

## **INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ**

### **INFORME TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL**

#### **INGENIERIA BIOQUÍMICA**

#### **PROYECTO**

**“CARBÓN ACTIVADO COMO SOPORTE PARA MEDIADORES REDOX  
Y BIOPELÍCULA APLICADO EN EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES  
TEXTILES”**

#### **PRESENTA**

Lea López López

#### **NUMERO DE CONTROL**

12270687

#### **ASESOR INTERNO**

**Dr. José Humberto Castañón González**  
Profesor – investigador del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez

#### **ASESOR EXTERNO**

**Dr. Luis Humberto Álvarez Valencia**  
Profesor – investigador de la Universidad Autónoma de Nuevo León

# INDÍCE

<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	ivii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	v
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 Justificación.....	3
1.2 Planteamiento del problema.....	4
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 General.....	5
1.3.2 Específicos.....	5
1.4 Hipótesis.....	5
<b>II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA</b> .....	6
2.1 Tratamiento biológico de efluentes textiles .....	6
2.1.1 Caracterización.....	6
2.1.2 Colorantes.....	7
2.1.3 Impacto ambiental de colorantes.....	12
2.2 Tratamiento de aguas residuales coloridas provenientes de la industria textil.....	12
2.2.1 Sistemas fisicoquímicos.....	13
2.2.2 Sistemas biológicos.....	15
2.2.2.1 Sistemas aerobios.....	16
2.2.2.2 Sistemas anaerobios.....	17
2.3 Efecto de mediadores redox en la reducción de colorantes.....	19
2.3.1 Papel de mediadores redox soluble e inmovilizada en la transformación de colorantes azo.....	21
2.3.2 Impacto de bio-película en sistemas de decoloración con agentes azo.....	24

<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
3.1 Reactivos y materiales.....	26
3.1.1 Reactivos.....	26
3.1.2 Medio de cultivo.....	26
3.2 Modificación del Carbón Activado .....	27
3.3 Biotransformación de naranja de metilo con diferentes tipos de MRsol .....	28
3.4 Cinética de decoloración con Quinona inmovilizada, carbón activado y biomasa suspendida .....	29
3.5 Formación de la bio-película sobre el carbón activado.....	31
3.6 Operación de reactores en continuo con bio-película sobre el carbón activado.....	32
3.7 Decoloración en lote de naranja de metilo en presencia de la bio-película sobre el carbón activado .....	33
3.8 Métodos analíticos.....	33
3.8.1 Demanda química de oxígeno (DQO).....	33
3.8.2 Medición de color.....	33
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>35</b>
4.1 Inmovilización de AQS en CA .....	35
4.2 Decoloración de NM con diversos tipos de MRsol.....	36
4.3 Cinéticas de decoloración NM en presencia de CA-AQS.....	38
4.4 Cinética en lote de la decoloración de RC en presencia de la bio-película sobre el CA.....	41
4.5 Reactores en continuo con bio-película sobre el CA en la biotransformación de NM.....	43
<b>V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>45</b>
<b>VI. REFERENCIAS.....</b>	<b>46</b>

## LISTA DE TABLAS

2.1	Clasificación de colorantes según su método de aplicación .....	8
2.2	Métodos físicos y químicos para el tratamiento de efluentes coloridos.....	14
2.3.	Mediadores redox utilizados en la reducción de colorantes azo con lodo granular anaerobio en experimentos en lote. ( Van der Zee y Cervantes 2009).....	19
3.1	Parámetros de $MR_{sol}$ para de la cinética en lote de NM.....	27
3.2	Parámetros de la cinética en lote de CA-AQS.....	29
3.3	Parámetros de la cinética CA-AQS con la bio-película formada.....	32

## LISTA DE FIGURAS

2.1	Colorantes azoicos .....	11
2.2	Ejemplificación de tratamiento anaeróbico-aeróbico en biotransformación de e colorantes azoicos a aminas aromáticas (Van der Zee y Villaverde, 2005).....	18
2.3	Métodos de reducción de colorantes azo en presencia de mediadores Redox...	21
2.4	Estructura de la Riboflavina.....	22
2.5	Estructura química de 2,6 Disulfonato de antraquinona (AQDS).....	23
2.6	Mecanismo de reducción de colorantes azo a través del compuesto modelo AQDS (2,6- disulfonato de antraquinona).....	23
2.7	Fibras de carbón activado sin biomasa adherida y con bio-película después de 3 semanas de contacto .....	25
3.1	Modificación del CA-AQS .....	27
3.2	Lodo sólido, Intercambio de atmósfera.....	29
3.3	Botellas serológicas con NM 150g/L.....	30
3.4	Lodo disgregado, lodo líquido, medio basal, bomba peristáltica.....	31
3.5	Reactores en continuo para la formación de la bio-película. ....	31
3.6	Reactor en continuo con bio-película y medio rojo Congo.....	32
3.7	Cinética en lote de decoloración de rojo Congo.....	34
4.1	Pruebas de desorción del AQS en CA.....	35
4.2	Decoloración de NM, utilizando glucosa como fuente de electrones y diferentes mediadores redox solubles .....	36
4.3	Frascos con NM y MR <sub>sol</sub> , Decoloración de NM después de 7h con diferentes MR <sub>sol</sub> .....	37
4.4	Decoloración de NM bajo distintos parámetros de CA-AQS.....	39
4.5	Frascos de NM después de 12h bajo distintos parámetros de CA-AQS.....	40
4.6	Decoloración de RC bajo parámetros de CA, CA-AQS ambos con la bio-película adherida.....	41
4.7	Cinética en lote de la biotransformación RC.....	42
4.8	Reactores en continuo con bio-película bajo la decoloración de RC.....	44

## I. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas ambientales más serios son los ocasionados por efluentes con color provenientes de procesos industriales, siendo los colorantes azóicos los más usados en la industria textil, alimentaria, papelera y de cosméticos entre otras; luego, son vertidos a los efluentes sin ningún tratamiento ocasionando consecuencias graves para el ambiente debido a que poseen una alta carga contaminante y son difíciles de degradar, además tienen efectos perjudiciales para la salud debido a sus propiedades carcinogénicas, alergénicas y mutagénicas (Rajaguru *et al.*, 2002). El color puede ser removido por procesos fisicoquímicos pero la consecuencia es agregar más contaminación al ambiente; también pueden ser degradados por procesos biológicos (Van der Zee *et al.*, 2005). Estos últimos tienen la ventaja de ser más amigables para el ambiente y más económicos comparados con los tratamientos físico-químicos constituyéndose en una alternativa ecológica y económicamente viable para su degradación.

El incremento acelerado de la tecnología para mejorar, facilitar y aumentar la calidad de vida en la actualidad se ha manifestado a través de una gran diversidad de formas. Una de ellas se presenta a través del desarrollo industrial, lo cual se comprueba en el aumento considerable del sector alimenticio, manufacturero y textil por mencionar algunos casos. El sector textil representa un giro importante alrededor del mundo debido a la gran demanda de telas y a las implicaciones económicas de su producción. Se estima que la manufactura de telas a nivel mundial es de más de un millón de toneladas anuales, de las cuales el principal exportador es el continente Asiático, seguido por Europa y Norte América (Dos Santos, 2003).

Desafortunadamente, la operación de la industria textil también se ha destacado por el fuerte impacto ambiental que se presenta a causa de los desechos generados durante el proceso de teñido de telas y derivados. Las aguas residuales textiles, que en su mayoría contienen altas concentraciones de salinidad, son difíciles de tratar

debido a la gran diversidad de contaminantes dependiendo del tipo de materiales utilizados, por ejemplo, la variedad de fibras e hilos y otros productos químicos. Entre los contaminantes presentes en los efluentes de aguas residuales destaca la presencia de colorantes, los cuales se muestran de forma variada y son de difícil eliminación.

En la actualidad es poca la información que se presenta a través de varias alternativas aplicadas a la eliminación de colorantes y en general al tratamiento para eliminación de contaminantes presentes en efluentes de aguas residuales textiles. También juegan un papel importante la utilización de mediadores redox como quinonas y sustancias húmicas, que pueden actuar como acarreadores de electrones en tratamientos biológicos anaerobios durante la reducción de colorantes tipo azo (con uno o más enlaces N=N) (Van Der Zee ,2002).

## **1.1. Justificación**

La presencia de vertimientos líquidos con contenidos de colorantes ha generado deterioro en la calidad del agua de las fuentes que reciben estas descargas, desfavoreciendo sus características estéticas, organolépticas y la presencia de fauna íctica debido a las interferencias que provocan con el ingreso de luz natural para que se dé la productividad primaria en estos ecosistemas, de esta forma se deterioran los eslabones en la cadena trófica y la pérdida de biodiversidad; es por ello, que es importante las iniciativas para disminuir la demanda de bienes y servicios ambientales, además, de los pasivos ambientales entorno a los vertimientos coloreados, de esta forma, mediante este estudio de degradación de los colorantes Naranja de Metilo y Rojo Congo se pretende dar solución e incrementar la capacidad técnica y científica al tratamiento de efluentes con presencia de colorantes azoicos como es el caso del Naranja de Metilo. Este trabajo se centra en una alternativa a través de un método biológico que permita la degradación de colorantes textiles a través de una bio-película de bacterias sobre el CA en un medio salino y en presencia de mediadores redox.



## **1.2. Planteamiento del problema**

El agua representa uno de los recursos más indispensables para la vida humana. Además de formar parte esencial de la vida, constituye la mayor parte de los organismos vivos, es utilizada en casi toda clase de actividades humanas, por ejemplo, es vital para agricultura, procesos industriales, generación de energía eléctrica, asimilación de desechos, entre otras actividades (Enkerlin et al, 1997).

La contaminación del agua es un factor que ha sido afectado con el desarrollo de la humanidad, los recursos naturales están siendo sobre explotados con la finalidad de satisfacer la necesidad del hombre. Durante muchos años el agua se ha empleado como vehículo para eliminar toda clase de desechos y no se tenía suficiente conocimiento sobre el impacto que estos contaminantes podrían tener sobre el ecosistema y la salud humana, así como del hecho de que el agua puede ser reutilizada. Existen diferentes formas de tratamientos de aguas contaminadas y uno de esos son los procesos redox, los cuales son empleados cuando el contaminante cambia sus propiedades toxicas al invertir su estado de oxidación.

Múltiples contaminaste son muy recalcitrantes bajo condiciones anaerobias como es el caso de los colorantes azo, compuestos polihalogenados, nitro aromático, entre otros. Debido a esto, en los últimos años se han utilizado algunas técnicas, entre las cuales se encuentra el agregar catalizadores con propiedades de óxido reducción (mediadores redox) para acelerar la biotransformación de colorantes azo durante los procesos anaerobios (Rau et al.2002; Field & Brady ,2003; Dos santos et al., 2004; Dos santos et al., 2005). Conociendo lo anterior es importante investigar nuevas alternativas que involucren la biodegradación de colorantes en condiciones características y contribuir a determinar la velocidad de reducción de colorantes azoicos que se presentará variando dichas condiciones.

## **1.3. Objetivos**

### **.3.1.General**

- ✓ Evaluar la capacidad catalítica de una bio-película y un mediador redox soportados en carbón activado granular durante la decoloración de efluentes textiles en reactores anaerobios en continuo.

### **.3.2.Específicos**

- ✓ Formar una bio-película bacteriana sobre el carbón activado.
- ✓ Evaluar la capacidad catalítica de una bio-película y un mediador redox soportados en carbón activado granular durante la decoloración de Rojo Congo (RC) en reactores anaerobios en continuo.
- ✓ Obtener altas concentraciones de decoloración para las cinéticas en lote con la bio-película sobre el carbón modificado.

## **1.4 Hipótesis**

La formación de una bio-película sobre el carbón activado con un consorcio anaerobio es más es más eficiente en comparación con un carbono sin bio-película.

## II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### 2.1 Tratamiento biológico de efluentes textiles

#### 2.1.1 Caracterización

Uno de los problemas ambientales más serios son los ocasionados por efluentes con color provenientes de procesos industriales, siendo los colorantes azoicos los más usados en la industria textil, alimentaria, papelera y de cosméticos entre otras; luego, son vertidos a los efluentes sin ningún tratamiento ocasionando consecuencias graves para el ambiente debido a que poseen una alta carga contaminante y son difíciles de degradar, además tienen efectos perjudiciales para la salud debido a sus propiedades carcinogénicas, alergénicas y mutagénicas. El color puede ser removido por procesos fisicoquímicos pero la consecuencia es agregar más contaminación al ambiente; también pueden ser degradados por procesos biológicos. (Rai, H., *et al.* 2005; Van der Zee, *et al.* 2005) Estos últimos tienen la ventaja de ser más amigables para el ambiente y más económicos comparados con los tratamientos físico-químicos constituyéndose en una alternativa ecológica y económicamente viable para su degradación (Pandey, *et al.* 2007).

Los contaminantes importantes en los efluentes textiles son principalmente sustancias orgánicas recalcitrantes, color, sustancias tóxicas e inhibidoras, tensioactivos, compuestos clorados (AOX), pH y sales. El colorante es el componente más difícil de las aguas residuales textiles a tratar. Los colorantes azoicos son la clase de colorantes más utilizados industrialmente, con una participación en el mercado mundial del 60-70%. Los colorantes azo reactivos se están volviendo más populares en la industria textil, que se utilizan principalmente para el teñido de algodón. Sin embargo, los colorantes reactivos se hidrolizan fácilmente, dando como resultado una alta proporción de tintes reactivos no fijados (o hidrolizados), que tienen que ser lavados durante el proceso de tintura. Hasta el 50% de la carga de colorante inicial está presente en el efluente del baño de tinte. (Sen & Demirer, 2003).

### 2.1.2 Colorantes

El primer colorante sintético, Mauveine, fue descubierto por Perkin en 1856. La industria de los primeros tintes vio el descubrimiento de los principales cromógenos de colorantes (el arreglo básico de los átomos responsables del color de un tinte). De hecho, aparte de una o dos notables excepciones, todos los tipos de tintes utilizados hoy en día fueron descubiertos en el siglo XIX.

El descubrimiento de colorantes reactivos en 1954 y su lanzamiento comercial en 1956 anunció un gran avance en el teñido del algodón; La investigación intensiva sobre los tintes reactivos siguió durante las dos décadas siguientes y, de hecho, todavía continúa hoy. La crisis del petróleo a principios de los años setenta, que dio lugar a un fuerte aumento de los precios de las materias primas para los colorantes, creó un impulso para obtener tintes más rentables, mejorando la eficiencia de los procesos de fabricación y reemplazando los cromógenos tintorialmente débiles, Antraquinona, con cromógenos tintorialmente más fuertes, como azo (heterocíclico) y benzodifuranona (Hunger,2003).

Los colorantes se pueden clasificar según la estructura química o por su uso o método de aplicación. El primer enfoque es adoptado por los químicos de teñido de la práctica, que utilizan términos como colorantes azoicos, colorantes de antraquinona y tintes de ftalocianina. Este último enfoque es utilizado predominantemente por el usuario del colorante, el tecnólogo de tintura, que habla de colorantes reactivos para el algodón y colorantes dispersos para poliéster. Muy a menudo, se usan ambas terminologías, por ejemplo, un colorante azo disperso para poliéster y un colorante reactivo de ftalocianina para algodón.

La clasificación de los colorantes de acuerdo con su uso se resume en la Tabla 2.1, que está dispuesta según el C.I. Clasificación de la aplicación. Muestra los principales sustratos, los métodos de aplicación y los tipos químicos representativos para cada clase de aplicación. Aunque no se muestran en la Tabla 2.1, los colorantes también se usan en aplicaciones de alta tecnología, tales como en la industria médica, electrónica, y especialmente en las industrias de impresión sin impacto. Por

ejemplo, se utilizan en el electro fotografía (fotocopia e impresión láser) tanto en el tóner como en el fotoconductor orgánico, en la impresión por chorro de tinta y en la impresión directa y por transferencia térmica. Como en las aplicaciones tradicionales, predominan los colorantes azoicos; Ftalocianina, antraquinona, xanteno y trifenilmetano. Estas aplicaciones son actualmente de bajo volumen (decenas de kilogramos hasta varios cientos de toneladas por año) pero de alto valor agregado (cientos de dólares a muchos miles de dólares por kilogramo), con altas tasas de crecimiento (hasta el 60%).

Tabla 2.1 Clasificación de colorantes según su método de aplicación.

<b>CLASE</b>	<b>SUSTRATOS PRINCIPALES</b>	<b>METODO DE APLICACION</b>	<b>DE TIPOS DE QUIMICOS</b>
<b>Ácido.</b>	Nylon, lana, seda, papel, Tintas y cuero.	Generalmente de neutro a ácido Baños de tinte	Azo (incluso premetalizado), Antraquinona, trifenilmetano, Azina, xanteno, nitro y nitroso
<b>Componentes y composiciones azoicas.</b>	Algodón, rayón, acetato de celulosa y poliéster.	Fibra impregnada con componente de acoplamiento y tratada con una solución de sal de diazonio estabilizada.	Azo
<b>Básico</b>	Papel, poliacrilonitrilo, nylon modificado, poliéster y tintas.	Aplicado de los baños de tintes ácidos.	Cianina, hemicianina, diazahemicianina, difenilmetano, triarilmetano, azo, azina, xanteno, acridina, oxazina y antraquinona.
<b>Directo</b>	Algodón, rayón, papel, cuero y	Aplicado desde baños neutros o	Azo, ftalocianina, estilbeno y

	nylon.	ligeramente alcalinos que contienen electrolito adicional.	oxazina.
<b>Disperso</b>	Poliéster, poliamida, acetato, acrílico y plásticos.	Dispersiones acuosas finas a menudo aplicadas por métodos de alta temperatura / presión o de temperatura más baja; El colorante puede ser acolchado en tela y cocido en o termofijado.	Azo, antraquinona, estirilo, nitro y benzodifuranona.
<b>Abrillantadores fluorescentes.</b>	Jabones y detergentes, todas las fibras, aceites, pinturas y plásticos.	A partir de una solución, dispersión o suspensión en una masa.	Estilbeno, pirazoles, cumarina y naftalimidias.
<b>Alimentos, medicamentos y cosméticos.</b>	Alimentos, medicamentos y cosméticos.		Azo, antraquinona, carotenoide y triarilmetano.
<b>Mordaz</b>	Lana, cuero y aluminio anodizado	Aplicado conjuntamente con sales de Cr.	Azo y antraquinona.
<b>Bases de oxidación.</b>	Pelo, piel y algodón.	Aminas aromáticas y fenoles oxidados sobre el sustrato.	Anilina negra y estructuras indeterminadas.

<b>Reactivo.</b>	Algodón, lana, seda y nylon.	Reactivo sobre el colorante reacciona con el grupo funcional sobre la fibra para unir el colorante covalentemente bajo la influencia del calor y el pH (alcalino).	Azo, antraquinona, ftalocianina, formazano, oxazina, y básico.
<b>Solvente.</b>	Plásticos, gasolina, barnices, lacas, manchas, tintas, grasas, aceites y ceras.	Disolución en el sustrato.	Azo, trifenilmetano, antraquinona y ftalocianina.
<b>Azufre.</b>	Algodón y rayón.	Aromático revestido con sulfuro de sodio y reoxidado a productos que contienen azufre insolubles sobre fibra.	Estructuras indeterminadas.
<b>Tina.</b>	Algodón, rayón y lana.	Los colorantes insolubles en agua se solubilizaron reduciendo con hidrogenosulfito sódico, después se agotaron en fibra y se reoxidaron.	Antraquinona (incluidas quinonas policíclicas) e indigoides.

Los colorantes azoicos son, con mucho, la clase más importante, representando más del 50% de todos los colorantes comerciales, y han sido estudiados más que cualquier otra clase. Los colorantes azoicos contienen al menos un grupo azo (-N=N-) pero pueden contener dos grupos (diaz), tres (trisazo) o, más raramente, cuatro (tetrakisazo) o más (polazo) azo. El grupo azo está unido a dos grupos, de los cuales al menos uno, pero más usualmente ambos, son aromáticos. Un ejemplo de este tipo de colorante es el NM, el cual presenta un enlace azo, un grupo  $\text{SO}_3^-$  (Figura 2.1).

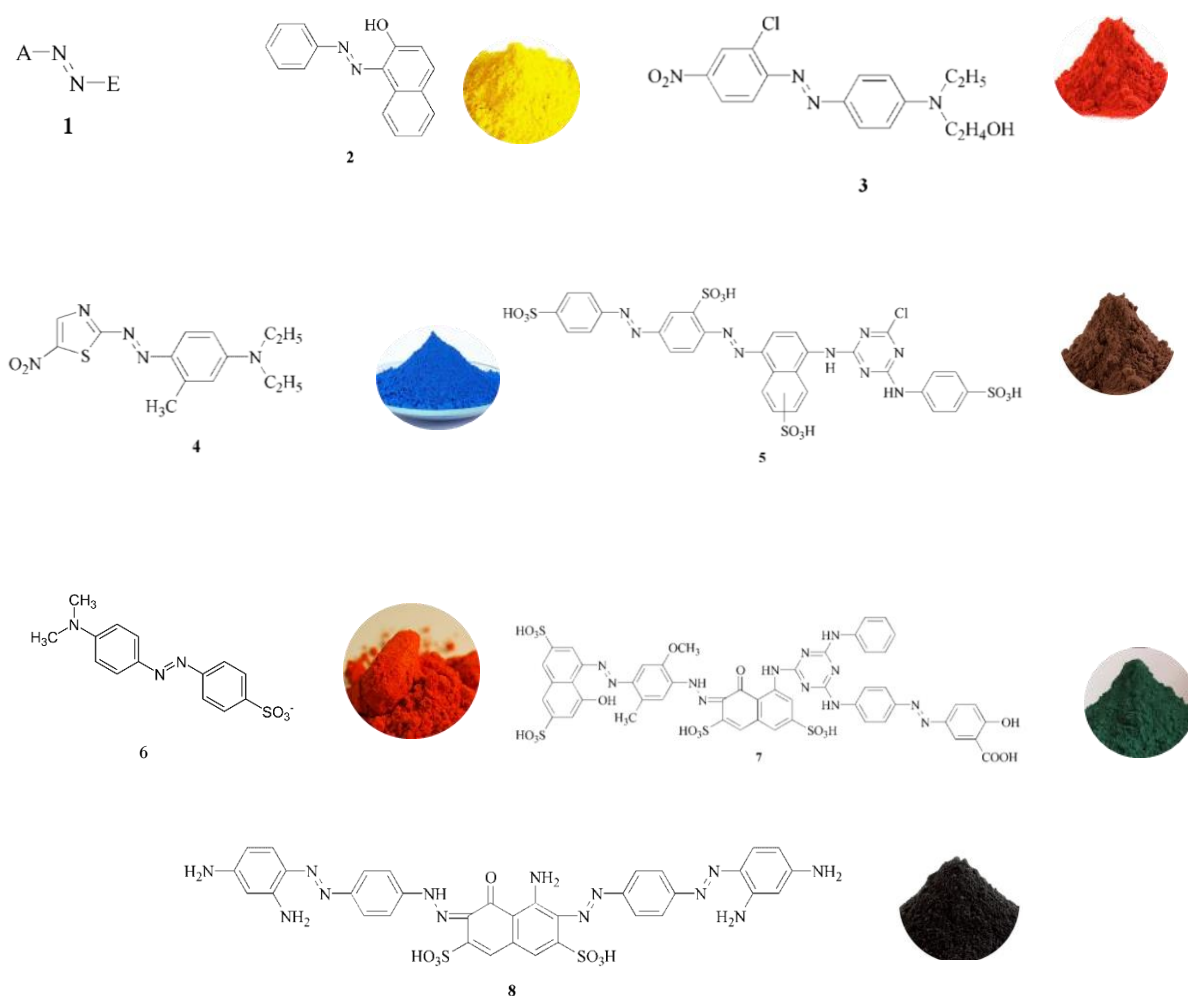


Figura 2.1 Colorantes azoicos (1), C.I. Amarillo disolvente 14 (2), C.I. Rojo Disperso 13 (3), C.I. Azul Disperso (4), C.I. Marrón Reactivo1 (5), C.I. Naranja de Metilo (6), C.I. Verde Directo 26 (7), C.I. Negro Directo19 (8).



### **2.1.3 Impacto ambiental de colorantes.**

En la actualidad existe un marcado interés para desarrollar procesos para la biodegradación completa de efluentes textiles contaminados por colorantes azo, debido a que algunos productos de la reducción anaerobia son considerados potencialmente carcinógenos o mutagénicos para los humanos y tóxicos para los organismos acuáticos (Chung et al., 1992). La industria textil es la más grande consumidora de colorantes azo. Desde el punto de vista ambiental, los colorantes azo son compuestos orgánicos sintéticos difíciles de biodegradar debido a su alta estabilidad a las condiciones ambientales (Kirk Othmer, 1993; Banat et al, 1997).

El acabado textil genera una gran cantidad de tintes y pigmentos que contienen aguas residuales de tintura y etapas posteriores que forman una de las mayores contribuciones a la contaminación del agua. El color presente en los efluentes que contienen tintes da una indicación directa de que el agua está siendo contaminada y la descarga de este efluente altamente coloreado puede dañar directamente la vida acuática en el agua receptora (Bhatti *et al.*, 2008). La industria tradicional de acabado textil consume alrededor de 100 litros de agua para procesar alrededor de 1 Kg de material textil (Shah *et al.*,2014).

### **2.2 Tratamiento de aguas residuales coloridas provenientes de la industria textil.**

La mayoría de los efluentes coloreados consisten en colorantes, liberados al ambiente de las industrias textiles, de colorantes y de teñido. Los colorantes azo representan un grupo importante de colorantes que causan preocupación ambiental debido a su color, biorrecalcidad y toxicidad potencial para animales y humanos (Levine, 1991).

En México existe una gran preocupación por el origen y el destino del agua y las aguas residuales. Debido a esta preocupación ya las recientes leyes ambientales, ha

habido una gran inversión en el suministro de agua municipal y en la recolección y tratamiento de aguas residuales (Monroy *et al.*,2000).

En 1988 el gobierno mexicano promulgó la Ley General para el Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental que desencadenó una intensa actividad para igualar los estándares de descarga de la industria mexicana a los de sus socios en el TLCAN. Esta actividad se caracteriza por: (a) la inspección continua de los vertidos industriales con los cierres parciales o totales consecuentes, (b) la penalización por la cantidad de desechos descargados (CNA, 1993), (c) una disponibilidad de fondos anunciados para cualquier tipo de contaminación (D) cientos de estudios para la preparación de Directrices Ecológicas (INE, 1993 -1994) y programas de formación de recursos humanos (Jimenez, 1995).

### **2.2.1 Sistemas fisicoquímicos.**

Los métodos considerados no biológicos para el tratamiento de efluentes incluyen procesos de membrana, coagulación, precipitación, flotación, adsorción, intercambio iónico, electrólisis y procesos de oxidación. Cada técnica presenta sus limitaciones, complejidad y generación de contaminantes colaterales (Robinson y col, 2001). El uso de un proceso individual puede no ser suficiente para llevar a cabo la decoloración completa, lo que los hace llevar a cabo una combinación de varias técnicas (Van der Zee 2002). Entre las desventajas se pueden mencionar la producción excesiva de lodos, con sus problemas de disposición; altos costos de operación, falta de efectividad en la reducción del color, (particularmente los colorantes azo sulfonados), sensibilidad a condiciones variables del influente (Banat *et al.*, 1996; Robinson y McMullan *et al.*, 2001) y el uso excesivo de químicos, que podrían conducir a una contaminación secundaria. En la tabla 2.2 se presentan algunos ejemplos de los distintos métodos para el tratamiento de efluentes coloridos.

Tabla 2.2 Métodos físicos y químicos para el tratamiento de efluentes coloridos.

<b>Método</b>	<b>Características</b>
<b>Ozonización</b> <b>(Fisicoquímico)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se emplea utilizando gas ozono procurando no alterar el volumen de las aguas residuales tratadas pero la vida media es relativamente corta de 20 minutos.</li> <li>- Aunque el ozono presenta la capacidad de destruir moléculas de colorante y a cabo la decoloración y reducción de espuma, existen aguas tratadas bajo este método que contienen con altas cargas de DQO (Perkowski y col.,1996)</li> <li>- El ozono podría reaccionar con algunos contaminantes en procesos de aguas residuales textiles.</li> </ul>
<b>Filtración con membrana</b> <b>(Físico)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se presenta en la separación física del colorante para removerlo, pero al realizarlo genera la producción de lodos concentrados.</li> <li>- Las aguas muy concentradas deben ser procesadas después por otro método lo que lo hace más costoso. (Wu y Wang, 2001)</li> <li>- Los procesos más utilizados son: electrodiálisis, ultrafinación, ósmosis inversa y nano filtración.</li> </ul>
<b>Carbón activado</b> <b>(Físico)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La utilización de carbón activado se puede presentar en la remoción de color de las aguas residuales textiles a través de adsorción física del colorante al carbón, pero puede llegar a ser muy costoso. (Dos Santos y Col, 2004)</li> </ul>

<p><b>Procesos de Oxidación avanzada (Químico)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Se refiere a la oxidación por compuestos con un potencial de oxidación más alto que el del oxígeno como peróxido de hidrogeno ozono o radical OH.</li> <li>- Los radicales que se utilizan pueden reaccionar con una amplia variedad de compuesto incluidas las moléculas de algunos colorantes. (Van der Zee, 2002)</li> </ul>
<p><b>Coagulación floculación (Fisicoquímico)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Con ayuda de agentes coagulantes químico s (polímeros y sales de Al o Fe) se formará un floculó para promover la agregación de partículas que precipitarán.</li> <li>- Disminuye hasta cierto punto la DQO y el color antes de un nuevo tratamiento (Altinbas y col,1995).</li> <li>- Genera considerables volúmenes de lodos como subproductos que tienen que ser tratados.</li> </ul>

### 2.2.2 Sistemas Biológicos.

Los procesos biológicos para el tratamiento de las aguas residuales, constan de equipo que pone en contacto la materia orgánica con los microorganismos adecuados, esto se realizará durante el tiempo suficiente para poder llevar a cabo su oxidación. De acuerdo a la dependencia del oxígeno por los microorganismos utilizados en la biodegradación de la materia orgánica este proceso se puede clasificar ya sea bajo condiciones aerobias o anaerobias.

En forma general el tratamiento biológico se lleva a cabo por la transferencia de la materia orgánica del agua residual hacia la biomasa por contacto. La materia orgánica es utilizada por los microorganismos para su metabolismo y generación de células nuevas.

Los tratamientos biológicos de los efluentes líquidos de la industria textil incluyen básicamente tratamientos aerobios y anaerobios que pueden ser precedidos por una o más etapas de tratamiento primario. La eficiencia del tratamiento biológico para la remoción de la DQO depende fuertemente de la relación  $DBO_5/DQO$ . El valor medio de esta razón en un efluente de la industria textil es de alrededor de 0.35, lo que hace difícil la eliminación total de la DQO. Es conveniente llevar esta razón a un valor no menor que 0.6 para lograr una degradación aceptable. (Athanasopoulos, 1991).

Investigaciones previas sobre la biodegradación de colorantes textiles, se demostró que la mayoría de los colorantes no muestran una biodegradación significativa en medios aerobios y que la desaparición del color del efluente se atribuye principalmente a la adsorción de las moléculas intactas de colorante en el lodo (Pagga y col, 1986). Esto debido a que dichos colorantes son diseñados para permanecer estables y, por lo tanto, solo bacterias con enzimas especializadas pueden degradarlos.

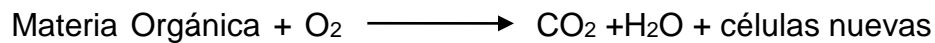
En general es importante recalcar que la eficiencia de los procesos biológicos depende de las características de las aguas residuales, tipo de microorganismos y condiciones ambientales del sistema (pH, temperatura, aireación o anaerobiosis, nutrientes).

#### **2.2.2.1 Sistemas aerobios**

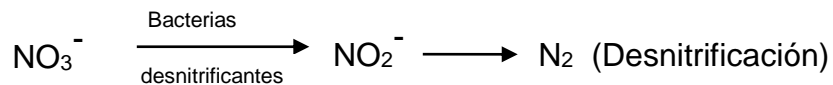
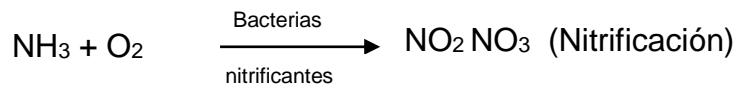
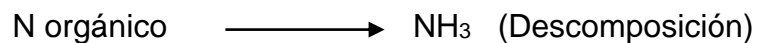
Cuando se habla de condiciones aerobias (estabilización de la materia orgánica en presencia de oxígeno) los microorganismos utilizan el oxígeno en sus procesos vitales (metabolismo y reproducción); en cambio, en ausencia de oxígeno (anaerobiosis) se usan otros compuestos químicos en sustitución del oxígeno como aceptores de electrones.

En este tipo de procesos, las bacterias oxidan alrededor de un tercio de la materia orgánica coloidal y disuelta a productos finales estables ( $\text{CO}_2$  Y  $\text{H}_2\text{O}$ ) y transforman los dos tercios restantes en nuevas células microbianas, (Glynn 1989).

La conversión biológica global se verifica como una secuencia presentada a continuación:



Las bacterias autótrofas convierten entonces el nitrógeno de los compuestos orgánicos en nitrito y nitrato:



Existen distintos tipos de procesos aerobios, cuya selección dependerá del volumen concentración, características de las sustancias disueltas y costo de energía.

### 2.2.2.2 Sistemas anaerobios

Durante las dos últimas décadas, se ha demostrado que el tratamiento biológico anaeróbico, como una prometedora tecnología verde para el control de la contaminación y la reutilización de energía (Van Lier et al., 2015), puede bio-reducir los contaminantes recalcitrantes. Por ejemplo, Donlon et al. (1996) dirigen un reactor de manto anaeróbico de lodo ascendente (UASB) para tratar los nitrofenoles; Van

der Zee y otros (2001b) encontraron que los lodos granulares anaeróbicos podrían bio-reducir los colorantes casi azo probados.

Existe una secuencia de degradación anaerobia/aerobia que ya ha sido estudiada y es efectiva para la reducción de colorantes azo (Tan 2001, O'Neill 1999). Esta consiste en el rompimiento de enlaces azo por reducción bajo condiciones anaerobias, lo cual provocará una decoloración propiciada por la reducción de los colorantes a aminas aromáticas, que son incoloras pero dañinas (Fieft y col., 1995).

En el proceso es consumida la mayor parte de la materia orgánica por lo que las aminas sirven como principal sustrato en un tratamiento aerobio posterior (Tan 2001). Es recomendable utilizar un sistema aerobio/anaerobio (ver figura 2.2) debido a que uno de los procesos que pueden sufrir las aminas es una auto-oxidación cuando se exponen a oxígeno pasarían a ser polímeros con baja solubilidad y fáciles de ser eliminadas del agua. (Van Der Zee 2002).

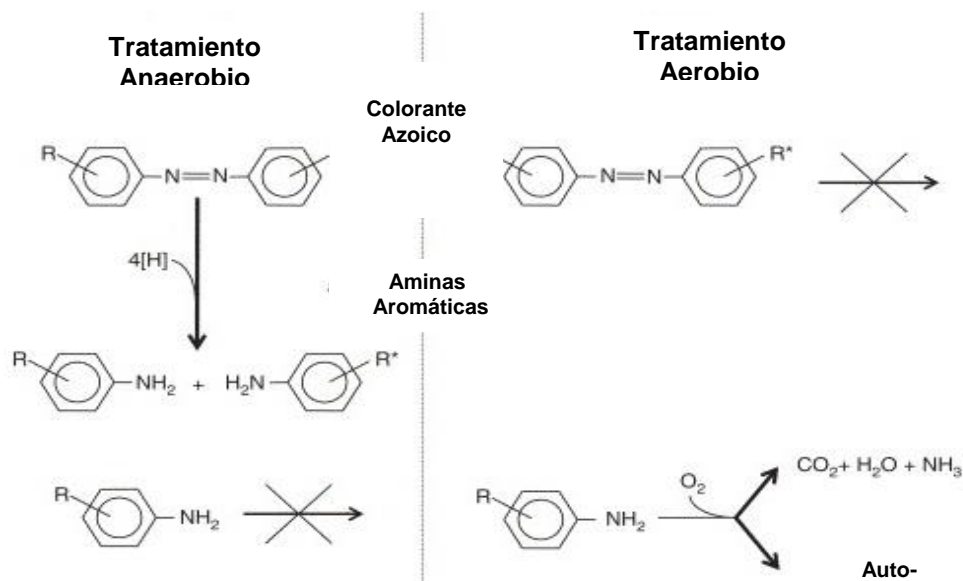


Figura 2.2 Ejemplificación de tratamiento anaeróbico-aeróbico en biotransformación de e colorantes azoicos a aminas aromáticas (Van der Zee y Villaverde, 2005). El empleo de tecnologías avanzadas de pre- o post-tratamiento biológico puede constituir una alternativa viable para la remoción de los colorantes disueltos en un efluente textil. (M. Shaúl y col., 1987)

### **2.3 Efecto de mediadores redox en la reducción de colorantes.**

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

En la actualidad se han estudiado diferentes materiales sólidos, o inmovilizados en un soporte como mediadores redox en la reducción de diferentes contaminantes (Tabla 2.3). Algunos son compuestos quinónicos modelo como la AQDS (antraquinona-2,6 disulfonato) (Rau et al.,2002) riboflavininas (Dos Santos et al.,2005); otros son las sustancias húmicas (keum and Li,2004), carbón activado (Van der Zee et al.,2003) y grafito (Mezohegyi et al.,2007).



Tabla 2.3. Mediadores redox utilizados en la reducción de colorantes azo con lodo granular anaerobio en experimentos en lote. (Tomada de Van der Zee y Cervantes 2009).

<b>Colorantes azo</b>	<b>Donador de electrones</b>	<b>Mediador redox</b>	<b>Resultados</b>	<b>Referencia</b>
<b>Naranja reactivo 14</b>	Glucosa	Riboflavina	1.5-2 x	Cervantes <i>et al.</i> (2006)
<b>Rojo reactivo 2</b>	AGV	AQDS	7X	Van der Zee <i>et al.</i> (2001)
<b>Rojo reactivo hidrolizado 2</b>	Glucosa, AGV	AQDS	AGV:1.4X; glucosa 2.3x; glucosa /AGV:1.6x	Dos Santos <i>et al.</i> (2003)
<b>Rojo reactivo hidrolizado 2</b>	Glucosa	AQS	AQS:3.8X Y 2.3XA30Y 55°C respec;	Dos Santos <i>et al.</i> (2005)
<b>Rojo reactivo 2, Rojo reactivo 4, Naranja reactivo 14</b>	Glucosa	Riboflavina	RR 2:17x;RR4:no presento diferencia ;NR14:2.9x	Dos Santos <i>et al.</i> (2006)
<b>Rojo reactivo 24, Rojo reactivo 2, Rojo acido 1.</b>	Extracto de levadura/P eptona	Ácido bromoamina	RR 24:19x;RR2:17x;RA 1:1.5x;RA14:13x	Guo <i>et al.</i> (2007)
<b>Naranja acido 7</b>	Acetato	Grafito	88% de decoloración en 20h	Mezohegyi <i>et al.</i> (2007)

### 2.3.1 Papel de mediadores redox soluble e inmovilizada en la transformación de colorantes azo.

Los mediadores redox son compuestos que aceleran la transferencia de electrones de un donador primario hacia un aceptor final incrementando así la velocidad final de reacción. Estas sustancias son utilizadas por algunos microorganismos como fuente de electrones para la obtención de energía, uno de los beneficios que aporta es el reciclaje de los grupos activos al oxidarse o reducirse continuamente como un mecanismo natural lo que propicia la reducción de diferentes contaminantes (Van del Zee y col., 2001).

La biotransformación de los colorantes en presencia de mediadores redox se lleva a cabo en dos pasos: primero, el sustrato es oxidado mediante reacciones enzimáticas no específicas y en segundo, ocurre una oxidación del mediador redox pudiendo transferir electrones al colorante y así lograr la reducción de este a aminas aromáticas (Keck y col., 1997). Previa investigaciones (Cervantes 2002, Field y Brady 2003, y Rau 2002) sostienen que la utilización de mediadores redox como riboflavina al igual que algunas quinonas como es el caso de AQDS participan como agentes reductores acelerando la velocidad en la biotransformación de colorantes azo y reduciendo el tiempo requerido (Figura 2.3)

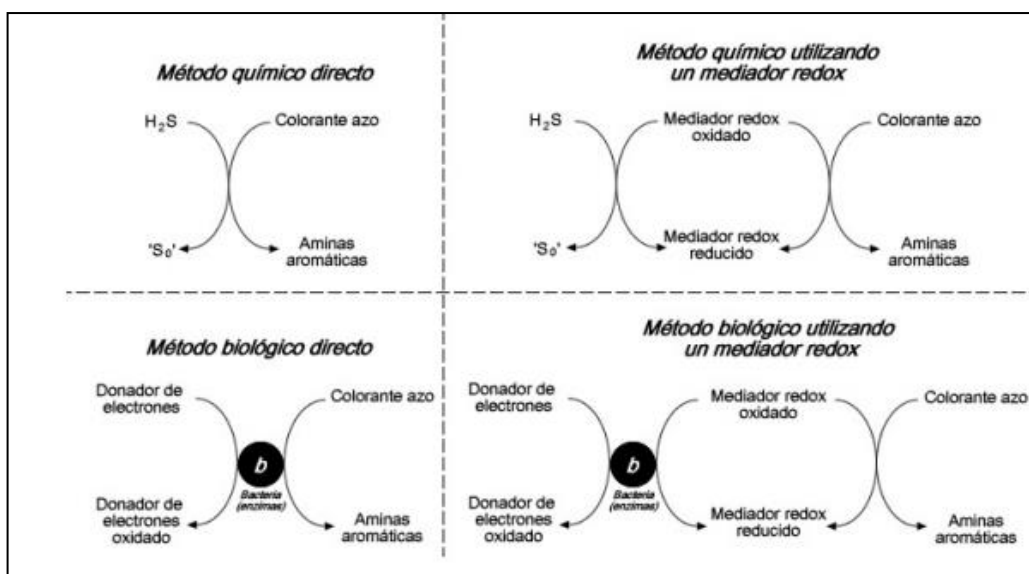


Figura 2.3 Métodos de reducción de colorantes azo en presencia de mediadores Redox.



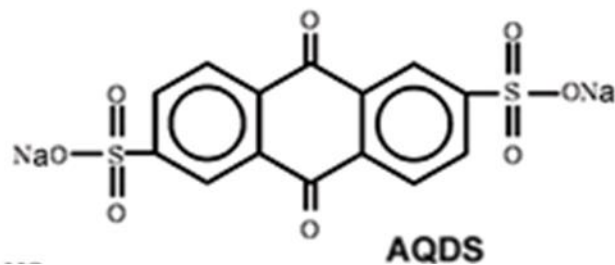


Figura 2.5 Estructura química de 2,6 Disulfonato de antraquinona (AQDS)

Debido a que el enlace  $-N=N-$  es muy electrofílico se requieren de condiciones reductivas para convertir los colorantes azo a sus correspondientes aminas aromáticas, los MR contribuyen a aumentar la velocidad de decoloración al participar como acarreadores de electrones y en varios casos se ha demostrado que no es necesario adicionar MR en abundancia ya que durante el transporte de electrones los compuestos utilizados son reciclados ininidad de veces.

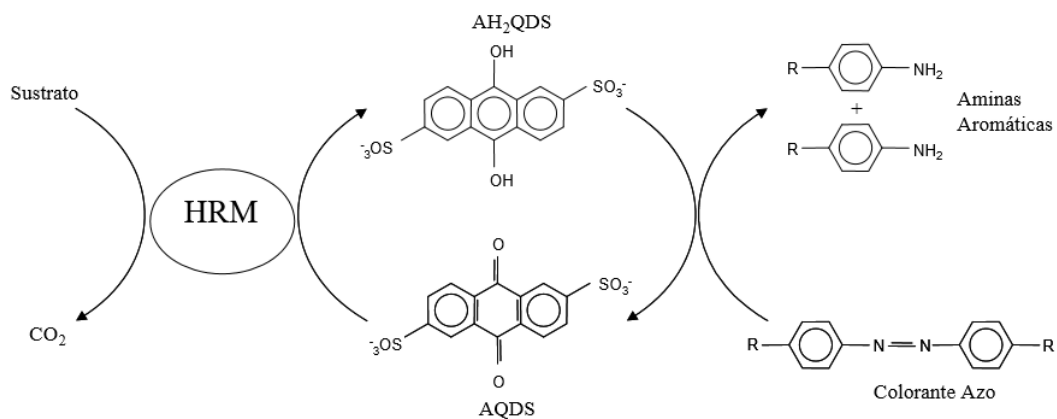


Figura 2.6 Mecanismo de reducción de colorantes azo a través del compuesto modelo AQDS (2,6- disulfonato de antraquinona).

Los microorganismos reductores del humus (MRH) reducen las quinonas en el humus y las hidroquinonas formadas transfieren los electrones al grupo azo para reducirlo a aminas aromáticas.

Las quinonas en el humus no solamente pueden actuar como aceptores de electrones en la oxidación microbiana de muchos compuestos orgánicos. (Figura 2.6) sino que los mecanismos catalíticos del humus y las quinonas involucran procesos abióticos y biológicos en los que las sustancias húmicas aceleran las transformaciones reductivas en uno a varios ordenes de magnitud (Field *et al.*,2000).

### **2.3.2 Impacto de bio-película en sistemas de decoloración con agentes azo.**

Para los estudios realizados con fibras de carbón activado (FCA) y bio-película se encontró que (Rios.,2017) trabajo con FCA en sistemas de tratamiento de agua es que las fibras pueden servir de soporte para microorganismos. De esta forma el mediador redox permanece inmovilizado dentro del biorreactor junto con microorganismos que son capaces de reducir sus grupos aceptores de electrones. Para tener una evidencia visual de la formación de la bio-película en las fibras se tomaron foto con microscopio óptico Motic 120M y uno estereoscópico Nikon115. Las fotos se tomaron a la tela sin bio-película y con bio-película después de 3 y 7 semanas.

En donde después de la formación de la bio-película en las fibras de carbón activado, se procedió a realizar cinéticas de reducción del rojo de metilo con estas fibras con biomasa adherida. Para evaluar si la bio-película en las FCA afectaba de alguna forma su capacidad como mediador redox, se realizaron también cinéticas de reducción del colorante con las mismas concentraciones de biomasa adherida a las fibras, pero la biomasa se encontraba separada de las fibras, es decir, los microorganismos no formaban una bio-película, sino que se encontraban en suspensión.

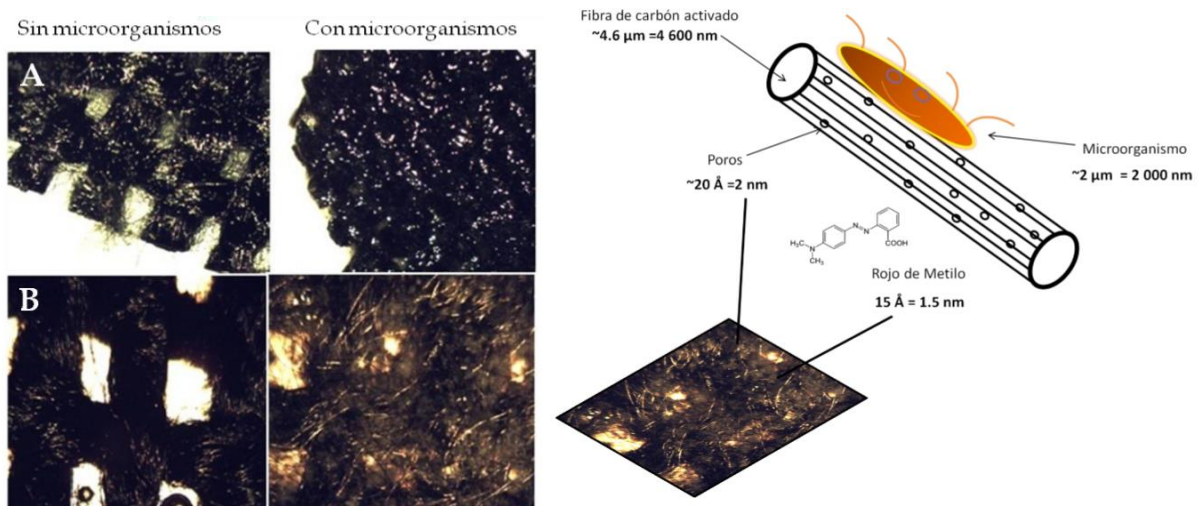


Figura 2.7 Fibras de carbón activado sin biomasa adherida y con bio-película después de 3 semanas de contacto. Panel A, fotos tomadas con un objetivo de 1x en un estereoscopio, lado izquierdo fibra sin bio-película, lado derecho fibra con bio-película. Panel B, fotos tomadas con un objetivo de 4x, así también lado izquierdo fibra sin bio-película y lado derecho con bio-película.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### Reactivos y materiales

El trabajo experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigaciones en Ciencias Ambientales (LICA), ubicado en las instalaciones de la Universidad Autónoma de Nuevo León, durante el periodo de enero-junio del 2017.

##### 3.1.1 Reactivos

Los compuestos químicos utilizados en este experimento fueron de grado reactivo, los cuales fueron adquiridos en CTR y Sigma Aldrich y fueron usados para preparar los mediadores redox.

Se utilizó como fuente de microorganismo lodo granular donada por una industria cervecera de Sonora.

El carbón activado usado para la inmovilización de los mediadores redox fue de origen mineral, con un diámetro de 700–850 micrones y se obtuvo de CLARIMEX.

El influente del reactor se alimentó por medio de una bomba peristáltica con un TRH (Tiempo de Retención Hidráulica) de 1 día y se mantuvo la concentración teórica C/N de 1.07.

##### 3.1.2 Medio de cultivo

El medio basal usado en el presente estudio se preparó según (Álvarez *et al.*, 2010) agregando los siguientes componentes (g/L): NaHCO<sub>3</sub> (3); NH<sub>4</sub>Cl (0.3); KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.2); MgCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O (0.03); CaCl<sub>2</sub> (0.1); y 1 mL/L de solución de elementos traza. La solución de elementos traza fue preparada agregando los siguientes compuestos (mg/L): FeCl<sub>2</sub>•4H<sub>2</sub>O, (2000); H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, (50); ZnCl<sub>2</sub>, (50); CuCl<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O, (38); MnCl<sub>2</sub>•4H<sub>2</sub>O (500); (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>•4H<sub>2</sub>O, (50); AlCl<sub>3</sub>•6H<sub>2</sub>O, (90); CoCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O, (2000); NiCl<sub>2</sub>•6H<sub>2</sub>O, (92); Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O, (162); EDTA, (1000); y 1 mL/L de HCl (36%). El pH del medio se ajustó a 7 agregando HCl (36%).

### 3.2 Modificación del carbón activado

La modificación química con AQS (Sigma Aldrich) se llevó a cabo para mejorar la capacidad media redox de 4g de CA (Carboactive 8X30, Clarimex) se utilizaron tamices de 700 a 850  $\mu\text{m}$ . Las partículas de CA fueron expuestas a 30°C durante 72 h a una solución de 200 g / L de  $\text{ZnCl}_2$  disuelto en HCl concentrado. A continuación, el CA-Cl se lavó tres veces con HCL hasta que no se detectó ningún  $\text{Cl}^-$  residual, sucesivamente se llevó al horno a 75°C por 12 h. Las partículas de CA-Cl se sumergieron en una solución de 2 g/L AQS (Figura 3.1, 5), teniendo la solución preparada se guardaron 3ml para leer la concentración inicial Se dejaron reaccionar durante 72 h en un agitador a 150 rpm y 30 °C. La concentración de equilibrio de AQS, medida espectrofotométricamente a 325 nm, se usó para calcular la capacidad de adsorción como sigue (ecuación 1):

$$q = \frac{(C_o - C_e)V}{m}$$

Donde Q es la capacidad de adsorción (mmol / g),  $C_o$  y  $C_e$  son la concentración inicial y de equilibrio (mmol / L) de AQS, V es el volumen (L) de la solución de AQS y m es la masa (g) de CA. Para evaluar la resistencia de la inmovilización, el CA funcionalizado con AQS (CA-AQS) se lavó con el medio basal. La capacidad de adsorción restante de cada ciclo de desorción ( $q_d$ ) se calculó con la siguiente ecuación (ecuación 2):

$$q_d = q_e - \frac{C_e V}{m}$$

Considerando que  $q_e$  es el valor inicial de la capacidad de adsorción y que los valores  $q_d$  posteriores deben calcularse con el valor previo obtenido en cada ciclo de desorción.

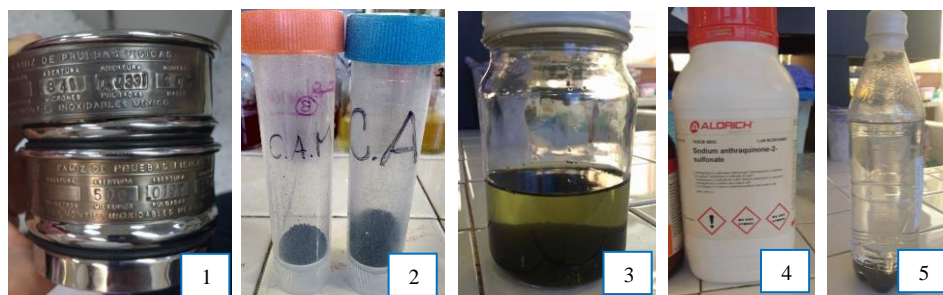


Figura 3.1 Modificación del CA-AQS



### 3.3 Biotransformación de naranja de metilo con diferentes tipos de MR<sub>sol</sub> .

Estas pruebas se realizaron para determinar el efecto catalítico de los diferentes tipos de MR<sub>sol</sub> sobre la decoloración reductiva de NM. Las cinéticas de decoloración se realizaron en botellas serológicas con capacidad de 100 mL, el lodo utilizado se disgregó a través de un tamiz #40, los mediadores redox se prepararon por separado con una concentración 150mg/L (Tabla 3.1). Una vez inoculadas las botellas, se sellaron con tapones de plástico y anillos de aluminio. Para crear condiciones anaerobias en los cultivos se intercambié la atmósfera de las botellas pasando una mezcla de N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80%/20%) durante 5 minutos. Una vez que se alcanzaron condiciones anaerobias, se agregaron 1 g/L de glucosa como sustrato y donador de electrones, y 150 mg/L de colorante NM. La glucosa y el colorante se agregaron a partir de soluciones stock previamente preparadas. Un control fue incubado en ausencia de mediador redox, únicamente se utilizó lodo. Todos los experimentos se realizaron por duplicado y se incubaron a 30 °C y 150 rpm. El descenso en la concentración de ambos colorantes durante la incubación fue medido espectrofotométricamente a 460 nm. Para las lecturas espectrofotométricas se tomaron 100 µL de muestra y se diluyeron en un buffer de fosfatos. El factor de dilución utilizado en estas determinaciones fue de 10.

Tabla 3.1 Parámetros de MR<sub>sol</sub> para de la cinética en lote de NM.

PARÁMETROS	Medio Basal (ml)	MR <sub>sol</sub>	0.1 g SSV/L	Colorante (ml)	1º Inyección de Glucosa (ml)	2º Inyección de Glucosa (ml)
Lodo	44		0.053	2	2	2
Riboflavina	44		0.053	2	2	2
AQDS	44		0.053	2	2	2
AQS	44		0.053	2	2	2
Lawsona	44		0.053	2	2	2

### 3.4 Cinética de decoloración con Quinona inmovilizada, carbón activado y biomasa suspendida

Estas pruebas se realizaron para evaluar la capacidad biotransformante del carbón modificado, lodo enriquecido durante la decoloración reductiva de NM y en presencia de MR.

Las cinéticas de decoloración se realizaron en botellas serológicas con capacidad de 100 mL, a las que se agregaron 44mL del medio basal para los primeros 4 tratamientos 48 ml para el quinto tratamiento como se aprecia en la (Tabla 3.2), 1 mM de AQDS inmovilizado y 0.1 g SSV/L previamente disgregado por un tamiz del #40. Una vez inoculadas las botellas, se sellaron con tapones de plástico y anillos de aluminio. Para crear condiciones anaerobias en los cultivos se intercambió la atmósfera de las botellas pasando una mezcla de  $N_2/CO_2$  (80%/20%) durante 5 minutos (Figura 3.2, (2)). Una vez que se alcanzaron condiciones anaerobias, se agregaron 1 g/L de glucosa como sustrato y donador de electrones, y 150 mg/L del colorante NM.

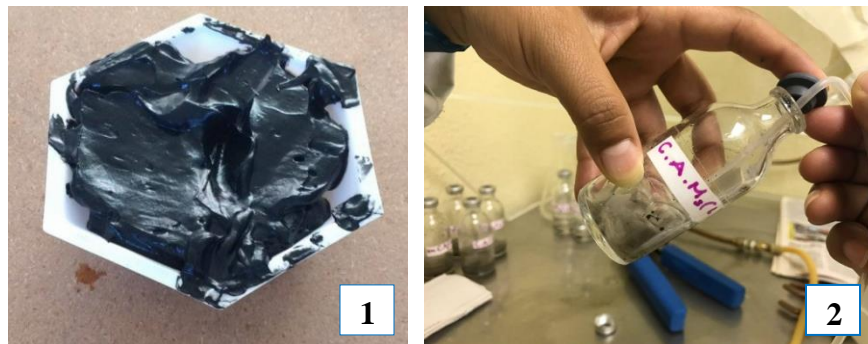


Figura 3.2 (1) Lodo sólido, (2) Intercambio de atmósfera

Para la cinética se acondicionaron los siguientes parámetros por triplicado.

- 1) CAM (1Mm AQS)
- 2) CA (1Mm AQS)
- 3) Sin CAM -CA
- 4) CA (1Mm AQS) Estéril
- 5) CAM (1Mm AQS) Endógeno

Tabla 3.2 Parámetros de la cinética en lote de CA-AQS.

PARÁMETROS	Carbón Activado (g)	Medio Basal (ml)	0.1 g SSV/L	Colorante (ml)	1º Inyección de Glucosa (ml)	2º Inyección de Glucosa (ml)
CAM (1Mm AQS)	0.009	44	0.053	2	2	2
CA (1Mm AQS)	0.009	44	0.053	2	2	2
Sin CAM -CA		44	0.053	2	2	2
CA (1Mm AQS) Estéril	0.009	44	X	2	2	2
CAM Endógeno	0.009	48	0.053	2	X	X

La glucosa y los colorantes se agregaron a partir de soluciones stock previamente preparadas. Para los controles se prepararon botellas bajo las mismas condiciones, excepto que el CA (1Mm AQS) no se le agregó SSV. Un segundo control endógeno fue incubado en ausencia de sustrato. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y se incubaron a 30 °C y 150 rpm. El descenso en la concentración del colorante durante la incubación fue medido espectrofotométricamente a 460 nm para NM. Para las lecturas espectrofotométricas se tomaron 500 µL de muestra y se diluyeron en un buffer de fosfatos. El factor de dilución utilizado en estas determinaciones fue de 10.



Figura 3.3 Botellas serológicas con NM 150g/L.

### 3.5 Formación de la bio-película sobre el carbón activado

La formación de la bio-película se realizó a temperatura ambiente utilizando dos reactores con capacidad de 23 mL. Como se muestra en la (Figura 3.5) Cada una de ellas contenía por separado 5g de CA y 5g de CA-AQS previamente etiquetadas.

Se disgrego 50g de lodo por un tamiz de #40, se agregaron 250 mL de medio basal (2X), 250 mL de lodo líquido para tener un volumen de 500 mL. Se pesaron para todos 1g/L de Glucosa, Acetato de Sodio y Solución de Levadura, se disolvió en el medio por 12 minutos. Para la bomba se estableció un tiempo de residencia hidráulica (TRH) de 10.

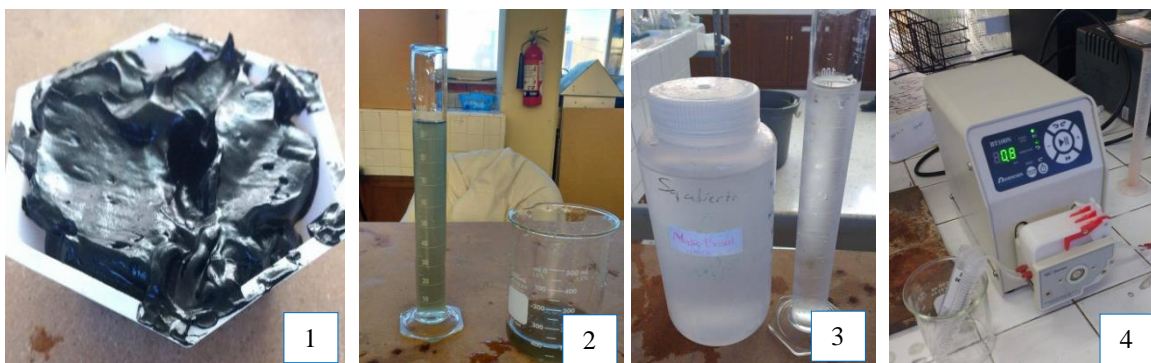


Figura 3.4 Lodo disgregado (1), lodo líquido (2), medio basal (3), bomba peristáltica (4).

En la época de invierno se construyó una estructura de madera delgada alrededor de los reactores, en la que se acopló un foco de 75 watts con el objetivo de incrementar la temperatura a  $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ .



Figura 3.5 Reactores en continuo para la formación de la bio-película.

### 3.6 Operación de reactores en continuo con bio-película sobre el carbón activado

La operación de los reactores en continuo se puso en marcha teniendo como alimentación medio de RC a una concentración de 0.125mg/L, 1g/L de Glucosa y Acetato de Sodio. Se mantuvo con un TRH de 4 con un flujo continuo (Figura 3.6), para no evitar el paso del medio de alimentación se programaba un mantenimiento semanal de limpieza a las mangueras.

Se tomaron muestras constantemente con el fin de monitorear el desempeño del reactor en cuanto a la remoción del DQO y reducción de AQDS. Paralelamente se operó un reactor control con las mismas características y condiciones, pero en ausencia de AQS, al cual solo se midió la remoción del DQO. Para la determinación de DQO se tomaron alícuotas de 0.5 mL del influente y efluente. La remoción del DQO se determinó mediante los protocolos establecidos por la Analytical Standard Methods for the examination of water and wastewater. El monitoreo de la reducción de quinonas se llevó a cabo espectrofotométricamente a 485 nm. Para esta determinación se tomaron continuamente alícuotas de 0.5 mL, con una micro pipeta de 1mL evitando la exposición al oxígeno y se transfirieron a celdas de espectrofotómetro. Las muestras se diluyeron en un buffer de fosfatos. El factor de dilución utilizado en estas determinaciones fue de 4.



Figura 3.6 Reactor en continuo con bio-película y medio rojo Congo.

### 3.7 Decoloración en lote de naranja de metilo en presencia de la bio-película sobre el carbón activado

Estas pruebas se realizaron para evaluar la capacidad de decoloración reductiva de RC y en presencia de MR con bio-película. Las cinéticas de decoloración se realizaron en botellas serológicas con capacidad de 100 mL, a las que se agregaron carbón activado, medio basal, como aparece en la (Tabla 3.3) Una vez inoculadas las botellas, se sellaron con tapones de plástico y anillos de aluminio. Para crear condiciones anaerobias en los cultivos se intercambié la atmósfera de las botellas pasando una mezcla de N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80%/20%) durante 5 minutos. Una vez que se alcanzaron condiciones anaerobias, se agregaron 1 g/L de acetato y glucosa como sustrato y donador de electrones, y 150 mg/L del colorante RC.

Todos los experimentos se realizaron por triplicado y se incubaron a 30 °C y 150 rpm (Figura 3.7). El descenso en la concentración del colorante RC durante la incubación fue medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de 485 nm. Para las lecturas espectrofotométricas se tomaron 100 µL de muestra y se diluyeron en un buffer de fosfatos. El factor de dilución utilizado en estas determinaciones fue de 10.

Tabla 3.3 Parámetros de la cinética CA-AQS con la bio-película formada.

<b>PARÁMETROS</b>	<b>Carbón Activado (g)</b>	<b>Medio Basal(1X) (ml)</b>	<b>Colorante RC (ml)</b>	<b>Inyección de Glucosa y Acetato(ml)</b>
<b>CA</b>	0.009	47	2	1
<b>CA-AQS</b>	0.009	47	2	1



Figura 3.7 Cinética en lote de decoloración de rojo Congo.

### 3.8 Métodos analíticos

#### 3.8.1 Demanda química de oxígeno (DQO)

Para ese procedimiento se utilizó el método espectrofotométrico especificado en la norma NMX-AA-030-SCFI-2001. Análisis de aguas- Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Después de llevarse a cabo los análisis de DQO y para poder determinar las concentraciones de carga orgánica tanto del influente como del efluente durante el monitoreo del reactor se realizó una curva de calibración de biftalato de potasio, y con base en la ecuación de la recta y los resultados de espectrofotometría se pudo determinar la concentración de los sustratos.

#### 3.8.2 Medición de color

Para poder medir la decoloración en las pruebas en lote se realizó una curva de calibración del colorante con diferentes concentraciones (0 a 0.4 mM, de NM). Se obtuvo además la ecuación de la recta y poder medir el comportamiento de decoloración con respecto al tiempo.

Esta es una técnica espectrofotométrica que maneja como diluyente una solución buffer de fosfatos (10.86 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 5.38 g/L de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) para evitar la oxidación del colorante. Finalmente se lee la muestra en la longitud de onda obtenida en el barrido del colorante (485nm).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Inmovilización de AQS en CA

El uso de  $ZnCl_2 / HCl$  como paso previo para adsorber AQS aumentó la capacidad de adsorción de CA alcanzando un valor de  $0,55 \text{ mmol / g}$  (Figura 4.1). Capacidad de adsorción de AQS en CA antes y después de ciclos de desorción con medio basal. La capacidad de adsorción solo disminuyó  $0.02 \text{ mmol AQS/g CA}$  después de la desorción.

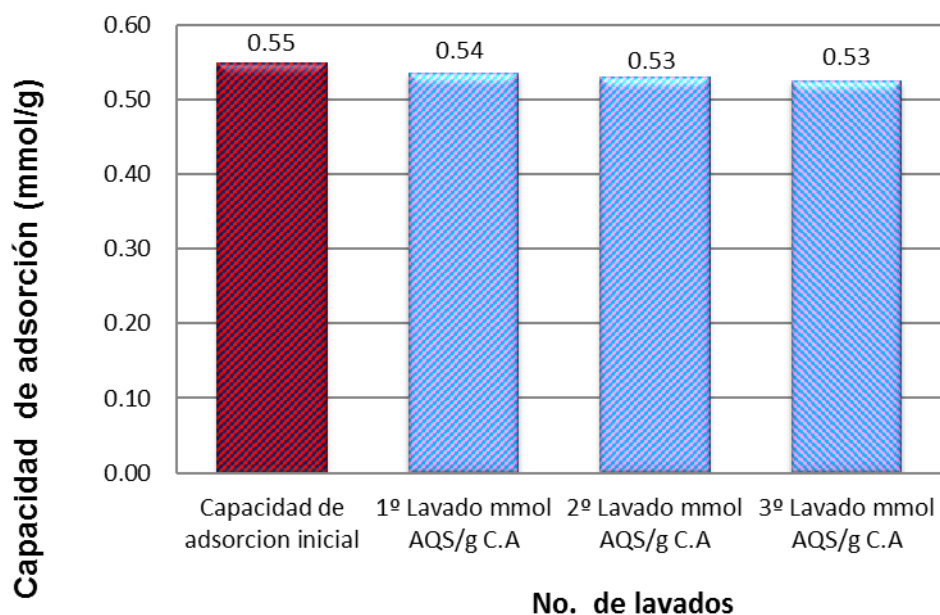


Figura 4.1 Pruebas de desorción del AQS en CA.

La fuerza de anclaje de AQS se evidenció por un bajo desprendimiento de  $0.02 \text{ mmol AQS/g CA}$  observado después de tres ciclos de desorción con medio basal (Figura 4.1). Teniendo concentraciones aceptables para su uso. Los grupos oxigenados de la superficie ácida, localizados en el borde del plano basal en la superficie carbonácea, remueven electrones del sistema electrónico  $\pi$ , creando agujeros positivos en los canales formados por uniones  $\pi$  en la superficie de grafito. De esta manera es como se da el complejo mecanismo donador-aceptor, entre los grupos carbonilo o hidroxilo del CA y el anillo aromático del grupo quinona en el AQDS (Mattson *et al.*, 1969).



## 4.2 Decoloración de NM con diversos tipos de MR<sub>sol</sub>

La primera prueba realizada fue determinar cuál de los distintos mediadores redox solubles presentaría mayor eficiencia como intermediario en la donación de electrones y podría ser más apropiado para utilizar en la biotransformación del colorante NM con el consorcio halotolerante previamente estabilizado bajo distintas condiciones.

En los resultados se apreció una velocidad de decoloración del NM mayor cuando se mostró presencia de MR<sub>sol</sub> AQDS que en la prueba que utilizó las mismas condiciones, pero en ausencia de los mismos. (Figura 4.3).

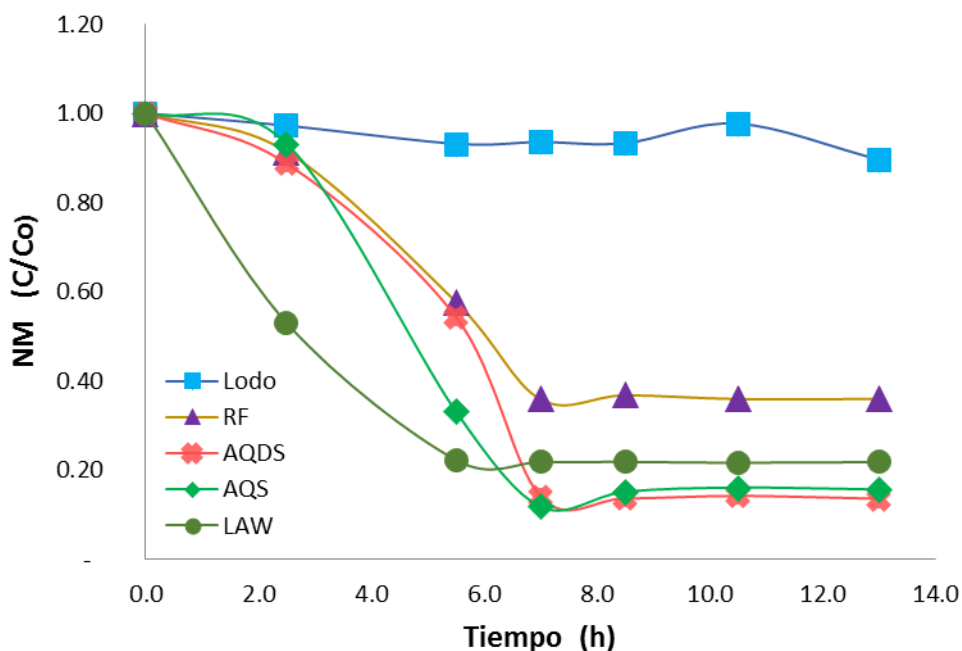


Figura 4.2 Decoloración de NM, utilizando glucosa como fuente de electrones y diferentes mediadores redox solubles.

Los perfiles de consumo se presentan a continuación (Figura 4.2) se aprecia que al inicio de la reducción los perfiles de reducción eran similares, pero al incrementar el

tiempo la velocidad se acelera cuando se utiliza AQDS y AQS. El porcentaje de decoloración utilizando AQDS fue de 96% y en el caso de AQS fue de 94%.

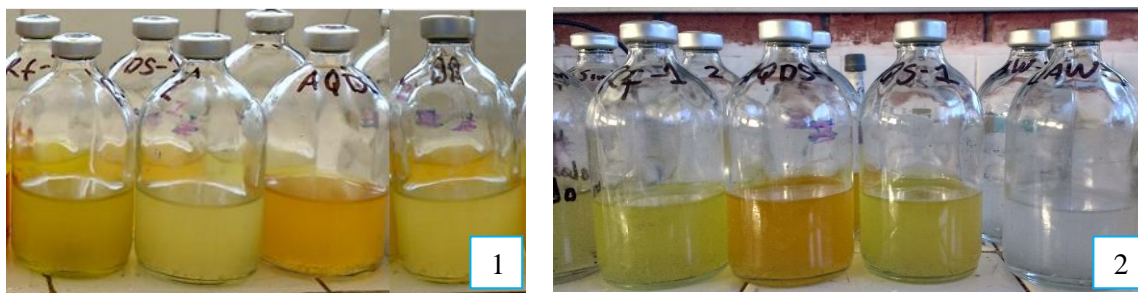


Figura 4.3 (1) Frascos con NM y MR<sub>sol</sub>, (2) Decoloración de NM después de 7h con diferentes MR<sub>sol</sub>

Estos resultados, son similares con otras investigaciones en las cuales se ha comprobado que concentraciones muy bajas de AQDS incrementan la biotransformación reductiva de otros colorantes como el Rojo Reactivo 2, el cual fue decolorado en menor grado en ausencia de quinonas (Van Del Zee y col., 2002).

En el caso del tratamiento con el consorcio marino sin la utilización de MR, se lleva a cabo una reducción del colorante a sus respectivas aminas aromáticas pero dicha reducción se prolonga por mayor tiempo.

Se puede corroborar con los resultados anteriores similares donde en presencia de los mediadores redox. Van Der Zee (2002), explicó que la glucosa funciona como un excelente donador de electrones, pero se podría optimizar la duración del proceso utilizando MR.

Por otra parte existe una etapa teórica de reciclaje por parte de la AQDS o quinona donde de estado oxidado pasa al estado reducido o viceversa de manera infinita durante el proceso de decoloración, (Guzmán, 2003) probó que la eficiencia de reducción obtenida en dos relaciones AQDS/AD71 era similar esto resultados

concuerdan con estudios realizado por Cervantes y Col 2001 quien manifiesta que se encontró el mismo impacto catalítico de AQDS sobre la decoloración del tinte Naranja Ácido 7 aun cuando se probaron distintas relaciones AQDS/colorante.

De manera general, se puede señalar que existe una diferencia clara en la velocidad de reacción de la biotransformación del colorante, demostrándose que con la utilización de MR<sub>sol</sub> se presentó una mayor eficiencia. El compuesto AQS fue uno de los que tuvo un mayor impacto, por lo que para las subsecuentes etapas de la investigación se utilizó este compuesto.

### **4.3 Cinéticas de decoloración NM en presencia de CA-AQS**

Las cinéticas de reducción anaerobia del colorante NM, mostraron una clara diferencia entre los cultivos con MR<sub>inm</sub> y el control en ausencia de MR. Las incubaciones con MR<sub>inm</sub> alcanzaron el mayor porcentaje de decoloración (80.9%) a las 000 h, seguido por el tratamiento sin MR con 45.4% de decoloración. Los controles sin MR, estéril con MR y endógeno, mostraron porcentajes de decoloración muy bajos, con valores de 7%, 1.83% y 1.85%, respectivamente (Figura 4.4).

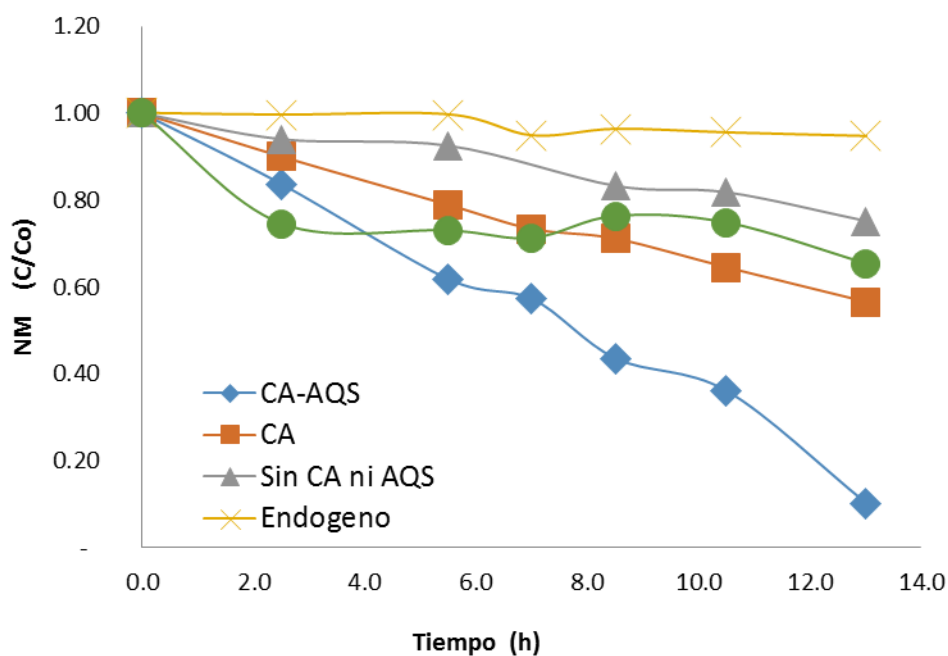


Figura 4.4 Decoloración de NM bajo distintos parámetros de CA-AQS.

La capacidad de CA-AQS para servir como RM de fase sólida durante la decoloración reductora de NM se confirmó a partir de las incubaciones microbianas. La funcionalización química con AQS mejoró la capacidad mediadora redox de CA, confirmada tanto por la eficiencia como por la tasa de decoloración lograda después de 14 h de incubación. Esta tasa es mayor que la obtenida con el control sin AQS / CA. La respuesta en las incubaciones que contenían CA no modificado fue menos eficiente y con una tasa más baja de decoloración (Estos resultados confirman que AQS mantuvo su capacidad mediadora redox incluso después de ser inmovilizada en CA. Las eficacias de decoloración más bajas se consiguieron en controles estériles y endógenos que contenían CA-AQS. Estos resultados indican que un fenómeno de adsorción no es el principal responsable de la decoloración, sino también que la adición de un donador de electrones está obligada a promover la reducción de NM. Además, las eficiencias logradas en las incubaciones libres de AQS suplementadas con lodo indican una modesta capacidad de decoloración, (Figura 4.5).



Figura 4.5 Frascos de NM después de 12h bajo distintos parámetros de CA-AQS.

Se han aplicado RM inmovilizadas para la biotransformación redox de colorantes azoicos (Cervantes et al., 2010, Guo et al., 2007, Van Der Zee et al., 2003), compuestos polihalogenados (Alvarez et al., 2012) y nitroaromáticos (Li et al., 2008). Sin embargo, algunas desventajas de las estrategias probadas son el lavado de la RM a partir de biorreactores (Van Der Zee et al., 2003) o la ruptura del material inmovilizante (Guo et al., 2007), pero también las limitaciones de transferencia de masa. Una fracción importante de RM permaneció atrapada e inaccesible, causando una pobre capacidad mediadora redox; Desventajas no observadas para el material GAC-AQS utilizado en el presente estudio. Anteriormente, se logró una mayor eficiencia de decoloración (88%) que la obtenida en el presente estudio para la reducción de ácido naranja 7 mediante grafito (16,6 g / L) (Mezohegyi et al., 2007); Pero la concentración de ese material fue 14,7 veces mayor que la utilizada para la decoloración de CR con GAC-AQS. Las fibras de carbón activadas funcionalizadas con antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS) utilizando  $\text{SOCl}_2$ , también se ensayaron para la reducción química del 4-nitrofenol (con HS<sup>-</sup>), logrando un rendimiento del 85% (incluyendo un 20% de eliminación por adsorción) Después de 168 h de incubación (Amezquita et al., 2015); Mientras que con el GAC-AQS el CR se redujo 66,5% en sólo 23 h, pero en condiciones microbianas.

#### 4.4 Cinética en lote de la decoloración de RC en presencia de la bio-película sobre el CA

Se observa en los resultados obtenidos para los experimentos que poseen porcentajes de degradación superiores al 90% del colorante RC.

Después de llevar a cabo el análisis se pudo cumplir con el objetivo de biotransformar el colorante RC con el método de una bio-película sobre el CA, en los tratamientos de CA, CA-AQS. Las velocidades de la reacción, muestran que durante las primeras diez horas del proceso se llevó de una manera lenta, pero al cabo de las 15h en adelante, se puede observar una mayor decoloración visible en el ensayo correspondiente al tratamiento con CA-AQS, (Figura 4.6).

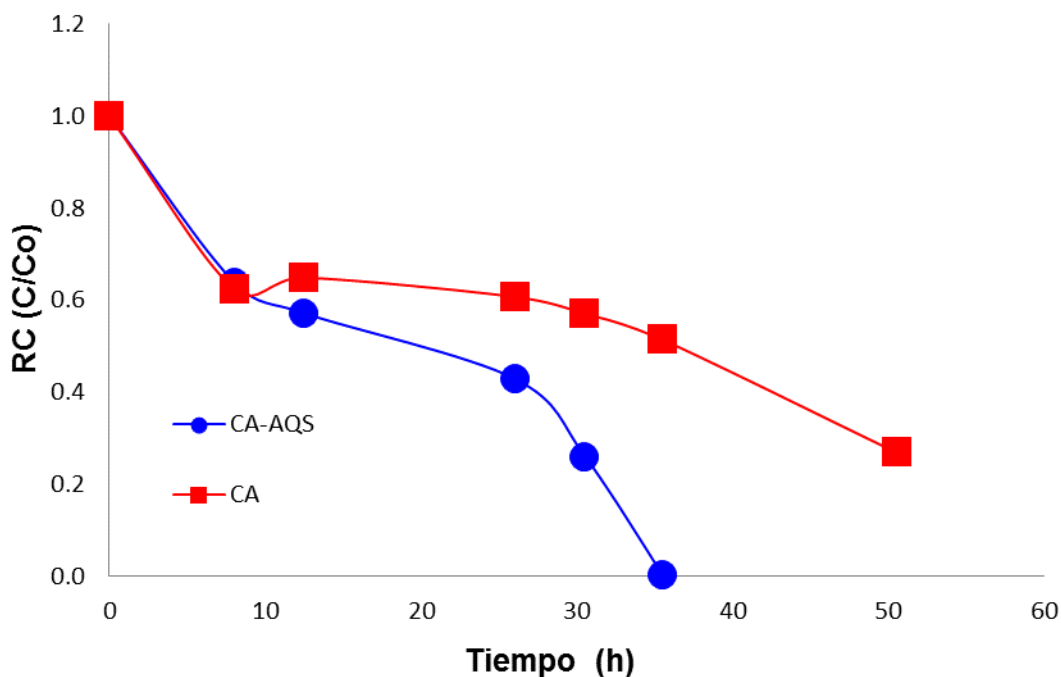


Figura 4.6 Decoloración de RC bajo parámetros de CA, CA-AQS ambos con la bio-película adherida.

Como se evidencia en la (Figura 4.7), los tratamientos que contienen CA-AQS con colorante muestran una baja concentración de este, obteniéndose el mayor porcentaje de degradación para la combinación experimental 150 mg/L de RC.

En la formación de una bio-película intervienen factores ambientales como pH, salinidad, osmolaridad, presión parcial de oxígeno, accesibilidad a la fuente de nutrientes, la hidrofobicidad y carga superficial del soporte. Sin embargo, no es estrictamente necesario que se cuente con todos los factores, para que una bio-película de microorganismos se forme sobre una superficie (Nikolaev y Plakunov,2007). Tal es el caso de las CA-AQS ya que no cuenta con una de las características necesarias para que se forme la bio-película.

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



Figura 4.7 Cinética en lote de la biotransformación RC.

#### **4.5 Reactores en continuo con bio-película sobre el CA en la biotransformación de NM**

No hay un criterio unificado para establecer las condiciones de operación en la etapa de arranque en este tipo de reactores, por lo que forzosamente se tuvo que remitir directamente a pruebas experimentales del proceso para establecer dicho criterio con base en las características del reactor (Iwai y Kitao, 1994).

Los reactores comenzaron a operar en mayo del 2017 en régimen continuo y con cargas de colorante RC a una concentración de 150mg/L, con un TRH de 10 para permitir que los microorganismos adheridos al CA oxidaran el medio filtrante. El sistema se monitoreó periódicamente (cinco a seis días durante la semana) para seguir el comportamiento de parámetros como DQO, absorbancia del colorante, tanto en el influente como en el efluente.

Posteriormente, conforme avanzó el trabajo experimental se modificó el comportamiento del TRH ya que en un determinado momento se necesitaba que el CA se saturara con el colorante, durante dos semanas se mantuvo con un TRH de 1, como se muestra en la (Figura 4.7) esto se hizo con el fin para que el medio filtrante no se convirtiera en un obstáculo al trabajo experimental.

Durante el tiempo que se mantuvieron en operación los reactores, se recolectaron datos lo cuales algunos de ellos fueron afectados por algunas modificaciones como, concentración de sal en el medio de alimentación, variación del TRH provocando así un leve descontrol en las mediciones.





Figura 4.8 Reactores en continuo con bio-película bajo la decoloración de RC.

## V CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en la investigación, se concluye lo siguiente:

La inmovilización de mediadores redox es una alternativa que puede ser empleada en el tratamiento de aguas residuales, ya que estos pueden ser reutilizados, sin la necesidad de agregarlos continuamente a los reactores anaerobios.

Los resultados obtenidos presentan en gran medida un beneficio importante en la aplicación y en el diseño de biorreactores para el tratamiento de aguas residuales conteniendo contaminantes electrofílicos, como son los colorantes azo, y posiblemente aplicarse en otro tipo de compuestos como los nitro aromáticos, compuestos polihalogenados, metales, entre otros.

De los mediadores redox empleados (AQS, AQDS, Riboflavina, Lawsona) en esta investigación, el modelo AQDS presenta mayor afinidad hacia el carbón activado, por lo que pueden utilizarse en el tratamiento de aguas residuales que contengan compuestos recalcitrantes como son los colorantes azo, mediante la técnica de inmovilización, presentándose la ventaja de poder ser reutilizado.

Logrando exitosamente la formación de la bio-película se partió para los experimentos que tenían CA y CA-AQS ambos con la bio-película adherida.

Los valores fueron los mejores para CA-AQS con la bio-película en la decoloración de Rojo Congo ya que en los resultados se demostró la eficiencia de estos como biotrasformantes y a partir de ellos se partió para la instalación de reactores en continuo en los cuales contenían CA y CA-AQS ambos con la bio-película.

Sin duda los colorantes con grupo azo presentan un gran impacto ecológico, por lo que con este tratamiento se podrá reducir dicho colorante a aminas aromáticas (decoloración), mas sin embargo resulta indispensable continuar con un tratamiento aerobio para la mineralización de estas aminas y de esta forma colaborar en gran medida en la disminución de la contaminación.

## VI BIBLIOGRAFIA

- Alvarez, L. H., Perez-Cruz, M. A., Rangel-Mendez, J. R., & Cervantes, F. J. (2010) Immobilized redox mediator on metal-oxides nanoparticles and its catalytic effect in a reductive decolorization process. *Journal of Hazardous Materials*, 184, 268-272.
- Alvarez, L.H., Jimenez-Bermudez, L., Hernandez-Montoya, V., Cervantes, F.J., 2012. Enhanced Dechlorination of Carbon Tetrachloride by Immobilized Fulvic Acids on Alumina Particles. *Water, Air, Soil Pollut.* 223, 1911–1920. doi:10.1007/s11270-011-0994-3.
- Amezcua, G.H.J., Razo-Flores, E., Cervantes, F.J., Rangel-Mendez, J.R., 2015. Anchorage of anthraquinone molecules onto activated carbon fibers to enhance the reduction of 4-nitrophenol. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 90, 1685–1691.
- Banat, I.M., Nigam, P., McMullan, G., Marchant, R., Singh, D., 1997. The isolation of thermophilic bacterial cultures capable of textile dyes decolorization. *Environ. Int.* 23, 547±551.
- Bhatti HN, Akram N, Asgher M. (2008) Optimization of culture conditions for enhanced decolorization of Cibacron Red FN-2BL by *Schizophyllum commune* IBL-6. *Appl Biochem Biotechnol*; 149: 255-264.
- Chung, K.T. and Cerniglia, C.E. (1992) Mutagenicity of azo dyes: Structure-activity Colindres P. (2010) Tratamiento de residuales líquidos textiles Mediante oxidación con ozono, centro de investigación en ciencia Aplicada y tecnología avanzada del Instituto Politécnico Nacional Unidad Legaria. (18-43).
- Cervantes, F.J., (2002). Quinones as Electron Acceptors and Redox Mediators for the Anaerobic Biotransformation of Priority Pollutants. *Agrotechnology and Food Sciences*, Sub-department of Environmental Technology, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, p. 166.
- Cervantes, F.J., Garcia-Espinosa, A., Moreno-Reynosa, M.A., Rangel-Mendez, J.R. (2010). Immobilized redox mediators on anion exchange resins

and their role on the reductive decolorization of azo dyes. *Environmental science & technology*, 44, 1747-1753.

- Cervantes, F.J., Garcia-Espinosa, A., Moreno-Reynosa, M.A., Rangel-Mendez, J.R., 2010. Immobilized Redox Mediators on Anion Exchange Resins and Their Role on the Reductive Decolorization of Azo Dyes. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1747–1753. doi:10.1021/es9027919.
- Cervantes, F.J., Van Der Zee, F.P., Lettinga, G., Field, J.A., (2001). Enhanced decolourisation of acid orange 7 in a continuous UASB reactor with quinones as redox mediators. *Water Science & Technology*. 44, 123-128.
- Dos Santos A. B . Cervantes F. J. . van Lier . J. B, (2003) Azo dye reduction by thermophilic anaerobic granular sludge, and the impact of the redox mediator anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) on the reductive biochemical transformation.
- Dos Santos, A.B., Traverse, J., Cervantes, F.J., Van Lier, J.B., (2005a). Thermophilic treatment by anaerobic granular sludge as an effective approach to accelerate the electron transfer and improve the reductive decolorization of azo dyes in bioreactors.. *Water Science & Technology*. 52, 363-369.
- Donlon BA, Razo-Flores E, Lettinga G, Field JA (1996) Continuous detoxification, transformation, and degradation of nitrophenols in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnol Bioeng* 51:439–449.
- Enkerlin Ernesto et al .,(1997).Ciencia ambiental y desarrollo sostenible. Editorial Internacional Thompson. México.
- EPA (1997) Perfil de la industria textil. Agencia de protección ambiental.
- Field, J.A., Brady, J., (2003). Riboflavin as a redox mediator accelerating the reduction of the azo dye Mordant yellow 10 by anaerobic granular sludge. *Water Science & Technology*. 48, 187-193.
- Field, J.A., Cervantes, F.J., Van der Zee, F.P., Lettinga, G., (2000). Role of quinones in the biodegradation of priority pollutants: a review. *Water Science & Technology*. 42, 215-222.

- Field, J.A., Stams, A.J.M., Kato, M. and Schraa, G. (1995) Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Anton Leeuw. Int. J. G.*, 67: 47-77.
- Glynn h. Y Heinke g. Environmental Science and Engineering.
- Guzmán D. (2003) Sistema modelo de tratamiento de las aguas residuales que contienen colorantes azo utilizando un reactor UASB y quinonas como mediadores REDOX.
- Guo, J., Zhou, J., Wang, D., Tian, C., Wang, P., Salah Uddin, M., (2007). Biocalalyst effects of immobilized anthraquinone on the anaerobic reduction of azo dyes by the salttolerant bacteria. *Water Research*; 41:426–32.
- Hunger, K. (2003). Industrial dyes. *Chemistry, properties, application*.
- INE (1994) Report on the General Situation on Environmental Equilibrium and Protection, 1993±1994. Social Development Secretariat and National Ecology Institute, 377 pp.
- Jimenez C. B. (1995) Human resources in environmental engineering: needs, actual state and perspectives. *Ingenieria Ambiental* 8(27/28), 51±68. La Jornada, daily newspaper, La SEMARNAP preve un crecimiento anual de 20%, 10 abril 1996, 11 pp.
- Karunakaran,E.y Mukherjee,J.(2011)Biofilmology : a multidisciplinary review of the estudy of microbial biofilms.*Appl Microbiol Biotechnol*.90,1869-1881.
- Keck, A., Klein, J., Kudlich, M., Stolz, A., Knackmuss, H.-J., Mattes, R., 1997. Reduction of azo dyes by redox mediators originating in the naphthalenesulfonic acid degradation pathway of *Sphingomonas sp.* strain BN6. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3684±3690.
- Kirk-Othmer. (1993) Azo dyes. *Enciclopedia of Chemical Technology*; (3,4,8 and 9), Editorial John Willey & Son, 74-82, 753-773 y 857-863.

- Levine WG (1991) Metabolism of azodyes: implication for detoxification and activation. *Drug Metab. Res.* 23: 253–309.
- Li, L., Wang, J., Zhou, J., Yang, F., Jin, C., Qu, Y., Li, A., Zhang, L., 2008. Enhancement of nitroaromatic compounds anaerobic biotransformation using a novel immobilized redox mediator prepared by electropolymerization. *Bioresour. Technol.* 99, 6908–6916.
- Mattson, J.A., Mark, H.B., Malbin, M.D., Weber, W.J., Crittenden, J.C. (1969). Surface chemistry of active carbon: specific adsorption of phenols. *Journal of Colloid and Interface Science*, 31, 116-130.
- Mezohegyi, G., Kolodkin, A., Castro, U.I., Bengoa, C., Stuber, F., Font J., Fabregat, A. (2007). Effective Anaerobic Decolorization of Azo Dye Acid Orange 7 in Continuous Upflow Packed-Bed Reactor Using Biological Activated Carbon System. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46, 6788-6792.
- Monroy, O., Famá, G., Meraz, M., Montoya, L., & Macarie, H. (2000). Anaerobic digestion for wastewater treatment in Mexico: state of the technology. *Water Research*, 34(6), 1803-1816.
- Montimer C.E.(2001). *Quimica* .Grupo editorial Iberoamericana.S.A.de C.V. 5ta edición.Capitulo 12,336-338.
- Nikolaev,Yu.A. y Plakunov , V.K.(2007).Biofilm-“City of Microbes” or an Analogue of Multicellular Organisms? *Microbiology*.76,125-133.
- O'Neill M.A., Eberhard S., Albersheim P. y Darvill A.G. (1999) Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for Arabidopsis growth. *Science*, 294: 276.
- Pandey, A., Singh P., Iyengar L. 2007. Review: Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Internat. Biodeterioration and Biodegradation*. pp54, 73-84.
- Rajaguru, P., et al. 2002. Genotoxicity evaluation of polluted ground water in human peripheral blood lymphocytes using the comet assay. *Mutation Res.* 517, p. 29–37.

- Rau, J., Knackmuss, H.J., Stolz, A., (2002). Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria. *Environmental Science & Technology*, 36, 1497–1504.
- Rai, H., et al. 2005. Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: a review of emerging techniques with reference to biological treatment. *Crit. Rev. Environ. Sci. Tech.* 35, pp219–238.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant R., Nigam P. (2001). Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*, 77, 247-255.
- Rios Del Toro, E. E. (2012). Modificación Química de Fibras de Carbón Activado y su Aplicación en procesos de Óxido-Reducción.
- Stevenson, F. J., 1994. Humus chemistry: genesis, Composition, Reactions, 2nd ed. Wiley, New York.
- Şen, S., & Demirer, G. N. (2003). Anaerobic treatment of real textile wastewater with a fluidized bed reactor. *Water Research*, 37(8), 1868-1878.
- Shah, M. P., Patel, K. A., Nair, S. S., & Darji, A. M. (2014). Decolorization of Remazol Black-B by Three Bacterial Isolates. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 2(1), 44-49.
- Tan Nico C.G. (2001). Integrated and Sequential Anaerobic/Aerobic Biodegradation of Azo Dyes. Doctoral Thesis. Wageningen. Universidad de Wageningen, Netherlands. 104p. Tatarko M., et. al., (1998). Biodegradation of Congo Red by *Phanerochaete chrysosporium*. *Wat. Res.* 32(5), 1713-1717.
- Van der Zee, F.P., Villaverde, S. 2005. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes—a short review of bioreactor studies. *Wat. Res.* 39, pp1425–1440.
- Van der Zee, F.P. 2002. Anaerobic azo dye reduction. Doctoral Thesis. Wageningen University. The Netherlands. 142-154.
- Van der Zee, F.P., Villaverde, S. 2005. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes—a short review of bioreactor studies. *Wat. Res.* 39, pp1425–1440.

- Van Lier J, Van der Zee F, Frijters C, Ersahin M (2015) Celebrating 40 years anaerobic sludge bed reactors for industrial wastewater treatment. *Rev Environ Sci Bio/Techno* 14:681–702.
- Van der Zee FP, Lettinga G, Field JA (2001b) Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge. *Chemosphere* 44:1169–1176.
- Van der Zee, F.P., Bisschops, I.A.E., Blanchard, V.G., Bouwman, R.H.M., Lettinga, G., Field, J.A., (2003). The contribution of biotic and abiotic processes during azo dye reduction in anaerobic sludge. *Water Research*, 37, 3098- 3109.