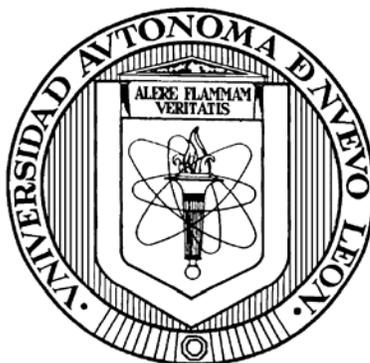


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



REMOCIÓN Y DEGRADACIÓN SIMULTÁNEA DE CROMO (VI) Y FENOL  
EN EFLUENTES LÍQUIDOS SINTÉTICOS UTILIZANDO *Aspergillus niger*  
EN UN BIORREACTOR DE LECHO FIJO.

Por

SAGRARIO DE JESÚS GARCÍA HAM

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRIA EN CIENCIAS con Orientación en  
Procesos Sustentables

Marzo, 2007

**REMOCIÓN Y DEGRADACIÓN SIMULTÁNEA DE CROMO (VI) Y FENOL  
EN EFLUENTES LÍQUIDOS SINTÉTICOS UTILIZANDO *Aspergillus niger*  
EN UN BIORREACTOR DE LECHO FIJO.**

Aprobación de la Tesis:

---

**Asesor de la Tesis**

Dra. Martha Alicia Suárez Herrera.

---

**Subdirector de Estudios de Posgrado**

Dr. Juan Manuel Barbarín Castillo

## AGRADECIMIENTOS

Gracias DIOS, por ser mi guía y por brindarme la paciencia, salud y fortaleza para poder terminar con una de mis metas.

A mi mamá y papá, que me han brindado su amor, comprensión y apoyo durante toda mi vida, por ser mis consejeros, mis maestros y especialmente mis amigos. Le doy gracias a Dios por haberlos escogido como mis padres, que me han dado más de lo que yo puedo pedirles. LOS AMO. A mis hermanas, Azalia y Edith, a pesar de algunas diferencias, siempre me han apoyado en mis decisiones, gracias por soportarme y por tener a esos encantadores y maravillosos niños (Georgina Arlette, Jorge Eduardo, Carlos Aldahir y Jorge Alejandro), los quiero a todos.

A mi asesora Dra. Martha Suárez por toda su paciencia, dedicación, comprensión y apoyo durante mis estudios y especialmente durante la experimentación y elaboración de la tesis; así como, por brindarme conocimientos y confiar en mí. También quiero agradecer al Dr. Felipe Cerino por ofrecerme su amistad, consejos, apoyo y tiempo durante mis estudios y en la revisión de la tesis. Muchas gracias a ambos, ya que he aprendido mucho de ustedes.

A mis amigos de la maestría, que han tenido un papel muy importante en mi vida, ya que hemos pasado juntos risas, tristezas y desesperación. Verónica Almaguer, mi gran amiguina, gracias por acompañarme, por hacer la maestría más amena con tus muchas ocurrencias y especialmente muchas gracias por brindarme tu maravillosa amistad y haber confiado en mí. Jennifer Compean, muchísimas gracias por tenerme mucha paciencia, eres una gran amiga, gracias por tus consejos, por escucharme, por tus comentarios muy oportunos, por tu apoyo y principalmente por brindarme tu amistad y confianza. Elizabeth Alfaro, gracias por apoyarme en toda ocasión, por nuestras noches de desvelos en el laboratorio y nuestras muy amenas pláticas. Luis Reyes, eres único, gracias amigo por ayudarme, escucharme y apoyarme cuando más lo necesité. Muchas gracias Ing. Pech, por brindarme tu amistad y confianza, por apoyarme y aconsejarme para mi superación profesional y por ser un gran amigo. David Melgoza, muchas gracias hermanito, por todo tu apoyo y gran paciencia, por ser un gran amigo cuando más necesitaba ayuda en el laboratorio, siempre estabas ahí.

GRACIAS...

## RESUMEN

**Sagrario de Jesús García Ham**

**Fecha de Graduación:** Marzo, 2007

**Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Ciencias Químicas**

**Título del Estudio:** Remoción y degradación simultánea de Cromo (VI) y fenol en efluentes líquidos sintéticos utilizando *Aspergillus niger* en un biorreactor de lecho fijo.

**Número de páginas:** 132

**Candidato para el grado de Maestría  
en Ciencias con Orientación en  
Procesos Sustentables**

**Área de Estudio:** Procesos Biotecnológicos

**Propósito y Método del Estudio:** La contaminación ambiental es un problema a nivel mundial debido a su toxicidad y a sus efectos adversos sobre la biota y los seres humanos. La industria química moderna ha traído efectos negativos al generar grandes cantidades de residuos que son enviados a cuerpos acuíferos, originando un alto nivel de contaminación de metales pesados y compuestos fenólicos. Hoy en día se invierten tiempo y recursos a la investigación de nuevas especies biológicas que tengan la capacidad de bioremediar el medio ambiente gracias a los métodos biotecnológicos. En el presente trabajo se empleó el hongo filamentoso *Aspergillus niger* para remover y degradar simultáneamente cromo (VI) y fenol de un efluente líquido sintético en un biorreactor de lecho fijo.

**Contribuciones y Conclusiones:** En esta investigación se ha demostrado que el hongo filamentoso *Aspergillus niger* presenta una gran capacidad para remover cromo (VI) y degradar fenol de manera simultánea a concentraciones elevadas, obteniéndose entre un 80% y 100% de remoción de Cr (VI) y degradación de Fenol a las 24 h en matraces Erlenmeyer de 250 mL y entre 65% y 100% de remoción de Cr (VI) y degradación de Fenol a las 10.5 h en las pruebas realizadas en el reactor de lecho fijo a escala laboratorio.

**FIRMA DEL ASESOR:** \_\_\_\_\_

## TABLA DE CONTENIDO

Capítulo		Página
1	INTRODUCCIÓN. . . . .	1
2	ANTECEDENTES. . . . .	6
	2.1 Metales pesados. . . . .	8
	2.1.1 Cromo. . . . .	9
	2.1.1.1 Propiedades físicas. . . . .	9
	2.1.1.2 Efectos ambientales del cromo. . . . .	9
	2.2 Compuestos fenólicos. . . . .	10
	2.2.1 Fenol. . . . .	10
	2.2.1.1 Propiedades físicas del fenol. . . . .	10
	2.2.1.2 Efectos ambientales del fenol. . . . .	11
	2.3 Efectos del cromo (VI) y fenol en la salud. . . . .	12
	2.4 Técnicas empleadas para la remoción de metales pesados y degradación de compuestos fenólicos. . . . .	14
	2.4.1 Tratamientos fisicoquímicos para la remoción de metales pesados. . . . .	15
	2.4.1.1 Precipitación química. . . . .	16
	2.4.1.2 Recuperación con disolvente. . . . .	17
	2.4.1.3 Intercambio iónico. . . . .	17
	2.4.1.4 Tecnología de membrana. . . . .	18
	2.4.2 Tratamientos fisicoquímicos para la degradación de compuestos fenólicos. . . . .	18
	2.4.2.1 Extracción. . . . .	18
	2.4.2.2 Degradación oxidativa vía sonoelectroquímica. . . . .	19
	2.4.2.3 Adsorción en carbón activo o resinas de tipo polimérico. . . . .	19
	2.4.2.4 Incineración. . . . .	20
	2.4.3 Tratamientos biológicos para la remoción de metales pesados y degradación de compuestos fenólicos. . . . .	21
	2.4.3.1 Biosorción. . . . .	22
	2.4.3.2 Biodegradación. . . . .	22
	2.5 Microorganismos utilizados en la remoción de metales pesados. . . . .	23

Capítulo	Página
2.6 Microorganismos utilizados en la degradación de compuestos fenólicos. . . . .	25
2.7 Remoción y degradación simultánea de cromo (VI) y fenol... . . . .	27
2.8 Biorreactores. . . . .	29
2.8.1 Lecho fijo o cama empacada. . . . .	30
2.8.2 Lecho fluidizado. . . . .	31
2.9 Biosorbentes. . . . .	34
2.9.1 Quitosán. . . . .	35
2.9.1.1 Características del quitosán. . . . .	37
2.9.1.2 Características Fisicoquímicas del quitosán. . . . .	37
2.9.1.3 Aplicaciones del quitosán. . . . .	38
2.9.2 Otros biosorbentes. . . . .	39
2.9.2.1 Alginatos. . . . .	39
2.9.2.2 Carbón y turba. . . . .	39
2.9.2.3 Sorbentes diversos. . . . .	40
3 HIPÓTESIS, OBJETIVOS, METAS Y APORTACIONES. . . . .	41
3.1. Hipótesis. . . . .	41
3.2. Objetivos y metas. . . . .	41
3.2.1 Objetivo general. . . . .	41
3.2.2 Objetivos particulares. . . . .	41
3.2.3 Metas. . . . .	42
3.3. Aportaciones. . . . .	43
4 METODOLOGIA. . . . .	44
4.1 Ubicación. . . . .	44
4.2 Obtención y preparación del hongo filamentoso <i>Aspergillus niger</i> . . . . .	44
4.3 Obtención y preparación del quitosán. . . . .	45
4.3.1 Pretratamiento de la materia prima. . . . .	45
4.3.2 Obtención de la quitina. . . . .	46
4.3.3 Obtención del quitosán. . . . .	47
4.3.4 Comprobación de la presencia del quitosán. . . . .	48

<b>Capítulo</b>	<b>Página</b>
4.4 Preparación de los efluente sintéticos. . . . .	48
4.5 Condiciones experimentales. . . . .	49
4.5.1 Condiciones de trabajo. . . . .	50
4.5.1.1 Diseño de experimentos. . . . .	50
4.6 Pruebas para la remoción de cromo (VI) y degradación de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	51
4.6.1 Pruebas para remoción de cromo (VI). . . . .	51
4.6.2 Pruebas de degradación de fenol. . . . .	52
4.7 Pruebas para remoción de cromo (VI) y degradación de fenol de manera simultánea. . . . .	53
4.8 Métodos analíticos. . . . .	55
4.8.1 Determinación de la concentración del cromo (VI). . .	55
4.8.2 Determinación de la concentración de fenol. . . . .	56
4.8.3 Separación de fenol del cromo (VI) para la determinación de su concentración. . . . .	57
4.9 Remoción y degradación simultánea de cromo (VI) y fenol en un biorreactor empacado. . . . .	57
4.9.1 Descripción del biorreactor. . . . .	57
4.9.2 Condiciones experimentales del biorreactor empacado.	58
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN. . . . .	59
5.1 Crecimiento del hongo. . . . .	59
5.2 Comprobación de la presencia del quitosán. . . . .	60
5.3 Remoción de cromo (VI) en matraz Erlenmeyer de 250 mL...	62
5.3.1 Remoción de 100 y 500 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI). . . . .	62
5.4 Degradación de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . .	66
5.4.1 Degradación de 300 y 500 mg·L <sup>-1</sup> de fenol. . . . .	66
5.5 Remoción y degradación simultánea de cromo (VI) y fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	69
5.5.1 Remoción y degradación simultánea de 100 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	69

Capítulo	Página
5.5.2 Remoción y degradación simultánea de 100 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	71
5.5.3 Remoción y degradación simultánea de 500 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	73
5.5.4 Remoción y degradación simultánea de 500 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	75
5.6 Remoción y degradación simultánea de cromo (VI) y fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	77
5.6.1 Remoción y degradación simultánea de 100 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol utilizando <i>A. niger</i> en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	78
5.6.2 Remoción y degradación simultánea de 100 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol utilizando <i>A. niger</i> en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	79
5.6.3 Remoción y degradación simultánea de 500 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol utilizando <i>A. niger</i> en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	80
5.6.4 Remoción y degradación simultánea de 500 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol utilizando <i>A. niger</i> en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	81
6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES. . . . .	87
6.1 Conclusiones. . . . .	87
6.2 Recomendaciones. . . . .	90
Referencias. . . . .	91
Apéndice A. . . . .	101
Apéndice B. . . . .	104
Apéndice C. . . . .	122

## LISTA DE TABLAS

1.	Toxicidad del fenol y del cromo (VI). . . . .	13
2.	Ventajas y desventajas de los tratamientos biológicos y fisicoquímicos de remoción de metales pesados y degradación de compuestos fenólicos. . . . .	15
3.	Microorganismos utilizados en la remoción de metales pesados. . . . .	23
4.	Microorganismos utilizados en la degradación de compuestos fenólicos. . . . .	26
5.	Reactores que han sido empleados para degradación y/o remoción de compuestos fenólicos y metales pesados. . . . .	30
6.	Ventajas y desventajas de los biorreactores de lecho fijo y lecho fluidizado. . . . .	33
7.	Aplicaciones del quitosán. . . . .	38
8.	Formulación de efluentes sintéticos. . . . .	49
9.	Diseño factorial $2^3$ . . . . .	51
10.	Condiciones experimentales para la remoción de cromo (VI) en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	52
11.	Condiciones experimentales para la degradación de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	53
12.	Condiciones experimentales para la remoción de cromo (VI) y degradación de fenol de manera simultánea en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	54
13.	Remoción de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cr (VI) y degradación de $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL y en biorreactor de lecho fijo. . . . .	82
14.	Remoción de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cr (VI) y degradación de $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL y en biorreactor de lecho fijo. . . . .	83
15.	Remoción de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cr (VI) y degradación de $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL y en biorreactor de lecho fijo. . . . .	84
16.	Remoción de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cr (VI) y degradación de $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL y en biorreactor de lecho fijo. . . . .	84

17.	Porcentajes de remoción de 100 mg·L <sup>-1</sup> y 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	123
18.	Porcentajes de degradación de 300 mg·L <sup>-1</sup> y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	124
19.	Porcentajes de remoción de 100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	125
20.	Porcentajes de remoción de 100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	126
21.	Porcentajes de remoción de 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	127
22.	Porcentajes de remoción de 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL. . . . .	128
23.	Remoción de 100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	129
24.	Remoción de 100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	130
25.	Remoción de 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	131
26.	Remoción de 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	132

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Estructura del quitosán. . . . .	36
2.	Estructura de la celulosa y del quitosán. . . . .	37
3.	Residuos de cáscara de camarón. . . . .	46
4.	Desacetilación de la quitina. . . . .	47
5.	Columna de vidrio (Biorreactor de lecho fijo). . . . .	58
6.	Esférulas del hongo <i>Aspegillus niger</i> . . . . .	60
7.	Polvo de cáscara de camarón. . . . .	61
8.	Comprobación de presencia de quitosán. . . . .	61
9.	Remoción de cromo (VI): (a) 100 mg·L <sup>-1</sup> y (b) 500 mg·L <sup>-1</sup> . . . . .	63
10.	Degradación de fenol: (a) 300 mg·L <sup>-1</sup> y (b) 800 mg·L <sup>-1</sup> . . . . .	67
11.	Remoción y degradación simultánea de 100 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol: a) medición del Cr (VI), b) medición de fenol. . . . .	70
12.	Remoción y degradación simultánea de 100 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol: a) medición del Cr (VI), b) medición de fenol. . . . .	72
13.	Remoción y degradación simultánea de 500 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol: a) medición del Cr (VI), b) medición de fenol. . . . .	74
14.	Remoción y degradación simultánea de 500 mg·L <sup>-1</sup> de cromo (VI) y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol: a) medición del Cr (VI), b) medición de fenol. . . . .	76
15.	Remoción y degradación simultánea de 100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	78
16.	Remoción y degradación simultánea de 100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	79
17.	Remoción y degradación simultánea de 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	80
18.	Remoción y degradación simultánea de 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y degradación de 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol en un biorreactor de lecho fijo. . . . .	81

## NOMENCLATURA

%	Por ciento de remoción y/o degradación
°C	Grados Celsius
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
A-1, A-2, A-3, A-4, A-5 y A-6	2 g/L de quitosán
Ag	Plata
AgNO <sub>3</sub>	Nitrato de plata
ATSDR	Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades
Au	Oro
B-1, B-2, B-3, B-4, B-5 y B-6	5 g/L de quitosán
C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 y C-6	1 g/L <i>Aspergillus niger</i>
Ca	Calcio
CaCO <sub>3</sub>	Carbonato de calcio
CC	Cualquier cantidad
Cd	Cadmio
CEHS	Centro para la Ciencia y Salud Ambiental
CH <sub>3</sub> -CO	Grupo Acetilo
C <sub>i</sub>	Concentración inicial
CNA	Comisión Nacional del Agua
Co	Cobalto
conidias·mL <sup>-1</sup>	Conidias por mililitro
Cr (VI) y Cr (III)	Cromo hexavalente y Cromo trivalente
Cu	Cobre
D-1, D-2, D-3, D-4, D-5 y D-6	1 g/L <i>A. niger</i> y 2 g/L de quitosán

E-1, E-2, E-3, E-4, E-5 y E-6	1 g/L <i>A. niger</i> y 5 g/L de quitosán
EPA	Agencia de Protección Ambiental
<i>et al.</i>	Colaboradores
FeSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	Sulfato de hierro heptahidratado
g	Gramos
g/L	Gramos por litro
h	Hora
HCl	Ácido clorhídrico
Hg	Mercurio
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
IARC	La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer
INE	Instituto Nacional de Ecología
K	Potasio
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Cromato de potasio
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Fosfato de potasio
KCl	Cloruro de potasio
kg	Kilogramo
L	Litro
M	Molar
m <sup>3</sup> /s	Metros cúbicos por segundo
Mg	Magnesio
mg·L <sup>-1</sup>	Miligramos por litro
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	Sulfato de magnesio heptahidratado
mL	Mililitros
mL/min	Mililitros por minuto
mm	Milímetros
N	Normal
Na	Sodio

NaCl	Cloruro de sodio
NaNO <sub>3</sub>	Nitrato de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
ND	No disponible
-NH <sub>2</sub>	Grupo amino
Ni	Níquel
nm	Nanómetro
O <sub>2</sub>	Oxígeno
-OH	Grupo hidroxilo
Pb	Plomo
PCP	Pentaclorofenol
pH	Logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno
PROFEPA	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente
rpm	Revoluciones por minuto
<i>sp.</i>	Sin especie
T	Temperatura
TRP	Toxicological Review of Phenol
U. A. N. L.	Universidad Autónoma de Nuevo León
Zn	Zinc
$\mu$ L	Microlitros
$\mu$ m	Micrómetros

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental por metales pesados y compuestos fenólicos es un problema serio a nivel mundial debido a su toxicidad y a sus efectos adversos sobre la biota y los seres humanos, tanto por el incremento en la acumulación en la cadena alimentaria como por su continua persistencia en el medio ambiente (Chen y Pan, 2005).

Aunque es indiscutible que la industria química moderna ha traído grandes efectos benéficos a la sociedad, también ha habido efectos negativos asociados a la liberación al medio ambiente de compuestos tóxicos sintéticos difíciles de degradar. Adicionalmente los procesos industriales tienen problemas con respecto al uso eficiente del agua y el manejo de sus aguas residuales al generar gran cantidad de residuos. De acuerdo con la Comisión Nacional del Agua (CNA), la industria genera a nivel nacional 170 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales de las cuales menos del 10% recibe tratamiento (Ley Federal de Derechos en Materia de Agua, 2001 y CNA, 2001). Las industrias de alimentos, química, preservación de madera, refinación del petróleo, curtido de pieles,

pinturas, fabricación de partes de automóviles, papeleras, etc., envían sus descargas tóxicas, de manera clandestina, a cuerpos acuíferos, originando con ello un alto nivel de contaminación de metales pesados (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr, Ni, Hg, Co, Ag, Au) (Vullo, 2003) y compuestos aromáticos entre los que se encuentran el fenol, 2-clorofenol, 2-nitrofenol, 2,4-dimetilfenol, 2,4-diclorofenol, 4-cloro-3-metilfenol, 2,4,5-triclorofenol, 2,4-dinitrofenol, 2-metil-4,6-dinitrofenol y pentaclorofenol (Puig y Barceló, 1997).

El avance en las investigaciones sobre el efecto de los contaminantes en las formas de vida y su incidencia en los ecosistemas, sumado a la demanda de la sociedad por aguas de mejor calidad, se han materializado en regulaciones ambientales y de salud pública cada vez más estrictas. En las últimas tres décadas, la legislación ambiental mundial se ha centrado en exigir la protección de los cuerpos de agua dulce, pues la escasez de la misma afecta la vida silvestre y la salud humana (Rubiano-Hernández, 2004).

Tomando en consideración los factores expuestos anteriormente, ha surgido la necesidad de tratar las aguas residuales para que puedan descargarse a los cuerpos de agua sin afectar los ecosistemas, por lo cual es primordial el desarrollo de nuevos métodos y tecnologías eficientes que representen un bajo costo para las industrias. Los procesos de tratamiento de aguas residuales son muy diversos, entre ellos podemos mencionar tratamientos físicos y químicos

los cuales son costosos y relativamente ineficientes. Éstos métodos a menudo producen otros productos finales tóxicos o bien requieren de procesamientos posteriores. Los tratamientos biológicos permiten llevar a cabo un proceso de tratamiento rentable que puede hacer descender el nivel de materiales tóxicos por debajo de los niveles máximos legales (Vullo, 2003).

Hoy en día se invierten tiempo y recursos a la investigación de nuevas especies biológicas que tengan la capacidad de biorremediar el medio ambiente, ya sea por la capacidad natural que tienen éstas de interactuar con el ecosistema, o bien, por las nuevas capacidades genéticas que se implementan gracias a los métodos biotecnológicos (Chen *et al.*, 2005).

La biotecnología ofrece soluciones a problemas ambientales con ayuda de microorganismos con capacidad de tolerar condiciones ambientales extremas (Aislabie *et al.*, 1990) y convertir los contaminantes peligrosos orgánicos o inorgánicos en dióxido de carbono, agua, tejido celular y energía, para removerlos del medio ambiente restaurando los sitios contaminados y previniendo la futura contaminación por acumulación (Suárez-Herrera, 2004). La biotecnología también propone procedimientos alternativos para la extracción de productos de alto valor agregado a partir de desechos (Shirai, 2005). Las ventajas de éstos procesos son la obtención de diferentes

subproductos que contienen componentes valiosos que pueden ser utilizados como materia prima en diversas industrias (Mármol *et al*, 2006).

Diferentes microorganismos, tales como bacterias, hongos, levaduras y algas, han sido empleados para la degradación de compuestos fenólicos y metales pesados (Cañizales-Villanueva, 2000). Dentro de los grupos microbianos que han sido utilizados en biorremediación para degradar y remover tanto compuestos orgánicos como metales pesados se encuentran los hongos filamentosos (géneros *Acremonium*, *Aspergillus*, *Curvularia* y *Fusarium*), (Suárez-Herrera, 2004).

Los procesos de remediación pueden efectuarse *in situ*, o sea en el mismo lugar donde ha ocurrido el derrame, o bien *ex situ*, separando la porción contaminada y trasladándola a un reactor (Vullo, 2003). Los biorreactores han definido y controlado factores ambientales, por consiguiente es una manera eficaz de aprovecharse de las capacidades de los sistemas biológicos, demostrando ser útiles en la investigación e industria, los biorreactores más comúnmente empleados son los de lecho fijo y los de lecho fluidizado (Andersson, 1999).

El interés principal de éste trabajo está centrado en la biorremediación mediante el uso de sistemas biológicos para lo cual se empleará un cultivo puro

del hongo filamentoso *Aspergillus niger* para remover y degradar simultáneamente cromo (VI) y fenol de un efluente líquido sintético. Éste microorganismo fue aislado en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químicas. Entre las propiedades que posee éste organismo destacan su capacidad en la degradación de fenol (Suárez-Herrera, 2004) y en pruebas preliminares la remoción de diversos metales pesados.

## CAPÍTULO 2

### ANTECEDENTES

Los materiales residuales emitidos directamente desde fuentes industriales y agrícolas son los causantes a nivel mundial de una considerable contaminación del suelo y del agua. La existencia de éstos materiales en una concentración determinada causa efectos no deseados y representan un riesgo para el bienestar de humanos, animales o bienes materiales.

Entre los materiales residuales se encuentran los xenobióticos y los metales pesados. Los xenobióticos son compuestos orgánicos elaborados por los principales productores químicos multinacionales y se utilizan extensivamente por productores de plásticos y otros productores químicos. Incluyen compuestos como el benceno, tolueno y estireno, así como compuestos orgánicos halogenados como pentaclorofenol y bifenilos policlorados. Éstos contaminantes a menudo están presentes en procesos de aguas de desecho en concentraciones bastante bajas, o pueden estar en cantidades más grandes como derrames, o en suelo y agua asociados con sitios industriales abandonados. Éstos compuestos generalmente son altamente tóxicos a formas de vida incluyendo humanos, son difíciles de desechar y son de las principales

preocupaciones de la industria (debido al costo y/o difícil tratamiento) y de las agencias regulatorias (Grady, 1999).

Los procesos industriales presentan problemas en el manejo de aguas residuales al generar grandes cantidades de residuos de metales pesados (cromo (VI)) y compuestos aromáticos (fenol), por lo que se ha visto la necesidad de tratar de eliminar o remover dichos contaminantes mediante tratamientos fisicoquímicos o biológicos.

Las tecnologías que emplean microorganismos son menos costosas que las fisicoquímicas porque las reacciones de degradación, medidas por la actividad biocatalítica natural, se producen a velocidades rápidas a temperatura ambiente. Por lo tanto, los costes energéticos del tratamiento son relativamente bajos (Levin *et al.*, 1997).

A lo largo del último siglo, el desarrollo de tecnologías basadas en microorganismos para el tratamiento de aguas residuales urbanas ha proporcionado excelentes procesos para la destrucción de los constituyentes fácilmente biodegradables en condiciones aerobias. Por lo tanto, en el tratamiento de muchas aguas residuales industriales y peligrosas se han aplicado con éxito procesos similares a los utilizados para el tratamiento convencional de aguas residuales urbanas.

## 2.1 Metales Pesados

Los metales pesados son elementos químicos de masa atómica elevada, por lo general del quinto o sexto período de la tabla periódica. Los metales son notables por su amplia gama de usos, su dispersión, su tendencia a acumularse en algunos tejidos del cuerpo humano y su potencial de ser tóxicos aún a niveles de exposición relativamente bajos (Rodríguez-Rosario, 2005).

En cantidades pequeñas, ciertos metales pesados son nutricionalmente esenciales para una vida sana, por ejemplo el hierro, cobre, manganeso, y zinc. Éstos elementos, o algunas de sus formas, se encuentran comúnmente en comestibles, en frutas y vegetales, en productos multivitamínicos y se usan en la industria para fabricación de pesticidas, baterías, aleaciones, acero, etc. (Hidalgo-Hidalgo, 2004).

La industria de abrillantado de metales representa un mercado clave bien identificado para la tecnología de la biosorción que continúa creciendo debido a la necesidad de purificación del agua que se emplea en ésta industria.

El proceso de abrillantado de las superficies metálicas consiste de varios procesos químicos y físicos, a través de los cuales cambia la superficie de un producto o se incrementa su apariencia, resistencia a la corrosión o las características esenciales de la superficie para operaciones subsecuentes.

Las industrias de abrillantado de metales generalmente descargan sus efluentes en los drenajes municipales y muchos de ellos no alcanzan los niveles marcados por la legislación para Cd, Cr, Cu, Ni y Zn. Las concentraciones de metales en los efluentes no tratados pueden ser hasta 120 veces más altas que las permitidas por la ley, contribuyendo con una gran cantidad de contaminantes metálicos al medio ambiente (Volesky, 2003).

### 2.1.1 Cromo

#### 2.1.1.1 Propiedades Físicas

Elemento químico, de símbolo Cr, número atómico 24, peso atómico 51.996; es un metal de color blanco plateado, duro y quebradizo. Sin embargo, es relativamente suave y dúctil cuando no está tensionado o cuando está muy puro. Sus principales usos son la producción de aleaciones anticorrosivas de gran dureza y resistentes al calor y como recubrimiento para galvanizados (ALNICOLSA, 2002).

#### 2.1.1.2 Efectos Ambientales del Cromo

La toxicidad de los compuestos solubles del cromo varía según la temperatura, pH y dureza del agua, y según las especies de organismos que entren en contacto con éstos compuestos. La movilidad del cromo en el suelo solamente puede evaluarse si se consideran la capacidad de adsorción y

reducción de los suelos y de los sedimentos. Los hidróxidos de cromo (III), una vez sedimentados y fijados en el sedimento acuático, difícilmente vuelven a movilizarse, dado que la oxidación de los compuestos de cromo (III) para formar compuestos de cromo (VI) prácticamente no ocurre en forma natural. Tanto los animales como los seres humanos sólo incorporan a su organismo cantidades relativamente pequeñas de cromo por inhalación; la mayoría de las sustancias que contienen cromo ingresan al organismo a través de los alimentos y del agua que se bebe (Cowi, 2002).

## **2.2 Compuestos Fenólicos**

### **2.2.1 Fenol**

El fenol es una sustancia química de naturaleza sintética principalmente, aunque también se encuentra en la naturaleza en residuos animales y material orgánico.

#### **2.2.1.1 Propiedades Físicas del Fenol**

El fenol es un sólido cristalino de color blanco, el producto comercial es un líquido. Tiene un olor desagradable y alquitranado. Se puede detectar el sabor y el olor del fenol a niveles más bajos que los asociados con efectos nocivos. El fenol se evapora más lentamente que el agua y una pequeña cantidad puede formar una solución con agua (TRP, 2002).

### 2.2.2.1 Efectos Ambientales del Fenol

Respecto a las regulaciones de éste contaminante, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) ha decidido que el agua de lagos y ríos deben estar limitados a  $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para proteger la salud humana de posibles efectos nocivos debido a la exposición a fenol a través del agua. La Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), desde 1983 reconoce al fenol como una sustancia susceptible de ocasionar riesgos en la salud humana, dañar la flora, la fauna y los recursos vivos del medio marino, menoscabar sus alicientes recreativos o entorpecer los usos legítimos de las aguas del mar (CNA 2001 y NOM-031- ECOL-1993).

Debido a la degradación microbiana (aeróbica o anaeróbica) la acumulación de fenol en el suelo es escasa; el nivel de ésta acumulación depende de la presencia de minerales arcillosos. Se produce poca acumulación en los alimentos. La presencia de fenol en aguas subterráneas también contamina el agua potable, la que ya no se podrá consumir debido a su sabor desagradable (ATSDR, 1998).

### 2.3 Efectos del Cromo (VI) y Fenol en la Salud

En México de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA-1993, que establece las especificaciones sanitarias del agua purificada envasada con el fin de reducir los riesgos de transmisión de enfermedades gastrointestinales y las derivadas de su consumo, marca como el límite máximo permisible de fenol  $0.001 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y del cromo  $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Se ha comprobado que la intoxicación por fenol produce cefalalgias (trastornos de dolor de cabeza, cuello y cara), trastornos gastrointestinales, obnubilación (confusión mental que impide pensar con claridad), coma, convulsiones, hemólisis, edema cerebral y pulmonar, provocando la muerte por falla respiratoria o shock; también ejerce efectos teratógenos y cancerígenos (CEHS, 2002 y Rubiano Hernández, 2004). La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC) y la EPA, clasifican al cromo hexavalente como un elemento comprobadamente cancerígeno en el humano (Téllez, 2004). Los efectos potenciales del cromo y el fenol sobre la salud dependen de diversos factores, como la cantidad y la forma de incorporación del cromo y del fenol en el organismo (Nordberg, 2003), los síntomas que se presentan pueden ser muy variados, ya que hay aparición de pequeñas irritaciones hasta cáncer, coma e inclusive la muerte (Tabla 1) (ATSDR, 1998 y Figueroa-Navarrete, 1998).

TABLA 1  
TOXICIDAD DEL FENOL Y DEL CROMO (VI)

Vía de exposición	Cantidad fenol mg·L <sup>-1</sup>	<sup>a</sup> Efectos tóxicos del fenol	Cantidad Cr (VI) mg·L <sup>-1</sup>	<sup>b</sup> Efectos tóxicos del cromo(VI)
Inhalación	>30	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Causa molestias digestivas (vómitos, diarrea, pérdida de apetito).</li> <li>• Irrita y quema el tracto respiratorio.</li> </ul>	>50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rinitis</li> <li>• Bronquitis</li> <li>• Alteración del olfato</li> <li>• Hemorragia nasal y perforación del tabique</li> <li>• Cáncer de pulmón.</li> </ul>
Ingestión	>10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dolor en boca y garganta</li> <li>• Dolor abdominal</li> <li>• Efectos sobre el sistema nervioso central</li> <li>• Aumento en la frecuencia cardiaca</li> <li>• Coma y muerte.</li> </ul>	>10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Irritación gastrointestinal</li> <li>• Hepatitis</li> <li>• Úlcera gastrointestinal</li> <li>• Nefritis</li> <li>• Color amarillo de los dientes.</li> </ul>
Piel	>5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se absorbe a través de la piel provocando efectos del envenenamiento sistémico.</li> <li>• Pueden ocurrir severas quemaduras, que se pueden enmascarar por la pérdida de la sensación al dolor.</li> </ul>	>10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dermatitis</li> <li>• Llagas en piernas y glúteos</li> <li>• Úlcera de dedos, uñas y articulaciones</li> </ul>
Ojos	<sup>c</sup> CC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pueden ocurrir quemaduras oculares con enrojecimiento y visión borrosa.</li> <li>• Puede causar daños severos y ceguera</li> </ul>	<sup>c</sup> CC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pérdida de visión</li> <li>• Quemaduras profundas graves.</li> </ul>

<sup>a</sup> ATSDR, 1998, <sup>b</sup> Figueroa-Navarrete, 1998, <sup>c</sup>CC: Cualquier Cantidad

## **2.4 Técnicas Empleadas para la Remoción de Metales Pesados y Degradación de Compuestos Fenólicos**

Existen diversos métodos tanto fisicoquímicos como biológicos para la eliminación de compuestos tóxicos. Cada uno presenta ventajas y desventajas y en ocasiones lo más adecuado para su eliminación es una combinación de ambos sistemas (Tabla 2).

Los tratamientos biológicos son más económicos que los tratamientos fisicoquímicos ya que algunos de éstos últimos presentan un gasto de energía elevado. Otra de las ventajas de los procesos biológicos es que son tecnologías que son favorables al medio ambiente y en algunos de los casos no requieren de tratamientos posteriores. Sin embargo, los procedimientos convencionales para asegurar la biodegradabilidad de algunos compuestos tienen un valor limitado porque las condiciones de laboratorio son diferentes respecto a las que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo: las concentraciones de prueba no son reales, los organismos de prueba se han obtenido de la exposición a contaminantes y son muy diferentes a los organismos nativos, no se puede empatar la biodegradabilidad entre las áreas primitivas y las contaminadas y los procedimientos no son lo suficientemente flexibles para considerar el metabolismo concurrente o el cometabolismo debido a la presencia de varios sustratos. La ventaja de los tratamientos fisicoquímicos es que no requieren de períodos largos a diferencia de los tratamientos biológicos que sí los requieren.

La desventajas de los tratamientos fisicoquímicos es que probablemente se necesiten sistemas de recuperación adicionales y esto genera mayor costo económico.

TABLA 2

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS Y  
FISICOQUÍMICOS DE REMOCIÓN DE METALES PESADOS Y  
DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Tratamientos	Ventajas	Desventajas
Biológicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Son efectivos en cuanto a costos</li> <li>• Son tecnologías más benéficas para el ambiente</li> <li>• Los contaminantes generalmente son destruidos</li> <li>• Se requiere un mínimo o ningún tratamiento posterior</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Requieren mayores tiempos de tratamiento</li> <li>• Es necesario verificar la toxicidad de intermediarios y/o productos</li> <li>• No pueden emplearse si el tipo de suelo no favorece el crecimiento microbiano</li> </ul>
Fisicoquímicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pueden realizarse en periodos cortos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los residuos generados por técnicas de separación, deben tratarse o disponerse: aumento en costos y necesidad de permisos</li> <li>• Los fluidos de extracción pueden aumentar la movilidad de los contaminantes: necesidad de sistemas de recuperación</li> </ul>

Referencia: INE (2005) [en línea]

<http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/372/tecnolog.html>

#### 2.4.1 Tratamientos Fisicoquímicos para la Remoción de Metales Pesados

Los efluentes industriales se han tratado tradicionalmente mediante una combinación de procesos fisicoquímicos para la remoción de metales pesados (Ruiz-Planas, 2002). Sin embargo, éstos procesos tienen varias desventajas como

son: la remoción impredecible del ion metálico, altos requerimientos de reactivos, generación de desechos tóxicos y requieren de precauciones extremas para su disposición. Adicionalmente, no consiguen reducir la concentración de los metales pesados en los límites inferiores a los permitidos por la legislación (Barros *et al.*, 2003 y TRP, 2002). Además éstas tecnologías, no consiguen proveer una diferenciación clara en su composición, con lo cual se hace difícil reciclar o reusar los subproductos y como consecuencia existe una problemática para su deposición final (Hidalgo-Hidalgo, 2004).

#### 2.4.1.1 Precipitación Química.

Tradicionalmente se ha empleado la precipitación química para la eliminación de metales de todo tipo de aguas (Petrell *et al.*, 2002). La eliminación de los metales presentes en la disolución dependerá de la solubilidad de la especie más soluble del metal, la cual está en función del producto de solubilidad, del pH del medio y de la concentración de las especies precipitantes; así como de la separación del sólido de la disolución acuosa.

Éstos factores hacen que la precipitación sea poco efectiva cuando el metal se encuentra en concentraciones muy bajas, ya que se necesita un exceso de agente precipitante para llegar a formar un precipitado, y en muchos casos la partícula sólida formada no tiene estabilidad suficiente para separarse de la disolución (Hidalgo-Hidalgo, 2004).

#### 2.4.1.2 Recuperación con Disolvente.

Es una de las tecnologías de separación más establecidas para la eliminación de metales contaminantes en efluentes industriales, donde las concentraciones del contaminante son elevadas. La recuperación con disolvente tiene una gran aplicación comercial en aquellos casos en los que se requiera una separación selectiva de iones metálicos. Consiste en poner en contacto un disolvente orgánico (no polar) con la corriente de agua residual que contiene iones metálicos, los cuales se transfieren a la fase orgánica formando un complejo metálico insoluble en agua. Una desventaja de ésta tecnología es que requiere el empleo de grandes volúmenes de agentes orgánicos extractantes, lo que hace incrementar su costo (Ruiz-Planas, 2002).

#### 2.4.1.3 Intercambio Iónico.

Se trata de un mecanismo de interacción electrostática, debido a las fuerzas de atracción de Coulomb. El intercambio iónico es una tecnología alternativa que se aplica cuando las concentraciones de metal en los efluentes son bajas y el uso de membranas o la recuperación con disolvente, pierden sus ventajas y no son efectivos. Normalmente se trata de un proceso rápido y reversible que depende en gran medida de la fuerza iónica del agua (Hidalgo - Hidalgo, 2004).

#### 2.4.1.4 Tecnología de Membrana.

La tecnología de membrana ha tenido una vasta aplicación en el tratamiento y desalinización a través de la osmosis inversa. En éste proceso se aprovecha una diferencia de presión a través de la membrana para superar el gradiente de presión osmótica. Bajo éstas condiciones los iones no pueden atravesar la membrana y así son separados del disolvente (Ruiz-Planas, 2002).

#### 2.4.2 Tratamientos Físicoquímicos para la Degradación de Compuestos Fenólicos

Se han utilizado diferentes tratamientos físicoquímicos para eliminar moléculas orgánicas, éstos tratamientos han demostrado su potencial de eliminación, no obstante a menudo producen otros productos finales tóxicos o bien requieren de procesamientos posteriores.

##### 2.4.2.1 Extracción.

En éste proceso se utiliza un solvente y se ponen en contacto dos fases insolubles (fase acuosa y solvente), lográndose la transferencia de masa del contaminante desde la fase acuosa hacia el solvente, por el cual el fenol tiene gran afinidad. La extracción de fenoles con solventes es económicamente justificable cuando la concentración es superior a  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Las pérdidas por solvente y la corriente fenol-solvente crean problemas adicionales de

contaminación. Después de la extracción con solventes y la etapa de agotamiento, los fenoles están todavía presentes en niveles de cientos de  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Rubiano-Hernández, 2004).

#### 2.4.2.2 Degradación Oxidativa Vía Sonoelectroquímica.

Se utiliza para mejorar el rendimiento y acelerar la velocidad de reacción de diversas reacciones químicas. Los efectos químicos de ultrasonido incrementan las posibilidades de reacción debido a la formación de especies radicales altamente reactivas durante la cavitación. La cavitación en un líquido ocurre debido al estrés inducido en éste por el paso de una onda sonora. Sin embargo durante éste proceso los subproductos resultantes de la degradación de compuestos como el fenol (*p*-quinona) son muy tóxicos (Padilla *et al.*, 2004).

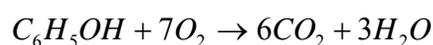
#### 2.4.2.3 Adsorción en Carbón Activo o Resinas de tipo Polimérico.

Los compuestos tóxicos presentes en aguas de desecho y el aire se pueden remover físicamente al estar en contacto con carbón activado contenido en columnas de absorción. Una desventaja importante de éste procedimiento es que los compuestos tóxicos absorbidos al carbón o a las resinas poliméricas no se destruyen, sólo se remueven físicamente de las corrientes contaminadas y, por lo tanto, se deben emplear otros métodos de disposición como una forma final de destrucción. La ventaja es que se lleva a cabo en condiciones

moderadas de temperatura y presión, la clave de la economía del proceso está en la posibilidad de su regeneración y reutilización (Serna *et al.*, 2003).

#### 2.4.2.4 Incineración

La incineración es una técnica usada para la destrucción de fenoles y de compuestos aromáticos clorados. El fenol se destruye transformándose en dióxido de carbono y agua:



Para ésta técnica se requiere de equipo costoso de alta temperatura y/o presión, que consume grandes cantidades de energía; la EPA exige 1600°C como temperatura de operación para éste proceso, ya que por la combustión incompleta de éstos compuestos se producen algunos subproductos tóxicos como las dioxinas, que requieren de una costosa depuración antes de poder salir a la atmósfera. El aspecto fundamental en la economía de la incineración de residuos fenólicos es el combustible auxiliar, necesario para mantener la combustión. La incineración catalítica puede llevarse a cabo a temperaturas más bajas, pero los átomos de cloro producto de la combustión envenenan la mayoría de los catalizadores, o al menos reducen su actividad (Bravo *et al.*, 2001).

### 2.4.3 Tratamientos Biológicos para la Remoción de Metales Pesados y Degradación de Compuestos Fenólicos

Los sistemas de tratamiento biológico son herramientas importantes en el esfuerzo de reducir los efectos negativos de los xenobióticos y mantenerlos a niveles aceptables a través de la destrucción efectiva de los residuos químicos.

Al uso de sistemas biológicos y aceleraciones biológicas se le llama biorremediación, se aplica a la capacidad que tienen algunos organismos para degradar contaminantes del suelo y agua (Nordin, 2004). Éste concepto incluye fenómenos como la biodegradación, dispersión, dilución, sorción, volatilización, y/o estabilización química o bioquímica principalmente de contaminantes (Andersson, 1999). La biorremediación puede ser usada efectivamente para reducir la toxicidad de los contaminantes a niveles que son adecuados para la salud humana y al ecosistema (Mijares-Mastretta, 2003).

Aunque el tratamiento biológico del material residual orgánico haya sido estudiado durante más o menos un siglo, los nuevos retos en el tratamiento de las aguas residuales, por ejemplo; el tratamiento biológico de los productos químicos peligrosos y las normas más estrictas sobre efluentes, siguen motivando el desarrollo de procesos innovadores.

#### 2.4.3.1 Biosorción

La biosorción es un fenómeno ampliamente estudiado en la biorremediación de diversos metales pesados como el cadmio, cromo, plomo, níquel, zinc y cobre. Utiliza polímeros naturales, llamados biopolímeros cuyas características funcionales les confieren la capacidad de absorber bajo condiciones predeterminadas especies metálicas diversas, algunos son derivados de algas como los alginatos, poliamidas de cabellos, colágeno de tejidos óseos o quitina y quitosán provenientes del caparazón de crustáceos. Los microorganismos utilizados como biosorbentes, aislados a partir de ecosistemas contaminados, retienen los metales pesados a intervalos de tiempo relativamente cortos al entrar en contacto con soluciones de dichos metales. Esto minimiza los costos en un proceso de remediación, ya que no requiere el agregado de nutrientes al sistema, al no requerir un metabolismo microbiano activo (Vullo, 2003).

#### 2.4.3.2 Biodegradación

En éste proceso los microorganismos utilizan los compuestos presentes en el agua como fuente de carbono y energía, transformándolos en biomasa, gas carbónico y otros intermediarios. Los procesos de biodegradación para los efluentes fenólicos han sido reportados desde hace algunos años, pero debido a su toxicidad, aún a concentraciones bajas ( $<200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), pueden afectar gravemente el proceso, inhibiendo el crecimiento microbiano o convirtiéndose

en biocida. Los efluentes poseen algunas características indeseables en cuanto a turbiedad, color, salinidad y en algunos casos presentan una baja sedimentación del lodo (Rubiano Hernández, 2004.).

## 2.5 Microorganismos Utilizados en la Remoción de Metales Pesados

La capacidad de algunos microorganismos para remover metales pesados de una solución mantiene como base una nueva tecnología para la detoxificación de efluentes industriales (Volesky y Naja, 2005). Los microorganismos tales como hongos, bacterias, levaduras y algas, han demostrado tener gran capacidad de adaptarse a las condiciones ambientales que se les presente y también tienden a tolerar altas concentraciones de metales pesados (Vieira y Volesky, 2000). En la Tabla 3, se muestran algunos microorganismos que han sido empleados para la remoción de metales pesados.

TABLA 3

### MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN LA REMOCIÓN DE METALES PESADOS

Microorganismos	Metal	$C_i$ (mg·L <sup>-1</sup> )	Referencia
<i>Arthrobacter aurescens</i>	Cromo (VI)	25 - 1000	Horton <i>et al.</i> , 2006
<i>Aspegillus niger</i>	Cromo (VI)	25 - 200	Park <i>et al.</i> , 2005
<i>Aspergillus versicolor</i> , <i>Metarrhizium anisopliae var</i> y <i>Penicillium verrucosum</i>	Plomo (II)	100	Çabuk <i>et al.</i> , 2005

TABLA 3 (CONTINUÍA)

<i>Neurospora crassa</i> , <i>Trichoderma viridae</i> , <i>Mucor recemosus</i> , <i>Rhizopus chinensis</i> , <i>Penicillium citrinum</i> , <i>Aspergillus niger</i> y <i>Aspergillus flavus</i>	Cobalto	5 - 850	Rashmi <i>et al.</i> , 2004
<i>Aspergillus niger</i>	Cadmio	5 - 10	Barros <i>et al.</i> , 2003
<i>Aeromonas caviae</i>	Cromo (VI)	5 - 50	Loukidou <i>et al.</i> , 2004
<i>Aspergillus oryzae</i>	Cromo (III)	120 - 1080	Nasseri <i>et al.</i> , 2002
<i>Aspergillus terreus</i>	Fierro, Cromo (VI) y Níquel	25 - 730	Dias <i>et al.</i> , 2002
<i>Aspergillus flavus</i>	Cadmio, Plomo y Zinc	150	Kok <i>et al.</i> , 2001
<i>Aspergillus niger</i> 405	Cromo (VI), Cobre, Níquel y Zinc	5 - 20	Filipovic-Kovacevic <i>et al.</i> , 2000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 33456	Cromo (VI)	50	Shen y Wang, 1993
<i>Pseudomonas putida</i>	Cromo (VI)	200 - 500	Ishibashi <i>et al.</i> , 1990
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cromo (VI)	100	Wang <i>et al.</i> , 1989
<i>Sargassum sp.</i>	Cromo (III)	92 - 162	Sala-Cossich <i>et al.</i> , 2002

C<sub>i</sub>: Concentración inicial; mg·L<sup>-1</sup>: miligramos por litro.

De acuerdo a los datos que se muestran en la Tabla 3, se puede observar que el hongo filamentoso del género *Aspergillus* (Park *et al.*, 2005; Çabuk *et al.*, 2005; Rashmi *et al.*, 2004; Barros *et al.*, 2003; Loukidou *et al.*, 2004; Nasseri *et al.*, 2002; Dias *et al.*, 2002; Kok *et al.*, 2001 y Filipovic-Kovacevic *et al.*, 2000) es el más utilizado para la remoción de metales pesados, seguido por algunas bacterias que son capaces de remover cromo (VI) y finalmente un alga (*Sargassum sp.*)

(Sala-Cossich *et al.*, 2002) que tolera concentraciones mayores a  $90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Dichos microorganismos fueron estudiados para remover cromo hexavalente y trivalente, cadmio, fierro, cobalto, plomo, cobre, níquel y zinc a diferentes concentraciones, entre 5 y  $1080 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Con lo anterior, se afirma que *Aspergillus niger* es capaz de tolerar concentraciones elevadas de cualquiera de éstos metales y que puede crecer y adaptarse sin problema alguno en presencia de cromo (VI).

## **2.6 Microorganismos Utilizados en la Degradación de Compuestos Fenólicos**

Al igual que para el caso de los metales pesados, existen microorganismos que resisten y crecen en presencia de compuestos recalcitrantes entre los que se encuentran: 2,4,5-triclorofenol, pentaclorofenol y 2,4,6 trinitrotolueno.

Las bacterias generalmente son los organismos más importantes que llevan a cabo la biodegradación de xenobióticos en sistemas acuáticos, pero las levaduras y los hongos tienen una participación importante en sistemas terrestres (Volesky, 2003).

Para la degradación de los compuestos aromáticos, se destacan diferentes géneros de bacterias (*Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Ralstonia*, etc.) (Santos *et al.*,

2004; Dursun y Tepe, 2005; Hao *et al.*, 2002; Viggiani *et al.*, 2006; Monteiro *et al.*, 2000, Murialdo *et al.*, 2003 y Pakula *et al.*, 1999), algunos géneros de hongos filamentosos tales como *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Stoilova *et al.*, 2006, Suárez-Herrera, 2004 y Santos *et al.*, 2004) y los hongos degradadores de lignina como el *Phanerochaete chrysosporium* (Reddy y Gold, 2000) (Tabla 4).

La mayoría de los datos disponibles sobre la biodegradación del fenol están basados en el cultivo de células microbianas suspendidas libres. Sin embargo, el uso de células inmovilizadas parece ser mucho más eficiente debido a la resistencia celular mucho más alta al efecto tóxico del fenol y a las variaciones en temperatura y pH.

TABLA 4

MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN LA DEGRADACIÓN DE  
COMPUESTOS FENÓLICOS

Microorganismos	Compuesto Fenólico	$C_i$ (mg·L <sup>-1</sup> )	Referencia
<i>Aspergillus awamori</i>	Fenol, catecol, 2,4-Diclorofenol y 2,6-dimetoxifenol	> 1000	Stoilova <i>et al.</i> , 2006
<i>Candida tropicalis</i>	Fenol y <i>m</i> -cresol	280–2000	Yan <i>et al.</i> , 2006
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Fenol	45 – 750	Viggiani <i>et al.</i> , 2006
<i>Pseudomonas Putida</i>	Fenol y catecol	1000 y 500	Kumar <i>et al.</i> , 2005
<i>Ralstonia eutropha</i>	Fenol	100	Dursun y Tepe, 2005
<i>Candida maltosa</i>	Fenol	10 – 20	Fialová <i>et al.</i> , 2004
<i>Fusarium sp.</i> , <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> y <i>Graphium sp.</i>	Fenol	50 – 1000	Santos <i>et al.</i> , 2004

TABLA 4 (CONTINÚA)

<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i>	4-clorofenol	350	Nordin, 2004
<i>Bacillus, Streptococos, Mycrococcus, Acinetobacter, Klebsiella y Enterobacter</i>	Fenol y 2-4 diclorofenol	> 1000	Suárez-Herrera, 2004
<i>Escherichia coli y Pseudomona fluorescens</i>	Pentaclorofenol, 2,3,5,6 - tetraclorofenol y 2,4,6-triclorofenol	40	Murialdo <i>et al.</i> , 2003
<i>Acinetobacter species</i>	Fenol y 4-clorofenol	10 - 300	Hao <i>et al.</i> , 2002
<i>Candida tropicales</i>	Fenol	970	Ruíz-Ordáz <i>et al.</i> , 2001
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	PCP	200	Reddy y Gold, 2000
<i>Pseudomonas putida</i>	Fenol	5 - 100	Monteiro <i>et al.</i> , 2000
<i>Pseudomonas fluorescens y Pseudomona cepacia</i>	Fenol	60	Pakula <i>et al.</i> , 1999
<i>Flavobacterium</i>	Pentaclorofenol	300	O'reilly y Crawford, 1989

C: Concentración inicial;  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ : miligramos por litro.

## 2.7 Remoción y Degradación Simultánea de Cromo (VI) y Fenol

Investigaciones realizadas con el propósito de restaurar sitios contaminados, han demostrado la detoxificación biológica del cromo a través de la reducción microbiana de cromo (VI) a cromo (III); siendo necesario que haya disponibilidad de compuestos fenólicos como donadores de electrones para la reducción microbiana de cromo (VI). El cromo (III) es más estable y es aproximadamente 1000 veces menos tóxico que el cromo (VI) (Shen y Wang, 1995).

El cromo (VI) y los compuestos aromáticos se descargan juntos en los procesos industriales como la preservación de madera, pulido y abrillantado de metales, refinación de petróleo, curtido y suavizado de pieles, formulación de pinturas y tintas y manufactura de partes automotrices. El cromo puede estar presente en las plantas de tratamiento de aguas residuales, aguas subterráneas, aguas superficiales, sedimentos de ríos y suelos. De ésta manera, la reducción de cromo (VI) y la degradación microbiana simultánea de contaminantes aromáticos puede representar un proceso biológico benéfico.

El tratamiento de efluentes contaminados con cromo (VI) utilizando cultivos puros de bacterias requiere dilución del efluente a niveles más bajos respecto a otros materiales tóxicos. La mayoría de estudios de biodegradación de compuestos aromáticos recalcitrantes se han realizado en ausencia de los efectos tóxicos inhibitorios de metales pesados.

Se han realizados diversas pruebas para la remoción de cromo (VI) y degradación de fenol de manera simultánea utilizando mezclas de bacterias de los géneros *Escherichia* y *Pseudomonas* (Shen y Wang, 1995), o cultivos puros de las mismas (Chirwa y Wang, 2000).

El metabolismo de compuestos aromáticos, particularmente el fenol y sus derivados han sido ampliamente estudiados en microorganismos procarióticos,

en reactores de sistema batch y en procesos continuos. Buscando mejorar la eficiencia del proceso se han desarrollado otras variantes mediante el empleo de reactores de película fija y lecho empacado, así como utilizando hongos filamentosos de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus* y *Graphium*, en todos éstos estudios el fenol se metabolizó a través de la ruta del  $\beta$ -adipato por orto fisión de catecol.

## 2.8 Biorreactores

La principal influencia en el modo de operar de los reactores biológicos deriva de las propiedades físicas de los propios microorganismos. Los biorreactores definen y controlan los factores ambientales y son por consiguiente una eficiente manera de aprovechar las capacidades de los sistemas biológicos. En condiciones normales los microorganismos requieren de un empuje hidrodinámico muy pequeño para mantenerlos en suspensión, si el fluido circundante está en un estado de suave agitación los microorganismos estarán en suspensión (Andersson, 1999). Existen numerosos biorreactores con variedad de configuraciones que presentan diferentes requisitos, los dos grupos de reactores más utilizados son los reactores batch y los continuos (Moo-Young, 1994). Los reactores más empleados para la degradación y remoción de diversos contaminantes son los de lecho fijo o cama empacada (Hajji *et al.*, 1999; Göksungur y Zorlu, 2001; Chirwa y Wang, 1997; Aksu y Gönen, 2006 y Chirwa y

Wang, 2005) y los de lecho fluidizado (Ensuncho *et al.*, 2005 y Andersson, 1999) (Tabla 5).

TABLA 5

REACTORES QUE HAN SIDO EMPLEADOS PARA DEGRADACIÓN Y/O REMOCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y METALES PESADOS

Tipo de Reactor	Compuesto	$C_i$ (mg·L <sup>-1</sup> )	T (°C)	pH	Tiempo (h)	Referencia
Lecho fijo	Fenol	150	29	ND	48	Hajji <i>et al.</i> , 1999
Columna empacada	Iones de Cobre	100	30	2 - 6	5	Göksungur y Zorlu, 2001
Lecho Fluidizado de tres fases	Fenol	20 - 100	ND	6.2	8	Ensuncho <i>et al.</i> , 2005
Lecho Fluidizado	Cobre	100	30	4.25	300	Andersson, 1999
Lecho empacado	Cromo (VI)	10 - 100	30	ND	24	Chirwa y Wang, 1997
Lecho empacado	Cromo (VI) y Fenol	50 - 500	25	1	25	Aksu y Gönen, 2006
Película fija	Cromo (VI) y Fenol	40 - 1800	30	> 2	720	Chirwa y Wang, 2005

ND: No disponible;  $C_i$ : Concentración inicial; T: temperatura; (h): horas; pH: Logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno; mg·L<sup>-1</sup>: Miligramos por litro.

### 2.8.1 Lecho Fijo o Cama Empacada

Los reactores de columna empacada son comúnmente usados en la industria e investigación para separación de moléculas, determinación de la masa molecular relativa, identificación de sustancias o propósitos de purificación (Arellano, 2005). Las columnas empacadas están constituidas por el

recipiente y el tipo de empaque que tengan dentro que puede ser de vidrio, silicón o plástico (Scopes, 1994).

En los reactores de lecho fijo las partículas del empaque permiten el paso tortuoso del fluido sin separarse una de otras, esto hace que la altura del lecho y por tanto la fracción de vacío en el lecho (porosidad) se mantenga constante. En ésta etapa el fluido experimenta la mayor caída de presión del proceso. (Atkinson, 1986).

En la aplicación del proceso de sorción/desorción cíclica el reactor de lecho fijo es el más efectivo para el uso del volumen del reactor y hace uso óptimo del gradiente de concentración entre el soluto sorbido por los sólidos y el que permanece en la fase líquida. El proceso de biosorción de metales en una columna de lecho fijo es influenciada por tres factores importantes: el equilibrio de sorción, la transferencia de masa de la partícula, y el patrón de flujo a través de la cama empacada.

### 2.8.2 Lecho Fluidizado

Se da el nombre de fluidización al proceso de contacto que ocurre entre un sólido y un fluido (gas o líquido) en el cual el lecho formado por partículas sólidas finamente divididas se eleva y se agita por medio de una corriente ascendente de fluido (Arellano, 2005). Si está implicada una fase gaseosa

adicional, entonces las partículas tendrán tendencia a estar menos uniformemente distribuidas en el lecho (Atkinson, 1986). Normalmente, existe una fase líquida y una fase gaseosa, y una tercera fase sólida (puede ser biomasa o sustrato) sin el reactor. El propósito general es crear la mezcla permitiendo que los gases suban a través del líquido.

Éste tipo de reactor se utiliza también para la purificación de minerales, secado de sólidos finos y absorción de gases (Arellano, 2005). Los reactores de lecho fluidizado tienen algunas fases diferentes para lograr la mezcla y la transferencia de masa en el reactor (Sun y Word, 1997). Éstos reactores son usados generalmente en sistema batch.

En ambos biorreactores la recirculación asegura una temperatura, pH y concentraciones de sustrato uniformes en el reactor, no obstante cada tipo de biorreactor presenta ventajas y desventajas (Tabla 6); la operación de los biorreactores de lecho fijo es más estable con respecto a las condiciones variables de alimentación y en los biorreactores de lecho fluidizado se tiene la ventaja de que son reactores de volumen pequeño, lo cual facilita su instalación y manejo. Sin embargo, éstos tipos de biorreactores presentan una serie de desventajas, en el caso de los reactores de lecho fijo es que tienen un acceso limitado al interior del reactor, por lo consiguiente es difícil inspeccionar y controlar la acumulación de la biomasa y los biorreactores de lecho fluidizado tienen la desventaja de que

la puesta en marcha es más lenta y que el gasto de energía es alto. Adicionalmente la principal desventaja de la fluidización gas-sólido consiste en el desigual contacto del gas y el sólido ya que la mayor parte del gas pasa a través del lecho en forma de burbujas y sólo hace contacto directamente con una pequeña cantidad del sólido en una delgada envoltura ubicada alrededor de la burbuja. Una pequeña fracción del gas pasa a través de la fase densa, la cual contiene casi todo el sólido.

TABLA 6

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS BIORREACTORES DE LECHO FIJO Y LECHO FLUIDIZADO

Biorreactor	Figura	Ventajas	Desventajas
Lecho Fijo		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Operación estable bajo condiciones variables de alimentación.</li> <li>- Se puede escalar de manera ilimitada.</li> <li>- No hay separación sólido/líquido.</li> <li>- Regeneración y lavado in situ.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- No puede manejar suspensiones.</li> <li>- Requiere de columnas alternas.</li> <li>- El escalamiento es en múltiplos de unidades.</li> <li>- Es sensible a la presión del goteo.</li> </ul>
Lecho Fluidizado		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Permite el manejo de suspensiones.</li> <li>- No es necesario un pretratamiento preliminar para la separación sólido/líquido.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pérdida y agotamiento de la sorción de la partícula, es menos efectiva y más complicada la regeneración del sorbente.</li> <li>- El gasto de energía para conseguir fluidizar el lecho es alto.</li> <li>- Se incrementa el volumen del reactor.</li> </ul>

## 2. 9 Biosorbentes

Un factor importante en el diseño y construcción de un biorreactor empacado es el tipo de empaque o soporte utilizado, algunos de ellos tienen la característica de sorber algunos contaminantes y éstos reciben el nombre de biosorbentes. La inmovilización de microorganismos en soportes adecuados presenta numerosas ventajas en cuanto a control y eficacia del sistema en procesos industriales y aplicaciones medioambientales.

Existen muchos materiales biológicos que ayudan a la remoción de metales pesados, pero sólo aquellos con suficiente capacidad pueden ser considerados para uso en procesos de biosorción a gran escala. El mayor desafío para la biosorción es seleccionar la biomasa más efectiva y barata (Volesky, 2003 y Vieira y Volesky, 2000). Entre los materiales más utilizados se encuentran los residuos procedentes de procesos industriales, organismos fácilmente disponibles y en grandes cantidades en la naturaleza, organismos que se reproduzcan rápidamente, especialmente cultivados para procesos de biosorción. La biomasa a utilizarse debe poseer entre otras características: una alta capacidad de sorción bajo condiciones de equilibrio, que las partículas de la biomasa sean hidrofílicas y que tengan una gran porosidad y un tamaño de partícula de 0.5 - 0.15 mm para que la cinética de biosorción sea favorable.

Algunos soportes deben ser tratados antes de su utilización, para que puedan utilizarse en aplicaciones a largo plazo. Los soportes más utilizados para la inmovilización de los microorganismos son alginato, poliuretano, quitina y quitosán (Schmuhl *et al.*, 2001), poliacrilamida, carbón activado y otros compuestos orgánicos (Cañizales-Villanueva, 2000).

### 2.9.1 Quitosán

México es el séptimo productor de caparazón o cefalotórax de crustáceos, a lo largo de la costa del Pacífico, en la zona costera del golfo de México y el mar Caribe (Marquéz-Díaz, 2004). Éste material es considerado y manejado en su mayoría como un desecho ya que muchas toneladas de cabezas del crustáceo regresan al mar cada año, y grandes cantidades de caparazones se tiran día a día en las marisquerías de todo el país (Miranda-Castro, 2000). Éstos desechos pueden ser utilizados, transformándolos en productos valiosos como el quitosán, contribuyendo de ésta forma a mitigar el impacto ambiental que éstos generan (Mármol *et al.*, 2006).

La quitina es el componente principal del caparazón de los crustáceos, después de la celulosa, es el segundo polímero más abundante en el planeta (Miranda-Castro, 2000), y su modificación química da origen al quitosán (Marquéz-Díaz, 2004 y Hidalgo-Hidalgo, 2004).

El quitosán se encuentra en concentraciones elevadas en el esqueleto exterior de los crustáceos, moluscos e insectos (Ruiz-Planas, 2002). El excelente comportamiento del quitosán para la eliminación de metales pesados es atribuido a: su alto carácter hidrofílico, debido a la gran cantidad de grupos hidroxilo que contiene, su gran número de grupos amino en la molécula, con alta actividad, la estructura flexible de su cadena polimérica, haciendo de ésta una configuración adecuada para la adsorción de iones metálicos.

La quitina y el quitosán tienen la estructura química similar (Fernández-Kim, 2004). La quitina está formada por una cadenalineal de grupos de acetilglucosamina, mientras que el quitosán es obtenido removiendo los grupos acetilos ( $\text{CH}_3\text{-CO}$ ). El quitosán es un poli[ $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopiranos] y su estructura ideal se muestra en la Figura 1 (Ruiz-Planas, 2002).

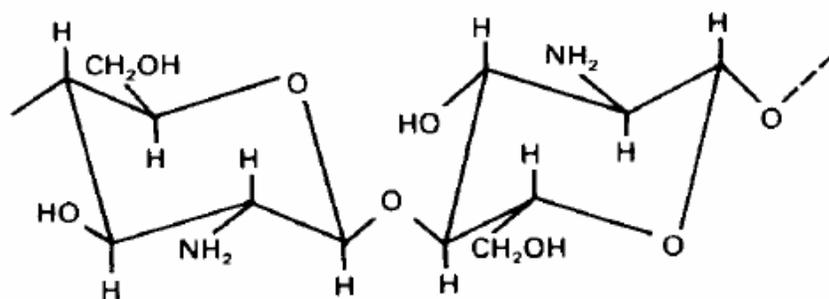


Figura 1. Estructura del quitosán.

### 2.9.1.1 Características del Quitosán.

El quitosán no es tóxico, es un polímero biodegradable de alto peso molecular, y es muy similar a la celulosa (Figura 2).

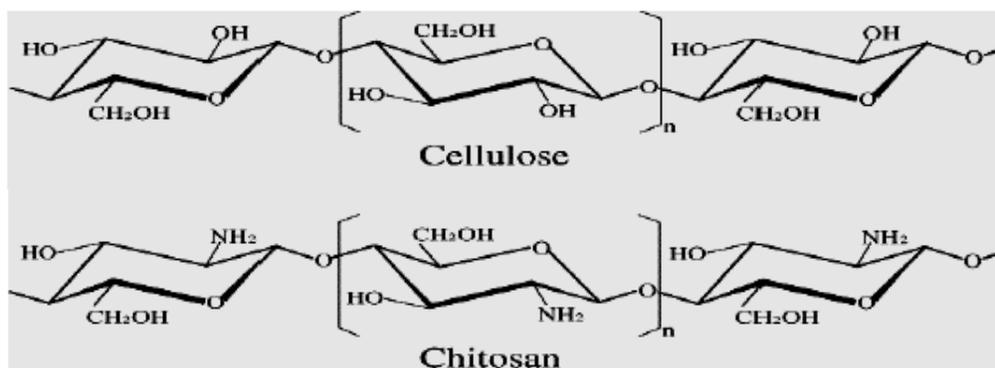


Figura 2. Estructura de la celulosa y del quitosán (Sun, 2004).

Como se muestra en la Figura 2, la única diferencia entre el quitosán y la celulosa es el grupo amino ( $-NH_2$ ) en la posición C-2 del quitosán, en cambio el grupo hidroxilo ( $-OH$ ) se encuentra en la celulosa.

### 2.9.1.2 Características Físicoquímicas del Quitosán.

Uno de los parámetros más importantes que tiene influencia en todas las propiedades físicoquímicas (peso molecular, viscosidad, solubilidad, etcétera) del quitosán, es el grado de acetilación. El quitosán es caracterizado de acuerdo a éste parámetro, el cual corresponde a los grupos N-acetilamina, o el grado de deacetilación DDA ( $DDA=100-DA$ ), grupos D-glucosamina. (Ruiz-Planas, 2002).

El peso molecular tanto del quitosán como de la quitina varia con la fuente de material crudo y el método de preparación. El peso molecular de la quitina es mas de un millón de Daltons mientras que el quitosán comercial tiene un peso molecular de un rango de 100000 - 1200000 Daltons. La viscosidad disminuye con el aumento de tiempo de la desmineralización. Mientras que la quitina es soluble en muchos solventes orgánicos, el quitosán es soluble en soluciones ácidas con un pH menor a 6.0 (Fernández-Kim, 2004).

### 2.9.1.3 Aplicaciones del Quitosán

El quitosán es un producto de alto valor agregado que puede ser utilizado en la industria de cosméticos, farmacéutica, agricultura, purificación de agua y recuperación de desechos (Tabla 7) (Shepherd *et al.*, 1997).

TABLA 7

#### APLICACIONES DEL QUITOSÁN

Tratamiento de aguas residuales	Remoción de iones metálicos, floculante/coagulante, proteína, aminoácidos.
Industria Alimenticia	Remoción de tintes, sólidos suspendidos, conservadores, condensado y gelificado, estabilización del color, etc.
Medicina	Curación de heridas, control del colesterol en la sangre, quemaduras en la piel, lentes de contacto, suturas quirúrgicas, inhibición de la placa dental, etcétera.
Agricultura	Recubrimiento de semillas, fertilizante, liberación de agroquímicos controlados.
Cosméticos	Cremas humectantes, faciales, para manos y cuerpo, lociones de baño, etcétera.
Biotecnología	Inmovilización de enzimas, separación de proteínas, recuperación de células, cromatografía.

## 2.9.2 Otros biosorbentes

### 2.9.2.1 Alginatos

Existen varios tipos de polisacáridos presentes en las algas pero los más comunes son el alginato y el fucoidán. El alginato es la sal del ácido algínico, contiene iones  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  que pueden ser intercambiados con los iones metálicos, se le considera el principal componente que interviene en la extracción de metales. El fucoidán es un polisacárido que contiene grupos sulfato, juega un papel secundario en la extracción de metales excepto cuando se trabaja a pH bajos. Los grupos hidroxilo también están presentes en ambos polisacáridos pero son menos abundantes y su afinidad con los metales también es menor. Aunque las algas completas y los alginatos han mostrado una gran capacidad de sorción, presentan un importante problema debido a su suave consistencia y esto limita su uso efectivo en columnas empacadas (Davis *et al.*, 2003).

### 2.9.2.2 Carbón y Turba

La turba es un material complejo, formado por una matriz orgánica en diferentes fases de descomposición. Sus principales componentes son lignina y celulosa, que contienen una gran variedad de grupos polares, como alcoholes, cetonas, aldehídos, ácidos y grupos fenólicos que pueden participar en los procesos de sorción. El principal mecanismo de sorción es el intercambio iónico,

aunque la adsorción y el acomplejamiento también pueden intervenir según el valor de pH, el tipo de turba, la fuerza iónica, la concentración de metal, etc. Como ocurre con otros materiales, la turba y el carbón pueden ser modificados para mejorar su capacidad de sorción. El carbón se trata con ácido nítrico para aumentar su capacidad de adsorción, el rendimiento alcanzado puede llegar a ser superior al de carbón activo (Babel *et al.*, 2003).

### 2.9.2.3 Sorbentes Diversos.

Se han estudiado una gran cantidad de otros materiales para la extracción de metales. En la mayoría de casos, materiales procedentes de diferentes industrias o residuos agrícolas abundantes, los más importantes son: xantato, cenizas volantes, escorias procedentes de hornos industriales, hidróxidos de aluminio y hierro residuales procedentes de la industria de fertilizantes, subproductos de la fabricación de aluminio, residuos de la industria de alimentos marinos, pieles de naranjas, musgo, cascarilla de arroz, aserrín, lana, algodón, etcétera. (Davis *et al.*, 2003 y Babel *et al.*, 2003).

## CAPÍTULO 3

### HIPÓTESIS, OBJETIVOS, METAS Y APORTACIONES

#### 3.1. Hipótesis.

Es posible que el hongo filamentoso *Aspergillus niger* remueva cromo (VI) y degrade fenol simultáneamente de efluentes líquidos sintéticos en un biorreactor de lecho fijo.

#### 3.2. Objetivos y Metas

##### 3.2.1 Objetivo General

Determinar la capacidad de *Aspergillus niger* para degradar fenol y remover cromo (VI) en un biorreactor de lecho fijo a escala banco.

##### 3.2.2 Objetivos Particulares

- Evaluar individualmente la capacidad para remover Cromo (VI) y degradar fenol en matraz Erlenmeyer de 250 mL de: *Aspergillus niger*, quitosán y la combinación de éstos.

- Obtención del quitosán mediante desechos de cáscara de camarón
- Evaluar las capacidades de degradación y remoción de *A. niger* y el quitosán sobre la combinación metal-fenol.
- Escalar a un biorreactor de lecho fijo el proceso de remoción biológica de Cromo (VI) y fenol.

### 3.2.3 Metas

- Determinar la capacidad de *Aspergillus niger* para degradar fenol en concentraciones de 300 mg·L<sup>-1</sup> y 800 mg·L<sup>-1</sup>.
- Determinar la capacidad de remoción de *A. niger* para cromo (VI) a concentraciones de 100 y 500 mg·L<sup>-1</sup>.
- Determinar si la combinación del hongo - quitosán es la más indicada para remoción de los contaminantes.
- Determinar en cuál de los sistemas se lleva a cabo la remoción de cromo (VI) y degradación de fenol de manera más efectiva, para tomarlo como base en el escalamiento del proceso a un biorreactor de lecho fijo.
- Realizar una escala banco de un biorreactor de lecho fijo.

### 3.3 Aportaciones

Con la realización de ésta investigación se pretende demostrar que *Aspergillus niger* remueve concentraciones elevadas de compuestos fenólicos y metales pesados (fenol y cromo (VI)), ya que en la bibliografía consultada éste tipo de proceso ha sido realizado por bacterias Gram negativas y no se ha encontrado evidencia de que un hongo filamentoso sea capaz de remover de manera simultánea dichos contaminantes. Además, se pretende aprovechar la cáscara de camarón, ya que ésta presenta un problema de eliminación por ser un material de desecho que se genera en altos volúmenes, alrededor de 36000 toneladas/año. A partir de la cáscara de camarón se obtiene el quitosán, que es un polímero natural que puede ser utilizado como biosorbente para remover los contaminantes ya mencionados.

Además la información que se obtenga servirá de base en posteriores investigaciones del quitosán y del hongo filamentoso *Aspergillus niger*, así como de los procesos de remoción en un biorreactor de lecho fijo.

## CAPÍTULO 4

### METODOLOGÍA

#### 4.1 Ubicación

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Laboratorios Especializados de la Facultad de Ciencias Químicas de la U. A. N. L., teniendo como base de operaciones los Laboratorios de Biotecnología y de Análisis Instrumental de la misma facultad.

#### 4.2 Obtención y Preparación del Hongo Filamentoso *Aspergillus niger*

A partir de un cultivo puro de *Aspergillus niger* aislado en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químicas se inocularon por rasadura 15 mL de medio de agar Czapek (Ver Apéndice A1) contenido en cajas petri. Se incubaron 7 días a 28°C hasta obtener esporulación abundante.

La concentración del inóculo se ajustó con una solución de cloruro de sodio al 0.85% estéril formando así una suspensión de esporas con  $1 \times 10^6$ - $1 \times 10^7$  conidias·mL<sup>-1</sup>, para confirmar la concentración de esporas en la suspensión, se

determinó la densidad óptica a 600 nm y se realizó una cuenta viable, utilizando medio de agar papa dextrosa adicionado de ácido tartárico al 1%.

Se prepararon matraces Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de caldo Czapek al 1% de sacarosa (Ver Apéndice A2) estéril, se inocularon con 1 mL de la suspensión de esporas, se incubaron a temperatura de 25°C, pH 4.7 y agitación de 150 rpm durante 72 horas. La biomasa que se obtuvo se utilizó para empacar el biorreactor. En un experimento aparte, para determinar el peso de la biomasa después de la incubación el contenido de los matraces se filtró a través de membranas de celulosa previamente pesadas y se secaron a 60°C por 48 horas llevándose hasta peso constante. Los experimentos se realizaron por cuadruplicado.

### **4.3 Obtención y Preparación del Quitosán**

#### **4.3.1 Pretratamiento de la Materia Prima**

Se utilizaron cáscaras de camarón (*Penaeus vannamei*), obtenidas de una empacadora camaronera, ubicada en el municipio de Tampico, Tamaulipas (Figura 3).



Figura 3. Residuos de cáscara de camarón.

Se colocaron 10 kg de cáscaras de camarón en 30 litros de agua a 95°C hirviendo para remover la materia orgánica soluble, éste procedimiento se realizó 5 veces consecutivas a fin de remover el residuo añadido a la cáscara. En seguida, se drenó el líquido excedente, las cáscaras se colocaron en cajas de petri y se llevaron a secar en una estufa Lab-line LC-oven Mod. 3513 a 70°C durante 48 horas para asegurar que las cáscaras estén libres de agua y se puedan triturar para formar un polvo. Las cáscaras secas se trasladaron para su molienda a un molino de circonio (*Shatter*) marca Rocklab modelo 1-A y las partículas obtenidas se clasificaron por tamizado pasándolas a través de un tamiz de mallas de números 20 (abertura de 850  $\mu\text{m}$ ), 30 (abertura de 595  $\mu\text{m}$ ), 40 (abertura de 425  $\mu\text{m}$ ) y 60 (abertura de 250  $\mu\text{m}$ ).

#### 4.3.2 Obtención de la Quitina

El tratamiento químico para la obtención de la quitina se llevó a cabo removiendo el resto de las proteínas orgánicas presentes en 10 g polvo con 200

mL de una solución 1.5 M de NaOH. Ésta mezcla se mantiene durante 24 horas a temperatura de 30°C. Posteriormente el polvo se lava tres veces con agua destilada y se filtra con una bomba de vacío. Para remover el CaCO<sub>3</sub> en un vaso de precipitados de 250 mL se añaden 20 mL de una solución de HCl 1.5 M por 1 g de polvo y se mantienen a temperatura ambiente durante 72 horas en una campana de humos; una vez realizada la desmineralización, el polvo se lava y se filtra, el polvo resultante es la quitina.

#### 4.3.3 Obtención del Quitosán

Para transformar quitina en quitosán se removieron grupos acetilo por mezclado en una relación 1:4 con NaOH al 50% a temperaturas entre 80 y 100°C por 2 h con agitación constante (Figura 4). El residuo así obtenido se lavó hasta neutralidad con agua destilada, se filtró y secó a 60°C en un horno por 24 horas.



Figura 4. Desacetilación de la quitina.

#### 4.3.4 Comprobación de la Presencia del Quitosán

La presencia del quitosán se comprobó disolviendo 0.5 g del polvo en 100 mL de ácido acético al 5%, después se neutralizó a un pH entre 6 y 7 por adición de 200  $\mu\text{L}$  de NaOH 1.0 M, se centrifugó a 10000 rpm durante 3 minutos. Posteriormente se le añadieron 100  $\mu\text{L}$  de lugol.

#### 4.4 Preparación de los Efluente Sintéticos

Se formularon ocho efluentes sintéticos con diferente concentración de fenol y de Cr (VI), partiendo de una solución estándar de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  de 1000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y de fenol de 5000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; por separado se preparó una solución acuosa por disolución de  $\text{NaNO}_3$  (3 g),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (1 g), KCl (0.5 g),  $\text{FeSO}_4\cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  (0.01 g),  $\text{MgSO}_4\cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  (0.5 g) en 1 L de agua desionizada. La formulación de los efluentes se realizó de acuerdo a las cantidades que aparecen en la Tabla 8.

TABLA 8  
FORMULACIÓN DE EFLUENTES SINTÉTICOS

Fenol (mL)	Cromo (VI) (mL)	Solución de sales (mL)	Concentraciones resultantes de Cromo (VI) y de Fenol
0	100	900	100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI)
160	0	840	800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol
60	0	940	300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol
0	500	500	500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI)
60	100	840	100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol
160	100	740	100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol
60	500	440	500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y 300 mg·L <sup>-1</sup> de fenol
160	500	340	500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI) y 800 mg·L <sup>-1</sup> de fenol

**mL:** mililitro; **mg·L<sup>-1</sup>:** miligramos por litro.

#### 4. 5 Condiciones Experimentales

Las pruebas se realizaron por triplicado para verificar la reproducibilidad de los resultados, para ello se llevó a cabo un diseño de experimentos para realizar las pruebas a escala batch.

#### 4.5.1 Condiciones de Trabajo

Las condiciones experimentales para ésta parte de la investigación fueron las siguientes:

1. pH = 4.7
2. Agitación: 150 rpm
3. Temperatura: 25°C
4. Biomasa: en forma de esférulas (3-5 mm de diámetro)

##### 4.5.1.1 Diseño de Experimentos

El diseño de experimentos que se empleó para éste proyecto es de un diseño factorial  $2^3$ , en el que se manejaron niveles altos y bajos de concentración de fenol, concentración de cromo (VI) y cantidad de quitosán (Tabla 9).

Adicionalmente, se realizaron una serie de experimentos sin quitosán, para probar la capacidad del hongo *Aspergillus niger* en la remoción y degradación de las diferentes concentraciones de cromo, fenol y las combinaciones de éstos.

TABLA 9  
DISEÑO FACTORIAL 2<sup>3</sup>

Factores		Nivel Inferior	Nivel Superior	Corrida	A	B	C
		(-)	(+)				
A	Concentración de Fenol	300	800	Experimento			
		mg·L <sup>-1</sup>	mg·L <sup>-1</sup>	1	-	-	-
B	Concentración de Cromo (VI)	100	500	2	+	-	-
		mg·L <sup>-1</sup>	mg·L <sup>-1</sup>	3	-	+	-
C	Cantidad de Quitosán	2	5	4	+	+	-
		g/L	g/L	5	-	-	+
				6	+	-	+
				7	-	+	+
				8	+	+	+

mg·L<sup>-1</sup>: miligramos por litro; g/L: gramos por litro.

#### 4.6 Pruebas para la Remoción de Cromo (VI) y Degradación de Fenol en Matraz Erlenmeyer de 250 mL

##### 4.6.1 Pruebas para Remoción de Cromo (VI)

Se colocaron 100 mL de los efluentes sintéticos de cromo (VI) de concentraciones de 100 mg·L<sup>-1</sup> y 500 mg·L<sup>-1</sup> en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Se adicionó la cantidad de biosorbente de acuerdo a como se indica en la Tabla 10 y se mantuvieron a pH 4.7, temperatura de 25°C y velocidad de agitación 150 rpm por un periodo de 24 horas, con intervalos de muestreo de 3 horas.

#### 4. 6.2 Pruebas de Degradación de Fenol

Se colocaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL alícuotas de 100 mL de los efluentes sintéticos conteniendo fenol con concentraciones de 300 mg·L<sup>-1</sup> y 800 mg·L<sup>-1</sup> (Tabla 11). La adición de biosorbente y las condiciones de incubación se manejaron de la misma manera que para la serie de experimentos del punto 4.6.

TABLA 10  
CONDICIONES EXPERIMENTALES PARA LA REMOCIÓN DE CROMO (VI)  
EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL

Experimento	Concentración de Cromo (VI) (mg·L <sup>-1</sup> )	Biosorbente (g/L)
1	100	2 g/L quitosán
2	100	5 g/L quitosán
3	100	1 g/L <i>A. niger</i>
4	100	2 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
5	100	5 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
6	500	2 g/L quitosán
7	500	5 g/L quitosán
8	500	1 g/L <i>A. niger</i>
9	500	2 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
10	500	5 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>

**mg·L<sup>-1</sup>**: miligramos por litro; **g/L**: gramos por litro.

TABLA 11  
CONDICIONES EXPERIMENTALES PARA LA DEGRADACIÓN DE FENOL  
EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL

Experimento	Concentración de Fenol (mg·L <sup>-1</sup> )	Biosorbente (g/L)
1	300	2 g/L quitosán
2	300	5 g/L quitosán
3	300	1 g/L <i>A. niger</i>
4	300	2 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
5	300	5 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
6	800	2 g/L quitosán
7	800	5 g/L quitosán
8	800	1 g/L <i>A. niger</i>
9	800	2 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
10	800	5 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>

**mg·L<sup>-1</sup>**: miligramos por litro; **g/L**: gramos por litro.

#### 4.7 Pruebas para Remoción de Cromo (VI) y Degradación de Fenol de Manera Simultánea

Se prepararon las muestras sintéticas adicionadas con fenol y cromo (VI), en matraces Erlenmeyer de 250 mL conteniendo 100 mL del efluente sintético con diferentes combinaciones de concentraciones.

Las condiciones experimentales para la remoción simultánea de los contaminantes se muestran en la Tabla 12. La cinética fue de 24 horas y se realizaron muestreos a intervalos de 3 horas.

Cabe mencionar que se realizó un experimento extra al diseño de experimentos, esto es utilizando 1 g/L de *A. niger* en cada una de las combinaciones para comparar si éste es más efectivo para la remoción y degradación simultánea que el quitosán.

TABLA 12

CONDICIONES EXPERIMENTALES PARA LA REMOCIÓN DE CROMO (VI)  
Y DEGRADACION DE FENOL DE MANERA SIMULTÁNEA EN MATRAZ  
ERLENMEYER DE 250 mL

No.	Concentración de Fenol y Cromo (VI) (mg·L <sup>-1</sup> )	pH	T (°C)	Velocidad de agitación (rpm)	Intervalo de muestreo (h)	Biosorbente (g/L)
1	300 mg·L <sup>-1</sup> de Fenol y 100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI)	4.7	25	150	3	2 g/L quitosán
2					3	5 g/L quitosán
3					3	1 g/L <i>A. niger</i>
4					3	2 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
5					3	5 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
6	300 mg·L <sup>-1</sup> de Fenol y 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI)	4.7	25	150	3	2 g/L quitosán
7					3	5 g/L quitosán
8					3	1 g/L <i>A. niger</i>
9					3	2 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
10					3	5 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
11	800 mg·L <sup>-1</sup> de Fenol y 100 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI)	4.7	25	150	3	2 g/L quitosán
12					3	5 g/L quitosán
13					3	1 g/L <i>A. niger</i>
14					3	2 g/L quitosán y 1 g <i>A. niger</i>
15					3	5 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
16	800 mg·L <sup>-1</sup> de Fenol y 500 mg·L <sup>-1</sup> de Cr (VI)	4.7	25	150	3	2 g/L quitosán
17					3	5 g/L quitosán
18					3	1 g/L <i>A. niger</i>
19					3	2 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>
20					3	5 g/L quitosán y 1 g/L <i>A. niger</i>

**mg·L<sup>-1</sup>**: miligramos por litro; **pH**: Logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno; **T**: Temperatura; **°C**: Grados Celsius; **rpm**: Revoluciones por minutos; **g/L**: gramos por litro.

## 4.8 Métodos Analíticos

### 4.8.1 Determinación de la Concentración del Cromo (VI).

Para determinar la concentración de metal se empleó la norma mexicana NMX-AA-044-SCFI-2001 "Análisis de aguas - determinación de cromo hexavalente en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - Método de prueba" (Ver Apéndice B). Ésta norma es una técnica colorimétrica, la cual consiste en determinar la presencia de cromo (VI) en aguas utilizando difenilcarbazida.

Se filtraron 5 mL de las muestras a través de una malla de nylon de tamaño de poro de 0.22 micrones x 13 mm de diámetro, las soluciones obtenidas se ajustaron a un pH de  $1 \pm 0.5$  con ácido sulfúrico 0.2 N, después se les añadió 0.2 mL de una solución de difenilcarbazida; ésta se preparó pesando 0.25 g de difenilcarbazida y se disolvió en 50 mL de acetona. Las muestras se colocaron en celdas de 1 cm de paso óptico de luz, dejándolas reposar durante 10 minutos y finalmente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (marca Spectronic Instruments, modelo 20D+) a una longitud de onda de 540 nm.

#### 4.8.2 Determinación de la Concentración de Fenol.

Las muestras se filtraron a través de una malla de nylon de tamaño de poro de 0.22 micrones x 13 mm de diámetro y se colocaron 2 mL del filtrado en los viales de vidrio color ámbar con tapón de rosca. Se preparó una solución de metanol-agua en una proporción de 60:40 (fase de lavado) y una solución de metanol-agua-ácido acético en una proporción de 60:40:1 (fase de acondicionamiento o móvil), todas las soluciones de grado HPLC (Cromatografía líquida de alta resolución). Para llevar a cabo la desgasificación de los solventes se utilizó una bomba de vacío y con agitación constante.

La concentración de fenol se determinó por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se procedió a inyectar la fase de lavado para que pasara a través de la columna Hypersil ODS C18 (Supelco<sup>®</sup>) de 250 mm x 4.6 mm. El flujo de inyección fue de 0.80 mL/min durante 30 minutos, con la finalidad de retirar los residuos de las muestras previamente inyectadas. Después se inyectó la fase de acondicionamiento durante 15 minutos a un flujo de 0.80 mL/min. El tiempo de lectura de cada muestra fue de 10 minutos a una longitud de onda de 278 nm. Una vez terminada la lectura de las muestras, la columna se lavó nuevamente durante 30 minutos al mismo flujo de inyección.

#### 4.8.3 Separación de Fenol del Cromo (VI) para la Determinación de su Concentración.

Se requirió separar el fenol del cromo (VI) para su medición, ya que la combinación de ambos puede dañar la columna Hypersil ODS del equipo de HPLC. Para esto se necesitó remover el cromo (VI) con nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ) 0.01 M. Se tomaron 5 mL de las muestras que contenían cromo y fenol, y se les añadió 2 mL de  $\text{AgNO}_3$ , formándose un precipitado, el cual se centrifugó a 5000 rpm durante 5 minutos. Al sobrenadante resultante, se le añadió nuevamente 2 mL de  $\text{AgNO}_3$ .

### **4.9 Remoción y Degradación Simultánea de Cromo (VI) y Fenol en un Biorreactor Empacado**

De acuerdo a los resultados obtenidos del diseño de experimentos a nivel matraz, se eligió trabajar con las esferulas de *Aspergillus niger*, como material sorbente para continuar con los experimentos de remoción de cromo hexavalente y fenol en el biorreactor empacado.

#### 4.9.1 Descripción del Biorreactor

El biorreactor está formado por una columna de vidrio con un diámetro interno de 20 mm y una altura de 150 mm; en la parte inferior interna de la columna se colocó un filtro de vidrio poroso abierto de un diámetro de 20 mm. Para mantener las condiciones de asepsia requeridas en los experimentos, la

parte superior de la columna se selló con un tapón de plástico. La columna cuenta con una pared doble de vidrio que tiene la finalidad de controlar la temperatura interna de la columna mediante el flujo de una corriente de agua (Figura 5).



Figura 5. Columna de vidrio (Biorreactor de lecho fijo).

#### 4. 9.2 Condiciones Experimentales del Biorreactor Empacado

La columna empacada con esférulas de *Aspergillus niger* de 3 mm de diámetro, se conectó a una bomba peristáltica para controlar la velocidad de flujo del efluente, la cual fue de 38.08 mL/min. Se empleó 1 L del efluente sintético (combinaciones de Cromo VI y Fenol), el cual se recirculó por 10.5 horas tomando muestras cada 1.5 horas, para después determinar la concentración del influente. La temperatura que se manejó fue de 25°C y el pH de 4.7.

## CAPÍTULO 5

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.1 Crecimiento del Hongo

Los hongos filamentosos al compararse con otros grupos microbianos tienen la capacidad de tolerar altas concentraciones de metales y de compuestos fenólicos (Nasseri *et al*, 2002; Suárez- Herrera, 2004) debido a mecanismos fisicoquímicos y biológicos de enlace de metales con los componentes de su pared celular y por la gran cantidad de enzimas degradativas que poseen.

En la presente investigación se obtuvo un abundante crecimiento del *Aspergillus niger* formándose esférulas de color amarillo. Las esférulas alcanzaron un diámetro aproximado de 3 a 5 mm después de 72 horas de incubación (Figura 6).



Figura 6. Esférulas del hongo *Aspergillus niger*.

En la literatura consultada, se menciona que las estructuras hifales y la formación de esférulas incrementan el área de contacto de *Aspergillus niger* con el medio que lo rodea (Filipovič-Kovaevič *et al.*, 2000), favoreciendo la degradación y remoción de los contaminantes presentes en el mismo.

## 5.2 Comprobación de la Presencia del Quitosán

En el presente trabajo de investigación el quitosán se preparó a partir de la cáscara de crustáceos siguiendo el procedimiento descrito en el Capítulo 4 (4.3). El tamaño de las partículas de quitina obtenidas de las cáscaras de camarón después de haber sido lavadas, secadas y molidas, fue de aproximadamente 250  $\mu\text{m}$  (Figura 7).



Figura 7. Polvo de cáscara de camarón.

Para transformar la quitina a quitosán se requirió de una desacetilación con NaOH y se pudo comprobar que se llevó a cabo dicha transformación ya que el polvo obtenido del procesamiento de la cáscara de camarón se tornó a color púrpura después de la adición de lugol, debido a que en la estructura de la hélice de la molécula del quitosán,  $I_3^-$  tendrá un bajo nivel de energía y no se removerá a  $I_2$ , lo que demuestra que hay presencia de quitosán (Figura 8).



Figura 8. Comprobación de presencia de quitosán.

### 5.3 Remoción de Cromo (VI) en Matraz Erlenmeyer de 250mL

#### 5.3.1 Remoción de 100 y 500 mg·L<sup>-1</sup> de Cromo (VI)

Los experimentos fueron realizados en matraces Erlenmeyer de 250 mL, utilizando 100 mL de efluente adicionado con: 2 g/L de quitosán, 5 g/L de quitosán, 1 g/L de *A. niger* y la combinación de éstos para remover 100 y 500 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI), a pH 4.7, 25 °C, 150 rpm.

La Figura 9(a) representa la cinética de remoción de 100 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) de acuerdo a los biosorbentes utilizados. Los valores de remoción más bajos son los obtenidos para los experimentos en donde se utilizó el quitosán de 2 g/L (A-1) y 5 g/L (B-1) y la combinación hongo-quitosán (D-1 y E-1).

Para el experimento A-1 (2 g/L de quitosán) a las 6 horas de incubación se observa una remoción del 10.5% de Cr (VI) y después de 24 horas el sistema sólo removi6 un 35.77% de Cr (VI). Como puede observarse en la Figura 9(a), el experimento B-1, tiene un comportamiento similar al experimento A-1.

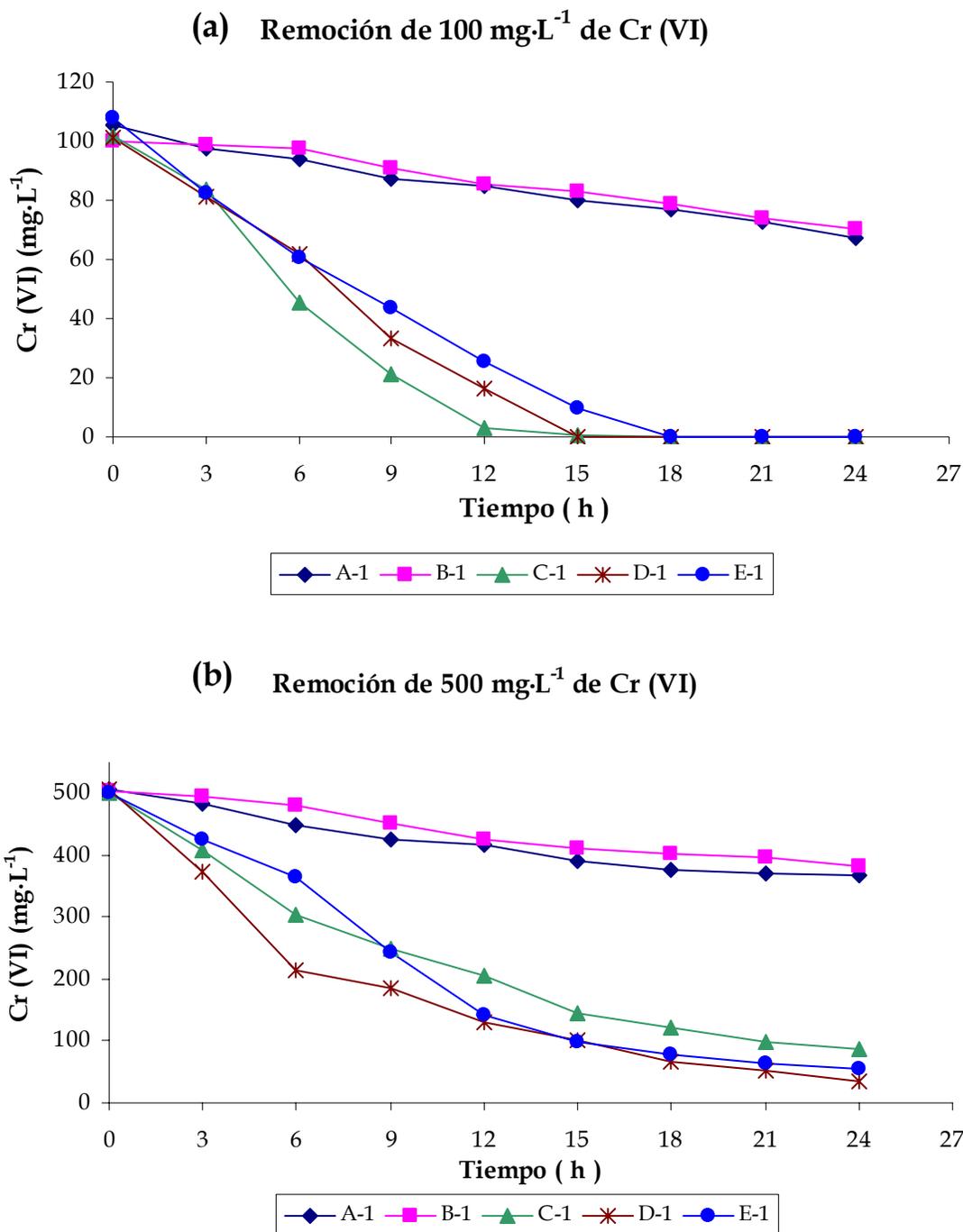


Figura 9. Remoción de cromo (VI): (a)  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y (b)  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

**Nota.** **A-1:** 2 g/L de Quitosán; **B-1:** 5 g/L de Quitosán; **C-1:** 1 g/L *Aspergillus niger*; **D-1:** 1 g/L *A. niger* y 2 g/L de Quitosán; **E-1:** 1 g/L *A. niger* y 5 g/L de Quitosán.

La prueba en donde se utiliza *A. niger* (C-1) (Figura 9(a)) se observa que, a las 24 horas se alcanza una remoción de cromo (VI) del 100%. Por otra parte, en las primeras 3 horas del experimento utilizando la combinación de *A. niger* con quitosán (D-1 y E-1) se obtiene que los porcentajes de remoción son similares a la obtenida con el *A. niger* solo. Sin embargo, conforme avanza el tiempo de incubación, la remoción es menor para el caso del sistema adicionado con la cantidad mayor de quitosán alcanzándose el 100% de remoción a las 18 horas (Tabla 17 Apéndice C 1).

La Figura 9(b) representa la remoción de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cromo (VI) en un periodo de 24 horas, en donde se observa que no existe una diferencia significativa entre utilizar 2 ó 5 g/L de quitosán ya que a las 24 horas hubo una remoción del 27.6% en A-1 y 24.1% en B-1. En las primeras 6 horas del experimento del sistema C-1 (*A. niger*) se obtuvo una remoción del 39% de Cr (VI), y a las 24 horas la remoción fue del 82.78%, el cual es 3 veces superior al obtenido con el quitosán solo. En lo que respecta a las pruebas D-1 y E-1, se observa que, el quitosán no contribuye significativamente al porcentaje de remoción con respecto a los experimentos de *A. niger* solo (Tabla 17 del Apéndice C 1).

Algunos investigadores han utilizado diferentes tipos de microorganismos para remover Cr (VI), destacando el empleo de hongos filamentosos del género

*Aspergillus* y bacterias del género *Pseudomonas*; las condiciones en que se llevaron a cabo los experimentos denotan resultados distintos a los obtenidos en la presente investigación, tal es el caso de Park *et al.*, (2005), quienes utilizaron 10 g/L de biomasa muerta de *Aspergillus niger* a concentraciones de 50 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI), obteniendo una remoción total del metal después de 100 horas. Filipovic-Kovacevic *et al.*, (2000) que utilizó *Aspergillus niger* 405 para remover cromo (VI), cobre, níquel y zinc a concentraciones de 5 a 20 mg·L<sup>-1</sup>, los resultados mostraron que después de 10 horas hubo una remoción de aproximadamente el 80% de cada metal. Dias *et al.*, (2002), realizaron una investigación para remover concentraciones de 25 a 730 mg·L<sup>-1</sup> de Hierro, cromo (VI), níquel y zinc, utilizando el hongo *Aspergillus terreus*, en una cinética de 142 horas se alcanzó una remoción del 75% de cada uno de los metales. En 1990, Ishibashi *et al.*, utilizaron *Pseudomonas putida* para remover cromo hexavalente a concentraciones de 200 mg·L<sup>-1</sup> a 500 mg·L<sup>-1</sup>, obteniendo como resultado que ésta bacteria es capaz de remover un 85% del metal después de 36 horas.

De acuerdo a los datos anteriores comparados con los resultados obtenidos en la presente investigación, éstos últimos son mejores con respecto al tiempo empleado en el proceso, ya que en tan sólo 24 horas, se obtiene una remoción del 100% de Cr (VI) utilizando concentraciones 10 veces menores de inóculo de *Aspergillus niger* (C-1) y concentraciones mayores de Cr (VI) a las reportadas en la literatura (100 mg·L<sup>-1</sup> y 500 mg·L<sup>-1</sup> de Cr (VI)).

## 5.4 Degradación de Fenol en Matraz Erlenmeyer de 250 mL

### 5.4.1 Degradación de 300 y 800 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol.

Las pruebas realizadas para la remoción de fenol al igual que para cromo (VI), se llevaron a cabo con las mismas condiciones de cultivo en matraces Erlenmeyer de 250 mL y con 100 mL de medio, de acuerdo a lo mencionado en la sección 5.3.1. La variante para ésta serie de experimentos es que se utilizaron concentraciones de fenol de 300 mg·L<sup>-1</sup> y 800 mg·L<sup>-1</sup>, en lugar de Cr (VI).

En la Figura 10(a), se observan los resultados obtenidos para la degradación de fenol (300 mg·L<sup>-1</sup>), con los diferentes biosorbentes durante 24 horas. Como puede apreciarse, después de 24 horas de incubación los sistemas que contienen quitosán (A-2 y B-2) degradan entre 30.19% y 42.83% de fenol, la mezcla quitosán - *Aspergillus niger* (D-2 y E-2) degrada 68.81% a 72.60%, el cual es dos veces superior al quitosán solo, y la mayor degradación de fenol se presenta en el sistema donde se utilizó el hongo filamentoso (C-2) obteniéndose 92.02% de degradación (Tabla 18 Apéndice C 2).

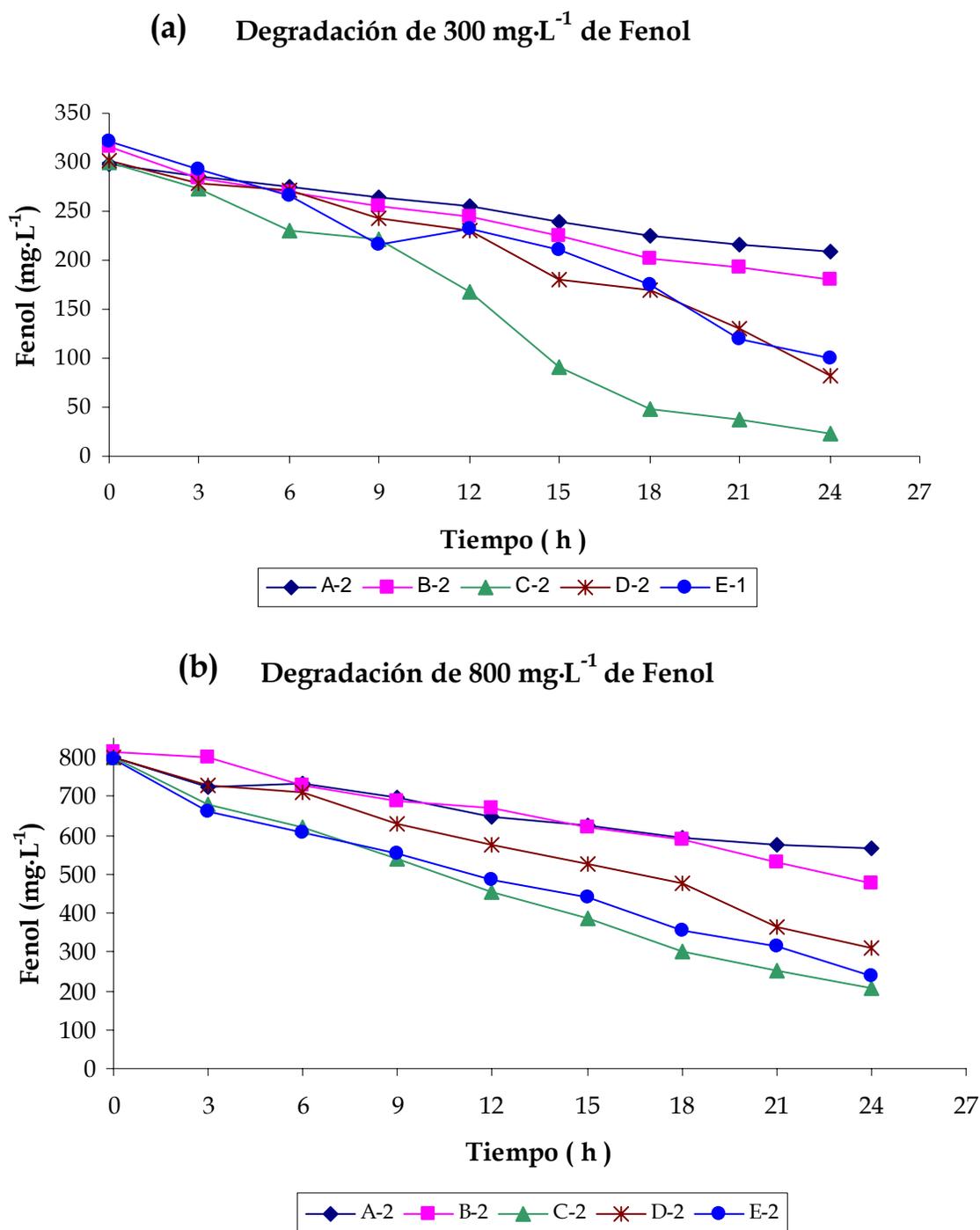


Figura 10. Degradación de Fenol: (a) 300 mg·L<sup>-1</sup> y (b) 800 mg·L<sup>-1</sup>.

**Nota.** A-2: 2 g/L de Quitosán; B-2: 5 g/L de Quitosán; C-2: 1 g/L *Aspergillus niger*; D-2: 1 g/L *A. niger* y 2 g/L de Quitosán; E-2: 1 g/L *A. niger* y 5 g/L de Quitosán.

En la Figura 10(b), se observan los resultados obtenidos en la degradación de 800 mg·L<sup>-1</sup> de fenol, después de 24 h de experimentación, los sistemas conteniendo 2 g/L (A-2) y 5 g/L (B-2) de quitosán degrada 28.92% y 41.70% de fenol, respectivamente. Con respecto al hongo *A. niger* (C-2) degradó un 74.3% de fenol en 24 horas, la mezcla quitosán - *Aspergillus niger*, D-2 y E-2, degrada 61.17% y 69.89% de fenol, respectivamente (Tabla 18 Apéndice C 2).

Con base en la bibliografía consultada se considera que el hongo *Aspergillus niger* empleado en el presente proyecto tiene ventajas frente a otros microorganismos que se han probado para degradación de fenol, tal es el caso de las investigaciones realizadas por Santos *et al.*, 2004 donde utilizaron un grupo de hongos filamentosos (*Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* y *Graphium sp.*) para degradar fenol con concentraciones de 50 a 400 mg·L<sup>-1</sup>, éstos hongos degradaron aproximadamente un 80% de la concentración de fenol inicial en 72 horas, arriba de éstas concentraciones la degradación se llevó a cabo después de 168 horas de incubación. En 2006, Viggiani *et al.*, utilizaron *Pseudomonas stutzeri* para degradar fenol con concentraciones de 45 a 750 mg·L<sup>-1</sup> en una cinética de 160 horas; el resultado que obtuvieron fue una degradación del 90% de fenol para ambas concentraciones. Yan *et al.*,(2006) emplearon la levadura *Candida tropicalis* para degradar Fenol y *m*-cresol con concentraciones de 280 a 2000 mg·L<sup>-1</sup> respectivamente, teniendo como resultado una degradación del 100% en un período de 80 horas.

Comparando los resultados obtenidos en el presente trabajo con los datos de la literatura consultada, se puede observar que en el primero, existe una mejora en el tiempo de proceso para degradar el fenol, mostrando que *Aspergillus niger* presenta mayor porcentaje de degradación (para 300 y 800 mg·L<sup>-1</sup> de fenol). Utilizando el quitosán se obtiene una cinética más lenta, además no existe un efecto significativo e incluso hay inhibición paralela.

### **5.5 Remoción y Degradación Simultánea de Cromo (VI) y Fenol en Matraz Erlenmeyer de 250 mL**

#### **5.5.1 Remoción y Degradación Simultánea de 100 mg·L<sup>-1</sup> de Cromo (VI) y 300 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol en Matraz Erlenmeyer de 250 mL.**

Al comparar los resultados obtenidos en los experimentos en que se probaron al quitosán y *A. niger* frente a 100 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) ó 300 mg·L<sup>-1</sup> de fenol (Figuras 9(a) y 10(a)) con los experimentos utilizando 100 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) y 300 mg·L<sup>-1</sup> de fenol en el mismo sistema (Figuras 11 (a) y (b)), se puede observar que hay un incremento en la remoción de cromo (VI) en los sistemas A-3 y B-3 (2 y 5 g/L de quitosán) en un 10.71% y 21.09% respectivamente. Por otra parte, los sistemas C-3 (*A. niger*), D-3 y E-3 (combinación hongo-quitosán) tienen prácticamente los mismos valores que los sistemas C-1, D-1 y E-1. En cuanto a la eliminación de fenol (Figura 11(a)), el sistema A-3 muestra un incremento del 2.7% respecto al A-2, y el experimento C-3 un incremento de un 8% comparado con el sistema C-2 (Tabla 19 Apéndice C 3).

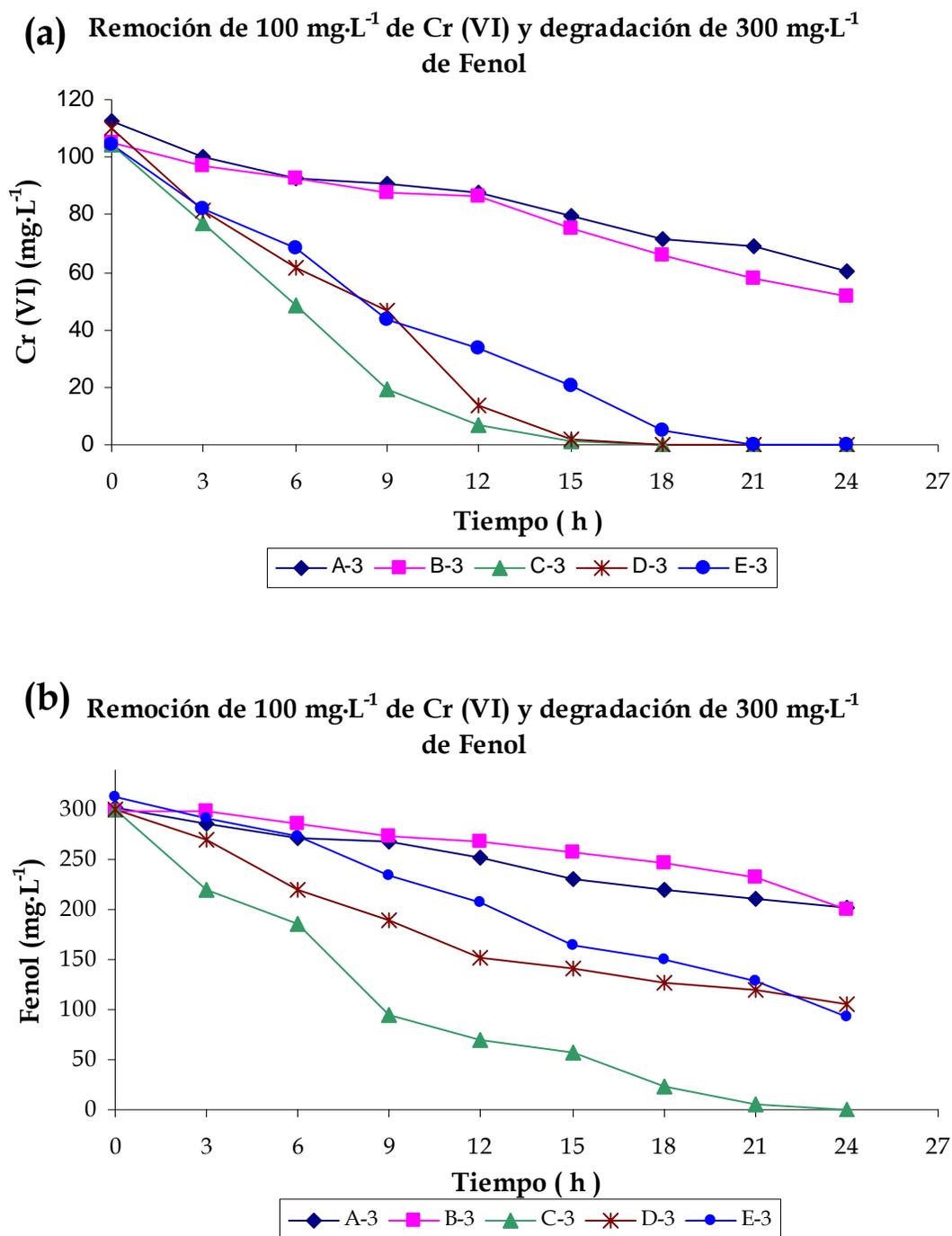


Figura 11. Remoción y degradación simultánea de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cromo (VI) y  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol: a) Medición del Cr (VI), b) Medición de fenol.

**Nota.** A-3: 2 g/L de Quitosán; B-3: 5 g/L de Quitosán; C-3: 1 g/L *Aspergillus niger*; D-3: 1 g/L *A. niger* y 2 g/L de Quitosán; E-3: 1 g/L *A. niger* y 5 g/L de Quitosán.

### 5.5.2 Remoción y Degradación Simultánea de 100 mg·L<sup>-1</sup> de Cromo (VI) y 800 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol en Matraz Erlenmeyer de 250 mL.

De acuerdo a los resultados que se muestran en las Figuras 12(a) y 12(b) puede apreciarse que los sistemas compuestos de quitosán y *Aspergillus niger* proporcionan una remoción superior a los que solo contienen quitosán. Adicionalmente comparando los resultados obtenidos en los experimentos de 100 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) y 800 mg·L<sup>-1</sup> de fenol por separado (Figuras 9(a) y 10(b)) y los experimentos con 100 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) y 800 mg·L<sup>-1</sup> de fenol en el mismo sistema (Figuras 12 (a) y (b)), no hay una diferencia significativa de remoción de cromo (VI) en los sistemas C-4 (*A. niger*), D-4 y E-4 (combinación quitosán-hongo). El sistema B-4 (5 g/L de quitosán) muestra un incremento en remoción del 25% con respecto al B-1. En los sistemas C-4, D-4 y E-4, con respecto al fenol (Figura 12(b)), se observó un incremento de fenol del 12.13%, 15.23 y 14.36%, con respecto a los sistemas en donde se utilizaba solamente el fenol (C-2, D-2 y E-2 de la Figura 10(b)) (Tabla 20 Apéndice C 4).

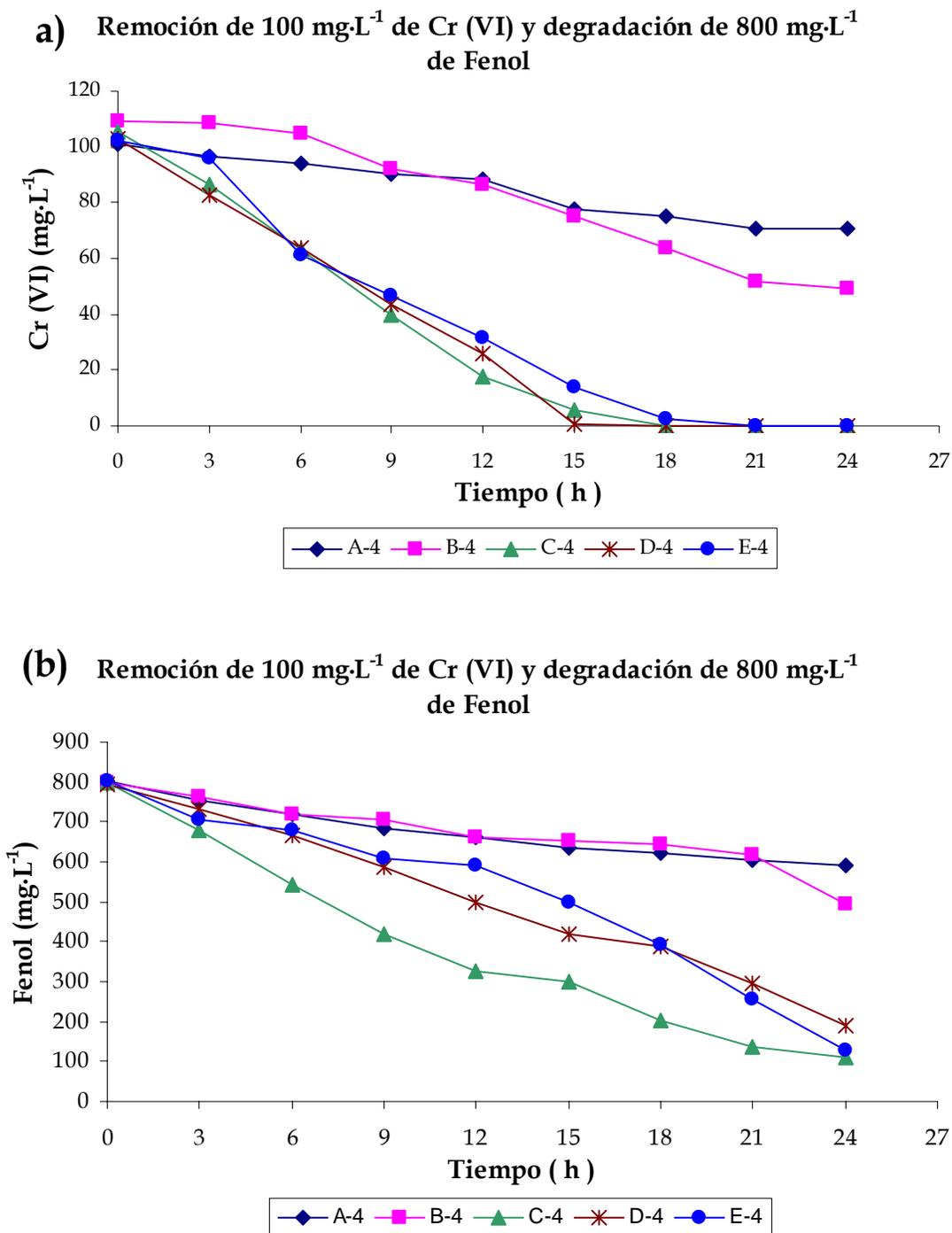


Figura 12. Remoción y degradación simultánea de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cromo (VI) y  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol: a) Medición del Cr (VI), b) Medición de fenol.

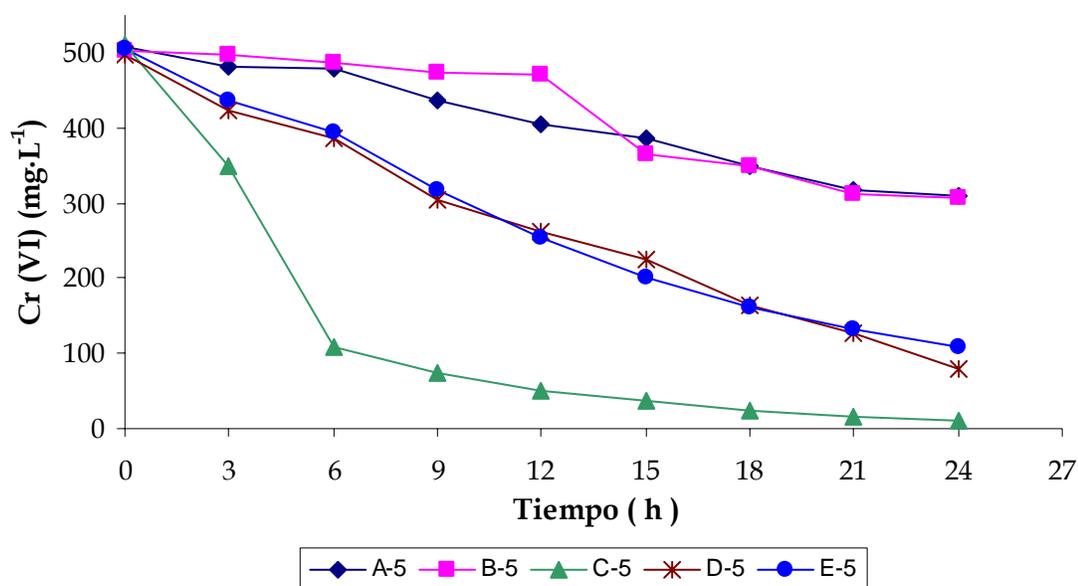
**Nota.** A-4: 2 g/L de Quitosán; B-4: 5 g/L de Quitosán; C-4: 1 g/L *Aspergillus niger*; D-4: 1 g/L *A. niger* y 2 g/L de Quitosán; E-4: 1 g/L *A. niger* y 5 g/L de Quitosán.

### 5.5.3 Remoción y Degradación Simultánea de 500 mg·L<sup>-1</sup> de Cromo (VI) y 300 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol en Matraz Erlenmeyer de 250 mL.

Los resultados obtenidos de la remoción y degradación simultánea de 500 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) y 300 mg·L<sup>-1</sup> de fenol (Figuras 13(a) y 13(b)), muestran que la remoción de cromo (VI) en el sistema C-5 (*Aspergillus niger*) es el mejor de los 5 sistemas probados, lográndose una remoción de 97.85% después de 24 horas de incubación, lo cual es aproximadamente 2.5 veces superior a los experimentos A-5 (2 g/L quitosán) y B-5 (5 g/L de quitosán). Para los sistemas de *Aspergillus niger* adicionados con quitosán D-5 y E-5 tienen un comportamiento muy similar entre sí, con una remoción de cromo inferior (9.3% a 10.18%) a la obtenida en los experimentos con 500 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) sin presencia de fenol.

De acuerdo a los resultados obtenidos en ésta serie de experimentos la degradación de fenol (Figura 13 (b)) después de 24 horas de incubación, se dio en el siguiente orden: C-5 > E-5 > D-5 > B-5 > A-5 que corresponde a 100%, 73.10%, 68.137%, 44.95% y 30.55% respectivamente (Tabla 21 Apéndice C 5). Por lo tanto se demuestra que la presencia de quitosán inhibe parcialmente la degradación de fenol por el microorganismo.

(a) Remoción de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Cr (VI) y degradación de  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol



(b) Remoción de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Cr (VI) y degradación de  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol

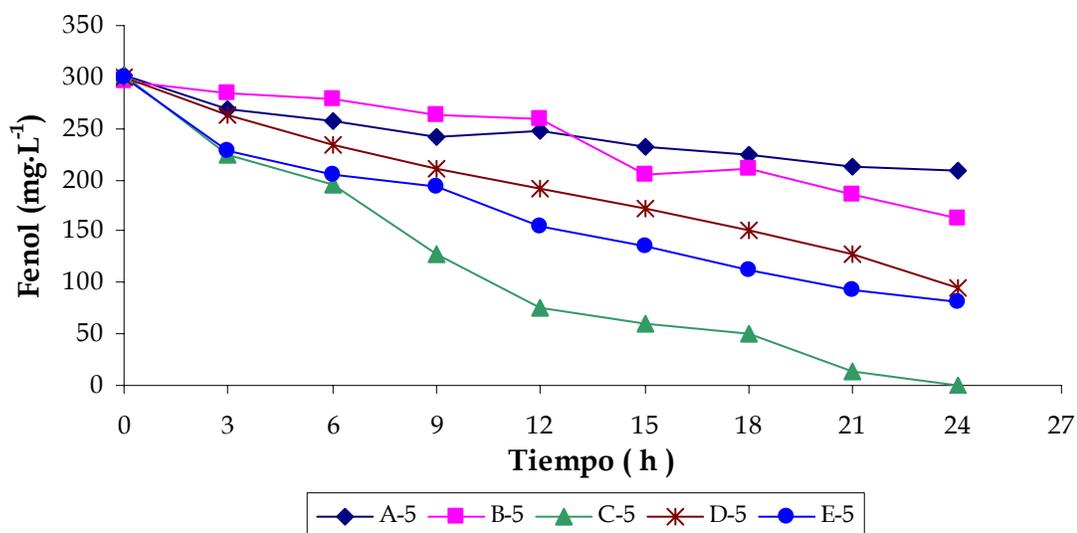


Figura 13. Remoción y degradación simultánea de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cromo (VI) y  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol: a) Medición del Cr (VI), b) Medición de fenol.

**Nota.** A-5: 2 g/L de Quitosán; B-5: 5 g/L de Quitosán; C-5: 1 g/L *Aspergillus niger*; D-5: 1 g/L *A. niger* y 2 g/L de Quitosán; E-5: 1 g/L *A. niger* y 5 g/L de Quitosán.

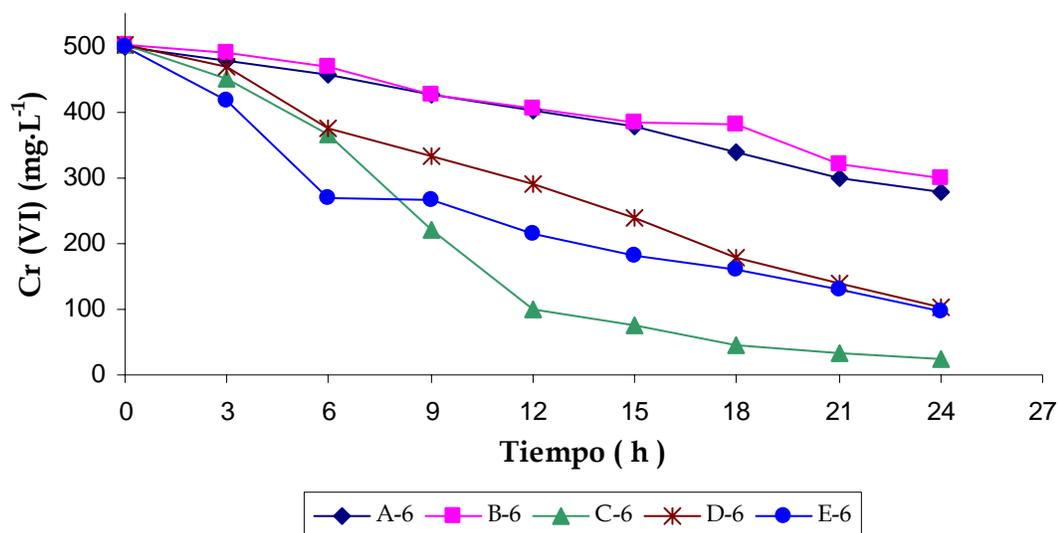
#### 5.5.4 Remoción y Degradación Simultánea de 500 mg·L<sup>-1</sup> de Cromo (VI) y 800 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol en Matraz Erlenmeyer de 250 mL.

Las Figuras 14(a) y 14(b) muestran los resultados obtenidos de la cinética de remoción de 500 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) y degradación de 800 mg·L<sup>-1</sup> fenol con diferentes biosorbentes (quitosán y *A. niger*). La duración de la cinética fue de 24 horas con intervalos de tiempo de 3 y 6 horas.

En la Figura 14(a) se observa que A-6 (2 g/L quitosán) y B-6 (5 g/L quitosán) tienen un comportamiento muy similar y C-6 (*A. niger*) se aprecia que a las 24 horas existe una cantidad mínima de concentración de cromo (VI) de 23 mg·L<sup>-1</sup>. Los experimentos D-6 y E-6 (combinación quitosán - hongo) a las 6 horas hay una diferencia significativa pero conforme pasa el tiempo (18 horas) se observa que tienen concentraciones similares.

En el caso del fenol (Figura 14(b)) no existe gran diferencia en C-6, D-6 y E-6 ya que la concentración presente a las 24 horas oscila entre el 16 al 26% de fenol, con respecto a la concentración inicial. Mientras que para A-6 la degradación fue de menos del 26% de fenol a las 24 horas y para B-6 está presente el 59% de fenol con respecto a la concentración inicial (Tabla 22 Apéndice C 6).

(a) Remoción de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Cr (VI) y degradación de  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol



(b) Remoción de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Cr (VI) y degradación de  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol

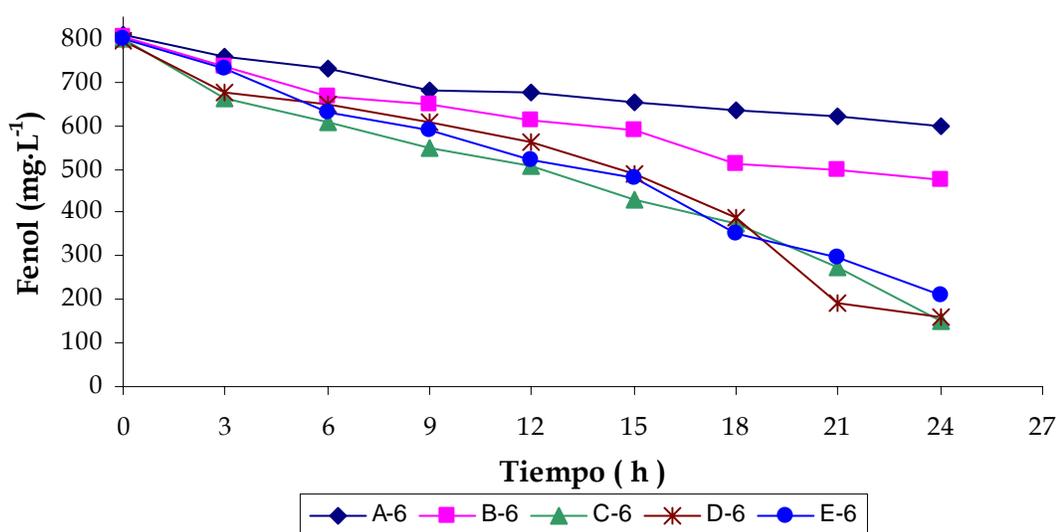


Figura 14. Remoción y degradación simultánea de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cromo (VI) y  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol: a) Medición del Cr (VI), b) Medición de fenol.

**Nota.** A-6: 2 g/L de Quitosán; B-6: 5 g/L de Quitosán; C-6: 1 g/L *Aspergillus niger*; D-6: 1 g/L *A. niger* y 2 g/L de Quitosán; E-6: 1 g/L *A. niger* y 5 g/L de Quitosán.

## 5.6 Remoción y Degradación Simultánea de Cromo (VI) y Fenol en un Biorreactor de Lecho Fijo

Con base en los resultados obtenidos en los experimentos realizados en el reactor agitado, se llegó a la conclusión de que el mejor biosorbente es el hongo *Aspergillus niger*, ya que tolera condiciones ambientales extremas y resiste altas concentraciones de metales pesados y compuestos aromáticos. En los estudios de columna empacada, se prepararon 4 soluciones sintéticas y se probaron por separado. Las columnas se empacaron con esferulas del hongo filamentoso *Aspergillus niger*. Las condiciones utilizadas fueron las siguientes: pH 4.7, temperatura 25°C, la solución sintética fue recirculada a una velocidad de flujo de 38.08 mL·min<sup>-1</sup>. Las muestras fueron tomadas en un intervalo de 1.5 horas durante 10.5 horas.

Las soluciones sintéticas utilizadas en éste estudio fueron:

- 100 mg·L<sup>-1</sup> cromo (VI) y 300 mg·L<sup>-1</sup> fenol
- 100 mg·L<sup>-1</sup> cromo (VI) y 800 mg·L<sup>-1</sup> fenol
- 500 mg·L<sup>-1</sup> cromo (VI) y 300 mg·L<sup>-1</sup> fenol
- 500 mg·L<sup>-1</sup> cromo (VI) y 800 mg·L<sup>-1</sup> fenol

### 5.6.1 Remoción y Degradación Simultánea de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cromo (VI) y $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fenol Utilizando *A. niger* en un Biorreactor de Lecho Fijo.

La Figura 15 muestra que *A. niger* es un buen biosorbente para remover tanto el cromo (VI) y el fenol, ya que a partir de las primeras 1.5 horas se observa una disminución del 41% en el caso del cromo (VI) y una degradación de fenol de 7.3%. A las 6 horas se observa que existe una muy significativa remoción del metal alcanzándose una concentración en la solución de  $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cromo (VI) y una concentración presente de fenol de  $72.55 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . A partir de las 7.5 horas, el cromo (VI) fue eliminado totalmente de la solución y la concentración del fenol disminuye degradando el 83% quedando así la concentración de  $49.90 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Finalmente, a las 10.5 horas (último muestreo) el fenol ha sido totalmente eliminado de la solución (Tabla 23 Apéndice C 7).

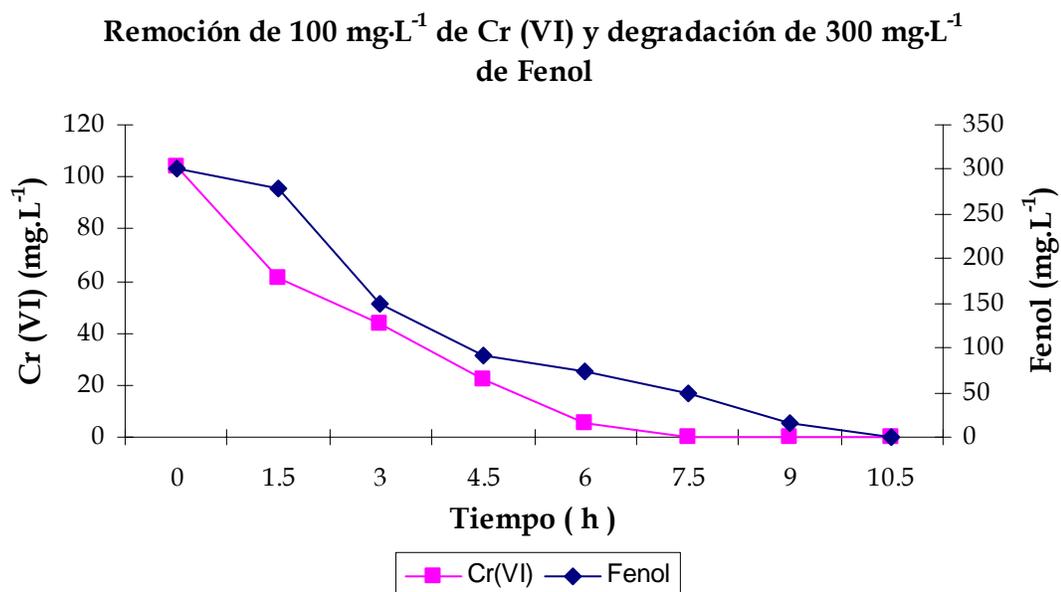


Figura 15. Remoción y degradación simultánea de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Cr (VI) y degradación de  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol en un biorreactor de Lecho Fijo.

### 5.6.2 Remoción y Degradación Simultánea de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cromo (VI) y $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fenol Utilizando *A. niger* en un Biorreactor de Lecho Fijo.

En la Figura 16 se observa que durante las primeras 1.5 horas *A. niger* remueve un 37% del cromo (VI) inicial y alrededor del 22% de fenol. A las 7.5 horas ya no se observa la presencia de cromo (VI), mientras tanto la concentración del fenol sigue disminuyendo (71.6% de degradación), hasta que a las 10.5 horas la presencia de fenol es del 13% con respecto a la concentración inicial del fenol (Tabla 24 Apéndice C 8).

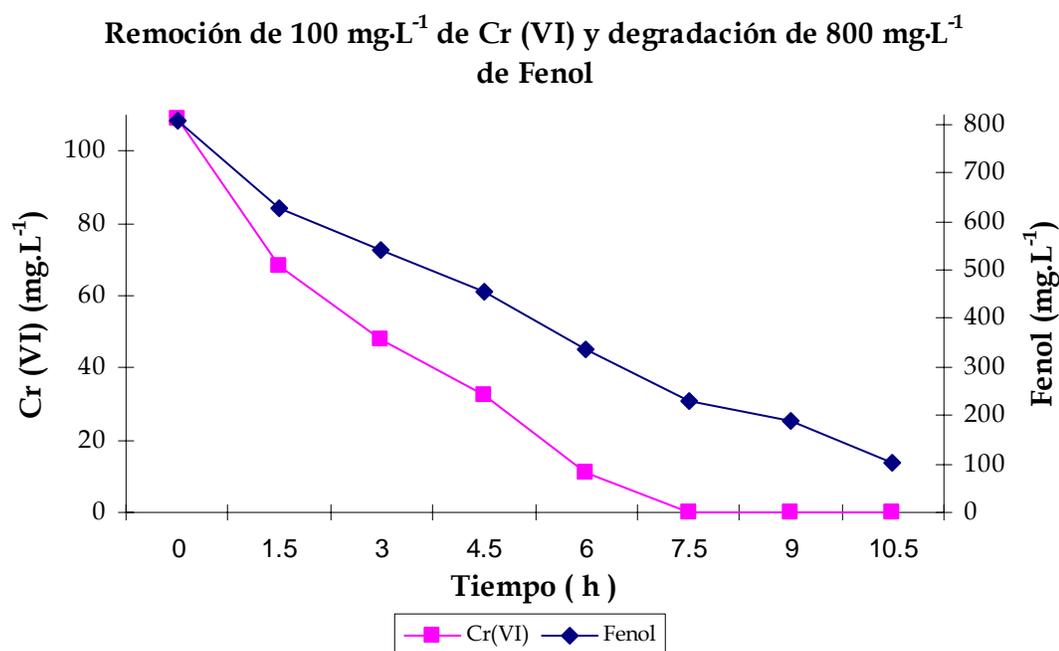


Figura 16. Remoción y degradación simultánea de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Cr (VI) y degradación de  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol en un biorreactor de Lecho Fijo.

### 5.6.3 Remoción y Degradación Simultánea de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cromo (VI) y $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fenol Utilizando *A. niger* en un Biorreactor de Lecho Fijo.

En la Figura 17 se muestra una ligera disminución en la primera 1.5 horas del 12% para el cromo (VI) y para el fenol del 23.5%. A las 6 horas se observa que la concentración del cromo (VI) es de  $313 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , en el caso del fenol degradó un 77% de la concentración inicial. A partir de las 9 horas se observa el 100% de eliminación de fenol y el cromo un 62% de remoción, a las 10.5 horas existe un 31% de cromo (VI), es decir, la concentración del cromo fue de  $160 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  al final del experimento (Tabla 25 Apéndice C 9).

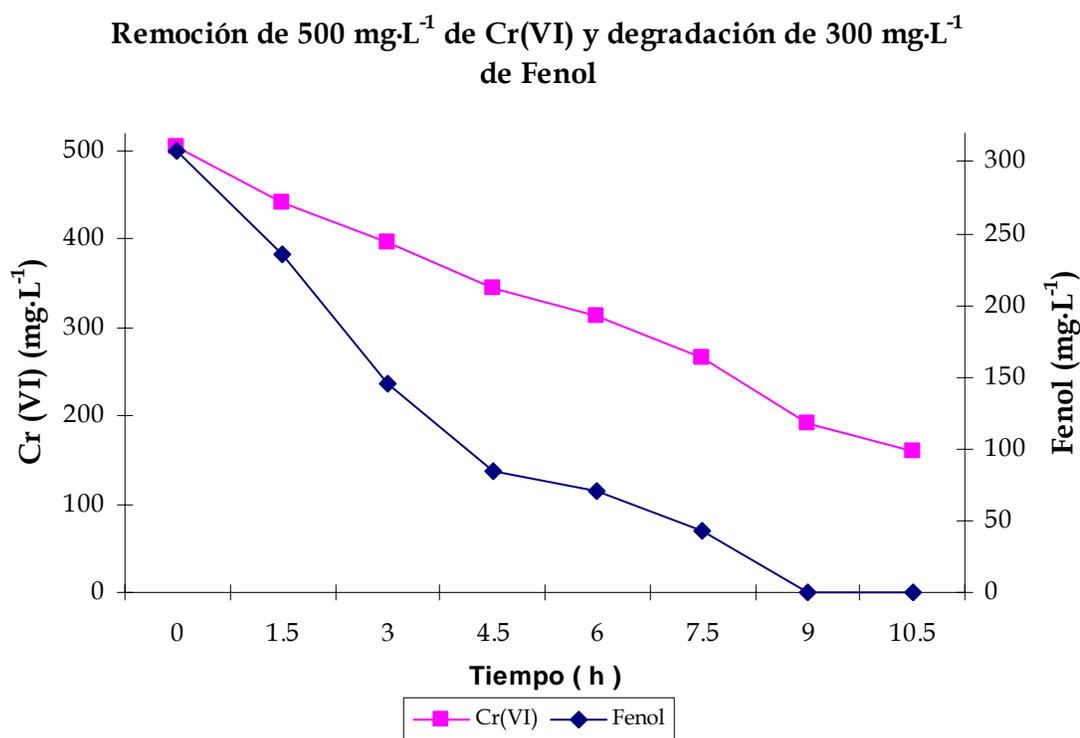


Figura 17. Remoción y degradación simultánea de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Cr (VI) y degradación de  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol en un biorreactor de Lecho Fijo.

#### 5.6.4 Remoción y Degradación Simultánea de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Cromo (VI) y $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fenol Utilizando *A. niger* en un Biorreactor de Lecho Fijo.

La Figura 18, muestra que la concentración de cromo (VI) a las 3 horas se redujo un 14% y en el caso del fenol la concentración era de  $555.07 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , es decir, un 30% menos. A las 6 horas la concentración del cromo (VI) fue de  $298.37 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y la concentración de fenol de  $291 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , un 40% y 63% respectivamente. Después de 9 horas de haber comenzado la cinética la concentración del cromo disminuyó más de un 50% y en el caso del fenol disminuyó aproximadamente un 82%. Al final del experimento la concentración del fenol era de  $89.89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y la concentración del Cr (VI) de  $171.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Tabla 26 Apéndice C 10).

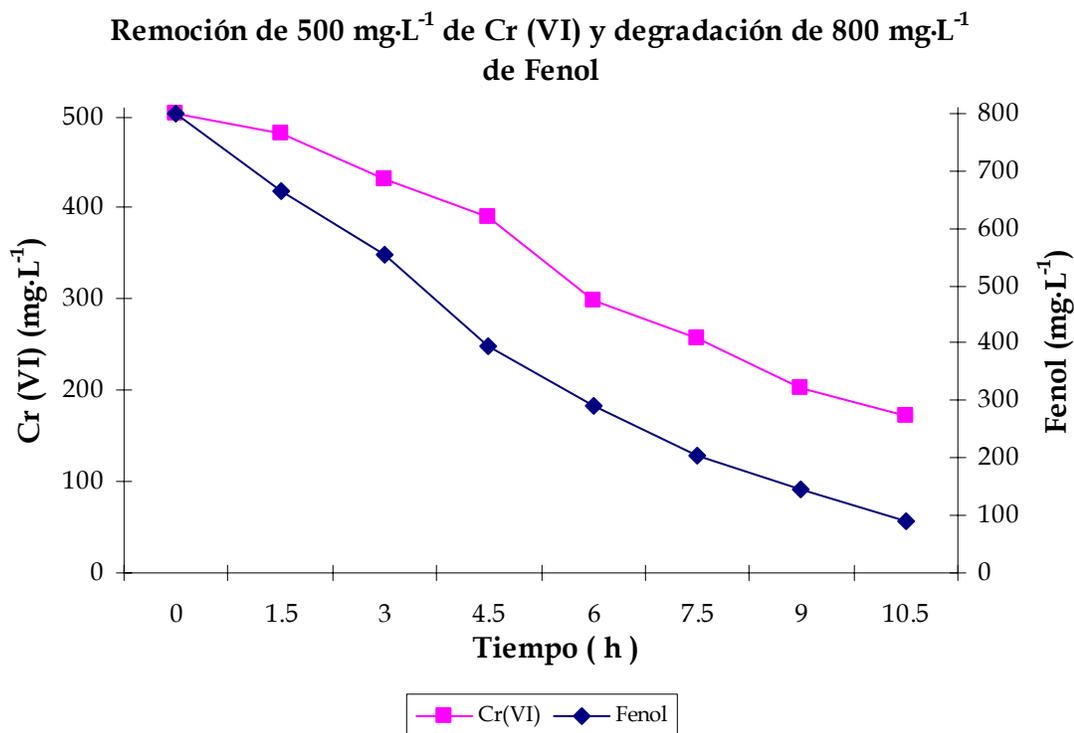


Figura 18. Remoción y degradación simultánea de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Cr (VI) y degradación de  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Fenol en un biorreactor de Lecho Fijo.

Tomando en cuenta los resultados que se presentan en las Tablas 13, 14, 15 y 16 tenemos lo siguiente: el porcentaje de remoción de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cromo y degradación de  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de fenol (Tabla 13) son mayores en el biorreactor que en matraces Erlenmeyer de 250 mL ya que a las 9 horas se alcanza 100% de remoción de cromo en el biorreactor y un 81.39% en los matraces Erlenmeyer y una degradación de fenol de 95.05% y 68.31% respectivamente.

TABLA 13

REMOCIÓN DE  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL Y EN BIORREACTOR DE LECHO FIJO

Horas	% de Remoción y Degradación en Matraz Erlenmeyer 250 mL		% de Remoción y Degradación en Biorreactor de Lecho Fijo	
	Cromo (VI)	Fenol	Cromo (VI)	Fenol
0	0	0	0	0
3	26.230	26.647	58.066	50.369
6	53.401	38.067	95.112	75.816
9	81.398	68.319	100	95.054

(%): Porcentaje de remoción y/o degradación

Al igual que en el sistema anterior, para la serie de experimentos realizados para remoción de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cromo y degradación de  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de fenol (Tabla 14) los resultados obtenidos demuestran que el *Aspergillus niger* en el biorreactor empacado a las 9 horas de operación alcanzó valores superiores en un 37.43% de remoción de Cr (VI) y 29.26% de degradación de fenol, con respecto a los experimentos realizados en matraces.

TABLA 14

REMOCIÓN DE 100 mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 800 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL Y EN BIORREACTOR DE LECHO FIJO

Horas	% de Remoción y degradación en matraz Erlenmeyer 250 mL		% de Remoción y degradación en biorreactor de Lecho Fijo	
	Cromo (VI)	Fenol	Cromo (VI)	Fenol
0	0	0	0	0
3	18.088	14.853	56.2081	32.98
6	39.992	31.943	89.77	58.22
9	62.578	47.510	100	76.77

(%): Porcentaje de remoción y/o degradación

Contrario a los casos anteriores, para el sistema 500 mg·L<sup>-1</sup> de cromo y degradación de 300 mg·L<sup>-1</sup> de fenol (Tabla 15) se muestra que existe un mayor porcentaje de remoción de cromo en matraces Erlenmeyer que en el biorreactor, ya que a las 9 horas del experimento se observa que la remoción de cromo en el matraz es de 85.5% y la remoción en el biorreactor es de 62.09%. En el caso de fenol muestra un comportamiento diferente a los experimentos realizados en el biorreactor empacado ya que presenta mayor degradación (100%) con respecto a nivel matraz (57%).

Los resultados de la Tabla 16 muestran que a las 9 horas no hay una diferencia marcada en la remoción de cromo entre el biorreactor y los matraces, ya que en el biorreactor de lecho fijo se obtiene 3.7% más de remoción que en matraz Erlenmeyer. Con respecto a la degradación de fenol si hay diferencia, en

el biorreactor empacado con el *Aspergillus niger*, a las 9 horas del experimento se obtiene una degradación del 81.9% y en los matraces 31.28% (una diferencia de 50.6%).

TABLA 15

REMOCIÓN DE 500 mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 300 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL Y EN BIORREACTOR DE LECHO FIJO

Horas	% de Remoción y degradación en Matraz Erlenmeyer 250 mL		% de Remoción y Degradación en Biorreactor de Lecho Fijo	
	Cromo (VI)	Fenol	Cromo (VI)	Fenol
0	0	0	0	0
3	31.653	25.78	21.29	53.01
6	78.602	35.14	37.79	77.04
9	85.529	57.87	62.09	100

(%): Porcentaje de remoción y/o degradación

TABLA 16

REMOCIÓN DE 500 mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 800 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL Y EN BIORREACTOR DE LECHO FIJO

Horas	% de Remoción y degradación en Matraz Erlenmeyer 250 mL		% de Remoción y Degradación en Biorreactor de Lecho Fijo a	
	Cromo (VI)	Fenol	Cromo (VI)	Fenol
0	0	0	0	0
3	10.40	17.02	14.14	30.58
6	27.27	23.85	40.61	63.52
9	56.10	31.28	59.87	81.96

(%): Porcentaje de remoción y/o degradación

Los resultados obtenidos en el biorreactor de lecho fijo con *Aspergillus niger* para las muestras sintéticas de: (a) 100 mg·L<sup>-1</sup> cromo (VI) con 300 mg·L<sup>-1</sup> fenol, (b) 500 mg·L<sup>-1</sup> cromo (VI) con 300 mg·L<sup>-1</sup> fenol, (c) 100 mg·L<sup>-1</sup> cromo (VI) con 800 mg·L<sup>-1</sup> fenol y (d) 500 mg·L<sup>-1</sup> cromo (VI) con 800 mg·L<sup>-1</sup> fenol muestran que el porcentaje de remoción del metal fue (a) = (c) > (b) > (d) [100%, 100%, 62.09% y 59.87% respectivamente] y la degradación de fenol fue la siguiente: (b) > (a) > (d) > (c) [100%, 95%, 81.96% y 76.77% respectivamente].

Al comparar los resultados obtenidos de los sistemas manteniendo la concentración de cromo en un valor determinado (ya sea 100 mg·L<sup>-1</sup> o 500 mg·L<sup>-1</sup>) pero cambiando la concentración de fenol de 300 mg·L<sup>-1</sup> a 800 mg·L<sup>-1</sup>, se puede observar que no hay un cambio en la remoción de cromo entre los sistemas (se obtiene una remoción del 100% del cromo (VI) para 100 mg·L<sup>-1</sup> y alrededor de 60% para 500 mg·L<sup>-1</sup>). Con respecto a la degradación de fenol se observa una disminución, pasando del 95.05% al 76.77% en los sistemas con 300 mg·L<sup>-1</sup> de fenol y de 100% a 81.96% en el sistema de 800 mg·L<sup>-1</sup> de fenol. Los valores obtenidos reflejan que el fenol actúa como única fuente de carbono para el metabolismo del *Aspergillus niger* así como donador de electrones para llevar a cabo la remoción microbiana de cromo (VI), y que a las concentraciones más altas de cromo (VI) y de fenol la disminución en los valores de remoción y degradación de los compuestos probados puede deberse al efecto tóxico sobre el microorganismo, lo anterior concuerda con los resultados obtenidos por Shen

y Wang en 1995, en cuanto a la influencia de la concentración de fenol en el grado de reducción de cromo (VI) observado en cultivos de *Escherichia coli* y *Pseudomonas putida*. En los resultados de la investigación de Chirwa y Wang (2000) con cepas de *Escherichia coli*, 2.5 mg·L<sup>-1</sup> de cromo (VI) y 500 mg·L<sup>-1</sup> de fenol se observó que existe una relación estequiométrica entre la acumulación de cromo (VI) removido y la acumulación de ácidos orgánicos degradados. En el estudio se demostró que el cromo (VI) inhibía tanto la reducción del Cr (VI) como en la degradación del fenol, mientras que el fenol tenía un efecto positivo tanto en la reducción de cromo (VI) como la degradación de fenol cuando se utilizaba en concentraciones inferiores a 200 mg·L<sup>-1</sup>, mientras que para concentraciones superiores se observa un efecto negativo.

## CAPÍTULO 6

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.1 Conclusiones

La composición apropiada de las células que participan en procesos de biorremediación es importante, tal es el caso del hongo filamentoso *Aspergillus niger* que posee una gran capacidad para remover Cr (VI) y biodegradar fenol a escala de laboratorio con base en sus características fisiológicas y a las enzimas degradativas.

En las condiciones en que se llevó a cabo la presente investigación se encontró que *Aspergillus niger* supera al quitosán en la remoción de Cr (VI). No obstante existe la posibilidad de mejorar la capacidad de sorción del quitosán siendo necesario hacer modificaciones al proceso de desacetilación para transformación de la quitina a quitosán.

El *Aspergillus niger* en forma de esférulas con la solución que contiene Cr (VI) y fenol favorece la remoción y degradación de los mismos; esto se

demuestra con los resultados obtenidos con los experimentos realizados en matraz comparados con los obtenidos en la columna de lecho fijo. Los valores de remoción de Cr (VI) y degradación de fenol fueron superiores en la columna de lecho fijo, adicionalmente el tiempo en el cual se alcanza los valores más altos es de alrededor de 9 horas para la columna de lecho fijo y en matraz entre 15 y 24 horas.

Los experimentos realizados en matraz Erlenmeyer aportaron información necesaria y valiosa para proceder a la etapa de escalamiento de un biorreactor de lecho fijo, ya que a partir de los datos generados fue posible elegir los sistemas de mejores resultados en cada una de las etapas:

- a) Remoción de cromo (VI) a nivel matraz de 250 mL en los dos niveles de concentración:  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .
- b) Degradación de fenol a nivel matraz de 250 mL en los dos niveles de concentración:  $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  y  $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .
- c) Nivel matraz de 250 mL remoción y degradación simultánea de cromo (VI) y degradación de fenol.

Con base en los resultados obtenidos en ésta investigación, se concluye que el incremento de la concentración de cromo y de fenol puede ejercer un efecto tóxico sobre el hongo *Aspergillus niger* afectando la remoción y

degradación de éstos compuestos, ya que el porcentaje de remoción del metal fue  $(a)=(c)>(b)>(d)$  y el de degradación de fenol fue  $(b)>(a)>(d)>(c)$ ,

en donde:

- (a) 100 mg·L<sup>-1</sup> de Cr (VI) y 300 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol,
- (b) 100 mg·L<sup>-1</sup> de Cr (VI) y 800 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol,
- (c) 500 mg·L<sup>-1</sup> de Cr (VI) y 300 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol; y
- (d) 500 mg·L<sup>-1</sup> de Cr (VI) y 800 mg·L<sup>-1</sup> de Fenol.

Entre las variables que pueden afectar la remoción de cromo (VI) y degradación de fenol se encuentran: el pH, la temperatura, concentraciones del cromo (VI) y del fenol, la presencia de compuestos generados por el metabolismo microbiano en el medio que rodea al microorganismo cuando éste se desarrolla en matraz Erlenmeyer, la presencia del quitosán altera la disponibilidad del fenol para ser utilizado como fuente de carbono o disminuye la cantidad de enzimas extracelulares del *Aspergillus niger*.

## 6.2 Recomendaciones

- Dada la menor eficiencia obtenida con el quitosán en la remoción y degradación de los contaminantes estudiados se recomienda optimizar el proceso de fabricación del quitosán a partir de cáscara de camarón variando el grado de desacetilación, así como de utilizar métodos analíticos para identificar la quitina y el quitosán, por ejemplo espectroscopia infrarroja.
- Se requiere de estudiar la optimización de éste proceso estableciendo un modelo matemático para el biorreactor de lecho fijo, describiendo la transferencia de masa, considerando algunos parámetros como el efecto del pH, velocidad de sorción, etc., ya que el modelo toma en cuenta diferentes fenómenos que podrían ocurrir durante el proceso.
- Evaluar el posible escalamiento a planta piloto.

## REFERENCIAS

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR)**, Toxicological profile for phenol, U.S. Department of Health and Human Services [en línea], [Acceso: 14 Diciembre de 2005], <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp115.html> (1998)
- Aislabie, J., A.K. Bej, H. Hurst, S. Rothenburger y R.M. Atlas**, Microbial Degradation of Quinoline and Methylquinolines, *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (2): 345-351(1990)
- Aksu, Z. y F. Gönen**, Binary biosorption of phenol and Chromium(VI) onto immobilized activated sludge in a packed bed: Prediction of kinetic parameters and breakthrough curves, *Sep. Purific. Tech.* 49: 205-216 (2006)
- ALNICOLSA** - Productos agroindustriales de exportación, [Acceso: 23 septiembre de 2005], <http://taninos.tripod.com/cromo.htm> (2003)
- Andersson, E.L.**, Analysis of various bioreactor configurations for heavy metal removal using the fungus *Penicillium ochro-chloron*, Tesis de Maestro en Ciencias en Biología, Dpto. Biology & Biotechnology, Worcester Polytechnic Insitute (1999)
- Arellano, J.**, Lecho fijo y fluidizado, (en línea), [Acceso: 16 diciembre de 2005], <http://www.monografias.com/trabajos27/lecho-fijo/lecho-fijo.shtml>, Universidad Simón Bolívar, Unidad de Laboratorios Sección de Fenómenos de Transporte (2005)
- Atkinson, B.**, Reactores Bioquímicos, Ed. Reverté, S.A., ISBN: 84-2917009-X, Barcelona, España (1986)
- Babel, S. y T.A. Kurniawan**, Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review, *Journal of Hazardous Materials* (en línea), Vol. 97: 219 - 243 2003, [Acceso: 04 Noviembre de 2005; [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\\_uids=12573840&dopt=Citation](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12573840&dopt=Citation)]
- Barros, L.M., G.R. Macedo, M.M.L. Duarte, E.P. Silva y A.K.C.L. Lobato**, Biosorption of cadmium using the fungus *Aspergillus niger*, *Brazilian Journal of Chemical Engineering* Vol.2 No. 3, ISSN: 0104-6632 (2003)

- Bravo**, J.J., S.A. Giraldo, A. Centeno y E. Páez-Mozo, Catalizadores para purificación de aguas industriales que contengan compuestos resistentes a la biodegradación, *Catalizadores y absorbentes para la Protección ambiental de la región Iberoamericana*, [Revista en línea], pp. 265- 270, 2001 [Acceso: 10 de diciembre de 2005; <http://www.icp.csic.es/cyted>]
- Çabuk**, A., S. İlhan, C. Filik y F. Çalışkan, Pb<sup>2+</sup> Biosorption by Pretreated Fungal Biomass, *Turk J Biol.* 29: 23-28 (2005)
- Cañizales-Villanueva**, R.O., Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana, *Revista Latinoamericana de Microbiología* 42: 131-143 (2000)
- Center for Environmental Health Science (CEHS)**, El cromo hexavalente (Cr<sup>6+</sup>), University of California, Davis, Ca., [Acceso: 02 Agosto 2005], <http://www.envtox.ucdavis.edu/cehs/TOXINS/SPANISH/chromium.htm> (2002)
- Chen**, H. y S-S. Pan, Bioremediation potential of spirulina: toxicity and biosorption studies of lead, *J. Zhejiang Univ. SCI* 6B(3): 171-174, ISSN: 1009-3095 (2005)
- Chen**, W., A. Mulchandani y M.A. Deshusses, Environmental Biotechnology: Challenges and Opportunities for Chemical Engineers, *AIChE Journal* (en línea), Vol. 51 No. 3: 690 - 695 (2005) [Acceso: 28 septiembre 2005; [www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com)]
- Chirwa**, E.N. y Y-T. Wang, Hexavalent Chromium Reduction by *Bacillus sp.* in a Packed-Bed Bioreactor, *Environ. Sci. Technol.* 31(5):1446-1451 (1997)
- Chirwa**, E.N. y Y-T. Wang, Simultaneous Chromium(VI) Reduction and Phenol Degradation in an Anaerobic Consortium of Bacteria, *Wat. Res.* Vol. 34, No. 8: 2376 - 2384 (2000)
- Chirwa**, E.N., y Y-T Wang, Modeling Cr(VI) Reduction and Phenol Degradation in a Coculture Biofilm Reactor, *Journal of Environmental Engineering* (11): 1495 - 1506, ISSN 0733-9372 (2005)
- Comisión Nacional del Agua (CNA)**, México, [Acceso: 22 Agosto de 2006], <http://www.cna.gob.mx/eCNA/Espaniol/Directorio/Default.aspx> (2001)

- Cowi**, Heavy Metals in Waste, European Commission, DG Environment, [Acceso: 02 Agosto de 2005], <http://www.productstewardship.us/>
- Davis**, T.A., B. Volesky y A. Mucci, A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Research* Vol. 37: 4311-4330 (2003)
- Dias**, M.A., I.C.A. Lacerda, P.F. Pimentel, H.F. de Castro y C.A. Rosa, Removal of heavy metals by an *Aspergillus terreus* strain immobilized in a polyurethane matrix, *Letters in Applied Microbiology* 34: 46 - 50 (2002)
- Dursun**, A. Y. y O. Tepe, Internal mass transfer effect on biodegradation of phenol by Ca-alginate immobilized *Ralstonia eutropha*, *Journal of Hazardous Materials B126*: 105-111 (2005)
- Ensuncho**, L., M. Alvarez-Cuenca y R. L. Legge, Removal of aqueous phenol using immobilized enzymes in a bench scale and pilot scale three-phase fluidized bed reactor, *Bioprocess Biosyst Eng.* 27: 185-191 (2005)
- Fernández-Kim**, S-O., Physicochemical and Functional Properties of Crawfish Chitosan as Affected by Different Processing Protocols, Tesis de grado de Maestro en Ciencias de los Alimentos, Universidad Nacional de Seúl (2004)
- Fialová**, A., E. Boschke y T. Bley, Rapid monitoring of the biodegradation of phenol-like compounds by the yeast *Candida maltosa* using BOD measurements, *International Biodeterioration & Biodegradation* (54): 69 - 76 (2004)
- Figueroa-Navarrete**, A., En Curso básico de toxicología ambiental [L.A. Albert] Ed. OPS/Limusa Noriega, Cap. 10: Cromo, 2ª Edición, pp. 171-183 (1998)
- Filipovic-Kovacevic**, Ž., L. Sipos y F. Briški, Biosorption of Chromium, Copper, Nickel and Zinc Ions onto Fungal Pellets of *Aspergillus niger* 405 from Aqueous Solutions, *Food technol. Biotechnol.* 38(3): 211-216, ISSN: 1330-9862 (2000)
- Göksungur**, Y. y N. Zorlu, Production of ethanol from beet molasses by Ca-Alginate immobilized yeast cells in a packed-bed bioreactor, *Turk J Biol* 25: 265-275 (2001)
- Grady**, L., G.T. Daigger, H.C. Lim y M. Dekker, Biological wastewater treatment, Second edition, ISBN: 0849396794 (1999)

- Hajji**, K. T., Lépine F., Bisailon J. G., y Beaudet R., Simultaneous removal of phenol, *ortho*- and *para*-cresol by mixed anaerobic consortia , *Can. J. Microbiol.* 45(4): 318-325 (1999)
- Hao**, O.J., M.H. Kim, E.A. Seagren y H. Kim, Kinetics of phenol and chlorophenol utilization by *Acinetobacter species*, *Chemosphere* (46): 797-807 (2002)
- Hidalgo-Hidalgo**, S., Reutilización de residuos de rapa para la eliminación de metales tóxicos en efluentes líquidos, Tesis de grado de Ingeniero Industrial, Universitat Politècnica de Catalunya (2004)
- Horton**, R.N., W.A. Apel, V.S. Thompson y P.P. Sheridan, Low temperature reduction of hexavalent chromium by a microbial enrichment consortium and a novel strain of *Arthrobacter aurescens*, *BMC Microbiology*, ISSN 1471-2180 (2006)
- Instituto Nacional de Ecología (INE)**, Tecnologías de remediación, [en línea], [Acceso: 6 de junio de 2006], <http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/372/tecnolog.html> (2005)
- Ishibashi**, Y., C. Cervantes y S. Silver, Chromium Reduction in *Pseudomonas putida*, *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 56, No. 7: 2268-2270 (1990)
- Kok K. H.**, M.I.A. Karim y A. Ariff, Bioremoval of Cadmium, Lead and Zinc Using Non-living Biomass of *Aspergillus flavus*, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(7): 849-853 (2001)
- Kumar**, A., S. Kumar y S. Kumar, Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonasputida* MTCC 1194, *Biochemical Engineering Journal* 22: 151-159 (2005)
- Levin**, M. y M.A. Gealt, Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos, 1ª Edición en español, 1-338, Mc Graw-Hill, ISBN: 8448111303, Madrid, España (1997)
- Ley Federal de Derechos en Materia de Agua**, México, [en línea], [Acceso: 24 de agosto de 2006], <http://www.cna.gob.mx/portal/switch.asp?param=4012>
- Loukidou**, M.X., A.I. Zouboulis, T.D. Karapantsios y K.A. Matis, Equilibrium and kinetic modeling of chromium(VI) biosorption by *Aeromonas caviae*, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 242: 93-104 (2004)

- Mármol, Z., E. Gutiérrez, G. Páez, J. Ferrer y M. Rincón,** Desacetilación termoalcalina de quitina de conchas de camarón, *Multiciencias* 4(2): 1-10 (2006)
- Marquéz-Díaz, P.,** La Cáscara de Camarón: ¿Desecho o Materia Prima?, *Revista Juvenil Kanik*, [en línea], 2004 [Acceso: 08 Octubre del 2005; <http://www.cienciaytecnologia.yucatan.gob.mx/noticias/verarticulo.php?IdArticulo=37>]
- Mijares-Mastretta, A.P.,** Aislamiento y caracterización de bacterias con capacidad para inmovilizar Cadmio, Tesis de grado para Licenciatura en Biología con área en Biotecnología, Universidad de las Américas, Puebla (2003)
- Miranda-Castro, P.,** La quitina y su potencial industrial, *Periodismo de Ciencia y Tecnología*, [en línea], 2000 [Acceso: 10 Diciembre del 2005; <http://www.invdes.com.mx/antiores/Noviembre2000/htm/quitina.htm>]
- Monteiro, Á.A.M.G., R.A.R. Boaventura y A.E. Rodrigues,** Phenol biodegradation by *Pseudomonas putida* DSM 548 in a batch reactor, *Biochemical Engineering Journal* (6): 45-49 (2000)
- Moo-Young, M. y Y. Chisti,** Biochemical Engineering In Biotechnology, *Pure & Appl. Chem.* Vol. 66, No. 1: 117-136 (1994)
- Murialdo, S.E., R. Fenoglio, P.M. Haure y J.F. González,** Degradation of phenol and chlorophenols by mixed and pure cultures, *Water SA* Vol. 29 No. 4: 457 - 464, ISSN 0378-4738 (2003)
- Nasseri, S., M. Mazaheri Assadi, M. Noori Sepehr, Kh. Rostami, M. Shariat y K. Nadafi,** Chromium Removal from Tanning Effluent using Biomass of *Aspergillus oryzae*, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 5(10): 1056-1059 (2002)
- NOM-031- ECOL-1993,** Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de la industria actividades agroindustriales, de servicio y el tratamiento de aguas residuales a los sistemas de drenaje y alcantarillado urbano o municipal
- NOM-041-SSA-1993,** Bienes y servicios. Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias

- Nordberg, G.**, Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo, Cap. 63: Metales: Propiedades Químicas y Toxicidad, pp. 63.15-63.18, ISBN: 84-7434-987-7 (2003)
- Nordin, K.**, 4-chlorophenol biodegradation by *Arthrobacter chlorophenolicus* A6, Tesis de grado doctoral, Stockholm University, ISBN: 91-7265-875-4 (2004)
- O'Reilly, K.T y R.L. Crawford**, Degradation of Pentachlorophenol by Polyurethane-Immobilized *Flavobacterium Cells*, *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 55, No. 9: 2113-2118 (1989)
- Padilla, K. R., L. M. Blanco, S. Orozco y F. Jáuregui**, Degradación oxidativa del 2,4-Diclorofenol por vía sonoelectroquímica, *Ciencia UANL* Vol. VII, No. 1: 51 - 59, ISSN (Versión impresa): 1405-9177 (2004)
- Pakula, A., E. Bieszkiewicz, H. Boszczyk-Maleszak y R. Mycielski.** Biodegradation of phenol by bacterial strains from petroleum refining wastewater purification plant, *Acta Microbiologica Polonica* 48(3): 373-380 (1999)
- Park, D., Y-S. Yun, J.H. Jo y JM. Park**, Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*, *Water Research* 39: 533-540 (2005)
- Petrell, R., A. Ansari, B. Anstey, P. Doig, J. Lam, H. Wong y L. Xu**, Effectiveness of some low-cost sorbents for treating mixtures of heavy metals in runoff from the first major storm event after the extended dry period, [en línea], [Acceso: 11 Noviembre del 2005], <http://www.sustain.ubc.ca/pdfs/465finalreportsorbents.PDF> (2002)
- Puig, D. y D. Barceló**, Determination of polar priority phenols at parts per trillion levels in water using on-line liquid solid extraction followed by liquid chromatography with coulometric detection, *J. of Chromat.* 778(1-2): 313-319 (1997)
- Rashmi, K., K., T.N. Sowjanya , P.M. Mohan , V. Balaji y G. Venkateswaran**, Bioremediation of Co<sup>60</sup> from simulated spent decontamination solutions, *Science of the Total Environment*, [en línea], 2004, [Acceso: 04 Julio, 2005; <http://www.elsevier/locate/scitotenv>]
- Reddy G. V. B. y Gold M. H.**, Degradation of pentachlorophenol by *Phanerochaetes chrysosporium*: intermediates and reactions involved, *Microbiology* 146: 405-413, ISSN: 0002-3617 (2000)

- Rodríguez-Rosario**, K.J., Eficacia del hongo *Pleurotus ostreatus* como biorremediador de suelos contaminados con metales pesados, Tesis de Maestro en Ciencias en Biología, Universidad de Puerto Rico (2005)
- Rubiano-Hernández**, C. M., Estudio sobre las posibilidades de aplicación de la fotocatalisis heterogénea a los procesos de remoción de fenoles en medio acuoso, Monografía de Grado para Ingeniera de Petróleos e Ingeniero Químico, Universidad Nacional de Colombia (2004)
- Ruiz-Ordáz**, N., J.C. Ruiz-Lagunez, J.H. Castañón-González, E. Hernández-Manzano, E. Cristiani-Urbina y J. Galíndez-Mayer, Phenol Biodegradation Using a Repeated Batch Culture of *Candida tropicalis* in a Multistage Bubble Column, *Revista Latinoamericana de Microbiología* 43:19-25 (2001)
- Ruiz-Planas**, M., Development of techniques based on natural polymers for the recovery of precious metals, Memoria para Grado de Doctor en Ciencias Químicas, Universitat Politècnica de Catalunya (2002)
- Sala-Cossich**, E., C.R. Granhen-Tavares, T.M. Kakuta-Ravagnani, Biosorption of chromium(III) by *Sargassum sp.* Biomass, *Electronic Journal of Biotechnology* Vol.5 No.2: 133 – 140, ISSN: 0717-3458 (2002)
- Santos**, V.L. y V.R. Linardi, Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents—identification and degradation potencial, *Process Biochemistry* 39: 1001–1006 (2004)
- Schmuhl**, R., H.M. Krieg, K. Keizer, Adsorption of Cu(II) and Cr(VI) ions by chitosan: Kinetics and equilibrium studies, *Water SA* Vol. 27 No. 1: 1-8. ISSN: 0378-4738 (2001)
- Scopes**, R. K., Protein Purification Principles and Practice, Third Edition, Springer-Verlag New York, Inc., ISBN: 0387940723, New York (1994)
- Serna**, I., J. Torres, B. Hoyos, Recuperación de fenol de aguas residuales industriales por tratamiento con NaCl, *DYNA*, No. 139: 25-34, ISSN 0012-7353 (2003)
- Shen H.** y Y-T. Wang, Characterization of Enzymatic Reduction of Hexavalent Chromium by *Escherichia coli* ATCC 33456, *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 59, No. 11: 3771-3777 (1993)

- Shen, H.** y Y-T Wang, Simultaneous Chromium Reduction and Phenol Degradation in a Coculture of *Escherichia coli* ATCC 33456 and *Pseudomonas putida* DMP-1, *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 61 No. 7: 2754–2758 (1995)
- Shepherd, R.,** S. Reader y A. Falshaw, Chitosan functional properties, *Glycoconjugate Journal* 14: 535-542(1997)
- Shirai, K.,** Utilización de Desechos de Crustáceos para la Obtención de Quitina, Quitosano, Proteína y Quitinasas Mediante Biotecnología, Actividades Académicas, [en línea], 2005, [Acceso: 03 Junio del 2005; <http://www.ipicyt.edu.mx/ActividadesAcademicas/Documentos/resumenKSM.pdf> (2005)]
- Stoilova, I.,** A. Krastanov, V. Stanchev y D. Daniel, Biodegradation of high amounts of phenol, catechol, 2,4-dichlorophenol and 2,6-dimethoxyphenol by *Aspergillus awamori* cells, *Enzyme and Microbial Technology*, [en línea], 2006, [Acceso: 12 Enero del 2006; <http://www.elsevier/locate/scitotenv>]
- Suárez-Herrera, M.A.,** Aislamiento y caracterización de bacterias y hongos filamentosos degradadores de elevadas concentraciones de fenol y clorofenoles, Tesis de grado Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de la Habana (2004)
- Sun, A.K.** y T.K. Wood, Trichloroethylene Mineralization in a Fixed-Film Bioreactor Using a Pure Culture Expressing Constitutively Toluene *ortho*-Monooxygenase, *Biotechnol. Bioeng.* Vol. 55 No.4: 674-685, ISSN: 0006-3592 (1997), <http://cheweb.tamu.edu/orgs/groups/Wood/pdf/TCEbiofilter.pdf>
- Téllez, M. J.,** R.M. Carvajal y A.M. Gaitán, Aspectos toxicológicos relacionados con la utilización del cromo en el proceso productivo de curtiembres, *Rev Fac Med Univ Nac Colomb* Vol. 52 No. 1: 50-61 (2004)
- Toxicological Review of Phenol (TRP),** CAS No. 108-95-2, In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). U.S. Environmental Protection Agency, Washington D.C. [Acceso: 23 Agosto de 2005], <http://www.epa.gov/iris/toxreviews/0088-tr.pdf> (2002)
- Vieira, R.H.S.F.** y B. Volesky, Biosorption: a solution to pollution?, *Internatl Microbiol.* (3):17–24 (2000)
- Viggiani, A.,** G. Olivieri, L. Siani, A. Di Donato, A. Marzocchella, P. Salatino, P. Barbieri, E. Galli, An airlift biofilm reactor for the biodegradation of

phenol by *Pseudomonas stutzeri* OX1, *Journal of Biotechnology*, [en línea], 2006, [Acceso: 15 Abril del 2006; <http://www.elsevier/locate/jbiotec>]

**Volesky, B.** y Naja G., Biosorption: Application Strategies, *International Biohydrometallurgy Symposium*, [en línea], 2005 [Acceso: 02 Febrero del 2006; <http://www.biosorption.mcgill.ca/publication/BVibs05.pdf>]

**Volesky, B.**, Sorption and Biosorption, Published by BV Sorbex, Inc. ISBN: 0-9732983-0-8, Montreal, Canada (2003)

**Vullo, D.L.**, Microorganismos y metales pesados: una interacción en beneficio del medio ambiente, *Revista Química Viva*, Vol. 2 No. 3, ISSN: 1666-7948 (2003)

**Wang, P-C.**, T. Mori, K. Komori, M. Sasatsu, K. Toda y H. Ohtake, Isolation and Characterization of an *Enterobacter cloacae* Strain that Reduces Hexavalent Chromium under Anaerobic Conditions, *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 55, No. 7: 1665-1669 (1989)

**Yan, J.**, W. Jianping, B. Jing, W. Daoquan y H. Zongding, Phenol biodegradation by the yeast *Candida tropicalis* in the presence of *m*-cresol, *Biochemical Engineering Journal* 29: 227-234 (2006)

## APÉNDICES

**APÉNDICE A**  
**PREPARACIÓN DEL MEDIO AGAR CZAPECK**  
**Y CALDO CZAPECK**

**A1****MEDIO DE AGAR CZAPEK (1 LITRO)**

Para la preparación de un litro del medio agar Czapek se realiza de siguientes manera: 3g de nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ), 1g de fosfato de potasio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), 0.5g de cloruro de potasio ( $\text{KCl}$ ), 0.01g de sulfato férrico ( $\text{FeSO}_4$ ), 0.5g de sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ), 30g de sacarosa y 20g de agar bacteriológico. Todos los compuestos se disuelven en un litro de agua destilada. En condiciones estériles.

**A2****CALDO CZAPEK AL 1% DE SACAROSA (1 LITRO)**

Para la preparación de un litro del caldo Czapek se realiza de siguientes manera: 3g de nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ), 1g de fosfato de potasio ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), 0.5g de cloruro de potasio (KCl), 0.01g de sulfato férrico ( $\text{FeSO}_4$ ), 0.5g de sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ) y 10g de sacarosa. Todos los compuestos se disuelven en un litro de agua destilada. En condiciones estériles.

## **APÉNDICE B**

NMX-AA-044-SCFI-2001

ANÁLISIS DE AGUAS - DETERMINACIÓN DE CROMO HEXAVALENTE EN  
AGUAS NATURALES, POTABLES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS  
- MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-044-1981)

01/08/01

SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

NMX-AA-044-SCFI-2001

CDU: 543.3:546.76  
CANCELA A LAS  
NMX-AA-044-1981

**ANÁLISIS DE AGUAS - DETERMINACIÓN DE CROMO  
HEXAVALENTE EN AGUAS NATURALES, POTABLES,  
RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS - MÉTODO DE  
PRUEBA (CANCELA A LA NMX-AA-044-1981)**

**WATERS ANALISIS - DETERMINATION OF HEXAVALENT  
CHROMIUM IN NATURAL, DRINKING, WASTEWATERS AND  
WASTEWATERS TREATED - TEST METHOD**

## **0 - INTRODUCCIÓN**

Las sales de cromo hexavalente Cr (VI) se utilizan ampliamente en procesos industriales del acero, pinturas, colorantes y cerámicas. Las sales de cromo trivalente se utilizan en la industria textil para colorantes, en la industria de la cerámica y el vidrio, en la industria curtidora y en fotografía. El cromo en sus dos estados de oxidación se utiliza en diversos procesos industriales por tanto puede estar presente en las aguas residuales de dichas empresas.

El estado hexavalente es tóxico para los humanos, los animales y la vida acuática. Puede producir cáncer de pulmón cuando se inhala y fácilmente produce sensibilización en la piel. Sin embargo no se conoce si se produce cáncer por la ingestión de cromo en cualquiera de sus estados de oxidación.

## **1 - OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN**

Esta norma mexicana establece el método de análisis para la determinación de cromo hexavalente en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas.

## **2 - PRINCIPIO DEL MÉTODO**

El método se basa en una reacción de óxido reducción donde el cromo hexavalente Cr (VI) reacciona con la 1,5-difenilcarbazida en medio ácido para dar Cr<sup>3+</sup> y 1,5- difenilcarbazona de color violeta que se lee

espectrofotométricamente a 540 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de cromo hexavalente.

### **3 - DEFINICIONES**

Para los propósitos de esta norma se establecen las siguientes definiciones:

#### **3.1 Aguas naturales**

Se define como agua natural el agua cruda, subterránea, de lluvia, de tormenta, residual y superficial.

#### **3.2 Aguas residuales**

Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y similares, así como la mezcla de ellas.

#### **3.3 Análisis de blanco analítico**

Es el someter una alícuota de agua reactivo a todo el proceso de análisis por el cual pasa una muestra real. Los laboratorios deben realizar los análisis de blancos para corregir la señal de fondo del sistema de medición. El análisis de blancos se realizará en forma periódica o con cada lote de muestras según lo requiera el método.

#### **3.4 Bitácora**

Cuaderno de laboratorio debidamente foliado e identificado, en el cual los analistas anotan todos los datos de los procedimientos que siguen en el análisis de una muestra, así como todas las informaciones pertinentes y relevantes a su trabajo en el laboratorio. Es a partir de dichas bitácoras que los inspectores pueden reconstruir el proceso de análisis de una muestra tiempo después de que se llevó a cabo.

#### **3.5 Blanco**

Agua reactivo o matriz equivalente a la que no se le aplica ninguna parte del procedimiento analítico y sirve para evaluar la señal de fondo.

#### **3.6 Blanco analítico o de reactivos**

Agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la

presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.

### 3.7 Calibración

Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.

### 3.8 Descarga

Acción de verter, infiltrar o depositar o inyectar aguas residuales a un cuerpo receptor en forma continua, intermitente o fortuita, cuando éste es un bien del dominio público de la Nación.

### 3.9 Desviación estándar experimental

Para una serie de  $n$  mediciones del mismo mensurando, es la magnitud  $s$  que caracteriza la dispersión de los resultados, dado por la fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

donde:

$x_i$  es el resultado de la  $i$ -ésima medición, y

$\bar{x}$  es la media aritmética de los  $n$  resultados considerados.

### 3.10 Disolución estándar

Disolución de concentración conocida preparada a partir de un patrón primario.

### 3.11 Disolución madre

Corresponde a la disolución de máxima concentración en un análisis. Es a partir de esta disolución que se preparan las disoluciones de trabajo.

### 3.12 Exactitud

Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero del mensurando.

### 3.13 Límite de cuantificación del método (LCM)

Es la menor concentración de un analito o sustancia en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.

### 3.14 Límite de detección del método (LDM)

Es la mínima concentración de un analito o sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones en que se lleva a cabo el método.

### 3.15 Material de referencia

Material o sustancia en el cual uno o mas valores de sus propiedades son suficientemente homogéneas y bien definidas, para ser utilizadas para la calibración de aparatos, la evaluación de un método de medición, o para asignar valores a los materiales.

### 3.16 Material de referencia certificado

Material de referencia, acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de las propiedades están certificados por un procedimiento que establece la trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cual se expresan los valores de la propiedad, y en el que cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con un nivel declarado de confianza.

### 3.17 Medición

Conjunto de operaciones que tiene por objeto determinar el valor de una magnitud.

### 3.18 Mensurando

Magnitud particular sujeta a medición.

### 3.19 Muestra compuesta

La que resulta de mezclar un número de muestras simples. Para conformar la muestra compuesta, el volumen de cada una de las muestras simples debe ser proporcional al caudal de la descarga en el momento de su toma.

### 3.20 Muestra simple

La que se tome en el punto de descarga, de manera continua, en día normal de operación que refleje cuantitativa y cualitativamente el o los procesos más representativos de las actividades que generan la descarga, durante el tiempo necesario para completar cuando menos, un volumen suficiente para que se lleven a cabo los análisis necesarios para conocer su composición, aforando el caudal descargado en el sitio y en el momento de muestreo.

### 3.21 Parámetro

Variable que se utiliza como referencia para determinar la calidad del agua.

### 3.22 Patrón (de medición)

Material de referencia, instrumento de medición, medida materializada o sistema de medición destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad o uno o más valores de una magnitud para utilizarse como referencia.

### 3.23 Patrón nacional (de medición)

Patrón reconocido por una decisión nacional en un país, que sirve de base para asignar valores a otros patrones de la magnitud concerniente.

### 3.24 Patrón primario

Patrón que es designado o reconocido ampliamente como un patrón que tiene las más altas cualidades metrológicas y cuyo valor es aceptado sin referencia a otros patrones de la misma magnitud.

### 3.25 Patrón secundario

Patrón cuyo valor es establecido por comparación con un patrón primario de la misma magnitud.

### 3.26 Patrón de referencia

Patrón, en general de la más alta calidad metrológica disponible en un lugar dado, o en una organización determinada del cual se derivan las mediciones realizadas en dicho lugar.

### 3.27 Patrón de trabajo

Patrón que es usado rutinariamente para calibrar o controlar las medidas materializadas, instrumentos de medición o los materiales de referencia.

### 3.28 Precisión

Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre:

$$x = \bar{x} \pm t_{\alpha/2} \frac{s}{\sqrt{n}}$$

donde:

$\bar{x}$  es la media calculada a partir de un mínimo de tres mediciones independientes;

$t_{\alpha/2}$  es el valor de la  $t$  de Student para un nivel de significancia del 95 %;

$s$  es la desviación estándar de la muestra;

$n$  es el número de réplicas, y

$x$  es el resultado que incluye el intervalo de confianza.

### 3.29 Trazabilidad

Propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón por la cual pueda ser relacionado a referencias determinadas, generalmente patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas las incertidumbres determinadas

### 3.30 Verificación de la calibración

Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

## 4 - EQUIPO Y MATERIALES

Sólo se mencionan los equipos y materiales que son de relevancia para el presente método.

### 4.1 Equipo

4.1.1 Espectrofotómetro disponible para utilizarse de 190 nm a 900 nm y equipado con celdas de 1 cm de paso óptico de luz.

4.1.2 Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.

### 4.2 Materiales

Todo el material volumétrico utilizado en este procedimiento debe ser clase A con certificado o en su caso debe estar calibrado.

4.2.1 Papel filtro de poro fino

4.2.2 Papel indicador de pH

## 5 - REACTIVOS Y PATRONES

Todos los productos químicos usados en este método deben ser grado reactivo analítico, a menos que se indique otro grado.

Agua: Debe entenderse agua que cumpla con las siguientes características:

- a) Resistividad, megohm-cm a 25°C: 0,2 mín;
- b) Conductividad,  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 25°C: 5,0 máx, y
- c) pH: 5,0 a 8,0.

5.1 Acetona ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ )

5.2 Ácido nítrico concentrado ( $\text{HNO}_3$ )

5.3 Ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

5.4 Dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ )

5.5 1,5 Difenilcarbazida ( $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ )

5.6 Disolución de difenilcarbazida (5 mg/mL): Pesar aproximadamente y con precisión 250 mg de difenilcarbazida (ver inciso 5.5) y disolver en 50 mL de acetona (ver inciso 5.1). Almacenar en frascos de color ámbar con tapa con

recubierta de teflón; esta disolución es transparente al momento de prepararla, después toma un color amarillo claro. Descartar la disolución cuando comience a decolorarse, debe conservarse en refrigeración.

- 5.7 Disolución madre de cromo (500 mg/L): Secar aproximadamente 2 g de dicromato de potasio (ver inciso 5.4) en horno a 105°C por 1 h enfriar en el desecador. Pesar aproximadamente y con precisión 141,4 mg de dicromato de potasio, disolver con agua y aforar a 100 mL, 1 mL de esta disolución es equivalente a 500,0 µg de Cr (VI).
- 5.8 Disolución estándar de Cr (VI) 5 mg/L: Adicionar una alícuota de 1 mL de la disolución madre de cromo VI (ver inciso 5.7) a un matraz volumétrico de 100 mL y aforar con agua. 1 mL de esta disolución equivale a 5,0 µg de Cr (VI).
- 5.9 Disolución de ácido sulfúrico 0,2 N: Agregar 5,6 mL de ácido sulfúrico concentrado (ver inciso 5.3) a un matraz que contenga 500 mL de agua, mezcle y deje enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente diluya con agua a 1 L.

## **6 - RECOLECCIÓN, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS**

- 6.1 Se debe tomar un mínimo de 300 mL de muestra en frascos de vidrio.
- 6.2 Para determinar el Cr (VI) disuelto, es necesario filtrar la muestra con papel filtro de poro fino. Después de la filtración se debe acidificar con ácido nítrico concentrado (HNO<sub>3</sub>) hasta un pH < 2.
- 6.3 Todas las muestras deben refrigerarse a una temperatura de 4°C hasta su análisis.
- 6.4 Cuando se sospecha la presencia de hipobromito, persulfato o cloruros, las muestras deben ser analizadas inmediatamente.
- 6.5 El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 24 h.

## **7 - CONTROL DE CALIDAD**

- 7.1 Cada laboratorio que utilice este método debe operar un programa de control de calidad (CC) formal.
- 7.2 El laboratorio debe mantener los siguientes registros:

- Los nombres y títulos de los analistas que ejecutaron los análisis y el encargado de control de calidad que verificó los análisis.
- Las bitácoras manuscritas del analista y del equipo en los que se contengan los siguientes datos:
  - a) Identificación de la muestra;
  - b) Fecha del análisis;
  - c) Procedimiento cronológico utilizado;
  - d) Cantidad de muestra utilizada;
  - e) Número de muestras de control de calidad analizadas;
  - f) Trazabilidad de las calibraciones de los instrumentos de medición;
  - g) Evidencia de la aceptación o rechazo de los resultados, y
  - h) Además el laboratorio debe mantener la información original reportada por los equipos en disquetes o en otros respaldos de información.

De tal forma que permita a un evaluador externo reconstruir cada determinación mediante el seguimiento de la información desde la recepción de la muestra hasta el resultado final.

7.3 Cada vez que se adquiriera nuevo material volumétrico debe de realizarse la verificación de la calibración de éste tomando una muestra representativa del lote adquirido.

## **8 - CALIBRACIÓN**

Se debe contar con un registro de verificación de la calibración de los equipos y materiales siguientes:

8.1 Material volumétrico

8.2 Balanza analítica

8.3 Espectrofotómetro. Calibrar el equipo de acuerdo a las instrucciones específicas del fabricante.

8.4 Curva de calibración

8.4.1 Medir volúmenes de disolución estándar de Cr (VI) 5,0 µg/mL aproximadamente entre 2,0 mL y 20,0 mL. de esta disolución con un mínimo de 5 disoluciones para obtener estándares en el intervalo de 10 µg a 100 µg de Cr (VI), en matraces aforados de 100 mL, después transferirlos a matraces Erlenmeyer de 250 mL; agregar ácido sulfúrico 0,2 N hasta pH

de  $1,0 \pm 0,3$  y seguir el procedimiento que se indica a la muestra para el desarrollo de color (ver inciso 9).

8.4.2 Transferir una alícuota de cada estándar a la celda de absorción de 1 cm y medir su absorbancia a 540 nm.

8.4.3 Medir las disoluciones de calibración comenzando con la de menor concentración.

8.4.4 Construir una curva de calibración, graficando la absorbancia leída contra los  $\mu\text{g}$  de Cr (VI), evaluar la calidad de la curva obtenida.

**NOTA.-** Para compensar las posibles pérdidas de Cr (VI) durante las operaciones analíticas se debe seguir el mismo procedimiento a las disoluciones estándar de Cr (VI) que el que se realiza a la muestra.

## 9 - PROCEDIMIENTO

9.1 La alícuota necesaria para realizar el análisis de la muestra debe estar lo más clara posible, por lo que antes de empezar el método debe filtrarse a través de un papel filtro de poro fino. La alícuota para muestras muy claras debe ser de 100 mL.

9.2 Tratamiento de la muestra

Desarrollo de color:

9.2.1 Ajustar el pH a 1 con ácido sulfúrico 0,2 N, tomar una alícuota de 100 mL o una alícuota conveniente de acuerdo al contenido de Cr (VI) en la muestra y aforar con agua a 100 mL, si la muestra esta turbia, tomar una lectura de absorbancia previa a la adición del reactivo de difenilcarbazida, restar la absorbancia medida previamente al valor de la lectura final.

9.2.2 Añadir 2 mL de disolución de difenilcarbazida, mezclar y dejar reposar 10 min para desarrollar el color completamente.

9.2.3 Ajustar el espectrofotómetro con el blanco de reactivos a cero de absorbancia.

9.2.4 Medir la absorbancia a 540 nm en una celda de cuarzo de 1 cm de las muestras y estándares.

- 9.2.5 Registrar las lecturas de las absorbancias. Determinar los  $\mu\text{g}$  de Cr (VI) presentes en la muestra directamente de la curva de calibración.

## 10 - CÁLCULOS

- 10.1 Calcular la concentración de la muestra en  $\mu\text{g}$  Cr (VI) a partir de la ecuación de la recta representada por la siguiente ecuación:

$$Y = mX + b$$

donde:

$m$  es la pendiente ;  
 $b$  es la ordenada al origen;  
 $Y$  es la absorbancia, y  
 $X$  son los  $\mu\text{g}$  Cr (VI).

- 10.2 La concentración en mg/L de Cr (VI) se calcula con la siguiente ecuación:

Ecuación 1

$$\text{mg Cr/L} = \text{mg Cr (obtenidos en la curva)} / A$$

donde:

A son los mL de muestra original.

Considerar el empleo de los 102 mL de volumen final para la realización de los cálculos, ya que si el volumen de la muestra esta en 100 mL y posteriormente se realiza la adición de los 2 mL de difenilcarazida no provocará ningún factor de dilución. Lo anterior siempre y cuando tanto los estándares de la curva de calibración y las muestras sean procesadas de la misma forma.

- 10.2.1 Reportar los resultados en mg Cr/L, con la precisión correspondiente.

## 11 - INTERFERENCIAS

- 11.1 Interfieren el vanadio, titanio y hierro en concentraciones mayores de 5 mg/L, reduciendo la recuperación del cromo del 10-30 %. El hierro en su estado de oxidación bivalente reduce al Cr (VI) en una relación molar teórica de 3 moles de Fe (II) por un mol de Cr (VI), en pH ácido se favorece la reacción.

- 11.2 El Cobre en concentraciones mayores de 100 mg/L, reduce de un 20- 30 % la recuperación del cromo.
- 11.3 La reacción con la difenilcarbazida es prácticamente específica para el Cr (VI). Las sales de molibdeno hexavalente y de mercurio reaccionarán para formar color con el reactivo, pero las intensidades son mucho más bajas que para el cromo al pH especificado. Pueden tolerarse concentraciones de hasta 200 mg de Mo/L o Hg/L.
- 11.4 El molibdeno, vanadio y cobre en la muestra pueden causar interferencias. El vanadio interfiere fuertemente, sin embargo en concentraciones de hasta 10 veces las del Cr (VI) no causará problemas.
- 11.5 El Permanganato genera interferencias y el Fe (III) en concentraciones mayores a 1 mg/L puede producir un color amarillo.
- 11.6 Las concentraciones de nitritos mayores a 10 mg/L dan resultados bajos de Cr (VI).
- 11.7 Los sulfitos reducen al Cr (VI) en un medio ácido dando bajos resultados.
- 11.8 Se han identificado muestras de matrices diferentes, las cuales producen un complejo de color amarillo-naranja que interfiere con la determinación. En este caso el analista debe evaluar el efecto de la matriz con muestras adicionadas.
- 11.9 Las muestras con contenido orgánico pueden reducir el cromo (VI) a cromo (III).
- 11.10 Las interferencias de color y turbiedad pueden contrarrestarse con un blanco de muestra. Este debe prepararse igual que la muestra pero sin adicionar la 1,5 difenilcarbazida, la absorbancia del blanco de muestra se resta al de la muestra.

## 12 - SEGURIDAD

- 12.1 No ha sido determinado la carcinogenicidad de todos los reactivos con precisión. Por lo que cada sustancia química debe tratarse como peligro potencial a la salud. La exposición a estas sustancias debe reducirse al menor nivel posible.
- 12.2 Este método puede no mencionar todas las normas de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de

trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en éste método. Debe tenerse un archivo de referencia de las hojas de información de seguridad el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.

- 12.3 El ácido sulfúrico concentrado es un compuesto químico altamente corrosivo y debe manipularse con extremo cuidado. La adición del ácido sulfúrico al agua produce una reacción exotérmica fuerte y debe realizarse muy lentamente.
- 12.4 Cuando se trabaje con alguna de las sustancias químicas descritas en esta norma, deben tomarse las condiciones de seguridad apropiadas. Use ropa de protección como: batas de algodón, guantes y lentes de seguridad.
- 12.5 La preparación de todos los reactivos debe ejecutarse dentro de la campana de extracción.
- 12.6 El Cromo (VI) es un carcinógeno cuando es inhalado. Ingerido no hay evidencia de que lo sea. Se debe usar mascarilla.

### **13 - MANEJO DE RESIDUOS**

Es responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

- 13.1 Cada laboratorio debe contemplar dentro de su Programa de Control de Calidad el destino final de los residuos generados durante la determinación.
- 13.2 Los desechos ácidos se deben neutralizar para su posterior desecho.
- 13.3 Las muestras líquidas que salgan con altos contenidos de cromo hexavalente deben envasarse en recipientes herméticos, almacenar temporalmente tomando todas las precauciones necesarias y después envíelas al confinamiento de residuos peligrosos.
- 13.4 El laboratorio debe contar con un sitio de almacenamiento temporal de las disoluciones contaminadas que cumpla con las especificaciones de los reglamentos aplicables

13.5 Todas las muestras que cumplan con la norma de descarga a alcantarillado pueden ser descargadas en el mismo sistema.

#### 14 - BIBLIOGRAFÍA

- NOM-001-ECOL-1996                      Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de enero de 1997.
- NOM-008-SCFI-1993                      Sistema General de Unidades de Medida, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 14 de octubre de 1993.
- NMX-AA-003-1980                        Aguas residuales - Muestreo. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 25 de marzo de 1980.
- NMX-AA-014-1980                        Cuerpos receptores - Muestreo. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 5 de septiembre de 1980.
- NMX-AA-089/1-1986                      Protección al ambiente - Calidad del agua - Vocabulario - Parte 1. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 15 de julio de 1986.
- NMX-AA-115-SCFI-2001                    Análisis de agua - Criterios generales para el control de la calidad de resultados analíticos. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de abril de 2001.
- NMX-AA-116-SCFI-2001                    Análisis de agua - Guía de solicitud para la presentación de métodos alternos. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de abril de 2001.

Method 7196A, Chromium, Hexavalent (Colorimetric), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/Chemical Methods, SW-846, Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC, U.S., 1992, pp. 7196A-1 a 7196A-6.

Method 3500-Cr D, Colorimetric Method, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association, Washington, DC 20005, 19th Edition., 1995, pp. 3-59 a 3-60.

Method D-1687-92, Standard Test Methods for Chromium in Water, 1994, American Society for Testing and Materials, vol. 11.01, 1994, pp. 492 a 494  
Criterios Ecológicos de Calidad del Agua publicados en el Diario Oficial de la Federación el 13 de diciembre de 1989.

## **15 - CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES**

Esta norma mexicana no es equivalente a ninguna norma internacional por no existir referencia alguna al momento de su elaboración.

**México, D.F., a  
DIRECTOR GENERAL DE NORMAS**

**MIGUEL AGUILAR ROMO**

## **P R E F A C I O**

En la elaboración de la presente norma mexicana participaron las siguientes empresas e instituciones:

- CASA ROCAS, S.A. DE C.V.
- CENTRO DE SERVICIOS QUÍMICOS DE AGUASCALIENTES
- CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA
- COMISIÓN ESTATAL DE AGUA Y SANEAMIENTO

- COMISIÓN FEDERAL DE ELECTRICIDAD
- COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA
- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE PROTECCIÓN AL AMBIENTE
- CORPORACIÓN MEXICANA DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES
- FISHER SCIENTIFIC MEXICANA, S.A. DE C.V.
- GOBIERNO DEL DISTRITO FEDERAL  
Dirección General de Construcción y Operación Hidráulica;  
Dirección General de Normatividad y Apoyo Técnico.
- INSTITUTO MEXICANO DEL PETRÓLEO
- INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA
- INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
- INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES  
Campus Monterrey.
- LABORATORIO DE ECOLOGÍA INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO DE PEMEX PERFORACIÓN Y MANTENIMIENTO DE POZOS
- LABORATORIO DE QUÍMICA DEL MEDIO E INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO IDECA, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO QUÍMICO INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- LABORATORIOS ABC QUÍMICA, INVESTIGACIÓN Y ANÁLISIS, S.A. DE C.V.
- MERCK- MÉXICO, S.A. DE C.V.
- NOVAMANN, S.A. DE C.V.

Laboratorio Control Químico.  
PERKIN ELMER DE MÉXICO, S.A. DE C.V.

- PETROQUÍMICA CANGREJERA, S.A. DE C.V.
- PETROQUÍMICA MORELOS, S.A. DE C.V.
- PETROQUÍMICA PAJARITOS, S.A. DE C.V.
- PROTECCIÓN AMBIENTAL Y ECOLOGÍA, S.A. DE C.V.
- SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES  
Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
- SECRETARÍA DE SALUD
- SERVICIOS AMBIENTALES MULTIPLES E INGENIERÍA, S.A. DE C.V.
- SERVICIOS DE INGENIERÍA Y CONSULTORÍA AMBIENTAL, S.A. DE C.V.
- SISTEMA INTERMUNICIPAL DE AGUA POTABLE Y ALCANTARILLADO
- UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
- UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
Unidad Azcapotzalco.
- UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Facultad de Química;  
Instituto de Geofísica;  
Instituto de Ingeniería.
- VARIAN, S.A. DE C.V.

## APÉNDICE C

TABLAS DE PORCENTAJES DE REMOCIÓN Y DEGRADACIÓN DEL CROMO (VI) Y FENOL UTILIZANDO DIFERENTES BIOSORBENTES.

## C 1

TABLA 17

PORCENTAJES DE REMOCIÓN DE 100mg·L<sup>-1</sup> y 500mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL.

Horas	Porcentajes de remoción de 100mg·L <sup>-1</sup> Cr (VI) (%)					Porcentajes de remoción de 500mg·L <sup>-1</sup> Cr (VI) (%)				
	A-1	B-1	C-1	D-1	E-1	A-1	B-1	C-1	D-1	E-1
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	7.435	1.171	17.652	20.093	23.742	4.488	1.986	18.388	26.037	14.782
6	10.455	2.874	55.165	38.838	44.016	11.097	4.304	39.156	57.552	27.237
9	17.102	9.478	79.371	67.309	59.756	15.883	10.054	50.438	63.527	51.571
12	19.352	14.575	97.065	83.780	76.563	17.856	15.313	58.917	73.985	71.441
15	23.953	17.128	99.116	100	91.168	22.995	18.240	71.205	80.032	80.080
18	26.880	21.483	100	100	100	25.823	19.960	75.589	86.648	84.112
21	30.674	26.175	100	100	100	26.725	21.322	80.619	89.764	87.351
24	35.777	29.750	100	100	100	27.602	24.106	82.775	93.406	88.863

**A-1:** 2g/L de Quitosán; **B-1:** 5g/L de Quitosán; **C-1:** 1g/L *Aspergillus niger*; **D-1:** 1g/L *A. niger* y 2g/L de Quitosán; **E-1:** 1g/L *A. niger* y 5g /L de Quitosán.

## C 2

TABLA 18

PORCENTAJES DE DEGRADACIÓN DE 300mg·L<sup>-1</sup> Y 800mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL.

Horas	Porcentajes de degradación de 300mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)					Porcentajes de degradación de 800mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)				
	A-2	B-2	C-2	D-2	E-2	A-2	B-2	C-2	D-2	E-2
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	4.300	10.168	9.157	7.514	8.557	9.448	1.981	15.055	9.030	16.839
6	8.063	14.858	23.442	10.044	17.117	8.268	10.643	22.454	11.353	23.597
9	11.616	19.406	26.193	19.833	32.809	12.614	15.509	32.800	21.548	30.296
12	14.219	22.859	43.984	24.024	27.500	19.064	17.735	43.113	28.340	38.969
15	19.588	29.094	69.629	40.290	34.426	21.955	23.781	51.785	34.197	44.870
18	24.369	36.498	83.799	43.596	45.366	25.698	27.677	62.130	40.495	55.264
21	27.797	38.857	87.402	57.140	62.874	28.221	34.925	68.246	54.626	60.616
24	30.192	42.835	92.024	72.606	68.812	28.924	41.701	74.302	61.169	69.895

**A-2:** 2g/L de Quitosán; **B-2:** 5g/L de Quitosán; **C-2:** 1g/L *Aspergillus niger*; **D-2:** 1g/L *A. niger* y 2g/L de Quitosán; **E-2:** 1g/L *A. niger* y 5g /L de Quitosán.

## C 3

TABLA 19

PORCENTAJES DE REMOCIÓN DE 100mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 300 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL.

Horas	Porcentajes de remoción de 100mg·L <sup>-1</sup> Cr(VI) (%)					Porcentajes de degradación de 300mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)				
	A-3	B-3	C-3	D-3	E-3	A-3	B-3	C-3	D-3	E-3
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	11.117	7.275	26.230	26.315	21.440	5.301	0.165	26.647	10.106	6.597
6	18.096	11.781	53.401	44.142	34.287	9.8770	4.144	38.067	26.933	12.499
9	19.401	16.602	81.398	57.985	58.094	11.258	8.526	68.319	36.559	25.177
12	22.126	17.422	93.400	87.827	67.526	16.220	10.106	77.012	49.006	33.353
15	29.651	28.280	98.693	98.405	80.079	23.507	13.854	81.178	52.809	47.395
18	36.356	36.978	100	100	95.412	26.969	17.681	92.44	57.369	51.790
21	39.078	44.789	100	100	100	29.998	22.484	98.437	60.273	58.695
24	46.489	50.84	100	100	100	32.942	32.910	100	64.582	70.203

**A-3:** 2g/L de Quitosán; **B-3:** 5g/L de Quitosán; **C-3:** 1g/L *Aspergillus niger*; **D-3:** 1g/L *A. niger* y 2g/L de Quitosán; **E-3:** 1g/L *A. niger* y 5g /L de Quitosán.

## C 4

TABLA 20

PORCENTAJES DE REMOCIÓN DE 100mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 800 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL.

Horas	Porcentajes de remoción de 100mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)					Porcentajes de degradación de 800mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)				
	A-4	B-4	C-4	D-4	E-4	A-4	B-4	C-4	D-4	E-4
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	4.554	0.656	18.088	19.434	6.142	6.083	4.669	14.853	8.055	11.827
6	6.488	4.302	39.992	37.751	39.793	10.414	9.963	31.943	16.534	15.097
9	10.541	15.548	62.578	57.535	54.255	14.903	12.069	47.510	26.072	23.914
12	12.264	20.694	83.049	74.803	69.141	17.437	17.180	59.178	37.581	26.29
15	23.251	31.115	94.681	99.691	86.566	20.846	18.538	62.457	47.127	38.074
18	25.313	41.847	100	100	97.555	22.309	19.636	74.708	51.409	50.896
21	29.680	52.525	100	100	100	24.808	22.611	82.624	62.794	68.181
24	30.233	54.800	100	100	100	26.470	28.197	86.439	76.4	84.257

**A-4:** 2g/L de Quitosán; **B-4:** 5g/L de Quitosán; **C-4:** 1g/L *Aspergillus niger*; **D-4:** 1g/L *A. niger* y 2g/L de Quitosán; **E-4:** 1g/L *A. niger* y 5g /L de Quitosán.

## C 5

TABLA 21

PORCENTAJES DE REMOCIÓN DE 500mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 300 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL.

Horas	Porcentajes de remoción de 500mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)					Porcentajes de degradación de 300mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)				
	A-5	B-5	C-5	D-5	E-5	A-5	B-5	C-5	D-5	E-5
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	4.805	1.306	31.653	15.271	13.685	11.060	3.871	25.785	12.164	23.794
6	5.571	3.321	78.602	22.255	21.877	14.684	5.786	35.147	22.123	31.587
9	13.765	6.020	85.429	38.826	36.962	19.831	11.008	57.876	29.972	35.752
12	19.899	6.3270	89.897	47.241	49.848	17.681	12.582	75.286	36.433	48.511
15	24.032	27.685	92.966	54.854	60.336	23.081	30.753	80.075	42.738	54.629
18	30.843	30.870	95.469	67.044	67.971	25.664	28.696	83.533	49.759	62.360
21	37.144	37.801	96.776	74.245	73.622	29.647	37.198	95.741	57.695	69.144
24	39.002	39.085	97.851	84.092	78.689	30.550	44.95	100	68.137	73.101

**A-5:** 2g/L de Quitosán; **B-5:** 5g/L de Quitosán; **C-5:** 1g/L *Aspergillus niger*; **D-5:** 1g/L *A. niger* y 2g/L de Quitosán; **E-5:** 1g/L *A. niger* y 5g /L de Quitosán.

## C 6

TABLA 22

PORCENTAJES DE REMOCIÓN DE 500mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 800 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN MATRAZ ERLLENMEYER DE 250 mL.

Horas	Porcentajes de remoción de 500mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)					Porcentajes de degradación de 800mg·L <sup>-1</sup> fenol (%)				
	A-6	B-6	C-6	D-6	E-6	A-6	B-6	C-6	D-6	E-6
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	4.710	2.903	10.401	6.407	16.391	6.249	8.496	17.025	15.259	8.581
6	8.943	6.813	27.275	24.973	45.985	9.792	16.726	23.859	18.222	20.920
9	14.526	15.521	56.101	33.900	46.577	15.781	19.078	31.280	23.401	26.126
12	19.833	19.638	80.078	41.878	57.240	16.653	23.581	36.461	29.217	34.740
15	24.582	23.470	85.186	52.293	63.605	19.319	26.808	46.068	38.662	39.752
18	32.437	24.547	91.061	64.282	67.889	21.364	36.44	53.359	51.352	56.277
21	39.859	36.531	93.271	72.153	73.790	23.473	37.687	65.496	76.058	62.682
24	44.234	40.478	95.437	79.764	80.860	25.909	40.848	81.380	79.864	73.877

**A-6:** 2g/L de Quitosán; **B-6:** 5g/L de Quitosán; **C-6:** 1g/L *Aspergillus niger*; **D-6:** 1g/L *A. niger* y 2g/L de Quitosán; **E-6:** 1g/L *A. niger* y 5g /L de Quitosán.

## C 7

TABLA 23

REMOCIÓN DE 100mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 300 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN UN BIORREACTOR DE LECHO FIJO.

Horas	% de Remoción y Degradación	
	Cromo (VI)	Fenol
0	0	0
1.5	41.416	7.3095
3	58.066	50.369
4.5	78.462	69.775
6	95.112	75.816
7.5	100	83.364
9	100	95.054
10.5	100	100

(%): Porcentaje de remoción y degradación

## C 8

TABLA 24

REMOCIÓN DE 100mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 800 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN UN BIORREACTOR DE LECHO FIJO.

Horas	% de Remoción y Degradación	
	Cromo (VI)	Fenol
0	0	0
1.5	37.339	22.334
3	56.208	32.986
4.5	69.912	43.351
6	89.7741	58.226
7.5	100	71.661
9	100	76.775
10.5	100	87.145

(%): Porcentaje de remoción y degradación

## C 9

TABLA 25

REMOCIÓN DE 500mg·L<sup>-1</sup> DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE 300 mg·L<sup>-1</sup> DE FENOL EN UN BIORREACTOR DE LECHO FIJO.

Horas	% de Remoción y Degradación	
	Cromo (VI)	Fenol
0	0	0
1.5	12.299	23.489
3	21.298	53.011
4.5	31.497	72.375
6	37.797	77.041
7.5	47.096	85.864
9	62.095	100
10.5	68.095	100

(%): Porcentaje de remoción y degradación

## C 10

TABLA 26

REMOCIÓN DE  $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  DE Cr (VI) Y DEGRADACIÓN DE  $800\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  DE FENOL EN UN BIORREACTOR DE LECHO FIJO.

Horas	% de Remoción y Degradación	
	Cromo (VI)	Fenol
0	0	0
1.5	4.212	16.738
3	14.141	30.587
4.5	22.265	50.521
6	40.619	63.529
7.5	48.743	74.627
9	59.875	81.968
10.5	65.893	88.758

(%): Porcentaje de remoción y degradación

## **RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO**

Ing. Sagrario de Jesús García Ham

Candidato para el grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS con Orientación en  
Procesos Sustentables

### **Tesis**

REMOCIÓN Y DEGRADACIÓN SIMULTÁNEA DE CROMO (VI) Y FENOL  
EN EFLUENTES LÍQUIDOS SINTÉTICOS UTILIZANDO *Aspergillus niger* EN  
UN BIORREACTOR DE LECHO FIJO

### **Campo de Estudio**

Procesos Biotecnológicos

### **Biografía**

Nacida en Cd. Madero, Tamaulipas, México; el 14 de Abril de 1981, Hija de José de Jesús García Ávila y María Sara Ham Martínez.

**Estudios:** Licenciatura en Ingeniería Química en el Instituto Tecnológico de Ciudad Madero (1998-2003).