla 6.4. Desplazamiento en la señal de grupos carbonilo en la fibra sin oxidar y oxidadas con HNO₃.
Sin oxidar se refiere a la fibra sin oxidar y el número corresponde al tiempo de oxidación en horas.

Material	C=O (cm ⁻¹)
Sin oxidar	1680
0.5	1712
1	1721
1.5	1729
2	1735

Se observa también otra señal en el intervalo de 1650-1860 cm⁻¹ que está asociada a grupos carbonilo y carboxilo.

Las bandas localizadas entre 1300-1000 cm⁻¹ se encuentran en una región en la cual es difícil asignar la presencia de determinados grupos funcionales debido a que ahí se encuentran un gran número de bandas traslapadas que pudieran corresponder a grupos funcionales con enlace C-O sencillo (alcoholes, éter, epóxidos y éster) (Song et al., 2010) . Se observa también la presencia de dos pequeñas señales en el intervalo de 1427 a 1508 cm⁻¹ que consiste en una serie de absorciones atribuidas a estructuras carboxil-carbonatos.

Las bandas debajo de 950 cm⁻¹ son características de vibraciones de deformación fuera del plano de los grupos C-H en estructuras aromáticas localizados en los límites de los planos aromáticos.

6.2.4 Punto de Carga Cero (PCC)

El punto de carga cero es el valor de pH en el cual la carga neta de las FCA es igual a cero, conocerlo permite determinar en qué intervalo de pH se debe trabajar para obtener la carga deseada en la superficie de las fibras de carbón activado a

determinada temperatura. En otras palabras, es un parámetro importante en la caracterización de un material para saber su carga neta superficial.

Cuando un material adsorbente se encuentra en contacto en solución acuosa se genera una carga en la superficie del material debido a la liberación de protones en los grupos activos. En este sentido, la carga superficial neta de las fibras es positiva a valores de pH menores del PCC, neutra cuando el pH es igual al PCC y negativa a valores de pH mayores al PCC. Los valores de PCC para la fibra sin oxidar y oxidadas se muestran en la Tabla 6.5.

Tabla 6.5 Punto de carga cero de las cinco fibras de carbón activado. Los nombres del material corresponden al tiempo de oxidación en horas y fibra se refiere al material sin oxidar.

Material	PCC (pH)
Fibra	4.76
0.5	4.21
1	3.82
1.5	2.43
2	1.97

Después de las oxidaciones con ácido nítrico, el valor de PCC disminuyó debido a la introducción de grupos funcionales oxigenados en la superficie de las fibras.

Los grupos oxigenados se disocian, generan una mayor concentración H^+ y, por lo tanto, disminuyen el pH del medio que se encuentra en equilibrio con la superficie de las fibras.

El PCC para la fibra oxidada durante 2 horas fue el más bajo 1.97; sin embargo, es similar al PCC de 2.4 reportado por Rangel y Streat. (2002), para fibras de carbón activado oxidadas con ácido nítrico.

Las FCA empleadas en esta investigación se utilizaron en un tratamiento biológico, sistema que opera en un intervalo de pH de 6 a 8, para el funcionamiento óptimo de los microorganismos. Debido al PCC de las FCA, sabemos que la carga neta superficial será negativa.

6.2.5 Sitios Activos

La cuantificación de los sitios activos presentes en la superficie de las fibras se llevó a cabo mediante el método de titulación ácido-base reportado por Bohem (1966) que es uno de los métodos más utilizados para esta determinación. Mediante esta técnica es posible identificar los grupos ácidos débiles: carbonilos, fenólicos, lactónicos, y carboxílicos, debido a que sus constantes de acidez, difieren en distintos órdenes de magnitud (Bohem 1966). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.5. Los datos de porcentaje de sitios activos se encuentran representados en la Figura 6.4, con el propósito de visualizar la distribución de los grupos superficiales.

Tabla 6.6. Contenido de grupos oxigenados de las fibras. Los grupos cuantificados fueron carbonilos, fenólicos, lactónicos, y carboxílicos. Las unidades para todos los grupos son miliequivalentes por gramo (meq/g). Donde fibra, es la fibra sin oxidar, y 0.5, 1, 1.5 y 2 tiempo de oxidación en horas.

Material	Carbonilos	Fenólicos	Lactónicos	Carboxílicos	Total Meq/g
Fibra	1.59	0.09	0.38	2.4	4.46
0.5	3.4	0.52	0.68	2.64	7.24
1	3.76	0.02	1.42	2.8	8
1.5	3.48	0.1	1.8	3	8.38
2	5.04	0.68	0.042	3.07	8.84

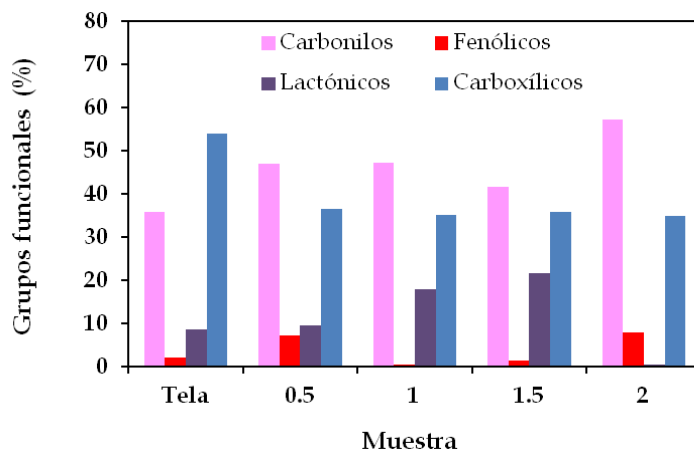


Figura 6.4. Contenido de grupos oxigenados de la fibra sin oxidar y modificadas.

Analizando la última columna de la Tabla 6.6, que corresponde a la cantidad de grupos oxigenados totales. Vemos que la fibra sin oxidar tiene una cantidad de 4.46 meq/g de sitios activos totales los cuales aumentan conforme incrementa el tiempo de oxidación. El incremento de 4.46 a 8.84 meq/g, representa un incremento del 98% de sitios activos, resultados que coinciden a los reportados por Rangel y Streat, (2002) y Díaz-Flores *et al.* (2006). La cantidad de grupos carboxílicos y lactónicos, también aumenta conforme incrementa el tiempo de oxidación (Fig. 6.4), lo que una vez más confirma la formación de dichos grupos en la superficie de la fibra. La concentración de grupos fenólicos es la que no muestra una tendencia clara de aumento.

En general, el aumento en la concentración de los grupos funcionales mencionados (carboxilos, lactónicos y fenólicos) es importante, ya que podrían actuar en reacciones de óxido-reducción aunque hasta el momento no se ha demostrado. Sin embargo, el grupo que es de especial interés es el grupo quinónico. Se ha demostrado que los grupos quinónicos funcionan como mediadores redox en diversos estudios: Lovley *et al.*, (1996), Cervantes *et al.*, (2001), Rau *et al.*, (2002), dicha función es la que se pretende evaluar en este trabajo. Si bien, con el método de Bohem, o incluso con cualquier otro método, es difícil cuantificar con

especificidad a los grupos quinónicos, lo que sí se conoce es que éstos están asociados a los grupos carbonilo (Gorontzy *et al.*, 1993), los cuales sí son cuantificados mediante el método utilizado (Bohem).

En la Tabla 6.6, se presentan los resultados para los grupos carbonilo, los cuales evidentemente aumentan conforme se incrementa el tiempo de oxidación. Lo que para la fibra oxidada durante 2 horas significa un aumento en la concentración de los grupos carbonilo de más de 3 veces. Por lo que podemos suponer que la función como mediador redox de las fibras oxidadas mejorará debido al aumento en los grupos carbonilo, y lo anterior servirá para acelerar la reducción de colorantes (Mezohegyi *et al.*, 2010).

6.3 Capacidad Aceptora de electrones (CAE)

La capacidad aceptora de electrones se determinó utilizando hidrógeno como agente reductor de las fibras de carbón activado y, posteriormente, en un sistema biológico empleando lodo granular anaerobio como inóculo y glucosa como donador de electrones.

6.3.1 Capacidad aceptora de electrones de las fibras reducidas químicamente con hidrógeno

Para determinar la CAE de las fibras de carbón activado reducidas químicamente con hidrógeno se realizaron ensayos con la fibra (en sus distintos tratamientos) e hidrógeno como donador de electrones, utilizando paladio como catalizador. Así mismo, se incluyeron controles sin el donador de electrones.

Los resultados de los experimentos con fibra reducida con hidrógeno y el experimento control se muestran en la Figura 6.5. (Anexo 1). Dichos experimentos sirvieron para determinar la CAE neta de las fibras por diferencia entre los

experimentos con hidrógeno y su respectivo control sin reducir. En la Tabla 6.7 se presentan los datos de la CAE neta de la fibra.

El método de la ferrocina cuantifica la reducción del Fe (III) a Fe (II) colorimétricamente a 562 nm (Stookey, 1970) y con esta medición espectrofotométrica sabemos la capacidad final aceptora de electrones.

Tabla 6.7. Capacidad final aceptora de electrones de las fibras de carbón activado reducidas químicamente con H₂. Los resultados corresponden a la diferencia entre el experimento Fibra + H₂ y fibra (Figura 6.5). El valor indicado después de ± es la desviación estándar del triplicado de las mediciones. Sin oxidar se refiere a la fibra sin oxidar y 0.5, 1, 1.5 y 2 horas a las fibras oxidadas durante 0.5, 1, 1.5 y 2 horas respectivamente.

Material	CAE meq/L
Sin oxidar	2.77 ± 0.44
0.5 horas	2.90 ± 0.03
1 horas	3.37 ± 0.32
1.5 horas	3.61 ± 0.53
2 horas	4.02 ± 0.29

Como ya se mencionó, en estos experimentos se usó un donador químico de electrones (H₂) para reducir a las fibras.

En los resultados obtenidos en la caracterización de las fibras, mediante sitios activos, punto de carga cero y análisis elemental, distinguimos claramente cómo aumentaba la concentración de grupos funcionales, la acidez del material y el porcentaje de oxígeno, respectivamente. Así mismo, esta tendencia es evidente en la CAE, que aumenta conforme incrementa el tiempo de oxidación debido a que se tiene una mayor concentración de sitios activos (Tabla 6.7). El aumento de la CAE de la FCA fue entonces de 2.77 a 4.02 meq/L. Por lo que, la capacidad aceptora de electrones de la fibra oxidada durante 2 horas aumentó 1.5 veces comparada con la fibra que no lo está. También, es importante destacar que de acuerdo a la Figura

6.5, el experimento control sin donador (Fibra), presenta valores de entre 0.177 y 0.293 meq/L. Los valores son pequeños, sin embargo, indican que las fibras sin estar en contacto con un agente reductor como el hidrógeno, ya se encuentran parcialmente reducidas y tienen la capacidad de transferir electrones hacia otro aceptor de electrones. Por lo tanto, estos resultados demuestran que tanto la fibra sin oxidar como las oxidadas tienen una CAE, y por lo tanto se encuentran disponibles (reducidas) para actuar como mediador redox y transportar los electrones hacia determinado contaminante para que éste a su vez se reduzca.

6.3.2 Capacidad aceptora de electrones de las fibras reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio

Los experimentos biológicos con lodo granular anaerobio para determinar la CAE neta de las fibras de carbón activado se realizaron como se describe en la Tabla 6.8. Se determinó la CAE a la fibra sin oxidar y a las fibras oxidadas durante 0.5, 1, 1.5 y 2 h. Todas las mediciones se realizaron por triplicado. Los resultados de los experimentos se muestran en el anexo 2.

Tabla 6.8. Descripción de los experimentos realizados para determinar la CAE en las fibras de carbón activado reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio.

Abreviatura	Descripción	Experimento
S + L + F	Sustrato + Lodo + Fibra	Completo
S + F	Sustrato + Fibra	Control abiótico
L + F	Lodo + Fibra	Control sin donador
S + L	Sustrato + Lodo	Control sin fibra
Lodo	Lodo	Control con solo lodo granular

Tabla 6.9. Capacidad final aceptora de electrones de las fibras reducidas de forma biológica con lodo granular anaerobio. Resultados obtenidos por la diferencia entre el experimento completo y los

controles abiótico, sin donador y sin fibra (descritos en Tabla 6.7). Sin oxidar se refiere a la fibra sin oxidar y 0.5, 1, 1.5 y 2 horas a las fibras oxidadas durante 0.5, 1, 1.5 y 2 horas respectivamente.

Material	CAE meq/L
Sin oxidar	0.492 ± 0.08
0.5 horas	0.578 ± 0.15
1 hora	0.697 ± 0.05
1.5 horas	0.733 ± 0.08
2 horas	0.795 ± 0.06
CA	0.906 ± 0.01

En la Tabla 6.9 se presentan los resultados de la CAE neta de las fibras reducidas biológicamente que resulta de la diferencia entre el experimento completo y el promedio de los experimentos con control abiótico, sin donador y sin fibra (anexo 2). Se observa que la fibra sin oxidar tiene el valor menor (0.492 meq/L) y la fibra oxidada 2 horas tiene el valor mayor (0.795 meq/L), el incremento en la CAE fue de 1.6 veces, resultado similar al obtenido con la reducción química con H₂, que fue de 1.5 veces. Lo que hace notar que los resultados son comparables, aunque el donador de electrones sea distinto.

Los resultados de la Tabla 6.9 se comportan de forma similar a los resultados del experimento de CAE neta de las fibras reducidas con H₂ (Tabla 6.7), ya que el aumento es progresivo conforme aumenta el tiempo de oxidación de la fibra.

Comparando los dos métodos para determinar la CAE (químico y biológico) podemos decir que, si bien es cierto que los valores obtenidos con H₂ y paladio son cuatro veces mayores que los obtenidos con lodo granular anaerobio, no son valores que se encuentren lejos de los reportados en la literatura, ya que Ratasuk y Nanny (2007) reportaron resultados similares en un estudio de la reducción de ácidos húmicos y fúlvicos con H₂ y Pd. Donde los resultados obtenidos con H₂ y

paladio (0.550 meq/g) fueron 2 veces mayores que con la reducción microbiológica con *Geobacter metallireducens* (0.290 meq/g).

También, igual que con la reducción con H₂ y Pd, la fibra oxidada por 2 horas presentó la más alta CAE (0.795), lo que coincide con el aumento de sitios activos totales en la fibra oxidada por 2 horas (8.84 meq/g) comparada con la fibra sin oxidar (5.04 meq/g).

Con estos resultados, se sugiere que las fibras de carbón activado, presentan una CAE tal que les permita actuar como mediador redox y transportar los electrones desde un determinado donador de electrones, hacia un contaminante aceptor de electrones. Y además que la CAE aumentó conforme se incrementó el tiempo de oxidación de las fibras de carbón activado.

Analizando la contribución de los grupos funcionales oxigenados, determinados con el método de Bohem (Figura 6.5), se puede elucidar que la capacidad aceptora de electrones de las fibras de carbón activado está relacionada directamente con la concentración de grupos oxigenados en la FCA (Tabla 6.6). Se sugiere que la CAE biológica medida con lodo anaerobio y glucosa está asociada únicamente a la reducción de los grupos carbonilo de la FCA (Figura 6.5). La CAE determinada con hidrógeno es mayor que la cantidad de sitios activos totales ya que el hidrógeno reduce todos los grupos funcionales presentes en la FCA. Esto indica que los grupos carbonilo, carboxílicos, lactónicos y fenólicos (determinados por el método de Bohem) solo representan una fracción de todos los grupos que contienen oxígeno en la FCA.

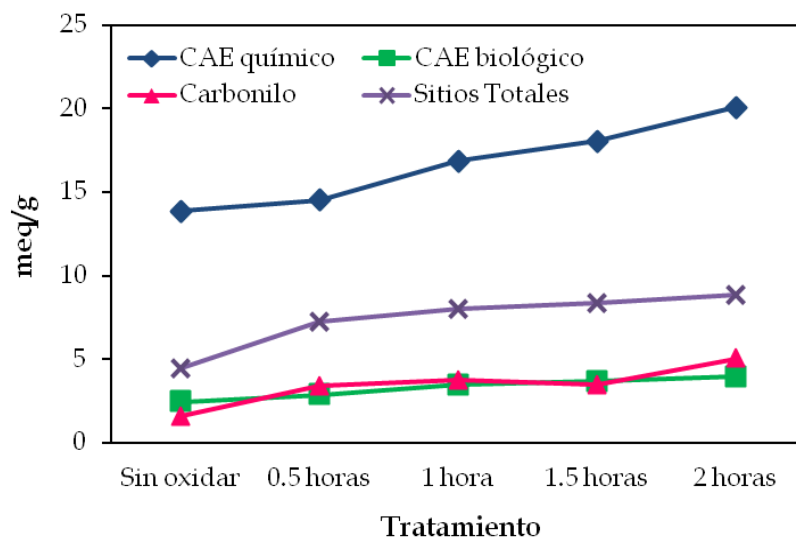


Figura 6.5. Relación entre la CAE y la concentración de sitios activos en la FCA sin modificar y las modificadas con HNO_3 . Sin oxidar se refiere a la fibra sin oxidar y 0.5, 1, 1.5 y 2 horas a las fibras modificadas.

Los siguientes experimentos se realizaron únicamente con la fibra sin oxidar y con las oxidadas durante 1 y 2 horas. Esto se decidió de acuerdo a los resultados obtenidos en la caracterización de las fibras de carbón activado discutidos anteriormente y en los experimentos de capacidad aceptora de electrones. También, a que en los experimentos siguientes se requirió realizar a su vez controles con un mismo tipo de fibra, lo que multiplicó el diseño de experimentos.

6.4 Reducción de rojo de metilo

Los experimentos de reducción del rojo de metilo se realizaron con Na_2S como donador de electrones (reducción química) y con lodo granular anaerobio como inóculo, y glucosa como donador de electrones (reducción biológica).

6.4.1 Reducción química

Se realizó una serie de experimentos, con cada tipo de fibra, que incluía un sistema completo con sus respectivos controles como se muestra en la Tabla 6.10. Todos los ensayos fueron por triplicado. Además, se hizo un experimento completo con carbón activado como control positivo.

Tabla 6.10. Descripción de los experimentos realizados en la reducción química del rojo de metilo.

Abreviatura	Descripción	Experimento
F + S + RM	Fibra + Sulfuro + Rojo de metilo	Completo
S + RM	Sulfuro + Rojo de metilo	Control sin mediador
F + RM	Fibra + Rojo de metilo	Control sin donador
CA + S + RM	Carbón activado + Sulfuro + Rojo de metilo	Control positivo

En la Figura 6.6 se muestran los resultados de la reducción química del rojo de metilo con Na_2S y tres FCA.

El propósito de realizar una reducción química fue verificar si la FCA podía ser reducida por un donador no biológico como el Na_2S y si ésta a su vez podría reducir al rojo de metilo. En la Figura 6.6 A observamos la disminución en la concentración de rojo de metilo en el experimento completo (fibra + sulfuro + rojo de metilo).

También se observa lo mismo en un experimento similar pero usando carbón activado (CA) en lugar de fibra. Se observa que la disminución de la concentración de rojo de metilo no es muy diferente entre ambos sistemas.

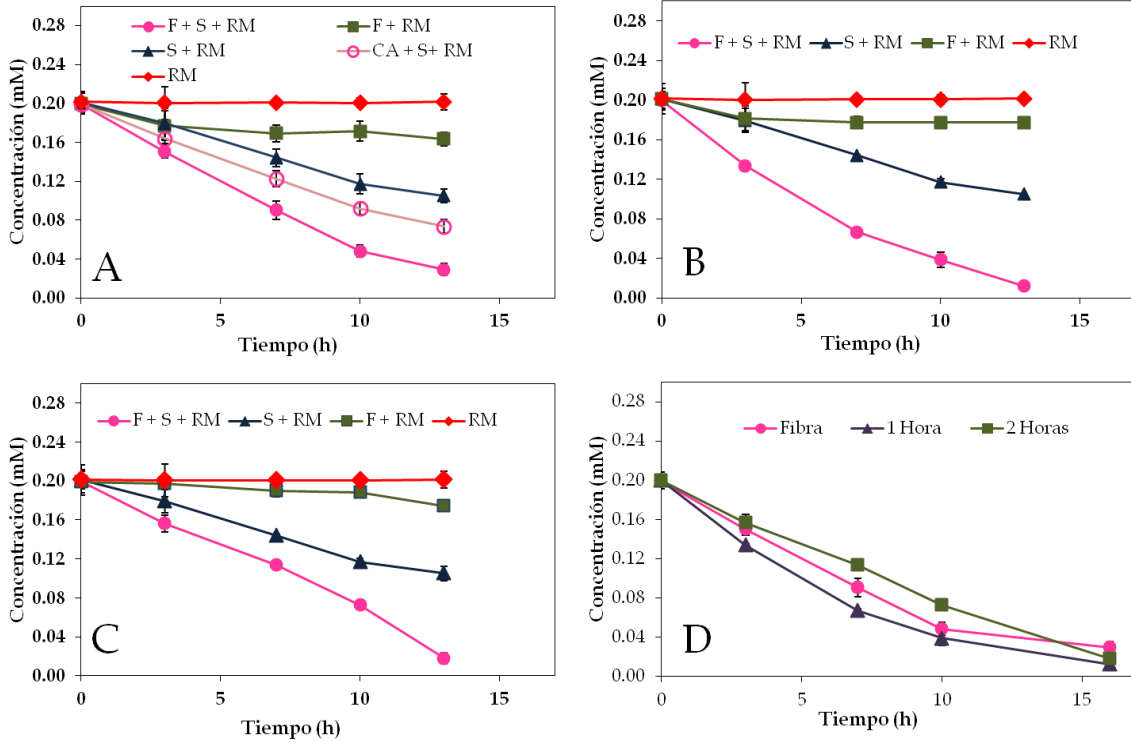


Figura 6.6. Reducción química de rojo de metilo con Na_2S y tres diferentes FCA. A) Fibra sin oxidar, B) fibra oxidada durante 1 hora, C) fibra oxidada durante 2 horas y D) comparación entre los tres materiales anteriores en el sistema completo F + S + RM. Donde F = fibra de carbón activado, S = sulfuro, RM = rojo de metilo y CA = carbón activado.

Tabla 6.11. Valores de la constante de velocidad de primer orden (k) para la reducción química de rojo de metilo con tres diferentes fibras de carbón activado. La fibra sin oxidar y las oxidadas por 1 y 2 horas. La desviación estándar se encuentra después del signo \pm .

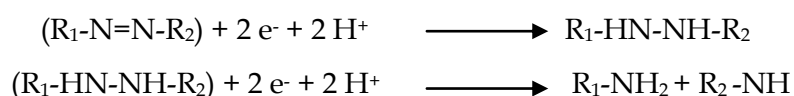
Tratamiento	Fibra		1 hora		2 horas	
	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)
F + S + RM	0.150 ± 0.006	85.29	0.205 ± 0.005	80.61	0.166 ± 0.005	91.01
S + RM	0.052 ± 0.008	47.68	0.052 ± 0.008	41.72	0.052 ± 0.008	47.68
F + RM	0.013 ± 0.010	18.09	0.008 ± 0.10	11.83	0.009 ± 0.006	12.31
CA + S + RM	0.077 ± 0.006	62.96				

El valor de k se calculó asumiendo una reacción de primer orden.

F = fibra de carbón activado, S = sulfuro, RM = rojo de metilo y CA = carbón activado.

Los resultados son los esperados y similares a los reportados por van der Zee *et al.* (2003) para la reducción de naranja ácido 7 con CA. La concentración de colorante disminuyó 80% dentro de los primeros cinco días, comparado con el control sin mediador (sin CA), el cual disminuyó sólo 40% la concentración del colorante después de dos semanas de incubación.

Si comparamos la pendiente de acuerdo a una cinética de primer orden de los tres tipos de FCA, encontramos que el valor mayor le corresponde a la fibra oxidada por 1 hora, seguido por la de 2 horas y, por último, la fibra sin oxidar (Tabla 6.11). Lo que nos indica que cuando se emplea Na₂S como agente reductor, la velocidad de reducción del rojo de metilo es independiente de los sitios activos (grado de oxidación) de la fibra. Lo anterior, usando una concentración de 1g/L de Na₂S, lo cual es suficiente para reducir 0.2 mM de rojo de metilo. De acuerdo a la estequiometría de la reacción, se necesitan cuatro miliequivalentes de electrones para reducir el enlace -N=N-, lo que sucede en dos etapas. En cada etapa se transfieren dos electrones al colorante azo, que actúa como aceptor final de electrones (van der Zee, 2002).



La fibra oxidada durante 1 hora obtuvo un valor de constante de primer orden de 0.205 h⁻¹ que fue el mayor de las tres fibras probadas. También, presentó una eficiencia de remoción de 80.61% que fue la menor comparada con las otras dos fibras. La eficiencia de remoción de la fibra sin oxidar fue 85.25 % y la oxidada 2 horas, 91.01%. La fibra oxidada 2 horas fue la que presentó la mayor concentración de sitios activos totales (8.84 meq/g), lo que indica que el aumento en la concentración de sitios activos se refleja también en la eficiencia de remoción y en la velocidad de reducción del rojo de metilo.

Pereira *et al.* (2010), realizaron experimentos similares de reducción química con Na_2S , utilizando carbón activado comercial como mediador redox y con cuatro diferentes colorantes azo a pH 5.0. Los resultados indicaron una velocidad de reducción de 0.091, 0.054, 0.079 y 0.204 h^{-1} para el naranja ácido 7, rojo reactivo 2, amarillo mordiente 10 y azul directo 71, respectivamente. Lo que es similar a lo obtenido en el presente estudio con carbón activado (0.077 h^{-1}).

En el estudio de Pereira y cols. (2010) con carbón activado y los resultados del presente estudio con carbón activado, las velocidades de reducción son menores que los resultados obtenidos con las tres fibras de carbón activado probadas. Es decir, la fibra de carbón activado sin oxidar promovió una velocidad de reducción del rojo de metilo 2 veces mayor comparada con la obtenida con el carbón activado.

Lo anterior demuestra un mejor desempeño por parte de las FCA en la reducción química del colorante. Estos resultados podrían ser explicados por las características fisicoquímicas de las fibras, las cuales cuentan con un área específica externa más grande comparada con la del carbón activado. De acuerdo con diferentes autores (Matatov-Meytal y Sheintuch, 2002; Lysenko, 2007) el área específica externa de las fibras de carbón activado es 100 veces mayor que el carbón activado. Es de esperar que los grupos funcionales como los quinónicos se encuentren también más expuestos al medio acuoso y al rojo de metilo. Por otro lado, el carbón activado tiene una composición heterogénea, está compuesto de microporos, mesoporos y macroporos y su área específica externa es menor lo que hace que cierta concentración de los grupos funcionales se encuentre poco disponible al medio acuoso y existan problemas difusionales del contaminante en el interior de los poros del CA.

6.4.2 Reducción Biológica

La reducción biológica de colorantes con consorcios anaerobios ya se encuentra ampliamente reportada por diferentes grupos de investigación, (Razo-Flores *et al.*, 1997; Cervantes *et al.*, 2001; Dos Santos *et al.*, 2005). Sin embargo, este proceso de reducción ocurre muy lentamente en muchos casos, debido a la estructura compleja de los colorantes azo y se han reportado periodos mayores a 90 días para lograr la reducción de colorantes monoazo (van der Zee *et al.*, 2001). Para contrarrestar estas limitaciones, se ha explorado la implementación de mediadores redox que disminuyan el tiempo de reacción.

Algunos de los mediadores que se han utilizado con éxito son ácidos húmicos (Cervantes *et al.*, 2011), antraquinona 2-6 disulfonato (AQDS, Li *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2009; Cervantes *et al.*, 2010) y materiales a base de carbono como el grafito y el carbón activado (Xu *et al.*, 2010 y Mezohegy *et al.*, 2010, respectivamente).

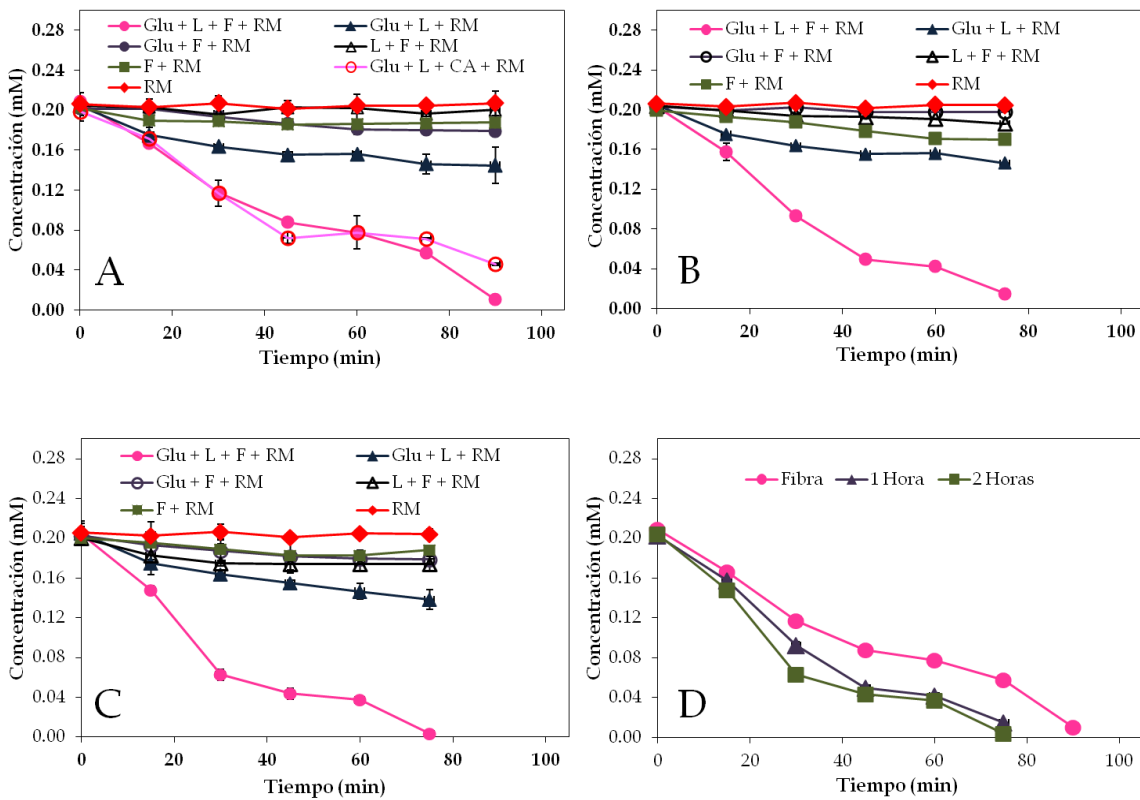
El uso de los mediadores redox mencionados anteriormente aun presenta desventajas ya que se necesita la continua dosificación de los mismos a los sistemas de tratamiento, lo cual representa costos elevados de operación. Para evitar este problema se necesita inmovilizar al mediador redox en el biorreactor.

Las FCA presentan la ventaja sobre los materiales anteriores, ya que no necesitan ser inmovilizados en los sistemas de tratamiento o ser adicionadas continuamente. Los experimentos de reducción biológica se realizaron para cada una de las fibras tomando en cuenta los siguientes experimentos (Tabla 6.12).

En la Figura 6.7 se muestran las gráficas de reducción biológica del rojo de metilo con tres FCA y carbón activado. En la Tabla 6.13 se presentan los valores de la constante de velocidad de primer orden y eficiencia de remoción para las tres fibras.

Tabla 6.12. Descripción de los experimentos realizados en la reducción biológica del rojo de metilo.

Abreviatura	Descripción	Experimento
Glu + L + F + RM	Glucosa + Lodo + Fibra + Rojo de metilo	Completo
Glu + L + RM	Glucosa + Lodo + Rojo de metilo	Control sin mediador redox
Glu + F + RM	Glucosa + Fibra + Rojo de metilo	Control abiótico
L + F + RM	Lodo + Fibra + Rojo de metilo	Control sin donador
F + RM	Fibra + Rojo de metilo	Control de adsorción
CA + S + RM	Glucosa + Lodo + carbón activado + Rojo de metilo	Control positivo



En las Figuras 6.7 A, B y C observamos cómo el experimento completo (Glu + L + F + RM) es el que presenta un mejor desempeño al aumentar la tasa de decoloración, respecto al control sin mediador (Glu + L + RM).

De acuerdo a la Tabla 6.13, el valor de k obtenido para la fibra sin oxidar fue 1.64 h^{-1} (experimento completo) y para el CA, 0.93 h^{-1} , lo que significa que la FCA sin oxidar promovió una tasa de decoloración 1.7 veces más alta que la obtenida con el carbón activado. Los valores de k obtenidas en presencia de las fibras oxidadas 1 y 2 horas fueron 2.01 y 2.81 h^{-1} , respectivamente, estas fibras promovieron una tasa de decoloración mayor de 2.1 y 3 veces más al reducir al rojo de metilo comparadas igualmente con el carbón activado.

Si analizamos las tres FCA la que obtuvo un valor mayor de k fue la fibra oxidada 2 horas (2.81 h^{-1}), seguida de la fibra oxidada durante 1 hora (2.01 h^{-1}) y, por último, la fibra sin oxidar (1.64 h^{-1}). También, la mayor eficiencia de remoción fue promovida por la fibra oxidada 2 horas (98.20%).

Comparando con el control sin mediador redox (Glu + L + RM), la tasa de decoloración obtenida con las tres FCA aumentó considerablemente. Con la fibra sin oxidar, la tasa de decoloración aumentó 8 veces, con la oxidada 1 hora, 9.5 veces y con la oxidada 2 horas, 13.5 veces. Los resultados anteriores indican que la presencia de la FCA como mediador redox incrementó la velocidad de reducción del rojo de metilo, incluso con fibra sin oxidar. Las FCA presentaron una mayor velocidad de reducción (3 veces más) comparada con el CA. También, las FCA presentaron una velocidad de reducción 4 veces mayor comparado con el estudio de Pereira y cols. 2010, en donde el mediador redox fue CA.

Las velocidades de reducción del rojo de metilo aumentaron considerablemente con el uso de las fibras de carbón activado como mediador redox, debido a que las FCA canalizan con rapidez los electrones obtenidos del consumo de sustrato por los microorganismos, gracias a la oxidación de la glucosa, hacia el enlace azo del

rojo de metilo. El efecto catalítico de las FCA se explica por la alta concentración de grupos funcionales oxigenados en la fibra (8.84 meq/g), comparada con el CA (2.19 meq/g) (Moreno-Castilla *et al.*, 2000).

Tabla 6.13. Valores de la constante de primer orden de la reducción biológica de rojo de metilo con tres tipos de FCA. La fibra sin oxidar y las oxidadas por 1 y 2 horas. Donde Glu = glucosa, L = lodo granular anaerobio, F = fibra de carbón activado, CA = carbón activado y RM = rojo de metilo.

Tratamiento	Fibra		1 hora		2 horas	
	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)	k (h ⁻¹)	Eficiencia Remoción (%)	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)
Glu + L + F + RM	1.6481 ± 0.004	95.00	2.0186 ± 0.004	92.69	2.8117 ± 0.004	98.20
Glu + L + RM	0.2062 ± 0.006	29.23	0.2062 ± 0.006	28.62	0.2062 ± 0.006	28.62
Glu + F + RM	0.0918 ± 0.003	11.21	0.0198 ± 0.005	2.57	0.0983 ± 0.011	11.56
L + F + RM	0.0137 ± 0.005	2.00	0.0687 ± 0.003	8.80	0.0985 ± 0.008	13.13
F + RM	0.0385 ± 0.003	7.27	0.1379 ± 0.005	14.66	0.0642 ± 0.004	6.15
CA + S + RM	0.9369 ± 0.006	76.92				

El valor de k se calculó asumiendo una reacción de primer orden.

En los controles abióticos (Glu + F + RM), tal como se esperaba, no se observó reducción de rojo de metilo lo que puso en evidencia la naturaleza biológica del proceso.

6.5 Formación de la bio-película en las fibras de carbón activado

Una de las ventajas que presenta utilizar fibras de carbón activado como mediador redox en sistemas de tratamiento de agua es que éstas podrían servir como soporte para la formación de microorganismos. De esta forma, tanto el mediador redox como microorganismos anaerobios se encontrarían anclados (inmovilizados) al sistema. Para explorar esta posibilidad, se evaluó la formación de una bio-película sobre las FCA y también se verificó si la formación de la bio-película sobre las fibras de carbón activado afecta su capacidad como mediador redox. Para poder evaluar esto, primero se verificó que en efecto se podía formar una bio-película en

las FCA y, posteriormente, se evaluó hasta qué grado la formación de la bio-película afectó la capacidad de las FCA para transferir electrones.

En los experimentos se puso en contacto lodo anaerobio con tres diferentes FCA (fibra sin oxidar, y oxidadas 1 y 2 horas). La medición del crecimiento de biomasa en las fibras se realizó semanalmente durante 7 semanas. En tan sólo 2 semanas se observó una bio-película formada en las FCA, y después de este tiempo la biomasa adherida por gramo de fibra permaneció constante (Figura 6.8). Se obtuvo una formación de bio-película de 0.363 y 0.406 g de biomasa/g, para la fibra sin oxidar y la fibra oxidada durante 2 horas, respectivamente.

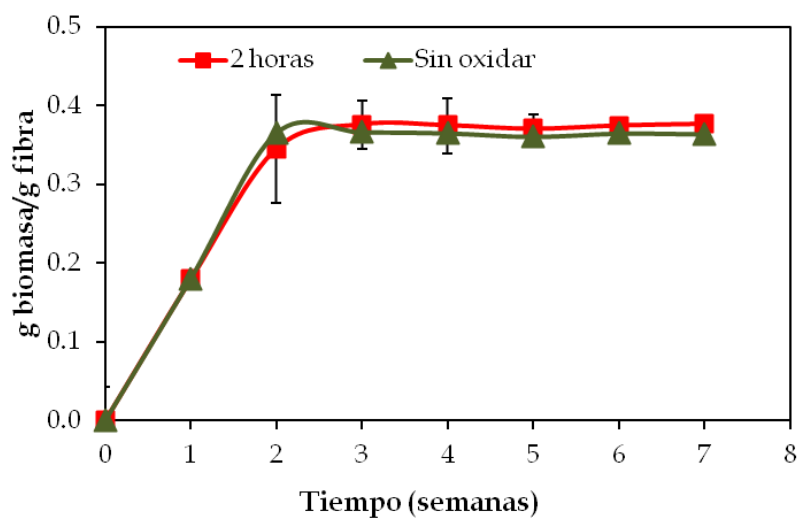


Figura 6.8. Crecimiento de microorganismos sobre las FCA. Se muestran los g de biomasa por g de fibra con respecto al tiempo de incubación en semanas con fibra oxidada por dos horas (2 horas) y con fibra sin oxidar.

Estos resultados son similares a los reportados por Gong *et al.* (2011), quienes realizaron un estudio sobre la formación de una bio-película sobre fibras de carbón activado, siguiendo el crecimiento de biomasa mediante micrografías cada 10 días durante 40 días. Encontraron que en los primeros 10 días las fibras presentaron crecimiento y a los 20 días las fibras se encontraban completamente pobladas de microorganismos.

En la formación de una bio-película intervienen factores ambientales como pH, salinidad, osmolaridad, presión parcial de oxígeno, accesibilidad a la fuente de nutrientes, la hidrofobicidad y carga superficial del soporte. Sin embargo, no es estrictamente necesario que se cuente con todos los factores, para que una bio-película de microorganismos se forme sobre una superficie (Nikolaev y Plakunov, 2007). Tal es el caso de las FCA ya que no cuentan con una de las características necesarias para que se forme la bio-película. El intervalo de pH de trabajo fue de 6-8, valor en el cual las FCA tienen una carga negativa, tomando en cuenta lo que se sabe hasta el momento la carga neta de los microorganismos es negativa (Wimpenny *et al.*, 2000). Por lo que en cuestión de carga superficial se diría que las FCA no son un buen candidato para que se forme una bio-película; sin embargo, los resultados indicaron que ocurre lo contrario.

El estudio de bio-películas es un tema muy interesante el cual ha crecido exponencialmente durante la última década, y con ello también han crecido las dudas acerca de todos los fenómenos que ocurren en su formación involucrando su crecimiento y factores que lo afectan. Se han formulado varias teorías que explican cómo una bio-película alcanza su grado de madurez. Una de ellas es la teoría de Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek (DLVO), la cual dicta la adhesión de partículas coloidales a una superficie. Esta teoría interpreta la adherencia de las partículas a las superficies como consecuencia de fuerzas de largo alcance, como las interacciones electrostáticas y las fuerzas de Lifshitz-van der Waals entre la partícula y la superficie. Por lo que, al describir el proceso de adhesión es de suma importancia la caracterización de la superficie de la célula bacteriana, así como del soporte (Karunakaran *et al.*, 2011). Lo anterior indica que los resultados de la formación de una bio-película en las FCA es un fenómeno que va más allá de las propiedades fisicoquímicas de las fibras y que, si bien es cierto que tiene relación con la química de superficie de las FCA, también existen otros fenómenos de afinidad que ocasionan la formación de una bio-película en soportes sólidos.

Cabe señalar que en ambientes naturales entre 95 y 99% de los microorganismos se encuentran formando bio-películas y que se ha encontrado evidencia de la formación de bio-películas en materiales como vidrio e incluso hasta en aquellos materiales que fueron fabricados para que no se formaran bio-películas sobre ellos como las prótesis dentales, válvulas para el corazón, y aparatos médicos (Nikolaev y Plakunov 2007).

Es por lo anterior que podemos sugerir que la textura de las FCA propicia la rápida adhesión de microorganismos sobre ellas, ya que es una superficie compuesta de microfibras sobre las cuales se pueden anclar con facilidad los microorganismos. Además, en este caso se observó que el grado de oxidación de las FCA no tiene un efecto en la formación de la bio-película.

Así mismo, para observar la formación de la bio-película se tomaron fotos, con un estereoscopio, de la fibra sin biomasa adherida y con bio-película. Resultados que se muestran en la Figura 6.9. Tanto con el objetivo 1x como 4x fue visualmente evidente la adhesión de microorganismos a la superficie de la fibra. En el caso de las fibras sin microorganismos, éstas se observaron de color opaco y se pudieron observar claramente los espacios entre hilo e hilo de fibra.

Mientras tanto, en las fotos con bio-película el color era brillante y los espacios hilo-hilo ya no se apreciaban. Con un aumento 4 veces mayor (Fig. 6.9 panel B), la fibra sin bio-película se observaba de color negro y los espacios entre hilo e hilo dejaban pasar la luz. En contraste, la fibra con biopelícula se observó de color gris opaco, con aspecto denso, y los espacios hilo-hilo, se encontraban ocluidos por una masa gris de bio-película.

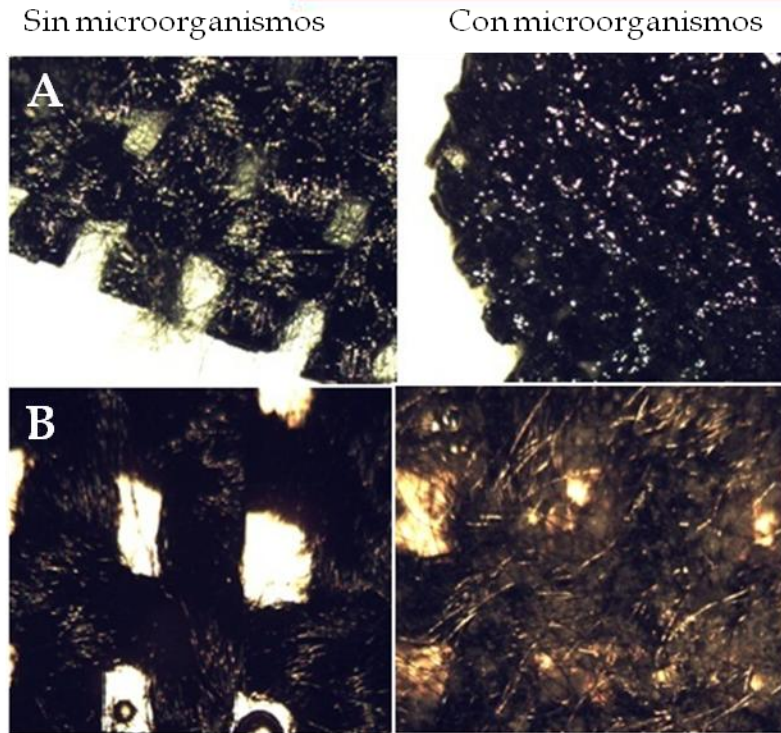


Figura 6.9. Fibras de carbón activado sin biomasa adherida y con bio-película después de 3 semanas de contacto. Panel A, fotos tomadas con un objetivo de 1x en un estereoscopio, lado izquierdo fibra sin bio-película, lado derecho fibra con bio-película. Panel B, fotos tomadas con un objetivo de 4x, así también lado izquierdo fibra sin bio-película y lado derecho con bio-película.

Cabe destacar que aunque las botellas en donde se cultivó la bio-película se encontraban en agitación (130 rpm), la biopelícula no se desprendió lo que sugiere que la biopelícula estaba fuertemente unida a las fibras.

Estos experimentos ayudaron a confirmar visualmente la formación de la bio-película sobre las fibras de carbón activado. También, se determinó que en 1cm² de fibra se lograron adherir aproximadamente 0.37 g SSV de biomasa, en un periodo de dos semanas.

6.6 Comparación de la reducción biológica de rojo de metilo con biomasa en suspensión y en bio-película

En esta sección se mostrarán y discutirán los resultados de los experimentos de reducción de rojo de metilo realizados después de haber formado la bio-película

sobre las FCA. Primero, se analizarán los experimentos que se llevaron cabo con biomasa en suspensión, y después los experimentos con bio-película.

6.6.1 Reducción biológica con biomasa suspendida

Los experimentos que se realizaron para la reducción del rojo de metilo con biomasa suspendida fueron:

Tabla 6.14. Experimentos realizados en la reducción biológica del rojo de metilo con biomasa suspendida.

Abreviatura	Descripción	Experimento
Glu + L + F + RM	Glucosa + Lodo + Fibra + Rojo de metilo	Completo
Glu + L + RM	Glucosa + Lodo + Rojo de metilo	Control sin mediador redox
Glu + F + RM	Glucosa + Fibra + Rojo de metilo	Control abiótico
L + F + RM	Lodo + Fibra + Rojo de metilo	Control sin donador
F + RM	Fibra + Rojo de metilo	Control de adsorción

En la Figura 6.10 se muestran las gráficas para la reducción del rojo de metilo con biomasa suspendida, con las mismas concentraciones de biomasa, fibra y rojo de metilo que en los experimentos con bio-película. La Fig. 6.10A corresponde a la fibra sin oxidar, la Fig. 6.10B a la fibra oxidada durante 1 hora, la Fig. 6.10C a la fibra oxidada durante 2 horas y la Fig. 6.10D es una comparación entre los tres materiales anteriores.

En la Figura 6.10 vemos claramente la disminución de la concentración de rojo de metilo en el experimento completo (Glu + L + F + RM) para cada una de las fibras, comparado con el control sin mediador redox (Glu + L + RM).

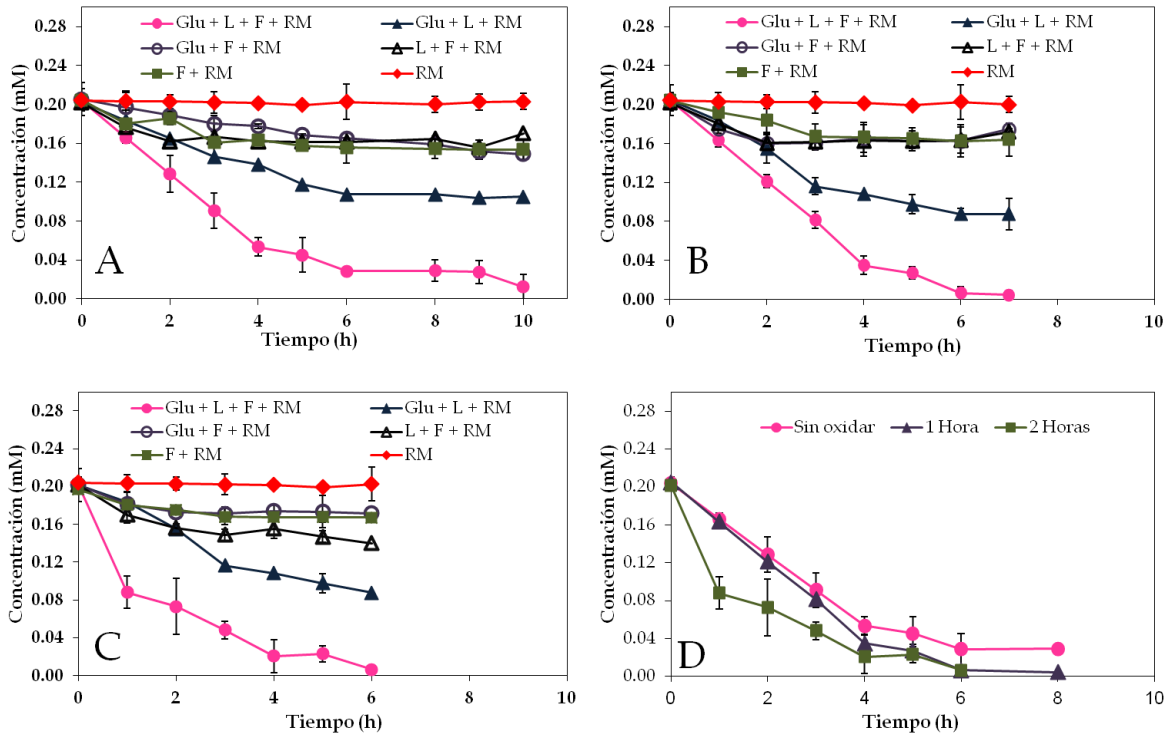


Figura 6.10. Reducción biológica de rojo de metilo con lodo granular anaerobio (0.074 gSSV/L), y con tres tipos de FCA. A) Fibra sin oxidar, B) Fibra oxidada durante 1 hora, C) Fibra oxidada durante 2 horas y D) Comparación entre los tres materiales anteriores en el experimento completo (Glu + L + F + RM). Donde Glu = glucosa, L = lodo granular anaerobio, F = fibra, CA = carbón activado y RM = rojo de metilo.

Tabla 6.15. Constante de primer orden de la reducción biológica de rojo de metilo con lodo granular anaerobio suspendido, y con tres tipos de FCA. La fibra sin oxidar y las oxidadas por 1 y 2 horas.

Tratamiento	Fibra		1 hora		2 horas	
	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)	k (h ⁻¹)	Eficiencia Remoción (%)	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)
Glu + L + F + RM	0.257 ± 0.011	93.8	0.503 ± 0.007	96.87	0.540 ± 0.012	97.80
Glu + L + RM	0.069 ± 0.016	47.98	0.069 ± 0.009	47.98	0.069 ± 0.003	47.98
Glu + F + RM	0.031 ± 0.007	27.38	0.028 ± 0.008	14.16	0.018 ± 0.011	14.82
L + F + RM	0.012 ± 0.011	15.67	0.030 ± 0.010	14.84	0.046 ± 0.007	30.60
F + RM	0.025 ± 0.010	25.00	0.039 ± 0.015	19.66	0.023 ± 0.005	15.11

En los controles de adsorción (F + RM), abiótico (Glu + F + RM) y sin sustrato (L + F + RM), vemos que la disminución en la concentración de rojo de metilo es mínima, indicando que para su reducción es necesario que intervengan microorganismos para metabolizar el sustrato, (glucosa), y reducir el rojo de metilo.

Al comparar las constantes de primer orden del experimento completo (Glu + L + F + RM) para cada una de las fibras (Tabla 6.15), con el experimento sin mediador (Glu + L + RM) vemos cómo la presencia de las fibras acelera la velocidad de reducción del rojo de metilo. Los resultados de la constante de primer orden para el experimento completo fueron 0.257, 0.503 y 0.540 h⁻¹ para la fibra sin oxidar y las oxidadas 1 y 2 horas respectivamente, comparado con 0.069 h⁻¹ del experimento sin mediador. La fibra sin oxidar aumentó 3.7 veces la velocidad de reducción del rojo de metilo, la oxidada 1 hora 7.2 veces y la oxidada 2 horas 7.8 veces.

Los valores de la constante de primer orden en el control abiótico fueron pequeños indicando que la reducción del rojo de metilo está asociada a un proceso biológico mediante el cual se logra la oxidación del sustrato y los electrones obtenidos de ese sustrato pueden llegar hasta el rojo de metilo gracias a la acción del mediador redox, que acelera la transferencia de electrones.

En la Figura 6.10 D, vemos los resultados del experimento completo (Glu + L + F + RM), para cada una de las tres fibras. La fibra oxidada durante 2 horas, presentó una pendiente mayor seguida de la oxidada durante 1 hora y por último la fibra sin oxidar. Los valores de la constante de velocidad (Tabla 6.15), corroboran lo anterior, donde para la fibra sin oxidar, la oxidada durante 1 hora y 2 horas las constantes fueron 0.257, 0.503 y 0.540 h⁻¹, respectivamente. Lo que indica que con 1 hora de oxidación se aumentó 1.9 veces la velocidad de reducción del rojo de metilo y con 2 horas de oxidación se aumentó 2.1 veces.

También en la Tabla 6.15 se presenta la eficiencia de remoción obtenida con cada una de las fibras, que fue mayor a 90% para las tres, y la mayor para la fibra oxidada durante 2 horas 97.8% comparada con la fibra sin oxidar que obtuvo 93.8%.

El incremento en la velocidad de reducción del rojo de metilo con el uso de fibras de carbón activado, se debió principalmente a que las fibras son un mejor transportador de electrones por la concentración de grupos funcionales en su superficie. Esto se observa en las fibras oxidadas 1 y 2 horas que son las que tienen los valores mayores de constante de velocidad de primer orden y las concentraciones mayores de grupos carbonilo (3.76 y 5.04 meq/g, respectivamente). Así mismo, las FCA están constituidas en su mayoría por microporos, comparadas con el carbón activado el cual es heterogéneo y contiene macro, meso y microporos. Por tanto la microporosidad de las FCA ayuda a la reducción del el rojo de metilo.

6.6.2 Reducción biológica con bio-película

Después de haber formado una bio-película en las fibras de carbón activado se realizaron cinéticas de reducción de rojo de metilo con las fibras con biomasa adherida.

Los experimentos que se tomaron en cuenta para este análisis fueron los siguientes:

Tabla 6.16. Descripción de los experimentos realizados en las cinéticas de reducción de rojo de metilo con tres tipos de FCA y biopelícula adherida.

Abreviatura	Descripción	Experimento
S + B + RM	Sustrato + Biopelícula + Rojo de metilo	Completo
S + RM	Sustrato + Rojo de metilo	Control sin biopelícula
B + RM	Biopelícula + Rojo de metilo	Control sin donador
RM	Rojo de metilo	Solo contaminante

En la Figura 6.11 se muestran los resultados para los tres tipos de fibra, la fibra sin oxidar (Figura 6.11A), la fibra oxidada 1 hora (Figura 6.11B), la fibra oxidada 2 horas (Figura 6.11C), y la comparación entre las tres fibras (Figura 6.11D).

Los resultados de la constante de velocidad de primer orden y las eficiencias de remoción se presentan en la Tabla 6.17, para los tres tipos de fibra.

La Figura 6.11A corresponde a la fibra sin oxidar, en donde el experimento completo S + B + RM, tiene una mayor pendiente comparada con los controles sin donador (B + RM), y sin bio-película (S + RM). Lo anterior indica la necesidad de contar con un donador de electrones (glucosa), microorganismos que consuman el sustrato, y se transfieran los electrones hacia el contaminante para reducirlo. El control sin bio-película no presenta reducción como se esperaba ya que no tenía microorganismos que consumieran el sustrato y que promovieran la reducción del colorante. En incubaciones que incluían sólo el rojo de metilo, la concentración del mismo permaneció constante a través del tiempo, lo que demuestra que este contaminante no tiene un comportamiento autocatalítico (tomado en cuenta la concentración de RM que se adsorbió en las FCA).

En la Figura 6.11 B y C observamos los resultados de las fibras oxidadas durante 1 y 2 horas, respectivamente, las cuales tuvieron un comportamiento similar al de tienen la fibra sin oxidar. En el experimento completo (S + B + RM) con cada una de las fibras, se observó la mayor velocidad de reducción, comparado con los controles, los cuales no tenían donador de electrones o bio-película. En la Figura 6.10C, que es la comparación entre las tres diferentes fibras, se observa que la que presentó la mayor velocidad de reducción fue la fibra oxidada durante 2 horas, seguida de la oxidada durante 1 hora y por último la fibra sin oxidar.

Los resultados presentados en la Figura 6.11 se corroboran con los valores de la constante de velocidad de primer orden de la Tabla 6.17.

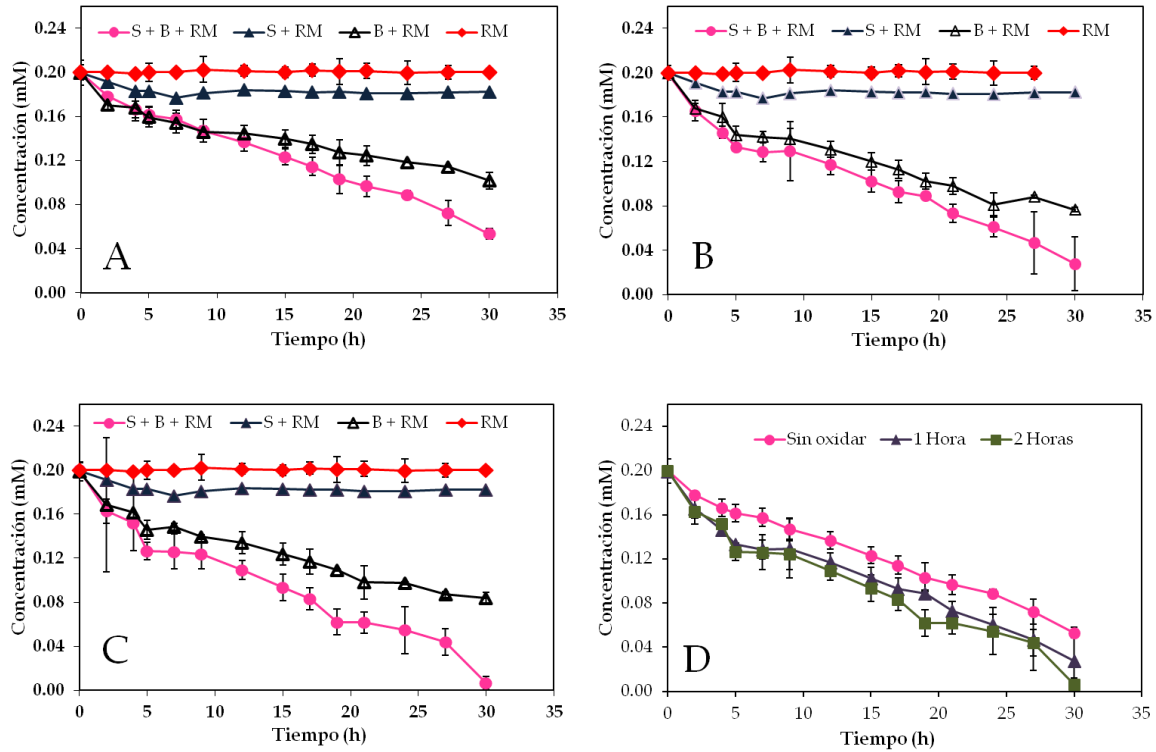


Figura 6.11. Reducción biológica de rojo de metilo con el lodo granular formando una biopelícula en la fibra de carbón activado. A) con biopelícula en la fibra sin oxidar, B) con biopelícula en la fibra oxidada durante 1 hora, C) con biopelícula en la fibra oxidada durante 2 horas y D) comparación entre las tres fibras de carbón activado en el experimento S + B + M. Donde S = sustrato, B = biopelícula (fibra + biopelícula), y RM = rojo de metilo.

Tabla 6.17. Constante de primer orden de la reducción biológica de rojo de metilo con el lodo granular formando una bio-película en la fibra de carbón activado. La fibra sin oxidar y las oxidadas por 1 y 2 horas. Donde S = sustrato, B = bio-película (fibra + lodo granular anaerobio), y RM = rojo de metilo.

Tratamiento	Fibra		1 hora		2 horas	
	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)	k (h ⁻¹)	Eficiencia remoción (%)
S + B + RM	0.038 ± 0.008	73.31	0.053 ± 0.011	86.01	0.076 ± 0.010	96.67
S + RM	0.001 ± 0.163	8.63	0.001 ± 0.163	8.63	0.001 ± 0.163	8.63
B + RM	0.018 ± 0.007	49.10	0.029 ± 0.007	61.71	0.027 ± 0.012	58.03

El valor de k se calculó asumiendo una reacción de primer orden.

En la Tabla 6.17 se observa que los controles sin bio-película (S + RM), tienen un valor de 0.001 h^{-1} , comparado con los valores de 0.038 , 0.053 y 0.076 h^{-1} , para el experimento completo con la fibra sin oxidar, oxidada durante 1 y 2 horas, respectivamente. El valor del control sin bio-película no es significativo lo que indica la necesidad de los microorganismos para que se dé el transporte de electrones. Si bien se puede notar que los valores del experimento sin donador (B + RM) tienen una pendiente siguen siendo menores en 2.1, 1.8 y 2.8 veces para la fibra sin oxidar, y las oxidadas durante 1 y 2 horas, respectivamente, comparado con el experimento completo (S + B + RM). Al comparar la constante de velocidad de primer orden de las tres fibras, la fibra oxidada durante 2 horas fue la que obtuvo el valor mayor con 0.076 h^{-1} , el cual es 2 veces mayor que 0.038 h^{-1} de la fibra sin oxidar. El valor de la constante de la fibra oxidada durante 1 hora solo fue 1.4 veces mayor que el de la fibra sin oxidar (Tabla 6.17). Por lo que una vez más el tiempo de oxidación mayor tuvo un efecto en la velocidad de reducción de rojo de metilo. La eficiencia de remoción si fue diferente para cada una de las fibras con valores de 73% para la fibra sin oxidar, 86% la oxidada durante 1 hora y 96% la oxidada durante 2 horas.

6.7 Comparación entre los tratamientos biológicos con, biomasa suspendida, bio-película y el control sin mediador redox

Es importante comparar los resultados que se obtuvieron en el experimento sin mediador redox (Glu + L + RM) (Tabla 6.15), con el experimento completo con biomasa suspendida (Glu + L + F + RM) (Tabla 6.15) y con el experimento completo con bio-película (Glu + L + F + RM) (Tabla 6.17), para discutir el efecto que tiene la bio-película en la velocidad de reducción del contaminante. En la Tabla 6.18 se resumen los resultados, para los tres tipos de experimentos.

Tabla 6.18. Comparación de la constante de velocidad, entre los sistemas sin mediador redox, con biomasa suspendida y en biopelícula, con la fibra sin oxidar y oxidada por 1 y 2 horas.

Experimento	Sin oxidar k (h ⁻¹)	1 Hora k (h ⁻¹)	2 Horas k (h ⁻¹)
Sin mediador redox	0.069 ± 0.016	0.069 ± 0.016	0.069 ± 0.016
Biomasa Suspendida + mediador redox	0.257 ± 0.011	0.503 ± 0.007	0.540 ± 0.012
Bio-película + mediador redox	0.038 ± 0.008	0.053 ± 0.011	0.076 ± 0.010

En estos resultados se puede comparar entre el sistema sin mediador, con biomasa suspendida y con bio-película y además comparar el efecto del grado de oxidación. Comparando el sistema sin mediador redox y con biomasa suspendida, para la fibra sin oxidar, la presencia de la fibra como mediador redox aumentó la tasa de decoloración del rojo de metilo 3.7 veces, para la fibra oxidada durante 1 hora el aumento fue de 7.2 veces y para la oxidada durante 2 horas se aumento 7.8 veces. Son resultados que sobrepasan los obtenidos con otros mediadores redox, por ejemplo en el estudio de dos Santos *et al.* (2004) con AQDS como mediador redox registraron un incremento de 3.6 veces la transferencia de electrones para la reducción de rojo reactivo 2 y con AQS como mediador redox aumentó 3.8 veces para el mismo contaminante. Li et al (2008), reportaron un incremento de 5.1 veces la reducción del nitrobenzeno con AQDS inmovilizado en polipirrol como mediador redox y de 4.8 veces para el 2,6-dinitrotolueno con el mismo mediador. Recientemente Lu *et al.* (2010), aumentaron 5 veces la reducción de amaranto con AQDS inmovilizada en espuma de poliuretano.

Todos los estudios anteriores reportaron incrementos en la velocidad de reducción de diferentes contaminantes menores a los obtenidos en este estudio con las fibras oxidadas durante 1 y 2 horas, e iguales a los obtenidos con la fibra sin oxidar. En este sentido la fibra incluso sin oxidar, compite con otros mediadores redox en cuanto a incrementar la velocidad de reducción de colorantes.

En el experimento con las fibras de carbón activado y biomasa suspendida, las FCA mejoran la biodegradación del rojo de metilo debido a que parte del colorante es adsorbido en su superficie y después se reduce a través de una reacción llevada a cabo por la interacción de microorganismos, enzimas extracelulares y los grupos funcionales en la superficie de la FCA. Para determinar si una bio-película formada en las fibras de carbón activado afecta la capacidad redox de las fibras, se comparan los resultados de la Tabla 6.18 entre el sistema sin bio-película (biomasa suspendida) y con bio-película. Para la fibra sin oxidar, y las oxidadas 1 y 2 horas los valores de k (h^{-1}) son 0.038, 0.053 y 0.076 respectivamente, para el sistema con bio-película. Mientras que para la fibra sin oxidar, y las oxidadas 1 y 2 horas los valores son de 0.257, 0.503 y 0.540, respectivamente para el sistema sin bio-película (biomasas suspendida). Esto demuestra que la formación de la bio-película disminuyó considerablemente la capacidad de mediador redox de las fibras de carbón activado. El sistema con bio-película no aumentó la velocidad de reducción ya que los valores son muy similares a los obtenidos sin mediador redox, incluso menores en el caso de la fibra sin oxidar y con bio-película. De tal modo, que la formación de bio-película madura en las fibras de carbón impidió la rápida transferencia de electrones desde la FCA al rojo de metilo; sin embargo, la transferencia de electrones se llevó a cabo, aunque el impacto de la FCA con bio-película fue mínimo. Si la transferencia de electrones desde la FCA al rojo de metilo no se hubiese llevado a cabo, éste no se hubiese reducido, situación que no sucedió. El enlace azo $-\text{N}=\text{N}-$ se rompió lo que se corroboró con la desaparición del color (Figura 6.12).

Los resultados indican que la bio-película tuvo un impacto negativo en la velocidad con la que las FCA transportaron los electrones hacia el rojo de metilo. Probablemente esto sucedió debido a que la bio-película impidió la difusión de los electrones desde la FCA hacia el rojo de metilo.

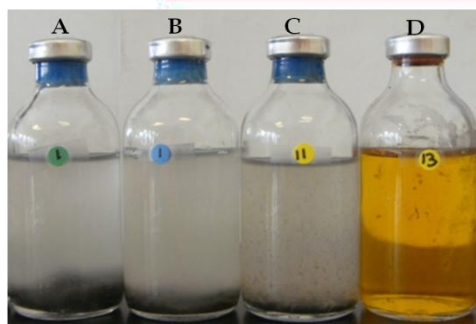


Figura 6.12. Desaparición del color en los experimentos de reducción de rojo de metilo con bio-película en las FCA. A) Fibra sin oxidar, B) fibra oxidada 1 h, C) fibra oxidada 2 h, D) concentración inicial de rojo de metilo.

Para corroborar que la etapa limitante de transporte de electrones fue de la fibra de carbón activado hacia el contaminante y no del donador (glucosa) hacia las fibras, se realizó una cinética de consumo de sustrato usando biomasa en suspensión y en bio-película.

6.8 Cinética de consumo de sustrato

La cinética de consumo de sustrato se realizó con biomasa suspendida y bio-película, para la fibra sin oxidar y la oxidada 2 horas. Los experimentos que se llevaron a cabo fueron los siguientes:

Tabla 6.19. Experimentos llevados a cabo en la cinética de remoción de sustrato.

Abreviatura	Descripción	Experimento
S + L + F	Sustrato + Lodo + Fibra	Fibra sin oxidar con biomasa suspendida
S + L + F ₂	Sustrato + Lodo + Fibra	Fibra oxidada 2 h con biomasa suspendida
S + B	Sustrato + Bio-película	Fibra sin oxidar con bio-película
S + B ₂	Sustrato + Bio-película	Fibra oxidada 2 h con bio-película

Donde h = horas

La cinética de consumo de sustrato (glucosa) se muestra en la Figura 6.13. Estos experimentos se llevaron a cabo para demostrar cuál fue la etapa limitante en el transporte de electrones para reducir al rojo de metilo al tener bio-película sobre la fibra. Si el paso limitante en el transporte de electrones fuera la generación de electrones a partir de la oxidación anaerobia de la glucosa por actividad microbiana (Figura 6.13), el consumo del sustrato debería de ser diferente entre el experimento con biomasa suspendida y el experimento con bio-película. Esto por los problemas que tendrían los microorganismos para el consumo de sustrato por la poca difusión de la glucosa.

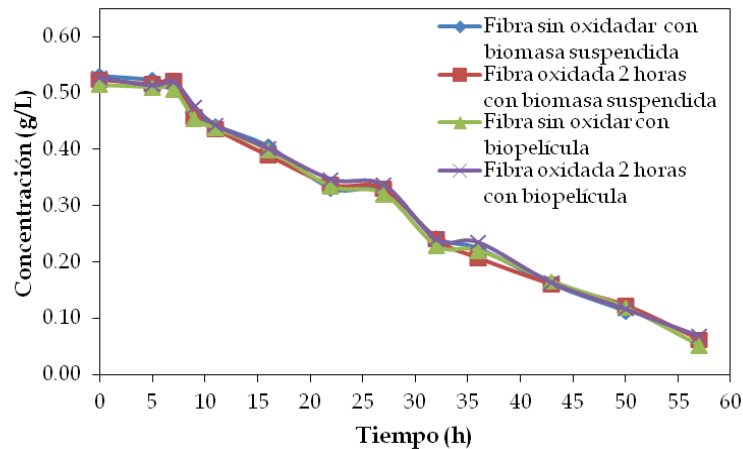


Figura 6.13. Comparación de la remoción de sustrato (glucosa) por el lodo granular anaerobio, entre el sistema sin bio-película (biomasa y fibra suspendida) y con bio-película en las FCA.

Sin embargo, como se observa en la Figura 6.13, el consumo de sustrato fue igual en el caso del experimento con bio-película y con biomasa en suspensión; así mismo, fue igual para la fibra sin oxidar que para la oxidada durante 2 horas.

De esta forma, se determinó que el transporte de electrones desde el donador de electrones (glucosa) a la fibra no presentaba problemas por la presencia de la bio-película, los microorganismos encontraron disponible la glucosa para consumirla. Lo que indica entonces, que el mecanismo de transporte de electrones desde la

fibra reducida microbiológicamente hacia el contaminante es la etapa limitante, tal como se ilustra en la Figura 6.14.

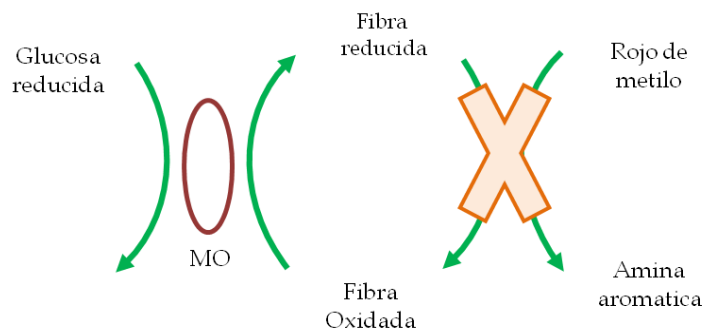


Figura 6.14. Mecanismo de reacción en la reducción biológica de rojo de metilo en presencia de fibras de carbón activado como mediadores redox. Donde MO se refiere a microorganismos.

El transporte de electrones desde la FCA reducida hacia el contaminante lo llevan a cabo los grupos funcionales que se encuentran en la fibra como ya se discutió anteriormente. Los grupos que se ha reportado que realizan dicha función son los grupos quinónicos. Estos grupos se encuentran en su mayoría en la superficie externa de la FCA que los deja expuestos al contacto en solución. Como se observó en la Figura 6.9, las fotografías de las fibras con bio-película muestran claramente cómo los microorganismos tienen a la fibra totalmente poblada, ya no se distingue la configuración de la fibra.

Esta bio-película densa obstaculizó los grupos funcionales expuestos de la FCA, lo que ocasionó que el transporte de electrones desde la fibra hacia el rojo de metilo fuera lento. Cabe señalar que lo que ocasionó la bio-película densa fue que el transporte de electrones fuera más lento, esto no quiere decir que no se haya llevado a cabo el proceso de óxido reducción. En efecto, la reducción del rojo de metilo sí sucedió con las fibras con bio-película, pero a una tasa menor que la obtenida con FCA sin bio-película. Lo que se afectó entonces fue la capacidad catalítica de las fibras en el proceso de decoloración.

Es posible que la disminución en la capacidad catalítica de las FCA se deba a la obstrucción de los grupos funcionales como se explica con la Figura 6.15. El tamaño de los poros de la FCA es de $\sim 20 \text{ \AA}$ y el de los grupos funcionales es de 5-10 \AA (estimado por el software Chem Office 2004). Por otro lado, el tamaño estimado del rojo de metilo es 15 \AA , lo que permite que difunda en los microporos de la FCA y que sea reducido por los grupos funcionales de la FCA.

Como lo indica la Figura 6.15, el tamaño promedio de un microorganismo presente en el lodo granular es de 2 μm que es 1000 veces más grande que los microporos de la FCA, y 1333 veces mayor que el rojo de metilo. Un vez que los microorganismos forman la bio-película sobre las FCA, el tamaño de esta bio-película es demasiado grande en comparación con los microporos de la FCA, los grupos funcionales y el rojo de metilo. Debido a la formación de la bio-película, los grupos funcionales no se encuentran totalmente disponibles al rojo de metilo y además existen problemas de difusión del contaminante por la obstrucción que ocasionan los microorganismos. Lo anterior puede dar un indicio del porqué la capacidad catalítica de la fibra de carbono se inhibe por la formación de la bio-película.

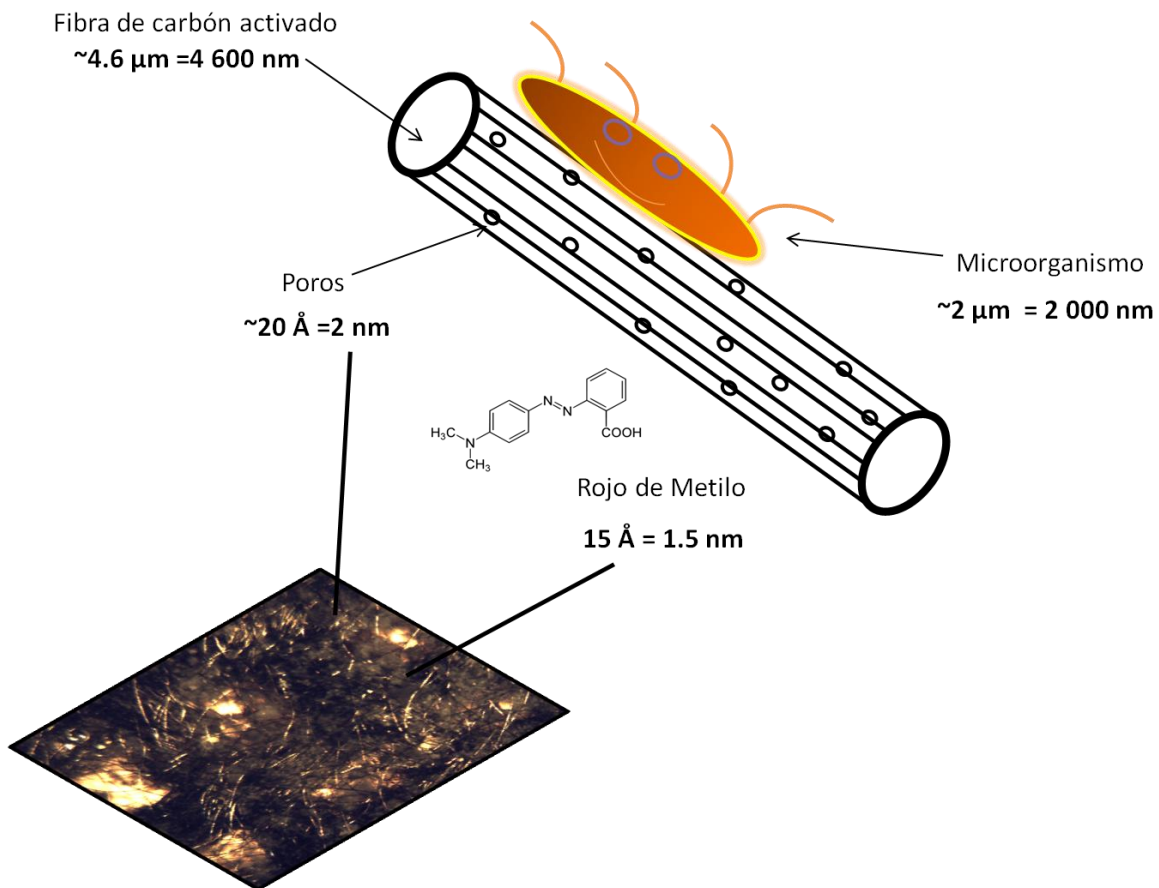


Figura 6.15. Comparación de tamaños entre la fibra de carbón activado, grupos funcionales, rojo de metilo y los microorganismos. Donde Å = angstroms, nm = nanómetros y μm = micras.

7. Conclusiones

1. El tiempo de oxidación cambió las propiedades de la FCA. El porcentaje de oxígeno y la concentración de sitios activos totales aumentaron. En contraste, el área específica y el punto de carga cero disminuyeron.
2. La capacidad aceptora de electrones, determinada tanto por el método químico como por el método biológico, se incrementó conforme aumentó el tiempo de oxidación de la FCA.
3. Las fibras de carbón activado actúan efectivamente como mediador redox durante la reducción del rojo de metilo utilizando sulfuro de sodio como donador de electrones.
4. En la reducción biológica, las FCA modificadas aumentaron hasta 13 veces la velocidad de reducción del rojo metilo comparado con el control sin fibra.
5. Se formó una bio-película en las FCA en 2 semanas con una cantidad de 0.37 g SSV/g fibra.
6. La formación de una bio-película sobre las fibras de carbón activado disminuyó su capacidad como mediador redox.
7. Con cinéticas de consumo de sustrato se comprobó que la etapa limitante en el transporte de electrones no fue del donador a la FCA.

8. Referencias bibliográficas

- Anjaneyulu, Y., Sreedhara, N. y Summan, R. D. (2005). Decolourization of industrial effluents-available methods and emerging technologies- a review. *Environ Sci Technol.* **4**, 245-273.
- Bansal, R. C., y Goyal M. (2005) *Activated Carbon Adsorption*. Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL.
- Cervantes, F. J., Wouter, D., Tuan, D., Ivanova A., Lettinga G. y Field J.A. (2001). Anaerobic mineralization of toluene by enriched sediments with quinones and humus terminal electron acceptors. *Appl Environ Microbiol.* **67**, 4471-4478.
- Cervantes, F. J., González-Estrella, J., Márquez, A., Alvarez, L. H y Arriaga, S. (2011). Immobilized humic substances on an anion exchange resin and their role on the redox biotransformation of contaminants. *Bioresour Technol.* **102**, 2097-2100.
- Cervantes, F. J., Garcia-Espinosa, A., Moreno-Reynosa, M.A y Rangel-Mendez, J. R. (2010) Immobilized redox mediators on anion exchange resins and their role on the reductive decolorization of azo dyes. *Environ Sci Technol.* **44**, 1747-1753.
- Chung, K. T., y Stevens, S. E. J. (1993). Degradation of azo dyes by environmental microorganisms and helminths. *Environ Toxicol Chem.* **12**, 2121-2132.
- Crittenden, John C., Trussell R., Hand, D., Kerry J., Howe, y Tchobanoglous, G. (2005). *Water Treatment Principles and Design*. John Wiley and Sons.
- Diaz F., P. E., Leyva-Ramos. R., Guerrero, C. R., Mendoza, B. J. (2006). Adsorption of pentachlorophenol from aqueous solution onto activated carbon fiber. *Ind. Eng. Chem. Res.* **45**, 330-336.
- Dos Santos, A. B., Bisschops, I. A., Cervantes, F. J. y van Lier, J. B. (2004). Effect of different redox mediators during thermophilic azo dye reduction by anaerobic granular sludge and comparative study between mesophilic (30°C) and

thermophilic (55°C) treatments for decolourisation of textile wastewaters. *Chemosphere*. **55**, 1149-1157.

Dos Santos, A.B., Traverse, J., Cervantes, F.J. y van Lier, J.B. (2005). Enhancing the electron transfer capacity and subsequent color removal in bioreactors by applying thermophilic anaerobic treatment and redox mediators. *Biotechnol Bioeng*. **89**, 42-52.

Dos Santos, A. B., Madrid, M. P., de Bok, F. A. M., Stams, A. J. M., van Lier, J. B. y Cervantes, F. J. (2006). The contribution of fermentative bacteria and methanogenic archaea to azo dye reduction by thermophilic anaerobic consortium. *Enzyme Microbiol Technol*. **39**, 38-46.

Field, J., Stams, A. J. M., Kato, M. y Schraa, G. (1995). Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Antonie van Leeuwenhoek*. **67**, 47-77.

Gong, Wei-jia., Liang, Heng., Li, Wen-zhe. y Wang, Zhen-zhen. (2011). Selection and evaluation of biofilm carrier in anaerobic digestion treatment of cattle manure. *Energy*. **36**, 3572-3578.

Gorontzy, T. J., Küver, K. H. y Blotevogel. (1993). Microbial transformation of nitroaromatic compounds under anaerobic conditions. *J. General Microbiology*. **139**, 1331-1336.

Karunakaran, E. y Mukherjee, J. (2011). Biofilmology: a multidisciplinary review of the study of microbial biofilms. *Appl Microbiol Biotechnol*. **90**, 1869-1881.

Leyva-Ramos R., Diaz-Flores, P. E., Guerrero, R. M., Mendoza Barron, J. y Aragon Pina, A. (2004). Adsorción de Cd (II) en solución acuosa sobre diferentes tipos de fibras de carbón activado. *Rev. Soc. Quím. Méx*. **48**, 196-202.

- Leyva-Ramos, R., Berber-Mendoza, J., Salazar-Rabago, R. M. Guerrero-Coronado, J. y Mendoza-Barron. (2011). Adsorption of lead (II) from aqueous solution onto several types of activated carbon fibers. *Adsorpt. Sci. Technol.* **17**, 515-526.
- Li, L., Wang, J., Zhou, J., Yang, F., Jin, C., Qu, Y., Li, A. y Zhang, L. (2008). Enhancement of nitroaromatic compounds anaerobic biotransformation using a novel immobilized redox mediator prepared by electropolymerization. *Bioresour Technol.* **99**, 6908-6916.
- Li, L., Zhou, J., Wang, J., Yang, F., Jin, C. y Zhang, G. (2009). Anaerobic biotransformation of azo dye using polypyrrole/anthraquinonedisulphonate modified active carbon felt as a novel immobilized redox mediator. *Sep Purif Technol.* **66**, 375-382.
- Lovley, D. R., Fraga, J. L., Blunt Harris, E. L., Hayes, L. A., Phillips, E. J. P. y Coates, J. D., (1998). Humic substances as a mediator for microbially catalyzed metal reaction. *Acta Hydroch. Hydrob.* **26**, 152-157.
- Lu, H., Zhou, J., Wang, J., Si, W., Teng, H. y Liu, G. (2010). Enhanced biodecolorization of azo dyes by anthraquinone-2-sulfonate immobilized covalently in polyurethane foam. *Bioresour Technol.* **101**, 7185-7188.
- Lysenko, A. (2007). Prospects for development of research and production of carbon fibre sorbents. *Fibre Chem+*. **39**, 93-102.
- Matatov-Meytal, Yu., y Sheintuch, M. (2002). Catalytic fibers and cloths. *Appl Catal A-Gen.* **231**,1-16.
- Mezohegyi, G., Kolodkin, A., Castro, U. I., Bengoa, C., Stuber, F., Font, J. y Fabregat, A. (2007). Effective anaerobic decolorization of azo dye acid orange 7 in continuous packed bed reactor using biological activated carbon system. *Ind Eng Chem Res* **46**, 6788-6792.

- Mezohegyi, G., Goncalves, F., Órfão, J. M., Fabregat, A., Fortuny, A., Font, J., Bengoa, C. y Stuber, F. (2010). Tailored activated carbons as catalysts in biodegradation of textile azo dyes. *Appl. Catal B., Environ.* **94**, 179-185.
- Morales-Guzmán, F. y Melgoza-Alemán, R. M. (2009). Tratamiento del colorante azo Rojo Directo 23 mediante reactores discontinuos secuenciados anaerobios/aerobios. *Información Tecnológica.* **20**, 73-82.
- Moreno-Castilla, C., López-Ramón, M.V. y Carrasco-Marín, F. (2000). Changes in surface chemistry of activated carbons by wet oxidation. *Carbon.* **38**, 1995-2001.
- Mortimer C. E. (2001). *Química*. Grupo editorial Iberoamerica. S. A. de C. V. 5ta edición. Capítulo 12, 336-338.
- Nikolaev, Yu. A. y Plakunov, V. K. (2007). Bofilm-“City of Microbes” or an Analogue of Multicellular Organisms? *Microbiology.* **76**, 125-133.
- Pereira, L., Pereira, R., Pereira, M.F.R., van der Zee, F.P., Cervantes, F. J. y Alves, M. M. (2010). Thermal modification of activated carbon surface chemistry improves its capacity as redox mediator for azo dye reduction. *J Hazard Mater.* **183**, 931-939.
- Rangel-Mendez, J. R., y Streat, M. (2002). Adsorption of Cadmium by activated carbon cloth: influence of surface oxidation and solution pH. *Water Res.* **36**, 1244-1252.
- Ratasuki, N. y Nanny, M. A. (2007). Characterization and quantification of reversible redox sites in humic substances. *Environ Sci Technol.* **41**, 7844-7850.
- Rau, J., Knackmuss, H. J. y Stolz, A. (2002). Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria. *Environ Sci Technol.* **36**, 1497-504.
- Razo-Flores, E., Donlon, B., Lettinga, G. y Field J.A. (1997). Biotransformation and biodegradation of N-substituted aromatics in methanogenic granular sludge. *FEMS Microbiol Rev.* **20**, 525-538.

- Suzuki, M. (1994). Activated carbón fiber: fundamentals and applications. *Carbon*. **32**, 577-586.
- Rittman, B. E., y McCarty, P. L. (2001). *Environmental Biotechnology: Principles and applications*. McGRAW-HILL.
- Song, X., Liu H., Cheng, L. y Qu, Y. (2010). Surface modification of coconut-based activated carbon by liquid-phase oxidation and its effects on lead ion adsorption. *Desalination*. **255**, 78-93.
- Stookey, L. (1970). Ferrozine-A new spectrophotometric reagent for iron. *Anal Chem*. **4**, 779-781.
- Van der Zee, F. P., Bouwman, R.H., Strik, D.P., Lettinga, G. y Field, J. A. (2001). Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors. *Biotechnol Bioeng*. **75**, 691-701.
- Van der Zee, F. P. (2002). *Anerobic azo dye reduction*. PhD Thesis Wageningen Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
- Van der Zee, F. P., Bisschops, I. A., Lettinga, G. y Field, J. A. (2003). Activated carbon as an electron acceptor and redox mediator during the anaerobic biotransformation of azo dyes. *Environ Sci Technol*. **37**, 402-408.
- Van der Zee, F. P., y Cervantes F. J. (2009). Impact and application of electron shuttles on the redox (bio) transformation of contaminants: A review. *Biotechnol. Adv.* **27**, 256-277.
- Volke Sepúlveda, T., y Velasco Trejo, J. A. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados*. Mundi-Prensa
- Wimpenny, J., Manz, W., y Szewzyk F. (2000). Heterogeneity in biofilms. *FEMS Microbiol. Rev.* **24**, 661-671.

- Xu, W., Dana, K. E. y Mitch, W. A. (2010). Black carbon-mediated destruction of nitroglycerin and rdx by hydrogen sulfide. *Environ Sci Technol.* **44**, 6409-6415.
- Zawadski, J. (1980). IR Spectroscopic investigations of the mechanism of oxidation of carbonaceous films with HNO₃ solution. *Carbon.* **18**, 281-285.
- Zhang, J., Zou, H., Qing, Q., Yang, Y., Li, Q., Liu, Z., Guo, X. y Du Z. (2003). Effect of chemical oxidation on the structure of single-walled carbon nanotubes. *J. Phys. Chem. B.* **107**, 3712-3718.

9. Anexos

Anexo 1. Experimentos realizados para determinar la capacidad aceptora de electrones neta de las fibras de carbón activado reducidas químicamente con hidrógeno

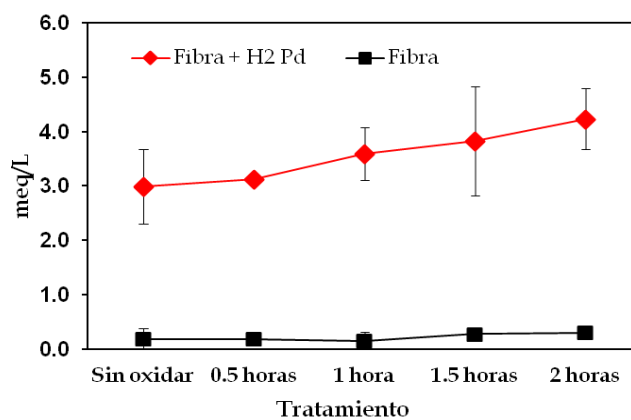


Figura 9.1 Capacidad final aceptora de electrones reducidas químicamente con H₂ en presencia de paladio como catalizador. Los valores son la medición de Fibra + H₂ (experimento completo) y la medición Fibra (fibra sin reducir). Sin oxidar es la fibra sin modificar, y 0.5, 1, 1.5 y 2 horas son los diferentes tiempos de oxidación de la fibra en horas.

Anexo 2. Experimentos realizados para determinar la capacidad aceptora de electrones neta de las fibras reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio

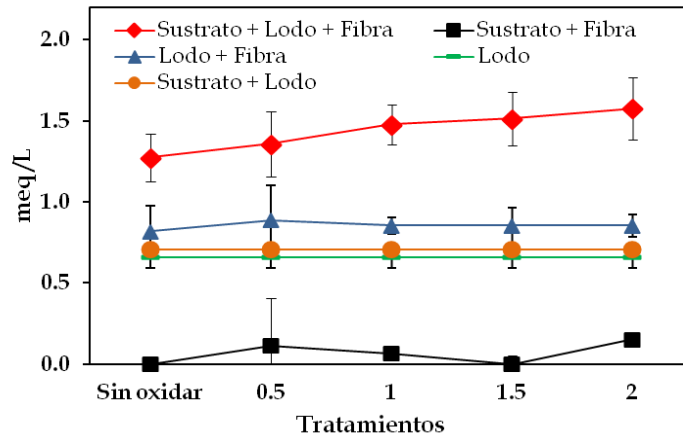


Figura 9.2 Capacidad final aceptora de electrones de las fibras de carbón activado reducidas biológicamente con lodo granular anaerobio. Donde en el eje de las abscisas se encuentran los 5 diferentes materiales, sin oxidar se refiere a la fibra sin oxidar, y 0.5, 1, 1.5 y 2 son los diferentes tiempos de oxidación de la fibra en horas. En el eje de las ordenadas los miliequivalentes por litro de fibra reducida.