

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



CAMBIOS EN LA QUÍMICA SUPERFICIAL DE LAS FIBRAS DE CARBÓN
ACTIVADO Y LA CANTIDAD DE BIOPELÍCULA DESPUÉS DE LA
BIOTRANSFORMACIÓN CONTINUA DE 4-NITROFENOL

Por:

JUAN PABLO GARCÍA RODRÍGUEZ

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

Agosto, 2018

CAMBIOS EN LA QUÍMICA SUPERFICIAL DE LAS FIBRAS DE CARBÓN
ACTIVADO Y LA CANTIDAD DE BIOPELÍCULA DESPUÉS DE LA
BIOTRANSFORMACIÓN CONTINUA DE 4-NITROFENOL

Aprobación de tesis:

Dr. Héctor Javier Amézquita García
Presidente

Dr. David Alejandro de Haro del Río
Secretario

Dr. Carlos Escamilla Alvarado
Vocal

Dra. Ma. Araceli Hernández Ramírez
Subdirectora de Estudios de Posgrado

CAMBIOS EN LA QUÍMICA SUPERFICIAL DE LAS FIBRAS DE CARBÓN
ACTIVADO Y LA CANTIDAD DE BIOPELÍCULA DESPUÉS DE LA
BIOTRANSFORMACIÓN CONTINUA DE 4-NITROFENOL

Comité revisor de tesis:

Dra. Margarita Loredo Cancino

Dr. David Alejandro de Haro del Río

Dr. Carlos Escamilla Alvarado

RESUMEN

Juan Pablo García Rodríguez

Fecha de Graduación: Agosto, 2018

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: **CAMBIOS EN LA QUÍMICA SUPERFICIAL DE LAS FIBRAS DE CARBÓN ACTIVADO Y LA CANTIDAD DE BIOPELÍCULA DESPUÉS DE LA BIOTRANSFORMACIÓN CONTINUA DE 4-NITROFENOL.**

Número de páginas: 99

Candidato para el grado de Maestría en Ciencias con orientación en Procesos Sustentables.

Área de Estudio: Procesos Sustentables

Propósito y método de estudio: El objetivo principal de este trabajo es estudiar los cambios fisicoquímicos en las fibras de carbón activado (FCAs) y la cantidad de biopelícula que crece sobre ellas al momento de ser utilizadas en un proceso continuo de biotransformación de 4-nitrofenol (4NF) en biorreactores. Para este proceso fue aplicada una metodología de restricción de fuente de carbono en los biorreactores. Se hizo una caracterización fisicoquímica de los materiales carbonosos antes y después de la biotransformación de 4NF mediante titulaciones potenciométricas para determinar el punto de carga cero (PCC) y la concentración de grupos funcionales superficiales. Finalmente, se hizo una cuantificación de la biomasa activa por la técnica de sólidos volátiles.

Contribuciones y conclusiones: Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación demostraron que, utilizando una metodología de restricción de sustrato, la biotransformación de 4NF en un reactor control fue de 30% y se mejoró hasta en un 60% utilizando cualquier FCA (fibra de fábrica, fibra oxidada y fibra con antraquinónica) como soporte de crecimiento. Al no haber diferencias entre los reactores empacados y sólo haberlas con el reactor control, se concluye que la química superficial de las FCAs no tuvo un efecto sobre el proceso de biotransformación, demostrando la mayor influencia de la biopelícula que creció sobre los materiales carbonosos. Finalmente, la caracterización posterior a la formación de la biopelícula del proceso de biotransformación de 4NF mostró que la química superficial se modifica por diversos mecanismos presentes en la formación de la biopelícula. Particularmente, el PCC se neutralizó en las tres FCAs utilizadas y los grupos ácidos y básicos totales se incrementaron, sin embargo, como se discutió, estos cambios fisicoquímicos no tuvieron influencia en la eficiencia de biotransformación de 4NF.

FIRMA DEL ASESOR: _____

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecerles a todas aquellas personas que estuvieron ahí para mí cuando necesité de su apoyo, ayuda o comprensión y lo hicieron desinteresadamente. Les agradezco infinitamente por comprender a Pablo, alentarle a continuar y edificarlo como persona, profesionista, ciudadano y cristiano.

En primer lugar, a Andrea Susana por estar ahí, como mi amiga y como mi novia, porque mostró su preocupación por mí, me ayudó a sobrellevar el estrés, a pesar de que ella estaba en la misma situación, e hizo todo por mantener una sonrisa en mi rostro. Gracias por tus palabras de aliento, por tu acompañamiento, por compartir tus alimentos, por ayudar a divertirme para olvidar mis preocupaciones por un momento y por siempre pensar en mí. También, agradezco tu ayuda en mi proyecto y deseo que Dios llene de amor, plenitud y éxito tu vida y a tu familia ¡Gracias, mi química (que no es mi hermana) y persona favorita!

A todos esos amigos de la escuela que fueron parte de las fiestas y buenos momentos cuando todo se veía muy complicado. Gracias a Ale, Piñón, Reyes, Kari, Felipe, Laura, y a mis roomies y amigos Santi, Tati, Diego y Cami. Chicos, me siento bendecido de haberlos conocido y deseo y pido a Dios que les vaya de lo mejor en todo lo que se propongan.

También, quiero ser agradecido con aquellos maestros de la facultad que me apoyaron en diversos aspectos de mi trabajo, como el Dr. Pasiano que me facilitó inóculo para mis experimentos, el Dr. Manuel por explicarme electroquímica, el Dr. Carlos por apoyarme con los contactos en la UNAM, la Dra. Margarita y el Dr. David por ser parte de mi comité, haciendo aportaciones precisas para el mejoramiento de mi proyecto, y con todos aquellos profesores, que de alguna u otra manera, aportaron algo para mi crecimiento intelectual, personal y humano. Un agradecimiento especial al técnico auxiliar de IQII, Carlos, por siempre ser tan servicial, atento y amable en lo que hace, y al M.C. Yair por echarme la mano con inóculo y reactivos; gracias compa.

A los chicos del servicio social, Ale, Susy, Debanhi, Héctor y Julia, gracias por su paciencia y dedicación en la realización de la etapa final del proyecto. Sin ustedes no habría podido finalizar esto sin tanto estrés. Les deseo lo mejor en lo que se propongan y mucho ánimo.

A las personas que durante mi estancia en el IPICYT me apoyaron con los análisis y aclarando todas mis dudas. Al Dr. René, a los M.C. Esmeralda, Carlos, Karen, Joel e Iván, a Saúl e Iván Aviña y en general a todo el grupo de investigación del Dr. René y aquellos que de alguna u otra manera contribuyeron de buena manera en mi estancia.

A mis amigos Julia, Alberto, Elisa y Javier, por haber aguantado mis malos ratos a causa de todo el estrés y por acompañarme cuando tenía que venir muy tarde a la escuela; y a toda mi familia y amigos que, aunque no estando presentes, siempre han creído en mí y mis capacidades. Gracias.

Finalmente, quiero agradecer a mi asesor, el Dr. Héctor Amézquita, por su tiempo y esfuerzo dedicados a este trabajo, por sus consejos, por mostrarme nuevas formas de adquirir conocimiento, por su ayuda en diferentes aspectos y por alentarme a continuar dando lo mejor de mí en el trabajo. Gracias por su apoyo y su comprensión. Dios lo bendiga a usted y a su familia y lo llene de mucho éxito y satisfacción en su vida.

DEDICATORIA

En primer lugar, como en toda mi vida, dedico este trabajo y esfuerzos a Dios nuestro Señor y le agradezco una vez más el haberme dado la oportunidad de crecer como persona, como ciudadano, como profesionista y como cristiano. Gracias a mi Señor por haberme dado la fortaleza, el temple, la sabiduría, el ánimo, la paciencia y la alegría para realizar mis actividades y por poder tener este conocimiento que va ser para darte gloria y servir a mis hermanos. Que al igual que este trabajo, siempre puedas estar en todos y cada uno de los aspectos de mi vida para servirte a ti y a los demás. ¡Estamos trabajando por Dios y por la Patria!

A Rafael y Aura, las dos personas que Dios me regaló por padres y por los cuales soy el ser humano que soy. A ellos dedico mis esfuerzos y todo el fruto de esta etapa porque sin su apoyo, amor, comprensión, palabras, abrazos y sabiduría no habría podido lograr otro éxito más. Mamá y Papá, ustedes son mi motivación y mi ejemplo ¡gracias por creer en mí! ¡Es un placer y una alegría hacerlos sentir orgullosos una vez más! Los amo.

A América, la personita que Dios me obsequió por hermanita, mi compañera, mi química favorita. Gracias porque sé que también crees en mí y me alientas a ser cada vez mejor con ese amor que me tienes. Este trabajo también lo dedico para ti, para que puedas sentirte muy orgullosa de tenerme como hermano. Yo sé que tú igual harás sentirnos orgullosos a papá, a mamá y a mí tal y como lo has hecho hasta ahora. ¡Gracias por ser una motivación más! Te amo.

Una dedicatoria especial de este trabajo la quiero hacer a mi abuelita Lupe que, durante el periodo en el que se realizó este trabajo, partió de nuestro lado en este mundo donde dio gloria a Dios para ir a su presencia a adorarlo en persona. Dedico todo este esfuerzo a ti también abuela para que te sientas orgullosa de la persona en la que me he convertido y en la que quiero ser. Gracias por todo lo que me diste como mi abuela. Siempre estarás en mi mente y mi corazón para recordarte con mucha alegría.

Finalmente, dedico este trabajo a mí mismo, no por presunción sino por amor propio, por haber puesto ánimo, esfuerzo, paciencia, responsabilidad y alegría en todo lo que se realizó para finalizar con gusto este propósito. Que este sea uno de los tantos logros que se tendrán en la vida y que con gusto y optimismo esperaré. Siempre hacia adelante.

“El momento ideal no existe, tú mismo lo haces”

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. COMPUESTOS NITROAROMÁTICOS.....	2
1.2. MÉTODOS DE TRATAMIENTO DE NA.....	3
1.3. USO DE SOPORTES MICROBIOLÓGICOS EN BIORREMEDIACIÓN.....	5
1.4. ANÁLISIS DE LITERATURA.....	8
1.5. JUSTIFICACIÓN.....	13
1.6. HIPÓTESIS.....	15
1.7. OBJETIVO GENERAL.....	16
1.8. OBJETIVOS PARTICULARES.....	16
2. FUNDAMENTOS.....	17
2.1. CAS – CARACTERÍSTICAS, PROPIEDADES, USOS.....	17
2.1.1. <i>Características físicas/texturales</i>	17
2.1.2. <i>Características químicas</i>	18
2.1.2.1. Carga superficial.....	20
2.1.3. <i>Usos y aplicaciones de los CAs</i>	20
2.1.4. <i>Modificación física y química de CA</i>	21
2.1.4.1. Modificaciones oxidativas ácidas.....	22
2.2. BIOTRANSFORMACIÓN ANAEROBIA ASISTIDA POR SOPORTES MICROBIOLÓGICOS.....	23
2.2.1. <i>Las biopelículas</i>	24
2.2.1.1. Formación de una biopelícula.....	25
2.2.1.2. Microestructura de las biopelículas.....	27
2.2.1.3. Factores que influyen en la formación de la biopelícula.....	28
2.2.1.4. Función de las biopelículas.....	30
2.2.2. <i>Biotransformación de contaminantes recalcitrantes</i>	31
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
3.1. REACTIVOS.....	35
3.2. MODIFICACIÓN DE LA QUÍMICA SUPERFICIAL DE LAS FCAs.....	35
3.2.1. <i>Tratamiento oxidativo con HNO₃</i>	36
3.2.2. <i>Tratamiento para el anclaje de AQDS</i>	37
3.3. CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LAS FCAs.....	37
3.3.1. <i>PCC de las FCAs</i>	37
3.3.2. <i>Cuantificación de grupos funcionales superficiales de las FCAs</i>	39
3.4. BIOTRANSFORMACIÓN CONTINUA DE 4NF EN REACTORES UASB UTILIZANDO FCAs COMO MEDIADORES REDOX.....	41
3.4.1. <i>Diseño de biorreactores UASB</i>	42
3.4.2. <i>Condiciones de operativas de los biorreactores</i>	44
3.4.3. <i>Análisis de rutina en los bioreactores UASB</i>	47

3.4.5.1.	Medición de pH.....	47
3.4.5.2.	Volumen de producción de biogás	47
3.4.5.3.	Composición de biogás	47
3.4.5.4.	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	48
3.4.5.5.	Espectrofotometría UV-Vis	49
3.5.	CAMBIO DE LAS CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS DE LAS FCAS	50
3.6.	CAMBIOS EN LA CANTIDAD DE BIOPELÍCULA ADHERIDA EN LAS FCAS	51
4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	52
4.1.	CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LAS FCAS	52
4.2.	BIOTRANSFORMACIÓN CONTINUA DE 4NF EN BIOREACTORES UASB UTILIZANDO FCAS COMO MEDIADOR REDOX	54
4.2.1.	<i>Etapas de aclimatación A1 y A2.</i>	54
4.2.2.	<i>Etapas de biotransformación I.</i>	59
4.2.3.	<i>Etapas de biotransformación II y III.</i>	65
4.2.4.	<i>Etapas de biotransformación IV.</i>	66
4.3.	CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DE LAS FCA ANTES Y DESPUÉS DE SER SOMETIDAS A UN PROCESO DE BIOREDUCCIÓN DE 4NF	70
4.4.	CAMBIOS EN LA CANTIDAD DE BIOPELÍCULA ADHERIDA EN LAS FCAS	74
5.	CONCLUSIONES.....	78
6.	RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS	80
	BIBLIOGRAFÍA	82
	APÉNDICES	93

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
TABLA 1. RESUMEN DE LA LITERATURA DE ANTECEDENTES PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.	12
TABLA 2. PERSPECTIVA DE LAS REACCIONES QUE PUEDEN SER CATALIZADAS POR CARBONES POROSOS Y SUS CORRESPONDIENTES SITIOS ACTIVOS.....	21
TABLA 3. CARACTERÍSTICAS OPERATIVAS PARA LA BIOTRANSFORMACIÓN ANAEROBIA DE 4NF.	44
TABLA 4. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA SUPERFICIE DE LAS FCAs.	53
TABLA 5. EVALUACIÓN DE PH EN LA ALIMENTACIÓN Y LOS EFLUENTES DE LOS REACTORES.....	55
TABLA 6. PRODUCCIÓN MÁXIMA DE BIOGÁS (ML BIOGÁS/DÍA) EN LOS BIORREACTORES.	56
TABLA 7. COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS SUPERFICIALES DE LOS MATERIALES CARBONOSOS ANTES Y DESPUÉS DE SER SOMETIDOS AL PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DEL 4NF. GRUPOS FUNCIONALES (MEQ/L).....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
FIGURA 1. GRUPOS FUNCIONALES ENCONTRADOS EN LA SUPERFICIE DE LOS CAs....	19
FIGURA 2. FASES DEL DESARROLLO DE UNA BIOPELÍCULA.	27
FIGURA 3. REPRESENTACIÓN DE LA MICROESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES DE LA BIOPELÍCULA Y LA PRESENCIA DE MICRONICHOS DEBIDO A LOS GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN DEL OXÍGENO Y LOS SUSTRATOS.	28
FIGURA 4. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA ZONA DE INTERACCIÓN ENTRE UNA CÉLULA REVERSIBLEMENTE ADHERIDA Y UNA SUPERFICIE.	30
FIGURA 5. VÍAS PARA LA REDUCCIÓN ANAEROBIA DE UN CONTAMINANTE. CA: CARBÓN ACTIVADO, MOS: MICROORGANISMOS.....	33
FIGURA 6. REPRESENTACIÓN DE LA QUÍMICA SUPERFICIAL DE LAS FCAs ANTES (A) Y DESPUÉS DE LA MODIFICACIÓN QUÍMICA (B) Y LA FUNCIONALIZACIÓN CON AQDS (C).	36
FIGURA 7. DISEÑO DE BIORREACTORES EMPACADOS CON DISCOS DE FCA.	43
FIGURA 8. ESQUEMATIZACIÓN DEL SISTEMA DE BIORREACTORES UASB PARA LA BIOTRANSFORMACIÓN DE 4NF.	43
FIGURA 9. DETERMINACIÓN DEL PCC DE LAS FCAs DE FÁBRICA Y MODIFICADAS. VARIACIÓN DE LA CARGA SUPERFICIAL CON RESPECTO AL PH.	53
FIGURA 10. MONITOREO DE PH DURANTE EL PROCESO ANAEROBIO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE 4NF.	55
FIGURA 11. PRODUCCIÓN DE BIOGÁS DURANTE EL PROCESO DE BIOTRANSFORMACIÓN DE 4NF.....	57
FIGURA 12. REMOCIÓN DE DQO EN LOS BIORREACTORES.....	58
FIGURA 13. ETAPAS DE LA BIOTRANSFORMACIÓN ANAEROBIA DE 4NF.	60
FIGURA 14. ETAPA I DE LA BIOTRANSFORMACIÓN ANAEROBIA DE 4NF.	61

FIGURA 15. ESPECTROS DE ABSORBANCIA EN LOS EFLUENTES DE LOS BIORREACTORES. A) DÍA 1 Y B) DÍA 7 EN LA ETAPA I.....	62
FIGURA 16. VISTA DE LA ACUMULACIÓN DE BIOMASA SOBRE LOS DISCOS DE FCA OXIDADA AL 6TO DÍA DE BIOTRANSFORMACIÓN, ETAPA I.....	63
FIGURA 17. VISTA DE LA ACUMULACIÓN DE BIOMASA SOBRE LOS DISCOS DE FCA CON AQDS AL 6TO DÍA DE BIOTRANSFORMACIÓN, ETAPA I.....	64
FIGURA 18. VISTA DE LA ACUMULACIÓN DE BIOMASA SOBRE LOS DISCOS DE FCA COMERCIAL (AW) AL 6TO DÍA DE BIOTRANSFORMACIÓN, ETAPA I.....	64
FIGURA 19. ETAPAS II Y III DE LA BIOTRANSFORMACIÓN ANAEROBIA DE 4NF.....	66
FIGURA 20. ETAPA IV DE LA BIOTRANSFORMACIÓN ANAEROBIA DE 4NF.....	67
FIGURA 21. COMPORTAMIENTO DE LOS PROMEDIOS DE LOS PORCENTAJES DE BIOTRANSFORMACIÓN DE 4NF DE LOS CUATRO BIORREACTORES, DURANTE TRES PERIODOS DE TIEMPO DE LA FASE IV.....	67
FIGURA 22. DETERMINACIÓN DEL PCC DE LAS FCA ANTES Y DESPUÉS DE 37 DÍAS DENTRO DE LOS BIORREACTORES UASB EN LA BIOTRANSFORMACIÓN DE 4NF. TITULACIONES POTENCIOMÉTRICAS DE A) AW, B) OX Y C) AQ	71
FIGURA 23. CUANTIFICACIÓN DE CONTENIDO DE SV EN EL LODO GRANULAR Y LAS FCAS AL DÍA 37.....	75

ABREVIATURAS

4AF	4-aminofenol
4NF	4-nitrofenol
AGVs	Ácidos grasos volátiles
AQ	FCA funcionalizada con anclaje de AQDS en su superficie
AQDS	Antraquinona-2,6-disulfonato
AW	FCA de fábrica
CA	Carbón activado
CAG	Carbón activado granular
DQO	Demanda química de oxígeno
EPS	Exopolisacáridos
FCA	Fibras de carbón activado
FCA-AQ	Biorreactor empacado con FCA AQ
FCA-AW	Biorreactor empacado con FCA AW
FCA-OX	Biorreactor empacado con FCA OX
NA	Compuestos nitroaromáticos
OX	FCA oxidada con ácido nítrico
PCC	Punto de carga cero
SV	Sólidos volátiles
TRH	Tiempo de retención hidráulica
UASB	Reactor de cama anaerobia de flujo ascendente (<i>Upflow Anarobic Sludge Blanket</i>)
UV-Vis	Espectrometría en el rango Ultravioleta-Visible

1. INTRODUCCIÓN

El constante aumento de la población mundial lleva consigo un incremento en el consumo de productos generados de procesos industrializados. Esto ha resultado en un aumento significativo de las actividades como la agricultura, la explotación de fuentes de energía, la industria química y de los alimentos y el uso del agua potable^{1,2}. El agua es un recurso importante para la satisfacción de las necesidades básicas de los seres vivos, sin embargo, desde los inicios de la era industrializada, también se ha convertido en materia prima de múltiples procesos. Los problemas principales que se derivan del uso industrial del agua son: 1) la sobreexplotación de los recursos hídricos necesarios para la población, y 2) la generación y liberación de residuos que afectan la salud humana y los ecosistemas.

Muchos de los residuos generados por la industria tienen la característica de ser tóxicos y recalcitrantes (persistente en el ambiente y resistente a la degradación)³, principalmente por su estructura química, muy distinta a los compuestos generados en la naturaleza (xenobióticos). Moléculas orgánicas con grupos funcionales halogenados, azufrados, fosforilados, nitroaromáticos, entre otros, pueden ser tóxicos hacia los seres vivos debido a que no pueden asimilarlos⁴. Otras causas de la toxicidad de los xenobióticos incluyen: la concentración de inhibición (IC_{50}), concentración letal, solubilidad/hidrofobicidad del compuesto, reactividad y estabilidad al ataque enzimático³. En general,

muchas de las industrias socialmente responsables les brindan un tratamiento a los contaminantes del agua generados en sus procesos de fabricación, sin embargo, algunas industrias incurren en delitos como la mala disposición de los residuos acuosos, la falta de atención a la carga contaminante en los efluentes industriales, así como los accidentes en los que se derraman al ambiente concentraciones considerables de químicos. Estas malas prácticas industriales han generado un mayor interés en la atención al tratamiento de la contaminación para reducir al mínimo su impacto⁵.

1.1. Compuestos nitroaromáticos

Los compuestos nitroaromáticos (NA) son sustancias ampliamente utilizadas en los procesos industriales como intermediarios en la síntesis orgánica de otros compuestos de mayor interés como en procesos de manufactura dentro de los sectores farmacéutico, armamentista (explosivos), agroquímico (pesticidas) y textil (colorantes)^{5,6}.

Los NA están caracterizados por contar con uno o más anillos aromáticos, así como grupos sustituyentes nitro ($-\text{NO}_2$). La electronegatividad generada por el grupo nitro altera la densidad electrónica del anillo, provocando la deslocalización de los electrones π para satisfacer su propia deficiencia de electrones y brindándole carga a la molécula. El grupo nitro se convierte en un sustituyente desactivador del ataque electrofílico hacia la estructura del anillo, lo

que provoca que bajo condiciones anaerobias sea difícil la donación de sus electrones para su oxidación⁷. Además del grupo nitro, el anillo aromático también confiere estabilidad a la molécula debido a las cualidades electrónicas de sus nubes anulares⁸. En función a lo anterior, se ha visto que la molécula adquiere una menor reactividad en condiciones aerobias, siendo todo esto lo que le confiere su naturaleza recalcitrante⁹.

Además de la evidencia de su resistencia a la biodegradación, estos compuestos también representan un riesgo a la salud humana y ambiental debido a los efectos tóxicos, carcinogénicos, mutagénicos que pueden presentar en diversos organismos^{4,10-16}. Esta peligrosidad ha derivado en la búsqueda y el desarrollo de tecnologías que permitan la eliminación o recuperación de estos compuestos del agua con el fin de mejorar de su calidad, reduciendo el riesgo para su consumo humano.

1.2. Métodos de tratamiento de NA

En la actualidad existen diversos métodos físicos, químicos, físico-químicos y biológicos para el tratamiento de NA. Entre ellos destacan la adsorción sobre diversos materiales^{12,17}, la oxidación avanzada¹⁸⁻²⁰, las reducciones químicas^{21,22}, las oxidaciones electroquímicas²³⁻²⁵, las reacciones con catalizadores metálicos²⁶⁻²⁸ y la biorremediación en sistemas anaerobios^{10,15,29,30}.

Es difícil hacer una comparación entre las diversas técnicas de tratamiento debido a que la eficiencia de los diversos procesos depende mucho de la carga

y tipo de contaminante, así como de las condiciones en las que los efluentes son liberados^{31,32}. Por otra parte, muchas de estas tecnologías todavía se encuentran a escala piloto o a nivel laboratorio y se pueden evidenciar algunas desventajas que presentan a nivel económico, operativo y energético. Entre ellas encontramos que unas metodologías presentan la necesidad de un suministro continuo de aditivos (reducción química, adsorción), algunas requieren de materia prima costosa (catalizadores, oxidación electroquímica), muchas requieren de un pre o post-tratamiento que garantice su eficiencia, otras más conllevan problemas de disposición de los lodos residuales (adsorción) y finalmente muchas requieren de altos costes energéticos (oxidación avanzada)^{33,34}.

La biotecnología presenta diversas alternativas para el tratamiento de contaminantes a bajo costo y amigables con el ambiente. Específicamente, la digestión anaerobia es una de las biotecnologías que ha logrado buenos resultados en la biorremediación de NA. Entre alguna de sus ventajas tenemos la de ser un proceso con baja producción de biomasa, tener la capacidad de degradar compuestos considerandos muy tóxicos y recalcitrantes, resistir una mayor carga orgánica y poder tener estabilidad ante condiciones oligotróficas¹⁰. A pesar de ello, estas tecnologías aún presentan desventajas operativas como los largos tiempos de residencia necesarios para la degradación de altas concentraciones contaminantes y el limitado tiempo de vida de los microorganismos^{35,36}, que reducen su rendimiento y aplicabilidad. En la búsqueda de su mejoramiento, se ha encontrado que la utilización de materiales que permiten el crecimiento de los microorganismos en su superficie han

ayudado a promover la actividad degradadora y una mayor resistencia de las comunidades en los procesos.

1.3. Uso de soportes microbiológicos en biorremediación

Las comunidades microbianas anaerobias tienden a formar colonias de tipo granular cuando están dispersas en el fluido o biopelículas cuando hay superficies disponibles para ser colonizadas³⁷. Las superficies que tienden a promover el crecimiento de biomasa deben de cumplir ciertas características: tener una naturaleza textural adecuada, como la aspereza, que origina una mayor área superficial a colonizar y aminora los efectos de las fuerzas de cizallamiento generadas por el movimiento del medio acuoso; y contar con propiedades químicas, como la hidrofobicidad, que favorezcan la fijación del sustrato y posteriormente de las células³⁸. Estas propiedades juegan un papel importante brindando protección química, ya que pueden adsorber las altas concentraciones de compuestos tóxicos para los microorganismos, regulan las condiciones ambientales como el pH, mantienen a los microorganismos adheridos y dentro del reactor y facilitan la difusión de las fuentes de carbono para un mejor aprovechamiento debido al menor espesor de las biopelículas comparados con los gránulos, comúnmente encontrados en los procesos de digestión anaerobia³⁹. Teniendo en cuenta lo anterior, en comparación al uso de lodos anaerobios granular, la formación de biopelículas se presenta como una tecnología más avanzada para el tratamiento de contaminantes recalcitrantes como los NA.

La literatura reciente muestra una gran variedad de materiales que han sido utilizados como soportes de crecimiento microbiano en procesos de descontaminación. A continuación, se clasifican los materiales que se usan como soportes biológicos de acuerdo a su origen:

- Soportes naturales: arena⁴⁰, tierra diatomácea, escoria de horno (volcanita)⁴¹, kaolin, zeolitas⁴², biomasa lignocelulósica^{43,44} y ceniza de carbón⁴⁵.
- Materiales naturales procesados: cerámica, ladrillo refractario⁴⁶, biochar (biomasa pirolizada)⁴⁷, vidrio, tiza⁴⁸ y carbón activado⁴⁹.
- Materiales sintéticos: espuma de poliuretano, gel de sílice⁵⁰, policloruro de vinilo (PVC)⁵¹.
- Materiales sintéticos funcionalizados: resinas de intercambio iónico⁵², polietileno funcionalizado⁵³, polímeros inertes⁵⁴ y biodegradables (con fuente de carbono)⁵⁵, compositos de polipirrol funcionalizados con antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS)⁵⁶, esponja recubierta con TiO₂⁵⁷ y fieltro de carbono conductivo⁵⁸.

Los carbones activados (CAs) son los materiales más utilizados a nivel industrial por su bajo costo y porque se pueden fabricar a partir de diversos precursores abundantes en la naturaleza: de residuos agroindustriales como las cáscaras de semillas y los frutos secos⁵⁹⁻⁶¹, el aserrín⁶², las semillas^{63,64}, la cáscara de coco⁶⁵, las vainas⁶⁶ y los tallos⁶⁷; de partes de plantas como la mazorca de maíz⁶², las raíces⁶⁸ y la madera^{69,70}; y también de algunos polímeros sintéticos como el caucho⁷¹ y el poliacrilonitrilo⁷². Dentro de las aplicaciones que

tienen, estos materiales pueden se han utilizado en diversas formas. Podemos encontrarlos granulares⁷³, polvo⁷⁴, fibras⁷⁵, telas⁷⁶, fieltros⁵⁸, pellets⁷⁷. Las características texturales dependen del proceso de fabricación. Las fibras de carbón activado (FCAs) presentan varias ventajas comparados con los materiales carbonosos más usados en la industria como: mayor área expuesta a la superficie debido al diámetro pequeño de las fibras, facilidad de manipulación para su fijación en reactores empacados, la resistencia a la tensión, su estabilidad térmica y química, una buena conductividad térmica y eléctrica, flexibilidad y una baja densidad ⁷².

Considerando las ventajas de las FCAs respecto a otros CAs y que son materiales poco estudiados como soporte de microorganismos anaerobios, en el presente trabajo se ha estudiado la biotransformación de 4-nitrofenol (4NF) a 4-aminofenol (4AF) en un proceso en flujo continuo, empleando bioreactores empacados con FCAs e inoculados con biomasa granular anaerobia para la formación de biopelícula en la superficie de los materiales carbonosos. Se evaluaron los cambios en la química superficial de las FCAs por diversas técnicas y se cuantificó la cantidad de biomasa presente en las biopelículas dado que en la literatura ha sido poco reportado siendo de importancia su estudio para un mejor entendimiento de los procesos de biotransformación de contaminantes recalcitrantes.

1.4. Análisis de literatura

Uno de los primeros trabajos en los que se aplicó el CA como un mediador redox en la biotransformación de un contaminante recalcitrante, fue el trabajo de Van der Zee y colaboradores⁷⁸. En este trabajo se realizaron pruebas en lote donde utilizaron carbón activado granular (CAG) como un acelerador de la reducción química del colorante azoico Naranja Ácido 7, en donde el Na₂S fue el donador de electrones. Una vez comprobado que el CAG podía jugar un papel como mediador redox en sistemas fisicoquímicos, entonces se utilizó para ver la influencia que podría tener en procesos biológicos. De esta forma, un reactor de cama anaerobia de flujo ascendente (UASB, *Upflow Anarobic Sludge Blanket*) fue empacado con 2.5 g de CAG, utilizando ácidos grasos volátiles (AGVs) como donadores de electrones para la reducción del mismo colorante. Ellos observaron que la eficiencia de reducción del colorante se incrementó de 10 a un 90% en el primer día cuando el CAG estaba presente en el sistema. Además, en ausencia del material carbonoso, la reducción del colorante se prolongó hasta siete días y obteniendo porcentajes de decoloración sólo del 60%. Con esto, los autores demostraron que el CA mejoró los procesos de biotransformación, lo cual fue atribuido a las propiedades adsorbentes del CAG y de sus grupos funcionales como las quinonas, las cuales están relacionadas con la transferencia de electrones. Esto también nos muestra que las propiedades de los CA tienen influencia sobre sistemas fisicoquímicos y biológicos.

Hay otros trabajos en los que se tiene confirmada la actividad catalítica del CA, como en el reportado por Pereira y colaboradores⁹. Este estudio evidencia la

participación del CA como mediador redox en la reducción de *o*-, *m*- y *p*-nitroanilina. Mediante experimentos en lote, utilizando 2 g/L de una mezcla de AGVs (acetato, propionato y butirato) como donadores de electrones y 0.1 g/L de pellets de CA, se evaluó la reducción biológica de 1 mM de las nitroanilinas. Encontraron que, en 24 h, el sistema biológico por sí sólo lograba porcentajes de transformación de 32, 56 y 52% para *o*-, *m*- y *p*-nitroanilina, respectivamente. Al momento de adicionar el CA, estos porcentajes se vieron aumentados a 97, 98 y 97%, respectivamente. Esta es evidencia de que las propiedades redox de los materiales carbonosos pueden influenciar los procesos de reducción de diversos tipos de contaminantes. Además de NA y colorantes azoicos, el CA ha sido utilizado como mediador redox para la biotransformación de otros contaminantes como nitratos en aguas residuales⁷⁹, H₂S³⁵, NH₄⁺, materia orgánica⁵¹ y compuestos halogenados como el 4-clorofenol⁸⁰ y el 3-cloronitrobenzeno^{22,80}. Muchos de estos contaminantes son considerados altamente recalcitrantes.

Así como estos estudios, otros se han enfocado en la modificación del CA como mediador redox. Algunos trabajos han optado por las modificaciones físicoquímicas (oxidativas, térmicas, funcionalización, etc.) de los materiales carbonosos con el fin de incrementar grupos funcionales carbonilos en la superficie de los CAGs^{11,32,81}. Estos grupos funcionales promovieron la reducción biológica de colorantes azoicos, a través del incremento de la velocidad de transferencia de electrones.

En vista de lo anterior, la literatura consultada apunta hacia el uso de materiales carbonosos como adsorbente de contaminantes y soporte biológico para la formación de biopelículas como una tecnología adecuada para la

biotransformación de contaminantes. Sin embargo, aún se presentan ciertos problemas del CA como soporte biológico, por ejemplo, la excesiva producción de biopelícula y el bloqueo de grupos funcionales. En el estudio de Ríos-Del Toro y colaboradores⁴⁹, se estudió la biotransformación de rojo de metilo utilizando FCAs como soporte biológico en sistemas en lote. Las FCAs habían sido modificadas por diversos tratamientos oxidativos los cuales incrementaron las concentraciones de grupos carbonilo, sin embargo, una mayor concentración de estos grupos con propiedades redox no afectó la biotransformación de rojo de metilo. Esto fue debido a un crecimiento excesivo de biopelícula, el cual bloqueaba los grupos carbonilo en la superficie de las FCAs oxidadas. Al respecto, Speece⁸² menciona que en una biopelícula mayor a 1 mm de espesor genera problemas de difusión de nutrientes, desde el medio acuoso hasta el soporte. Esto repercute directamente en la eficiencia de biotransformación de contaminantes recalcitrantes³⁵.

Para solucionar el problema de la colmatación de los CAs con biopelícula, se han propuesto algunas técnicas, como la restricción de la fuente de carbono a los microorganismos. En el trabajo de Amezcua-García y colaboradores⁸³ se reportó que la eficiencia de biotransformación de 4NF fue cercana al 100% cuando la fuente de carbono (etanol) se suministró en exceso durante 17 días. En etapas posteriores se restringió la fuente de carbono para favorecer un mayor consumo de sustratos endógenos, y con ello, los autores teorizaron que pudo presentarse una disminución considerable de la biopelícula unida a las FCAs. Después de este tratamiento se observó que las FCAs con una mayor concentración de grupos carbonilo favorecía una mayor eficiencia de

biotransformación del 4NF. Las mejores eficiencias de biotransformación de los reactores empacados con FCAs (eficiencias de biotransformación 20% mayores comparadas con el control sin FCAs) estaban relacionadas con las altas concentraciones de grupos carbonilos presentes en la superficie de los materiales carbonosos. Esta información nos indica que es probable que la interacción bacteria-CA-contaminante se vea beneficiada por la metodología de restricción de sustrato.

Hasta ahora, no se han evaluado los cambios fisicoquímicos en los CAs después de ser utilizados en procesos de biotransformación de contaminantes recalcitrantes. A conocimiento del autor, sólo se tiene reporte de un estudio analizando la ecología microbiana generada en distintos soportes microbianos (nanotubos de carbono y CAG)⁸⁴. Este estudio concluyó que la dinámica de población no varía entre biorreactores con soportes de naturaleza química distinta, sin embargo, aún se requieren más trabajos que reporten la cantidad de biomasa en los biorreactores. A razón del análisis de literatura realizado en esta tesis, el cual se encuentra resumido en la Tabla 1, se considera que la realización de este trabajo es pertinente.

Tabla 1. Resumen de la literatura de antecedentes para la realización de este trabajo.

<i>Descripción de antecedentes del trabajo</i>	<i>Referencia</i>
CAG como material aceptor y donador de electrones en la reducción química del colorante azoico Naranja Ácido 7 utilizando Na ₂ S como donador de electrones.	78
CAG mejora el proceso de biotransformación del Naranja Ácido 7 utilizando AGVs como donadores de electrones en reactores UASB, atribuyendo el aumento de eficiencia a las propiedades adsorbente y los grupos funcionales del material.	78
CA en pellets como mediador redox en la reducción en lote de compuestos nitroarómicos (<i>o</i> -, <i>m</i> - y <i>p</i> -nitroanilina), utilizando AGVs como donadores de electrones.	9
CA como mediador redox en la biotransformación de otros contaminantes como nitratos, H ₂ S, NH ₄ ⁺ , materia orgánica, 4-clorofenol y 3-cloronitrobenceno.	79,35,51,22,80
Modificación de las propiedades fisicoquímicas de los CAs para mejorar las propiedades redox de estos por diversos métodos (oxidativos, térmicos, funcionalización).	11,32,81
Bloqueo de grupos funcionales en FCAs modificadas por colmatación con biomasa, atribuyendo la biotransformación del rojo de metilo principalmente a la actividad de la bipoelícula.	49
Metodología de restricción de fuente de sustrato para el control del crecimiento de la biomasa de las biopelículas, permitiendo una mejor interacción microorganismos-FCA para la biotransformación de 4NF en reactores UASB	83
Evaluación de las comunidades microbianas presentes sobre materiales carbonosos en sistemas de biotransformación de Naranja Ácido 10, concluyendo que no hay variaciones en las comunidades por motivo de la naturaleza química	84

1.5. Justificación

El agua es un recurso natural ampliamente utilizado en la industria y en la sociedad. Las fuentes de agua dulce son cada vez más limitadas, por lo cual se buscan nuevas y mejores alternativas para el tratamiento de contaminantes tóxicos y recalcitrantes, como lo son los NA.

Las biotecnologías se presentan como una de las alternativas más viables para este fin debido a que, por esencia, son amigables con el ambiente y en la mayoría de las ocasiones se generan a un menor costo. De acuerdo con la literatura, la biorremediación por digestión anaerobia ha sido uno de los métodos que ha tenido mejores resultados en la remoción de compuestos de difícil degradación. Asociado a esto, la documentación sobre el mejoramiento en los procesos de biotransformación de contaminantes mediante el uso de soportes microbiológicos es abundante.

El CA, un material ampliamente conocido y utilizado en la industria y con precursores abundantes en la naturaleza, se presenta como un material aplicable como soporte de crecimiento, ya que, además de ser inocuo para los microorganismos, cuenta con diversas propiedades que promueven directa e indirectamente el mejoramiento de la digestión anaerobia. Dentro de los CAs, el uso de FCAs en estos procesos, además de aportar sus propiedades distintivas, también pueden brindar otras ventajas importantes como el fácil manejo y sus múltiples resistencias.

La mayor parte de la investigación relacionada a la digestión anaerobia asistida con CA como soportes de crecimiento se ha enfocado en la evaluación de la eficiencia de biotransformación de diversos contaminantes, el uso de materiales carbonosos con diferentes características, la formación de biopelículas sobre el CA, la observación de los efectos de los carbones y las biopelículas sobre el proceso, o la reutilización del CA (capacidad catalítica). No obstante, son necesarias evaluaciones más amplias del sistema, en donde se analice la interacción de los microorganismos con la química superficial de los soportes de carbón (FCAs), los cambios fisicoquímicos que resultan de los procesos de biotransformación de contaminantes en solución acuosa, así como de una descripción de estos cambios en materiales con buenos rendimientos. Esto último nos podría dar una idea de cómo mejorar los procedimientos reductivos dentro de la digestión anaerobia.

Analizando la evidencia científica hemos encontrado diversas justificantes para la realización de este trabajo:

1. Los estudios en los que utilizan CAs como soportes microbiológicos no reportan los cambios producidos en la química superficial del material carbonoso ni tampoco la cantidad de biopelícula después de la biotransformación de algún contaminante xenobiótico como los NA.
2. El problema de la colmatación de los materiales de soporte por el excesivo crecimiento de biomasa se ha intentado resolver en otras publicaciones científicas, por medio de la restricción en la fuente exógena de carbono

(i.e. etanol), sin embargo, se requiere de nuevas estrategias para el control en el crecimiento de la biopelícula.

3. Se ha sugerido que la química superficial de los CAs puede mejorar la biotransformación de 4NF en 4AF debido principalmente a la mayor concentración de grupos carbonilo en FCAs. No obstante, aún no queda claro si este resultado es expandible a otras condiciones experimentales como las reportadas en el presente trabajo.

En función a lo anterior, en este estudio se evaluaron los cambios químicos generados en la superficie de las FCAs derivados del crecimiento de biopelícula en un sistema de biotransformación anaerobia continua de 4NF a 4AF en reactores UASB empacados con FCAs. Los bioreactores fueron sometidos a una metodología de restricción de fuente de carbono para visualizar variaciones en las eficiencias de biotransformación de 4NF en los bioreactores con FCAs de diferente química superficial.

1.6. Hipótesis

La química superficial de las FCAs influye en la formación de la biopelícula que se genera en el proceso anaerobio de biotransformación de 4NF, sin embargo, a largo plazo tiene influencia nula en la eficiencia de biotransformación.

1.7. Objetivo General

Evaluar los cambios de la química superficial de las FCAs y en la biomasa de la biopelícula que se forma en un proceso de biotransformación anaerobio continuo de 4NF.

1.8. Objetivos Particulares

- Modificar las FCAs mediante un método oxidativo (HNO_3) y otro de funcionalización con quinonas (AQDS).
- Caracterizar la química superficial de las FCAs antes y después de la formación de biopelícula por titulaciones potenciométricas. Cuantificación de grupos activos por método de Boehm y Punto de carga cero (PCC) por titulaciones ácido-base.
- Operar biorreactores UASB empacados con FCAs de diferentes químicas superficiales para la biotransformación de 4NF, siguiendo una metodología de restricción de sustrato.
- Cuantificar la cantidad biomasa adherida a las FCAs en los biorreactores después del proceso de biotransformación de 4NF a 4AF por la técnica de sólidos volátiles (SV).

2. FUNDAMENTOS

2.1. CAs – características, propiedades, usos

El CA se considera un material abundante en la naturaleza, no tóxico, de bajo costo y versátil que ha sido ampliamente utilizado en el área del tratamiento de aguas residuales y emisiones^{85,86}. Su aplicación resulta de las propiedades adsorbentes y catalíticas que tiene. Estos comportamientos se relacionan directamente con sus características físicas (o texturales) y químicas, las cuales están en función de la materia prima de la que deriva y el método de activación, así como de las modificaciones o funcionalizaciones que se realicen posteriormente^{66,87}.

2.1.1. Características físicas/texturales

El CA es un sólido amorfo con una serie de características superficiales físicas, relacionadas entre sí, que influyen en sus diversas funciones (adsorbente, soporte de crecimiento, soporte catalítico, catalizador). Entre estas encontramos parámetros sobre su área superficial específica, la distribución del tamaño de poro y el volumen de poro.

El CA cuenta con una amplia área específica, la cual va de los 500 a los 3,000 m²/g ⁸⁸. Una alta área superficial provee mayor cantidad de grupos

funcionales por unidad de área para los procesos de adsorción o de catálisis^{31,81}. Usualmente los CAs están constituidos de microporos^{32,89}, una característica estrechamente vinculada con el área superficial específica y con el acceso de las moléculas al interior del material –de acuerdo al diámetro de poro–⁷⁶. Finalmente, tenemos el volumen de poro, registrado entre 0.10 y 0.50 cm³/g⁹⁰, que se encuentra relacionado con una mayor capacidad adsorbente⁷⁶.

2.1.2. Características químicas

Los aspectos químicos del CA están definidos por la presencia de los diversos grupos funcionales que se podemos encontrar en su superficie. La naturaleza, concentración, variación, distribución y accesibilidad de estos grupos es lo que determina sus propiedades de carga⁴², catalíticas o de adsorción^{91–93}. Ellos también son los responsables del anclaje de metales o moléculas a la superficie del carbón para la generación de los catalizadores o superficies funcionalizadas.

De todos los grupos, los más comunes y reconocidos son los que contienen oxígeno, los cuales se pueden dividir en ácidos, neutrales y básicos (Figura 1). Los grupos que brindan a la superficie del material un carácter ácido son los carboxílicos, lactónicos, lactólicos, fenólicos y anhídricos⁹⁴. Estos tienden a disociarse en solución, brindando protones y confiriendo una carga superficial negativa. Los grupos carbonilos y éteres son de un carácter neutral⁹⁰. Por su parte, las pironas, los cromenos, las dicetonas y las quinonas (estructura de doble grupo carbonilo) promueven mayormente un carácter básico⁹⁵. Por naturaleza,

tienden a atraer protones, generando que la carga neta de la superficie se positiva. También se ha observado que la naturaleza básica del CA puede estar asociada a regiones ricas en electrones π , en el plano basal, donde hay una ausencia –o baja presencia– de grupos ácidos^{94,96}.

Existen otros tipos de grupos funcionales que pueden formar parte de los heteroátomos del carbón y que también hacen aportaciones a la definición de la naturaleza superficial del carbón. Entre ellos destacamos los que contienen nitrógeno: piridina, piridona, pirrol y nitrógeno oxidado principalmente^{97,98} (generalmente conceden un carácter básico); azufre: azufre elemental⁹⁹ y sulfónico (SO_3H)¹⁰⁰ (confieren un carácter más ácido); fósforo^{101,102} y halógenos: Br ¹⁰³ y Cl ¹⁰⁴ elementales.

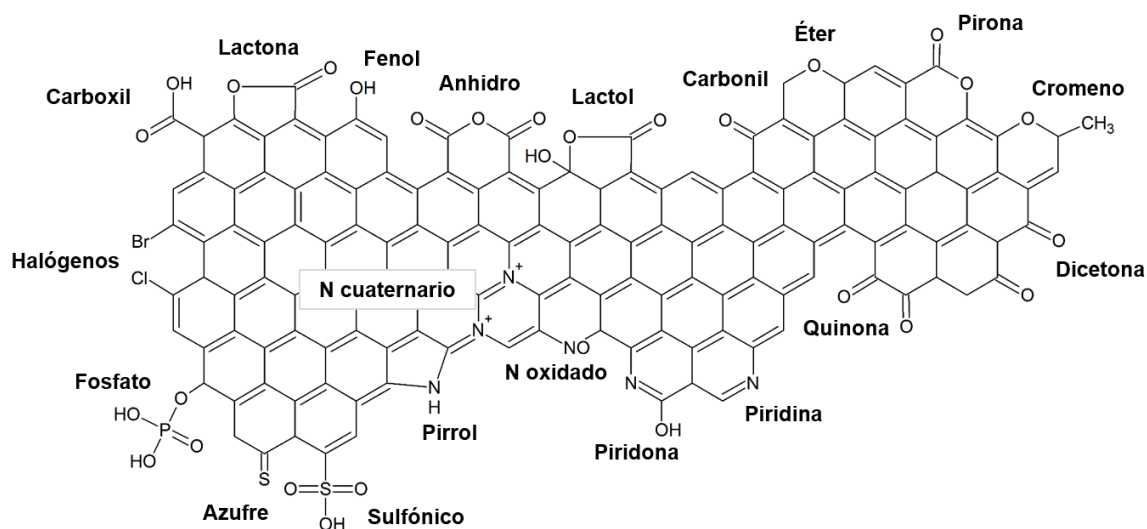


Figura 1. Grupos funcionales encontrados en la superficie de los CAs. Basada en los trabajos de Figueiredo¹⁰⁵ y Montes-Morán⁹⁵.

2.1.2.1. Carga superficial.

Uno de los aspectos significativos relacionados con los grupos funcionales presentes en un material y que es considerable, especialmente en los materiales carbonosos, es el Punto de carga cero (PCC)⁹⁴. Este se define como el valor de pH donde la carga neta total superficial (interna y externa) de una partícula es cero^{106,107} y se encuentra principalmente influenciado por los grupos oxigenados⁹⁴. Este parámetro nos da una idea sobre el carácter de la superficie, el cual está relacionado directamente con las interacciones electrostáticas y su hidrofobicidad⁷⁹, así como su anfoterismo (en soluciones acuosas)⁹⁰. Esto último es la propiedad que determina la carga de la superficie en función del pH del medio (pH_{sol}): cuando $pH_{sol} < pH_{PCC}$, el CA tendrá una carga superficial positiva; caso contrario será cuando $pH_{sol} > pH_{PCC}$, donde la carga en la superficie del CA será negativa³².

2.1.3. Usos y aplicaciones de los CAs

La identificación de los grupos funcionales también es un indicativo de la afinidad de ciertas moléculas a ser adsorbidas por el CA, así como del tipo de reacciones que pudieran llevarse a cabo en este material. Dentro del área de la remediación ambiental, una de las aplicaciones más importante y tradicionales que han tenido los CAs es la de adsorbente de una gran diversidad de compuestos: materia orgánica¹⁰⁸, gases¹⁰⁹, metales¹¹⁰, elementos radiactivos¹¹¹ y algunos contaminantes orgánicos¹¹² e inorgánicos¹¹³.

Por otra parte, tenemos su uso como catalizador de ciertas reacciones: la carbocatálisis¹⁰⁵. Esta ha sido aplicada tanto en fase gaseosa como en fase líquida (Tabla 2), y de manera general, las reacciones que puede realizar son algunas que involucran hidrógeno, oxígeno, halógenos y algunas otras de polimerización/isomerización¹¹⁴.

Tabla 2. Perspectiva de las reacciones que pueden ser catalizadas por carbones porosos y sus correspondientes sitios activos. Traducida y modificada de Figueiredo⁹⁰.

Reacciones	Sitios activos
Fase gaseosa	
Deshidrogenación oxidativa	Quinonas
Deshidratación de alcoholes	Ácidos carboxílicos
Deshidrogenación de alcoholes	Ácidos de Lewis y sitios básicos
Reducción de NO _x	Grupos ácidos + Sitios básicos
Oxidación de NO	Sitios básicos
Oxidación de SO ₂	Sitios básicos y piridínicos
Oxidación de H ₂ S	Sitios básicos
Deshidrohalogenación	Sitios de nitrógeno piridínicos
Fase líquida	
POAs	Sitios básicos
Acetilación	Sitios ácidos sulfónicos
Esterificación	Sitios ácidos sulfónicos
Acilación	Sitios ácidos sulfónicos
Alquilación	Sitios ácidos sulfónicos
Alcoholisis de epóxidos	Sitios ácidos sulfónicos
Oxidación-reducción ⁷⁸	Quinónicos (doble carbonilos) ¹¹⁵

2.1.4. Modificación física y química de CA

Debido a la gran variedad de materias primas utilizadas en la elaboración de CA y por la diversidad fisicoquímica de los materiales carbonosos, las aplicaciones de los CAs son versátiles. Además, los CAs pueden ser modificados

fisicoquímicamente por diversos métodos con la finalidad de ampliar sus de aplicaciones^{81,116}. Entre las principales modificaciones encontramos: 1) métodos químicos, como la oxidación ácida⁷⁶, la oxidación básica¹¹⁷ y la impregnación de moléculas¹¹⁸ y 2) físicos, como los tratamientos térmicos³² y mecanoquímicos¹¹⁹. Estas modificaciones son posibles gracias a que el carbón tiene defectos en sus planos basales que le permiten reaccionar con oxígeno, agua y nitrógeno, generando la diversidad de grupos funcionales⁹⁰.

Las modificaciones tienen como objetivo principal potenciar o promover propiedades superficiales en los CAs a partir de la variación en el contenido de los grupos funcionales, afectando directamente el carácter de la superficie.

2.1.4.1. Modificaciones oxidativas ácidas.

Uno de los tratamientos más comúnmente utilizados para la adición de grupos funcionales, son los tratamientos oxidativos. Se tiene reportado que los tratamientos oxidativos pueden disminuir los valores de PCC, promoviendo su acidificación^{22,81} mediante la formación superficial de ciertos grupos ácidos como carboxilos, anhídros⁹, carbonilos^{22,49}, lactónicos y fenólicos (Figura 1) ¹¹⁷. Una superficie más ácida está relacionada con el aumento de la capacidad de adsorción de compuestos básicos, polares⁷⁶ y catiónicos¹¹⁷, así como con la capacidad para realizar reacciones de oxidación-reducción^{32,49}. Caso contrario son las superficies básicas, relacionadas con el incremento de la adsorción de moléculas aniónicas y catiónicas, propiciada por la interacción con los electrones

π deslocalizados del plano basal¹¹⁷, y el desarrollo de propiedades de intercambio iónico¹¹⁷.

También se ha visto que las metodologías ácidas realizan modificaciones en las características texturales de los CAs como la disminución del área superficial mediante el incremento de la mesoporosidad⁹⁷, la cual se debe a la corrosión que los agentes ácidos generan en las paredes del poro, dando origen a nueva micro y mesoporosidad¹¹⁷; y el aumento de la mesoporosidad¹¹⁷, una circunstancia que propicia ventajas como la minimización de las limitantes de difusión de la molécula hacia el interior de la partícula debido a su tamaño^{32,90}.

Dentro de las modificaciones oxidativas, una de las más empleadas es la oxidación con ácido nítrico, sin embargo, también ácido sulfúrico, peróxido de hidrógeno, ácidos orgánicos⁷⁶ y ácido clorhídrico han sido utilizados con la finalidad de alterar las propiedades de los materiales carbonosos.

2.2. Biotransformación anaerobia asistida por soportes microbiológicos

La biotransformación anaerobia de contaminantes recalcitrantes es una alternativa económica y ecológica para la reducción y transformación de compuestos tóxicos y persistentes en moléculas más susceptibles a ser biodegradadas. A nivel industrial el proceso de biotransformación de contaminantes es realizado en biorreactores UASB, los cuales promueven una alta concentración de microorganismos dentro del reactor a través de la formación de gránulos anaerobios que se mantienen dentro del reactor gracias a

su mayor densidad con respecto al agua y a un flujo hidráulico bajo que permite un mezclado óptimo de los substratos y contaminantes. Sin embargo, flujos bajos de alimentación implican tiempos de retención hidráulicos (TRH) altos y a su vez, un volumen de reactor grande. Grandes volúmenes de reactor y una continua pérdida de los microorganismos activos a la salida de reactor (lavado celular) son las principales desventajas de los procesos de biotransformación³⁶. No obstante, se han buscado alternativas para el mejoramiento de estos procesos, como el uso de soportes microbiológicos dentro de los bioreactores UASB que permite una retención de los microorganismos a través de la formación de biopelículas, y con ello una mayor densidad celular que ayuda a mejorar la eficiencia de biotransformación de contaminantes recalcitrantes, reduciendo así el volumen de los bioreactores^{9,49}. Considerando las ventajas de la formación de biopelícula en los bioreactores, a continuación se explicará de forma detallada el proceso de formación de biopelículas.

2.2.1. Las biopelículas

La presencia de superficies, tanto en sistemas aerobios como anaerobios, permite la colonización y propagación de microorganismos, así como el desarrollo y la formación de conglomerados microbianos conocidos como biopelículas⁴³. Las biopelículas o *biofilms* se definen como una asociación compleja de microorganismos, los cuales se encuentran fuertemente unidos gracias a la producción de una matriz de polímeros extracelulares (exopolisacáridos), y el cual los mantiene adheridos a una superficie³⁷.

En las biopelículas se presentan diversas microestructuras o arreglos celulares con el paso del tiempo, lo cual genera diversos fenómenos entre los que destacan la difusión de nutrientes, desechos, compuestos antimicrobianos, etc.; el flujo de agua; la transferencia de masa, calor y momentum; el intercambio genético (transferencia de plásmidos); la comunicación (por quorum sensing); y la dispersión o liberación celular^{38,39,120}. Para conocer sobre sus funciones y el papel que pueden tener en los procesos de biorremediación, es importante conocer sobre su formación, estructura y los principales factores que le influyen.

2.2.1.1. Formación de una biopelícula.

La formación de una biopelícula está conformada de cuatro etapas (ver Figura 2):

1) Transporte microbiano hasta la interface superficial.

Previo a la formación de una biopelícula, tiene que haber una interacción inicial microorganismos–superficie. Para que esto suceda, debe existir una movilidad de los microorganismos que se encuentran en el seno del fluido a la superficie del material. Esto puede suceder de tres formas: i) por difusión, mecanismo de menor efectividad, resultado del movimiento Browniano y de interacciones aleatorias entre microorganismos y la superficie; ii) por movimiento activo, originado por la movilidad de las células (por flagelos) por quimiotaxis u oportunismo; y/o iii) por transporte convectivo, correspondiente al movimiento del fluido, la manifestación de este proceso es más evidente que las anteriores^{37,121}.

2) Adhesión inicial de microorganismos a la superficie.

Una vez en interacción, comienza la adhesión del microorganismo a la superficie. La adhesión está en función de fenómenos fisicoquímicos que compiten entre sí: fuerzas hidrofóbicas (de atracción), electrostáticas (de repulsión), de van der Waals (de atracción) y la fuerza iónica de la solución en la que se desarrolla el proceso^{49,122-125}. El grado de interacción y la reversibilidad de la adhesión dependerán de la intensidad de estas fuerzas y la distancia existente entre la célula y la interfase. Cabe mencionar que estas interacciones también se generan de manera intercelular^{126,127}. En esta etapa existe un equilibrio entre la adhesión y la liberación de las células, influenciado por el movimiento del fluido o de la misma célula.

3) Fijación de microorganismos y formación de biopelícula.

La tercera etapa depende más de procesos biológicos para generar una fijación. Esto se logra mediante el uso de estructuras celulares, como pilis y/o fimbrias, o la secreción de compuestos extracelulares (exopolisacáridos). Con el paso del tiempo, la fijación va en aumento^{121,128}.

4) Maduración de la biopelícula.

Fijados los microorganismos, tenemos la maduración o colonización, en la que las células se propagan formando microcolonias, van recubriendo la superficie con más exopolisacáridos (EPS) y empiezan a disponer células del fluido³⁷. Acto seguido, tenemos una quinta etapa que, si bien no forma parte de la formación, sí lo es de su desarrollo: la proliferación. Aquí es donde empieza a haber una propagación de la biomasa mediante el desprendimiento de células o

de cúmulos al medio, permitiendo la colonización de más espacio a los alrededores^{121,129}.

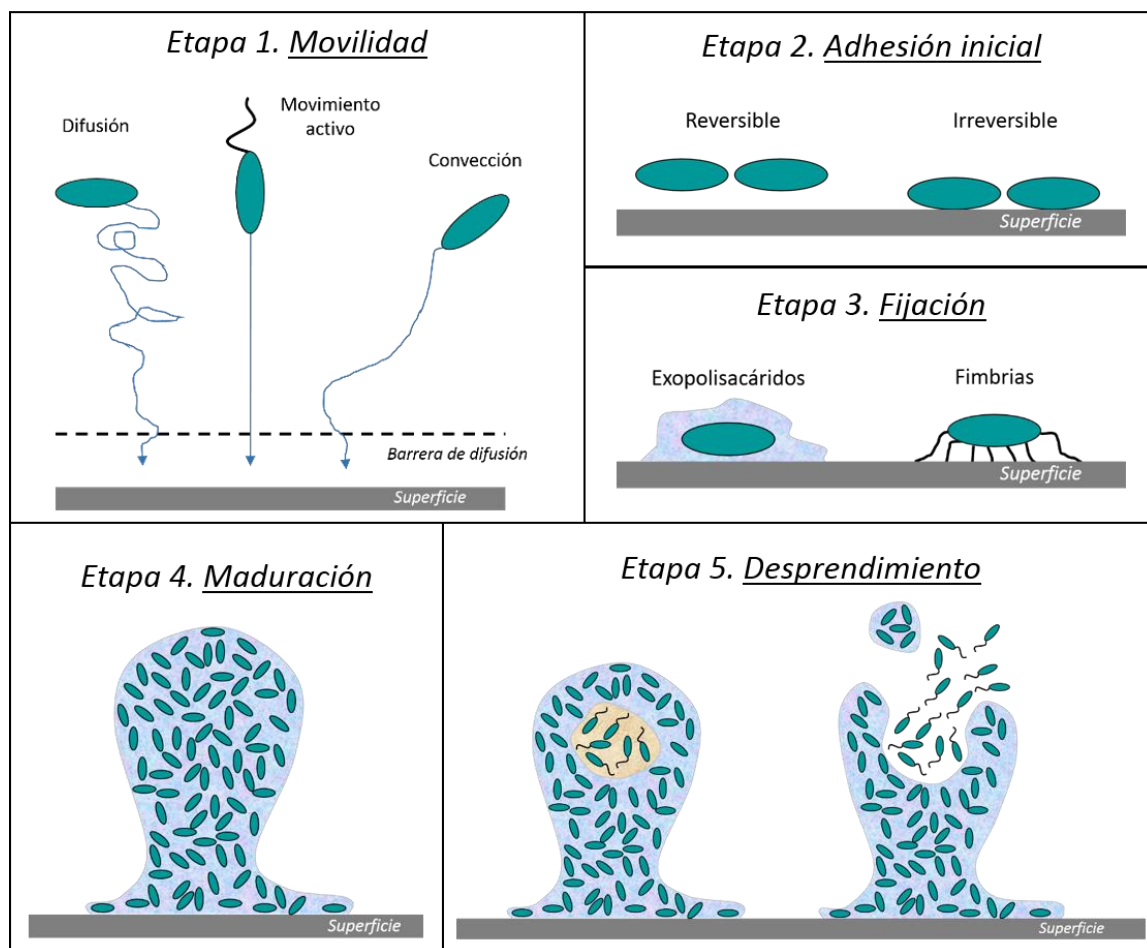


Figura 2. Fases del desarrollo de una biopelícula. Creada a partir de van Loosdrecht¹²⁶ y Sandrin³⁷.

2.2.1.2. Microestructura de las biopelículas.

La estructura de una biopelícula está conformada de unidades básicas conocidas como microcolonias. Cada una de estas unidades funcionales genera micronichos en donde podemos encontrar ambientes y actividades metabólicas específicas, con homeóstasis y ambiente químico propios^{128,130}. Estos

microambientes son el resultado del grado de difusión de sustratos y otros compuestos como el oxígeno o agentes antimicrobianos (Figura 3)¹³¹. Una biopelícula será entonces la conjunción de dos o más especies fisiológicamente cooperativas, que se ayudan entre sí, generando un ambiente sinérgico para su supervivencia. Dentro de una biopelícula encontraremos heterogeneidad fisiológica, circunstancia en la que se basa su complejidad.

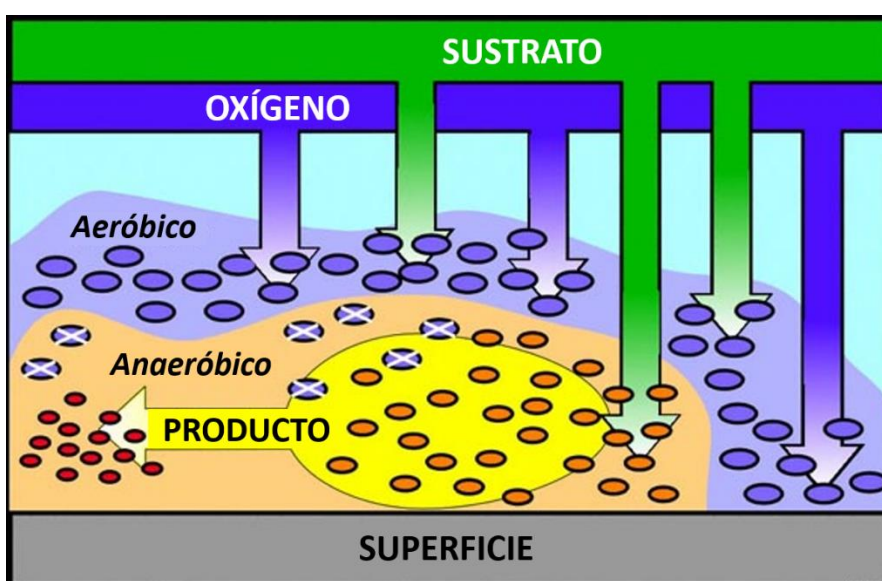


Figura 3. Representación de la microestructura de las comunidades de la biopelícula y la presencia de micronichos debido a los gradientes de concentración del oxígeno y los sustratos. Tomada y traducida de CBE¹³¹.

2.2.1.3. Factores que influyen en la formación de la biopelícula.

Dentro de estos factores, encontramos principalmente tres: la superficie sobre la que crece, el sustrato con el que crece y el medio en el que crecen. En primer lugar, tenemos al soporte, elemento primordial para la generación de una biopelícula. El efecto de una interface puede ser de dos tipos:

- Efectos directos sobre los microorganismos. La naturaleza textural (superficie áspera o lisa) está relacionada con el grado de protección y fijación ante el movimiento del fluido que le rodea⁴⁶. Las características químicas, como ya se mencionó, pueden influir en la adhesión inicial y la fijación de los microbios^{123,127}. También pueden generar cambios metabólicos en las membranas microbianas¹³².
- Efectos indirectos. La capacidad de acumular nutrientes y la biodisponibilidad que generen (adsorción vs desorción), la adsorción de compuestos tóxicos, el amortiguamiento de pH y los cambios en los tiempos de retención son algunos de los procesos que afectan indirectamente a los microorganismos y sus biopelículas^{12,39}.

El sustrato es uno de los factores clave en la relación microorganismo-superficie, ya que la interacción biológica con la interface se da gracias a una capa de sustratos, adsorbidos previamente sobre la superficie sólida (Figura 4)¹²⁶. La naturaleza de los sustratos y nutrientes será lo que dicte el tipo de microorganismos que se fijarán a la interface del material³⁸.

Referente al medio en el que se efectúa el crecimiento, se consideran dos aspectos importantes: la hidrodinámica y su condición. El movimiento del medio (velocidad y tipo de flujo) gobierna el transporte de los microorganismos, así como el tiempo de adhesión de estos (puede generar erosión)¹³³⁻¹³⁵. Su condición incluye parámetros como el pH¹³⁶, la concentración de nutrientes¹³⁷, la fuerza iónica¹³⁸ y la temperatura¹³⁹, que pueden influir en el metabolismo y desarrollo de los microorganismos.

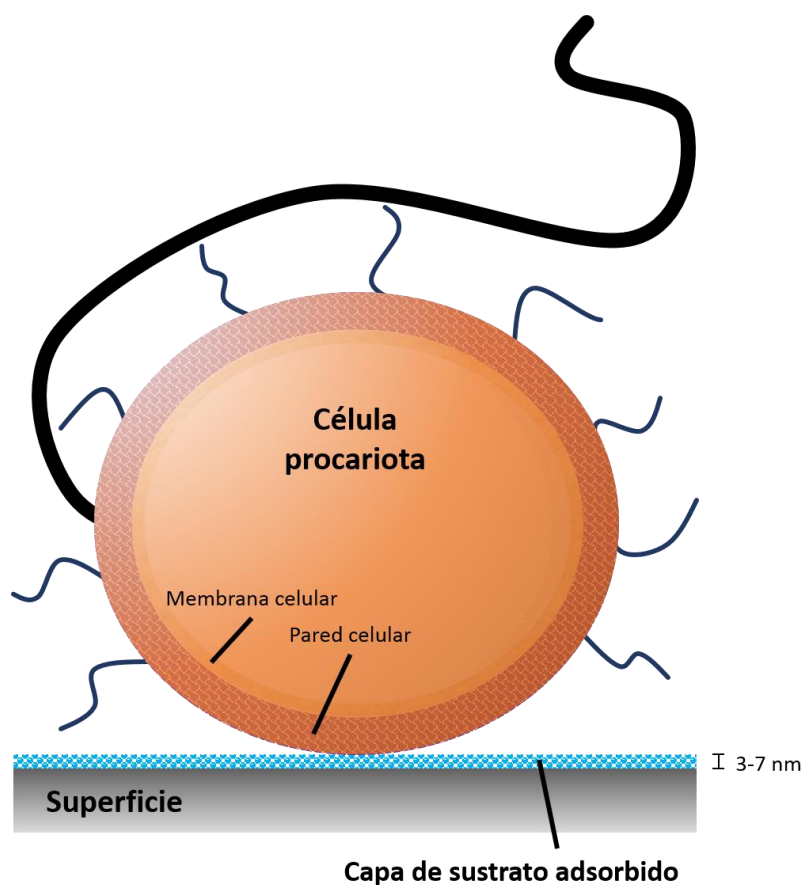


Figura 4. Representación esquemática de la zona de interacción entre una célula reversiblemente adherida y una superficie. Tomada y Traducida de van Loosdrecht¹²⁶.

2.2.1.4. Función de las biopelículas.

Dentro de las funciones de las biopelículas, encontramos reportado de manera global que suscitan un mejor desarrollo y actividad microbiológicos. Estas microestructuras cumplen con ser protección contra diversos tipos de estrés ambientales (hidráulico, mecánico, osmótico, térmico, hídrico, químico)^{128,129,133}, resultando en un aumento en el tiempo de vida. Además, se ha visto que las células adheridas son más activas que las libres, ya que el metabolismo microbiano se ve promovido, resultado de la expresión de algunos rasgos genéticos que no lo están cuando las células son sésiles^{130,140,141}. Otras de las

funciones importantes son la de ser actores fundamentales en el ciclo de los nutrientes, permitir las relaciones intraespecíficas, captar nutrientes, habilitar la transferencia genética, incrementar la aspereza y el área superficiales para promover una mejor interacción con los nutrientes del medio, permitir la existencia de algunas especies que no pueden crecer puramente y convertirse en una resina de intercambio iónico^{37,39,130}.

2.2.2. Biotransformación de contaminantes recalcitrantes

Existe un aspecto importante en la actividad metabólica microbiana que ha sido de provecho en las tecnologías de biorremediación, el cual permite la biotransformación de compuestos recalcitrantes en moléculas más fácilmente oxidables o aprovechables: el co-metabolismo. La definición del co-metabolismo tiene su origen del término “co-oxidación”, un mecanismo utilizado por algunos microorganismos que tiene como propósito oxidar compuestos cuya energía no es de utilidad para su crecimiento, a fin de convertirlos en moléculas más aprovechables, como una fuente de energía¹⁴². Algunos ejemplos de moléculas que pasan por esta conversión son metano, etano, clorometano, propano y butano, siendo oxidados a metanol o formaldehído, etanol o ácido acético, formaldehído, ácido propiónico y ácido butánico, respectivamente. Este es un metabolismo con alto consumo de oxígeno, ya que los electrones extraídos por el compuesto necesitan de una moléculas que los reciba¹⁴³.

En el área de la biorremediación, este mecanismo se ha utilizado para la oxidación de algunos compuestos contaminantes como los halogenados^{144,145},

sin embargo, su enfoque puede cambiar gracias a la recalcitrancia con la que cuentan muchas otras moléculas. Dicha propiedad se debe a la presencia de ciertos grupos electronegativos que difícilmente permiten la oxidación de la molécula en condiciones aerobias^{8,32}. No obstante, esta característica electrofílica puede ser aprovechada al cambiar las condiciones en las que se realiza el proceso: bajo condiciones anaerobias, el lugar del oxígeno como el aceptor de los electrones es tomado por algún compuesto recalcitrante, promoviendo su reducción (biotransformación), y haciéndolo más reactivo y susceptible a ser oxidado aeróbicamente¹⁴⁶. En las reacciones del co-metabolismo para la digestión anaerobia de contaminantes se genera una transferencia de electrones, los cuales provienen de una molécula donadora, o co-sustrato, y son recibidos por una aceptora (el contaminante), promoviendo su oxidación y reducción, respectivamente (Figura 5c)¹⁴⁷.

Existe un grupo de microorganismos conocido como exoelectrógenos, los cuales han desarrollado la capacidad de liberar los electrones de estos procesos, permitiendo su aprovechamiento para procesos de biotransformación. Estas especies, en su mayoría del género *Geobacter*, *Pelobacter*, *Bacillus*, *Thauera* y *Clostridium*¹⁴⁸, cuentan con la habilidad de transferir los electrones de la oxidación de un co-sustrato hacia su exterior, donde serán tomados por una superficie, otras especies o algún compuesto para reducirse^{149–152}. Este último en muchas ocasiones puede ser un contaminante.

Dentro de los mecanismos que los organismos exoelectrogénicos utilizan para la transferencia de electrones se han estudiado cuatro tipos, englobados en dos categorías de acuerdo al alcance que tienen^{132,151}: 1) la transferencia directa

o de corto alcance, mediante la presencia de ciertos tipos de citocromos extracelulares^{153,154}; y 2) la transferencia de largo alcance mediante acarreadores de electrones solubles o por biopelículas conductoras en presencia de 3) citocromos o 4) pilis conductoras, también conocidos como “nanocables”^{155,156}. Dichos mecanismos han sido muy estudiados en las biopelículas generadas por estos microbios o donde están presentes, indicando otro aspecto sobresaliente en su uso para la biorremediación. Esta capacidad también ha encontrado buena aplicación en la generación de energía mediante celdas de combustible microbiano (MFC, *Microbial Fuel Cells*)¹⁴⁸.

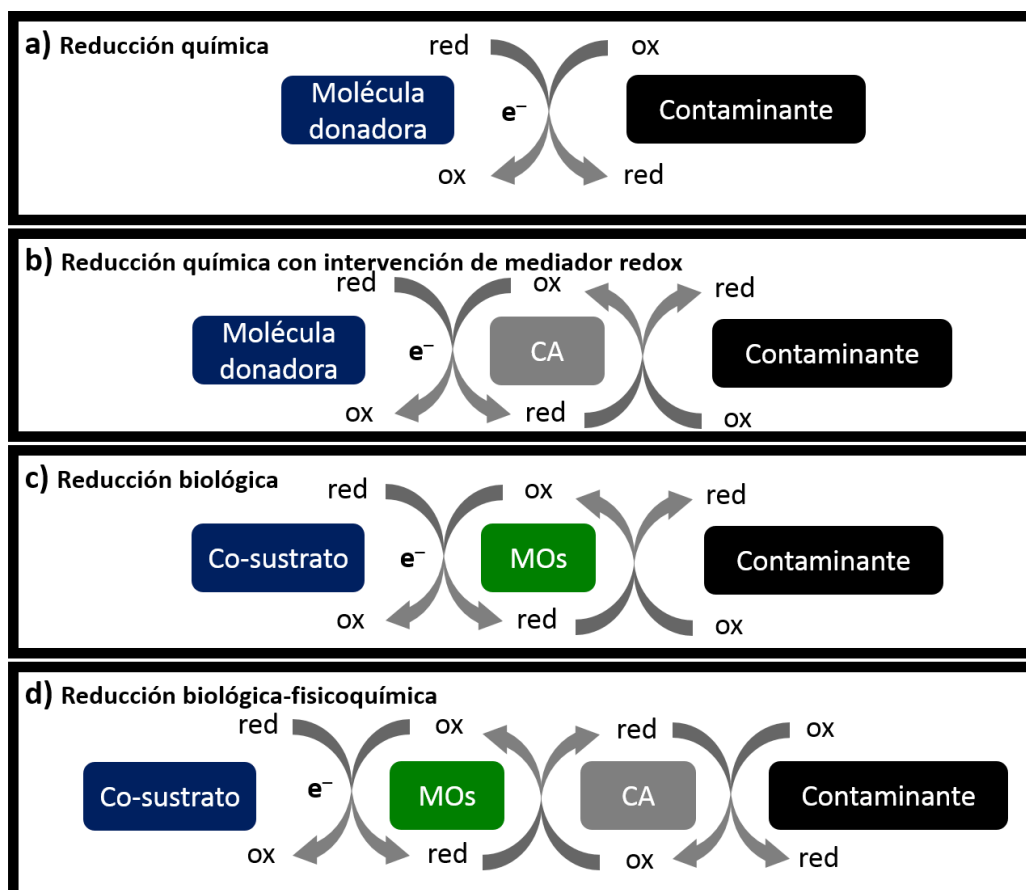


Figura 5. Vías para la reducción anaerobia de un contaminante. CA: carbón activado, MOs: microorganismos.

Finalmente, en literatura encontramos que la transferencia de electrones en las comunidades microbianas de las biopelículas es considerada como una de las etapas que puede limitar la velocidad de las reacciones de oxidación-reducción, y con ello, la eficiencia de los procesos de reducción anaerobia de los compuestos recalcitrantes⁵⁶. Esto ha dado paso al estudio de más materiales de soporte que, además de promover la formación de biopelícula, puedan mejorar los procesos de reducción de contaminantes, tal y como presenta el CA y sus propiedades redox. Debido a que el CA puede catalizar reacciones de oxidación-reducción, este puede ser utilizado como un catalizador (mediador redox) para propiciar el aumento de la velocidad de transferencia de electrones en los procesos de biotransformación de contaminantes que normalmente son realizados por co-metabolismo (Figura 5d)¹⁰⁵.

Las biotecnologías que aplican el co-metabolismo y las propiedades redox del CA como soporte de crecimiento se han visto involucradas en el mejoramiento de la digestión anaerobia de NA y colorantes azoicos, dos contaminantes altamente recalcitrantes, bajo condiciones anóxicas^{9,22,31,81,157,158}.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Reactivos

El 4NF (>99% de pureza), H₂SO₄ (grado ACS), ácido ascórbico (ACS) y HgSO₄ (ACS) fueron comprados de Fermont (Monterrey, México); el 4AF de Sigma-Aldrich (Ciudad de México, México); el alcohol etílico desnaturalizado, HNO₃ 66.1% (ACS), Ag₂SO₄, HCl y NaCl (ACS) de J.T. Baker (Ciudad de México, México); el AQDS de TCI (Tokio, Japón); el NaHCO₃ (ACS) en CTR Scientific (Monterrey, México); el K₂Cr₂O₇ de Hycel (Zapopan, México); y el NaOH de Macron Fine Chemicals (Ciudad de México, México).

3.2. Modificación de la química superficial de las FCAs

Se utilizaron FCAs hechas a base de poliacrilonitrilo (PAN), con nombre comercial AW1105 y las cuales fueron compradas directamente de KoTHmex (Taichung, Taiwan). Previo a la evaluación de la biotransformación del 4NF por parte del sistema, se realizaron modificaciones al material de fábrica (AW) para poder observar la influencia de la variación de la química superficial del CA sobre la capacidad de reducción del contaminante. Primero se realizó una modificación química para promover la incorporación de grupos funcionales principalmente

ácidos (OX, Figura 6b). Posteriormente, parte de OX se modificó para inmovilizar una molécula quinónica (AQDS) con propiedades redox (AQ, Figura 6c).

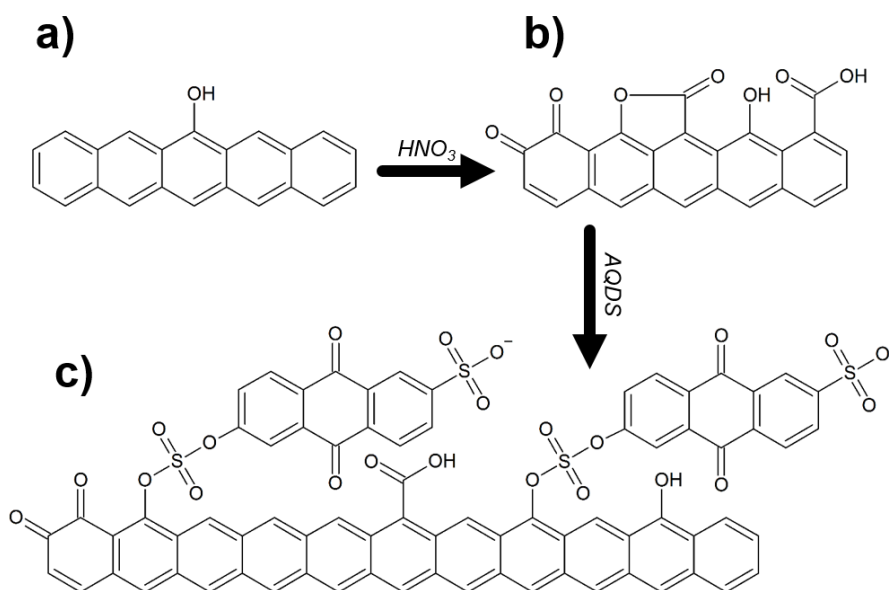


Figura 6. Representación de la química superficial de las FCAs antes (a) y después de la modificación química (b) y la funcionalización con AQDS (c).

3.2.1. Tratamiento oxidativo con HNO_3

Las FCAs se modificaron de acuerdo a lo reportado por Rangel y Streat¹⁵⁹. En un matraz de tres bocas con capacidad de 1 L se colocaron 400 mL de una solución de ácido nítrico 7.7 M y se calentó a 85 °C en un baño maría. Constante la temperatura, se adicionaron 10 g de FCA de fábrica y se mantuvo por hora y media agitando cada 5 min con una varilla de vidrio. Todo el proceso se realizó con un flujo constante de N_2 . Posteriormente, la tela de carbón se lavó con agua desionizada y después de cada lavado se verificó el pH del agua hasta garantizar que esta se encontrara entre 4.0 y 5.0. Finalmente, el material fue secado a 120

°C por 6 h para la eliminar el agua y después se almacenó en un ambiente libre de humedad dentro de una bolsa hermética hasta su utilización en los experimentos de biotransformación.

3.2.2. Tratamiento para el anclaje de AQDS

Las FCAs OX se modificaron de forma similar a lo reportado por Amezcuita-Garcia y colaboradores¹¹⁸. 417 mL de una solución de AQDS 1 g/L se añadieron en un matraz que contenía 5 grs de OX. Se sometió a una agitación de 110 rpm por 12 h, al término del cual las FCAs AQ se lavaron con agua desionizada hasta que el AQDS no fue detectado en el agua por medio de barridos espectrofotométricos de 190-400 nm. Finalmente, el material se secó a 120 °C por 6 h y se almacenó en un ambiente libre de humedad dentro de una bolsa hermética hasta su uso.

3.3. Caracterización química de las FCAs

3.3.1. PCC de las FCAs

Para este análisis se utilizó una variación del método mencionado por Babic y colaboradores¹⁶⁰. Se prepararon soluciones de 50 mL de concentraciones variadas de ácido (HCl) y base (NaOH), agregando 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0 o 5.0 mL de HCl o NaOH 0.1 N. Estas eran aforadas con una solución de NaCl 0.1 N. Dentro de tubos de polipropileno de 50 mL se

colocaron 0.1 g de FCA para posteriormente adicionar 25 mL de una de las soluciones neutralizadoras. Se burbujearon con N₂ por 2 min y se cerraron herméticamente para someter a agitación de 110 rpm por 48 h. Pasado el tiempo se midió el pH de las soluciones con FCA y los controles (soluciones sin FCA).

El PCC se estableció en función de la diferencia entre los volúmenes de la titulación de las curvas potenciométricas de las soluciones con FCA (V_M) y de la curva del blanco (V_B) a un pH determinado, graficando pH (en el eje de las ordenadas) vs volumen de NaOH o HCl agregado (en el eje de las abscisas, donde HCl son valores negativos). Después, se graficó la masa de protón adsorbido/liberado vs el pH determinado. Esto se obtuvo con la ecuación (1), para posteriormente obtener la carga superficial mediante la ecuación (2):

:

$$q_{H^+} = \frac{C_N(V_B - V_M)}{m} \times 1000 \quad (1)$$

Donde:

- q_{H^+} = Moles de protón adsorbido sobre la FCA a determinado pH, (mmol/g)
- C_N = Concentración de la solución titulada, (mol/L)
- V_M = Volumen de la solución titulada de NaOH ó HCl con FCA a determinado pH, (L)
- V_B = Volumen de la solución titulada de NaOH ó HCl en los controles a determinado pH, (L)
- m = Masa de la FCA, (g)

$$C_s = \frac{q_{H^+} F}{S} \quad (2)$$

Donde:

- C_s = Carga superficial, (C/m²)
- F = Constante de Faraday, (96485 C/mol)
- S = Área específica, (m²/g)

El PCC se consideró cuando $C_s = 0$ o cuando, gráficamente, las curvas de titulación de la experimentación y el control cruzan (pH vs volumen de NaOH o HCl añadido).

3.3.2. Cuantificación de grupos funcionales superficiales de las FCAs

Para la medición de los sitios activos de las FCAs, hicimos uso de la titulación ácido-base establecida por Boehm¹⁶¹, descrita en el trabajo de Amézquita¹⁶². En tubos de polipropileno de 50 mL se agregaron 0.05 g de tela de carbón y posteriormente 25 mL de HCl, NaOH, Na₂CO₃, NaHCO₃ o C₂H₅ONa (etóxido o etilato de sodio) 0.1 N por separado. Se hizo intercambio de atmósfera con una mezcla de N₂/Ar por 3 min, se selló herméticamente y se dejaron en agitación a 80 rpm por 2 días. Finalizado el tiempo, alícuotas de 20 mL se filtraron en filtros de celulosa de 0.22 micras (Milipore) y se titularon con HCl o NaOH 0.1 N en una tituladora automática (Mettler Toledo, T70).

El cálculo de las concentraciones de cada tipo de sitio activo superficiales de las FCA se determinó por diferencias en los despejes de las ecuaciones (3) – (7). Estos datos fueron generados a partir de la expresión (8).

Sol. neutralizante

• HCl	C_B	(3)
• NaOH	$C_A = C_C + C_L + C_F$	(4)
• Na ₂ CO ₃	$C_{CL} = C_C + C_L$	(5)
• NaHCO ₃	$C_C = C_C$	(6)
• C ₂ H ₅ ONa	$C_{OA} = C_O + C_A$	(7)

Donde:

- C_B = Concentración de sitios básicos totales, (meq/g)
- C_A = Concentración de sitios ácidos totales, (meq/g)
- C_{CL} = Concentración de sitios carboxílicos y lactónicos, (meq/g)
- C_C = Concentración de sitios carboxílicos, (meq/g)
- C_L = Concentración de sitios lactónicos, (meq/g)
- C_{OA} = Concentración de sitios ácidos totales y carbonilos, (meq/g)
- C_O = Concentración de sitios carbonilos, (meq/g)

$$C_G = \frac{V_0(C_0 - C_f)}{m} \quad (8)$$

Donde:

- C_G = Concentración de grupos activos, (meq/g)
- V_0 = Volumen inicial añadido de la solución neutralizante, (mL)
- C_0 = Concentración inicial de la solución neutralizante, (meq/mL)
- C_f = Concentración final de la solución neutralizante, (meq/mL)
- m = Masa de la FCA, (g)

$$C_f = \frac{V \cdot C}{V_n} \quad (9)$$

Donde:

- V = Volumen utilizado de la solución titulante, (mL)
- C = Concentración de la solución titulante, (meq/mL)
- V_n = Volumen de la alícuota de la solución neutralizante con muestra, (mL)

3.4. Biotransformación continua de 4NF en reactores UASB utilizando FCAs como mediadores redox

Se utilizó un lodo granular con 7.4% de sólidos volátiles (SV) proveniente de un reactor de tratamiento de una fábrica cervecera local que se encuentra en la ciudad de Monterrey, Nuevo León, México.

El medio basal mineral en el que se hizo crecer el inóculo fue el mencionado en el trabajo de Amezquita-Garcia y colaboradores⁸³, el cual presenta la siguiente composición en agua desionizada (g/L): 5.0 NaHCO₃, 0.28 NH₄Cl, 0.25 KH₂PO₄, 0.1 MgSO₄·7H₂O, 0.01 CaCl₂·2H₂O y 1 mL/L de solución de elementos traza.

La solución de elementos traza se trabajó semejante a lo establecido por el trabajo de Cervantes y colaboradores¹¹⁵ (mg/L): 2000 FeCl₂·4H₂O, 50 H₃BO₃, 50 ZnCl₂, 30 CuCl₂·2H₂O, 50 MnCl₂·4H₂O, 50 (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, 90 AlCl₃·6H₂O, 1850 CoCl₂·6H₂O, 50 NiCl₂·6H₂O, 1000 EDTA y 1 mL/L de HCl (36%).

Se preparó una solución stock 100x de 4NF para una concentración final de uso de 75 mg/L (0.54 mM).

3.4.1. Diseño de biorreactores UASB

En este trabajo fueron utilizados cuatro biorreactores tipo UASB: un reactor control (sin empacar) y tres empacados con discos de las distintas telas de carbón (FCA-AW, FCA-OX, FCA-AQ). Los reactores de un 1 L de capacidad estaban hechos de acrílico con las siguientes dimensiones: 5.8x44 cm de diámetro y alto, respectivamente, y contaban con 10 puertos para la toma de muestras. El empacado de los reactores se realizó con discos de FCA sujetos en anillos de policloruro de vinilo (PVC) cuyas dimensiones eran de 1x5.8x4 cm de alto, diámetro externo y diámetro interno, respectivamente (Figura 7). Estos anillos se diseñaron para colocar las FCAs de la siguiente manera: la tela era colocada en la parte superior de los anillos y sujeta con un hilo de nylon; cortando el exceso se obtenían discos de 4 cm de diámetro; finalmente, se hacían dos perforaciones de 5 mm de diámetro en la tela para facilitar el flujo de líquido y biogás a lo largo del reactor. La distribución de las perforaciones se intercaló en los discos para promover un buen mezclado en el sistema. Se utilizaron cuatro discos de FCA en cada reactor (total por reactor: 0.829 g de AW, 0.924 g de OX y 0.925 g de AQ), los cuales fueron distribuidos con una separación de 3 cm entre ellos, tal y como se muestra en la Figura 7. En la parte superior de los sistemas, se acoplaron tuberías para la salida del biogás generado.

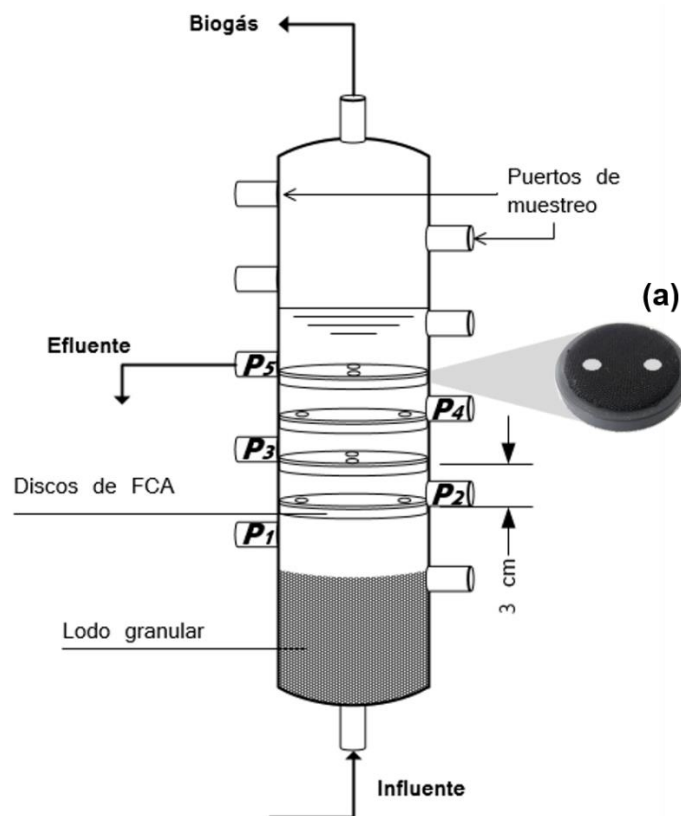


Figura 7. Diseño de biorreactores empacados con discos de FCA.

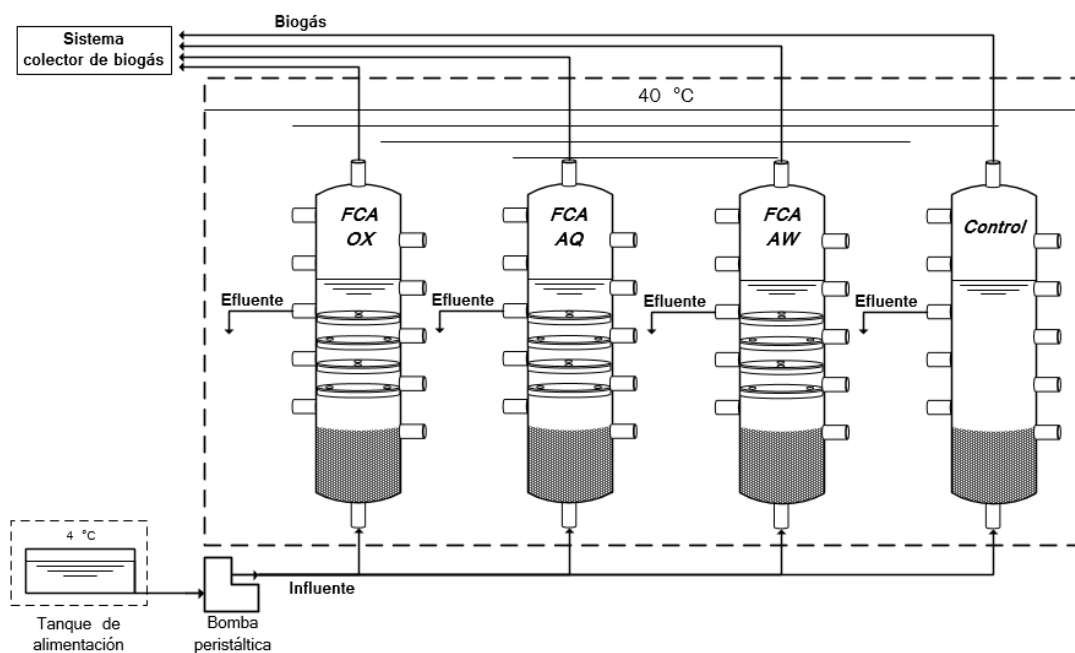


Figura 8. Esquematización del sistema de biorreactores UASB para la biotransformación de 4NF.

3.4.2. Condiciones de operativas de los biorreactores

Como se muestra en la Figura 8, los cuatro reactores se alimentaron paralelamente de una misma fuente a 4 °C, con una bomba peristáltica (Cole-Parmer Instrument Co., Masterflex® L/S®) con un cabezal de cuatro vías mediante mangueras de silicona calibre #13 (Cole-Parmer Instrument Co., Masterflex®). Los biorreactores se mantuvieron en todo momento sumergidos en un baño de temperatura de agua desionizada de 35 – 40° C para lograr una temperatura interna promedio de 35 °C dentro de los reactores.

Utilizando como base la metodología desarrollada por Amezcuita-Garcia y colaboradores⁸³, se adecuó este proceso en las siguientes etapas experimentales: 1) aclimatación de la biomasa anaerobia granular para el consumo de etanol como fuente de carbono, 2) biotransformación del 4NF utilizando FCAs como mediador redox. Las etapas experimentales se describen a continuación (ver Tabla 3).

Tabla 3. Características operativas para la biotransformación anaerobia de 4NF.

Etapas	Aclimatación		Biotransformación de 4NF			
	A1	A2	I	II	III	IV
<i>Etanol (mg/L)</i>	1000	697	697	-	-	20.5
<i>4NF (mg/L)</i>	-	-	75	750	75	75
<i>DQO de entrada (mg DQO/L)</i>	2087	1454	1540	862	86	129
<i>Carga orgánica total diaria (mg DQO/día)</i>	1252	2617	2772	1551	155	232
<i>Tiempo de retención hidráulica, TRH (h)</i>	24	8	8	8	8	8
<i>Tiempo (días)</i>	6	6	7	2	3	25

ETAPA A1: aclimatación de la biomasa anaerobia al consumo de etanol. En esta etapa se aclimató a los lodos anaerobios granulares al consumo de etanol con el objetivo de reactivar a los microorganismos metanogénicos y fomentar la producción de biogás. Para favorecer el consumo de etanol y la producción de biogás, se optó por la utilización de un flujo de alimentación bajo (alto TRH).

ETAPA A2: consumo de materia orgánica a TRH de 8 h. La mayoría los reactores reportados en literatura tienen un TRH de 8 h, motivo porque que en esta etapa se ajustó el flujo y la concentración de etanol en la alimentación a este valor. Esta etapa tuvo una duración de 6 días para asegurar la estabilidad del pH y la remoción de DQO del sistema.

ETAPA I: Inicio de biotransformación del 4NF e introducción de los discos de FCA en los reactores. Los reactores se abrieron por la parte superior por donde se introdujeron las FCAs de diferentes químicas superficiales. Una vez empacados, los biorreactores fueron sellados para asegurar las condiciones anaeróbicas. Posteriormente una concentración de NA de 75 mg/L fue introducida al sistema junto con una concentración de etanol idéntica a la etapa A2. Una vez que comenzó la alimentación con NA en los reactores, se le consideró el día 0 en la escala de tiempo. Durante esta parte, la alimentación de etanol para la reducción del 4NF que se suministró se hizo en exceso, ya que, según lo establecido, se requiere 0.5 mol de etanol para reducir una mol de 4NF (56.2 veces más de lo necesario)⁸³. Se continuó con el monitoreo en la producción de biogás diaria y se operó en esta etapa experimental por 7 días.

ETAPA II: Efecto de las condiciones oligotróficas extremas en la biotransformación de 4NF. En esta etapa se promovió la mortandad microbiana por deficiencia de nutrientes retirando la fuente exógena de carbono y por incremento en la toxicidad del sistema al incrementar la concentración de 4NF. Bajo estas condiciones se pretendió reducir la concentración de biopelícula en la superficie de las FCAs y la liberación de sitios activos (e.g. carbonilos) para una mayor transformación de 4NF.

ETAPA III: Estabilización de la concentración de la alimentación de 4NF. En esta etapa se regresó a la concentración de 75 mg/L de 4NF, aún con ausencia de etanol con el objetivo de eliminar el exceso de 4NF en los biorreactores y reaclimatar los microorganismos para la etapa posterior.

ETAPA IV: Reactivación de la biotransformación bacteriana del 4NF. Una vez que la concentración de 4NF fue normalizada en la etapa III, se suministró nuevamente etanol a una concentración de 20.5 mg/L. Bajo estas condiciones se calculó que los microorganismos presentes en los lodos granulares, podían reducir teóricamente 120 mg/L de 4NF. Sin embargo, al ser un sistema no ideal, la biotransformación esperada del reactor control fue del 50%. Con este bajo porcentaje de transformación se pueden visualizar diferencias entre los reactores control y los empacados, como ya ha sido reportado en otros trabajos⁸³. El tiempo experimental de esta etapa fue de 25 días.

3.4.3. Análisis de rutina en los bioreactores UASB

Durante los 50 días de experimentación en los reactores se monitorearon parámetros como el volumen de producción de biogás, la composición del biogás (eventualmente), la reducción de la demanda química de oxígeno (DQO), el pH y la cuantificación de 4NF por espectrofotometría UV-Vis.

3.4.5.1. Medición de pH.

Este valor se determinó diariamente para los efluentes y la alimentación con un potenciómetro Conductronic, modelo PC18.

3.4.5.2. Volumen de producción de biogás.

Para la cuantificación de biogás, se utilizó el método de probetas invertidas⁸³. Para ello, mediante tubería flexible de poliuretano de 5 mm de diámetro interior, los reactores se conectaron al sistema colector de probetas de 500 mL en el que se medía el volumen diario de producción.

3.4.5.3. Composición de biogás.

Al final de las etapas I y IV se midió la composición de CO₂ y CH₄ en un cromatógrafo de gases (GC, Thermo Scientific, Trace 1310) equipado con una columna Thermo Scientific TG-BOND Msieve 5^a resistente hasta 300 °C de dimensiones 30 m:0.32 mm:30 μm de largo:diámetro interno:diámetro de película, respectivamente, y un detector de conductividad térmica (TCD, gas N₂,

flujo de referencia de 3 mL/min). Los parámetros de temperatura fueron 100, 150 y 200 °C para la inyección, el horno y el detector, respectivamente. El gas acarreador fue N₂ con un flujo de 20 mL/min. Para el análisis con una duración de 5 min, se inyectaron 100 µL de muestra. Con la ayuda de una curva de calibración, se pudo estimar la concentración de los componentes del biogás.

3.4.5.4. Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Para esta determinación se prepararon dos soluciones: una de digestión (oxidante) y otra catalizadora. Para la primera de ellas, se disolvieron 10.216 g de K₂Cr₂O₇, previamente secado por 2 h a 105 °C, en 500 mL de agua destilada; después se agregaron 167 mL de H₂SO₄ concentrado, encontrándose el recipiente en baño de hielo; sacando el recipiente del baño, se diluyeron 33.3 g de HgSO₄ y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente para aforar a 1 L con agua destilada. Para la solución catalizadora se adicionaron 24.54 g de Ag₂SO₄ en 2.5 L de H₂SO₄ 96% y se dejó disolviendo en oscuridad y agitación de 70 rpm por 3 días.

La concentración de carga orgánica fue analizada conforme a la metodología estandarizada no. 5220.D de colorimetría para el análisis en aguas y aguas residuales de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA)¹⁶³. Se muestrearon 3 mL de los efluentes, así como de la alimentación y se centrifugaron por 5 min, 10,000 rpm debido a la presencia de biopelícula. Agregando 0.5, 1.0 (efluentes) ó 0.01 mL (alimentación etapa II y V), dependiendo de la concentración de la muestra) del sobrenadante en tubos HACH con tapón

de teflón por triplicado, se realizaron diluciones 1:4 (1:2 ó 1:200) con agua desionizada debido a que la concentración de las muestras sobrepasaba los 1,000 mg DQO/L. Posteriormente, se añadieron 1.2 mL de la solución de digestión seguido de 2.8 mL de la solución catalizadora con un dispensador (BRAND, Dispensette® S Organic). Inmediatamente después, las reacciones se agitaron en un vortex, se colocaron dentro de un digestor (Hach, DRB 200), previamente calentado a 150 °C, y se dejaron en digestión por 2 h. Al término, se retiraron los tubos del digestor y se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 11 min, permitiendo que cualquier precipitado pudiera sedimentar. Finalmente, se midió la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro (Hach, DR 6000; encendido 15 min previo a la lectura) para determinar la concentración en función a la curva de calibración realizada de acuerdo a lo establecido por la metodología estandarizada. Este análisis era realizado diariamente y cada dos días durante la aclimatación y la biotransformación, respectivamente.

3.4.5.5. Espectrofotometría UV-Vis.

Para cuantificar la reducción del 4NF en su producto, el 4AF, se hizo uso de la espectrofotometría UV-Vis (Hach, DR 6000). Para el análisis se muestrearon 1 mL de cada uno de los puertos del reactor (P1-5) y de la alimentación, se centrifugaron 5 min a 10,000 rpm, se tomaron alícuotas de 100 μ L y se realizaron diluciones 1:20 con buffer de bicarbonato de sodio 10 g/L dentro de una celda de cuarzo (Luzeren). Se hicieron barridos en un rango de

190 a 450 nm para observar los espectros de absorbancia del 4NF y el 4AF, determinar sus concentraciones y el porcentaje de biotransformación del 4NF.

3.5. Cambio de las características fisicoquímicas de las FCAs

Con el objetivo de determinar las diferencias que generadas en las telas de carbón después de ser sometidas a un proceso de biotransformación de 4NF, una vez terminada la experimentación, cortando las telas con una navaja, se tomaron muestras de cada disco, correspondientes a los análisis previamente descritos. Estas fueron sonicadas con la finalidad de desprender la biomasa que se encontrase adherida a la tela y que pudiera interferir con las pruebas. Dentro de tubos separados de polipropileno de 50 mL, en 30 mL de agua desionizada se colocaron las telas de los discos, correspondientes a los puertos 3 y 5 de cada reactor, y eran puestos dentro de un baño sónico (Branson, 3510) por 90 min. Al término de este tiempo, el sobrenadante era retirado cuidadosamente, puesto en otro tubo y almacenado en refrigeración. El procedimiento de lavado fue repetido en 3 ocasiones. Al término de esto, se hizo pasar agua desionizada a las telas y fueron secadas a 100 °C, por 12 h, para ser almacenadas en un ambiente seco y hermético. Libre de microorganismos, se realizaron los procedimientos descritos en las secciones 3.3.1. y 3.3.2. para la determinación del PCC y sitios activos, respectivamente.

3.6. Cambios en la cantidad de biopelícula adherida en las FCAs

Para este análisis utilizaremos la metodología estandarizada 2540 de la APHA¹⁶³ para la determinación de sólidos volátiles (SV) para lodo de reactores. Para el procedimiento, los crisoles eran colocados en una mufla a 550° C por 1 h, sacados para dejar enfriar en un desecador a temperatura ambiente y ser pesados (C). Para la estimación de la biomasa adherida a la FCA, una muestra cortada de FCA (con biomasa) equivalente a 50 mg de tela seca, fue cortada, puesta en los crisoles y pesadas (X). Para el muestreo del lodo granular, se pesaron entre 2 y 3 g de la biomasa libre de líquido. Pesadas las muestras se colocaron en una estufa a 105° C por 12 h. Al término, se dejaron enfriar y se registraron los pesos (E). A continuación, las muestras se calcinaron a 550° C por 1 h, se enfriaron y se pesaron (M).

Finalmente, para el cálculo de los SV se utilizó la siguiente expresión:

$$SV = (E - M) \times 100 / (X - C) \quad (10)$$

Donde:

- SV = Sólidos volátiles, (% , g_{SV}/g_{muestra})
- C = Peso del crisol calcinado, (mg)
- E = Peso del crisol con la muestra seca, (mg)
- M = Peso del crisol con la muestra calcinada, (mg)
- X = Peso de la muestra + peso del crisol calcinado, (mg)

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

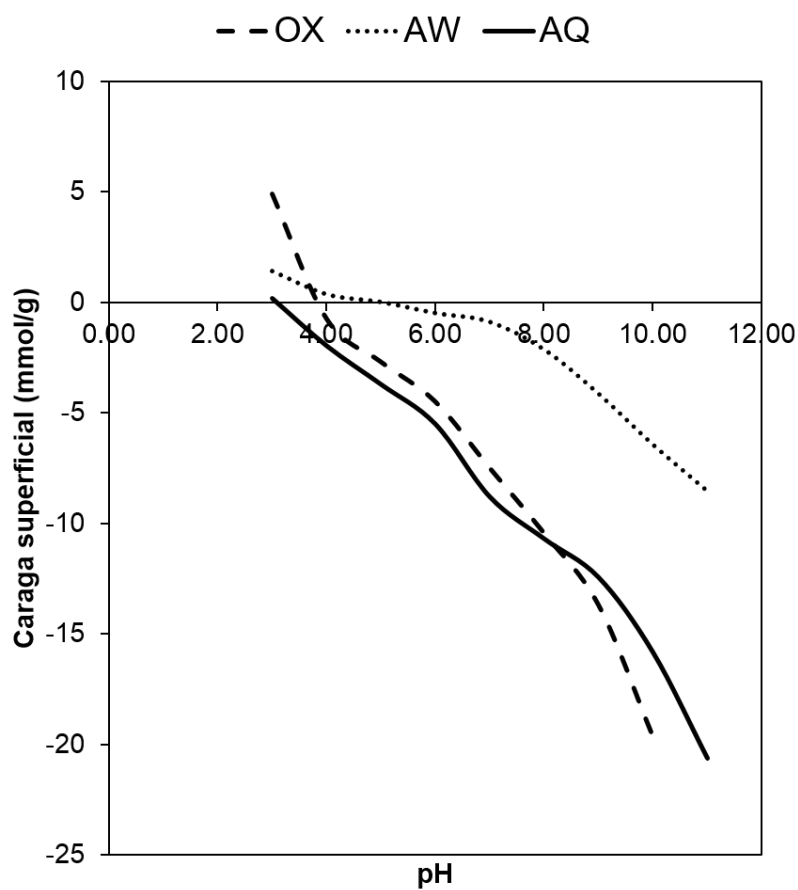
4.1. Caracterización fisicoquímica de las FCAs

La caracterización química de las FCAs constó de titulaciones potenciométricas para la determinación del PCC y de la concentración de grupos funcionales (Tabla 4), los cuales se realizaron mediante los métodos especificados en las secciones 3.3.1. y 3.3.2., respectivamente.

El PCC del material de fábrica se presentó en 5.00, un valor cercano a la neutralidad. Esta característica puede estar relacionada con la presencia de concentraciones similares de grupos ácidos (0.250 meq/g) y de grupos básicos (0.243 meq/g), y relativamente mayor concentración de los grupos carbonilos, los cuales son considerados como ácidos débiles¹⁶⁴. Al momento de que AW fue sometida a un tratamiento oxidativo con HNO₃, su PCC disminuyó a 3.38 (Figura 9). Este cambio es el reflejo de la introducción de grupos oxigenados, principalmente carboxílicos, lactónicos y fenólicos (0.250 → 1.750 meq/g), los cuales son generados zpor el tratamiento ácido. En otro aspecto, el tratamiento oxidativo no varió la concentración de los grupos básicos totales, pero sí influyó sobre la adición de casi el doble de los grupos carbonilos que había inicialmente.

Tabla 4. Caracterización fisicoquímica de la superficie de las FCAs.

FCA	PCC (pH)	Grupos funcionales (meq/L)			
		Carboxílicos Fenólicos Lactónicos	Carbonilos	Ácidos totales	Básicos totales
AW	5.00	0.250	1.250	1.500	0.243
OX	3.38	1.750	2.750	4.500	0.243
AQ	3.09	1.000	2.250	3.250	0.000

**Figura 9.** Determinación del PCC de las FCAs de fábrica y modificadas. Variación de la carga superficial con respecto al pH.

4.2. Biotransformación continua de 4NF en bioreactores UASB utilizando FCAs como mediador redox

A continuación, se presentan los resultados de la aclimatación del lodo granular anaerobio al consumo de etanol para ser utilizados posteriormente en la biotransformación de 4NF en biorreactores UASB empacados con FCAs.

4.2.1. Etapas de aclimatación A1 y A2.

Debido al almacenamiento en el que se encontraba el lodo granular utilizado como inóculo en los biorreactores, el objetivo principal de la etapa A1 fue la reactivación de los microorganismos a través del suministro de etanol a un bajo flujo. Experimentalmente fueron considerados tres factores en la medición de la actividad microbiana reductiva: el comportamiento del pH en el efluente (Figura 10), la producción diaria de biogás (Figura 11) y la reducción de la DQO (Figura 12).

El pH inicial del medio basal fue en promedio de 8.46 (ver Tabla 5), debido al uso de NaHCO_3 como amortiguador de pH. Este pH disminuyó a 8.0, probablemente por la presencia de los AGVs derivados del metabolismo microbiano y la producción de biogás. De manera general, durante todo el experimento, las medias de los valores de pH en los cuatro reactores se mantuvieron cercanos a 8.0 desde el primer día de aclimatación, registrando variaciones de pH no mayores de 0.1 unidades.

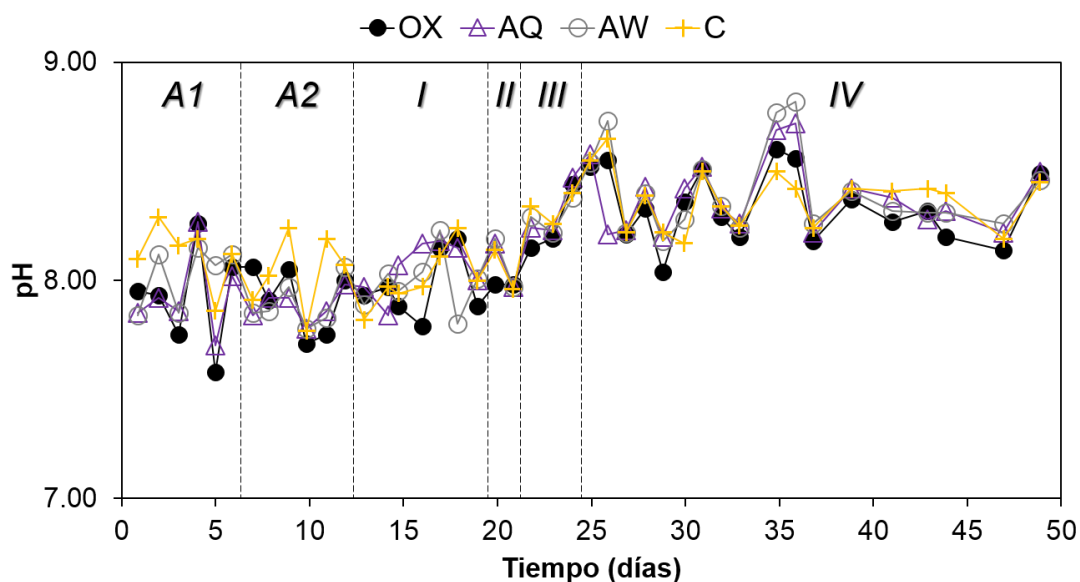


Figura 10. Monitoreo de pH durante el proceso anaerobio de biotransformación de 4NF.

Tabla 5. Evaluación de pH en la alimentación y los efluentes de los reactores.

	Etapa					
	A1	A2	I	II	III	IV
Entrada	8.36±0.13	8.56±0.12	8.46±0.10	7.96±0.01	8.43±0.04	8.43±0.11
<i>Reactor</i>						
Control	8.12±0.13	8.03±0.16	8.01±0.12	8.05±0.07	8.33±0.06	8.37±0.13
FCA-AW	8.02±0.13	7.89±0.09	7.99±0.12	8.08±0.09	8.30±0.06	8.41±0.19
FCA-OX	7.92±0.21	7.91±0.14	7.97±0.13	7.98±0.01	8.26±0.13	8.34±0.16
FCA-AQ	7.94±0.17	7.88±0.06	8.05±0.11	8.07±0.08	8.31±0.11	8.38±0.16

En la Figura 11 se observa la producción de biogás que se generó en los biorreactores a lo largo de los experimentos. En la Figura 11 y la Tabla 6, se muestra la cantidad teórica de biogás generada por la cantidad suministrada de etanol en cada una de las etapas (ver Apéndice A), donde (—) representa la suma de CH₄ y CO₂. Experimentalmente, en la etapa A1 se observó que se incrementó gradualmente el volumen de producción de biogás, sin embargo, no se alcanzó

la cantidad teórica. Se considera que el etanol que no fue destinado a la producción de biogás, se convirtió en AGVs y/o pudo ser utilizado para la síntesis celular¹⁶⁶. De acuerdo con los resultados obtenidos a un bajo flujo de alimentación se cumplió con el objetivo de aclimatar parcialmente la biomasa al consumo de etanol como fuente de carbono. Está reportado en literatura que, para lograr la maduración –o estabilidad– de la biomasa, es necesario que las concentraciones de la fuente de carbono sean bajas y sean suministradas a TRHs altos con el objetivo de permitir un mayor tiempo de contacto de los microorganismos con el sustrato^{36,84}. En la etapa posterior, A2, se disminuyó el TRH observándose un aumento en la producción de biogás, lo cual indicó una mayor aclimatación de la biomasa y una mayor estabilidad del sistema. La segunda etapa de aclimatación (A2) tuvo como objetivo la disminución del TRH de 24 a 8h, parámetro que se mantuvo a lo largo del experimento, con el fin de poder hacer comparativas con la literatura existente¹⁶⁷.

Tabla 6. Producción máxima de biogás (mL biogás/día) en los biorreactores.

	Etapa		
	A1	A2	I
Teórico estimado	630 ^a	1,330 ^b	1,330 ^b
<i>Reactor</i>			
Control	495 (78.57%)	1,060 (79.7%)	760 (57.14%)
FCA-AW	475 (75.4%)	980 (73.68%)	965 (72.55%)
FCA-OX	145 (23.01%)	985 (74.06%)	965 (72.55%)
FCA-AQ	395 (62.7%)	1,000 (75.18%)	1,030 (77.44%)

Los valores entre paréntesis representan el porcentaje de producción en comparación con la producción teórica

^a = 1.00 g/L de etanol, TRH: 24 h.

^b = 0.697 g/L de etanol, TRH: 8 h.

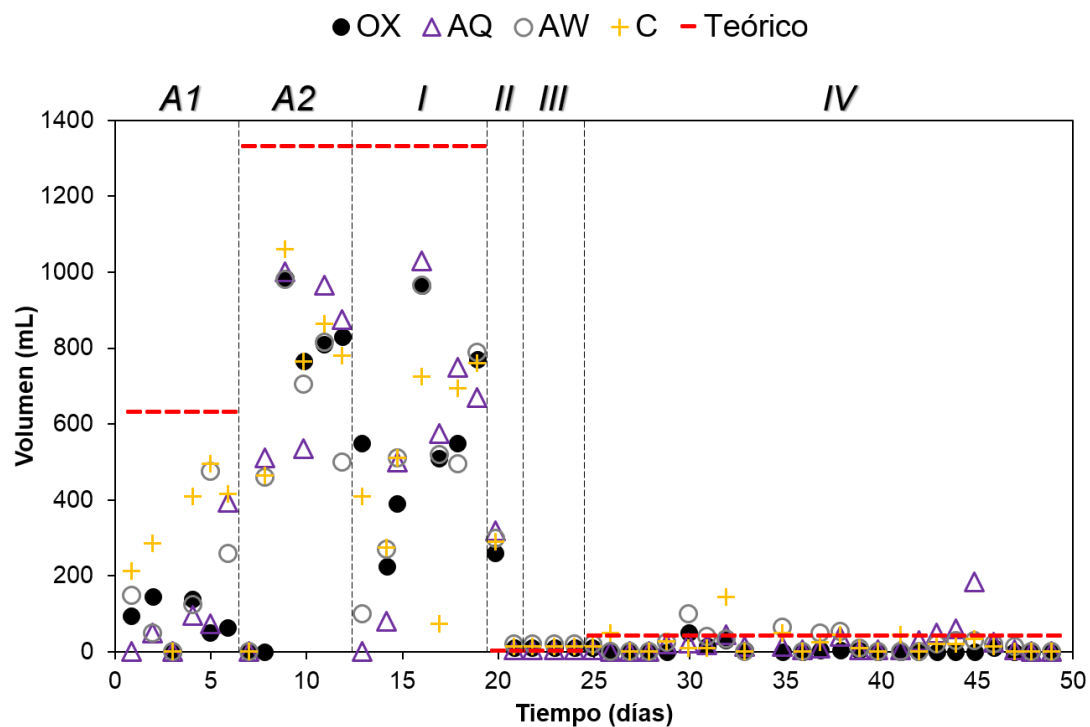


Figura 11. Producción de biogás durante el proceso de biotransformación de 4NF.

Cuantitativamente, la estabilidad del sistema se midió a través del consumo de la materia orgánica mediante la remoción de la DQO cuantificada en los efluentes. Como se muestra en la Figura 12, en la etapa A1 se observó un aumento gradual en el consumo de la materia orgánica del sistema. Una vez que la remoción de la materia orgánica se mantuvo por encima del 90%, se procedió a la etapa A2, en donde encontramos remociones cercanas al 100%.

Podemos notar que durante la etapa IV, la variación en los valores obtenidos de DQO es muy grande. Esto se puede explicar mediante la herramienta estadística del límite de cuantificación, la cual fue aplicada a muestra curva de calibración para la determinación de las concentraciones de DQO (Apéndice B). Esta herramienta analítica se define como la concentración mínima a la que puede ser cuantificado un analito con una incertidumbre aceptable. Al

hacer el cálculo, encontramos un límite mínimo de cuantificación de 274 mg DQO/L. Siendo que la mayoría de las determinaciones durante esta etapa se encontraron por debajo de este límite, podemos decir que esta estimación fue meramente cualitativa. Esta explicación se refuerza con el hecho de que durante esta última etapa el suministro de etanol fue muchísimo menor que en las etapas A1, A2 y I, donde las concentraciones de etanol eran mucho mayores y no se tuvieron variaciones considerables durante las determinaciones.

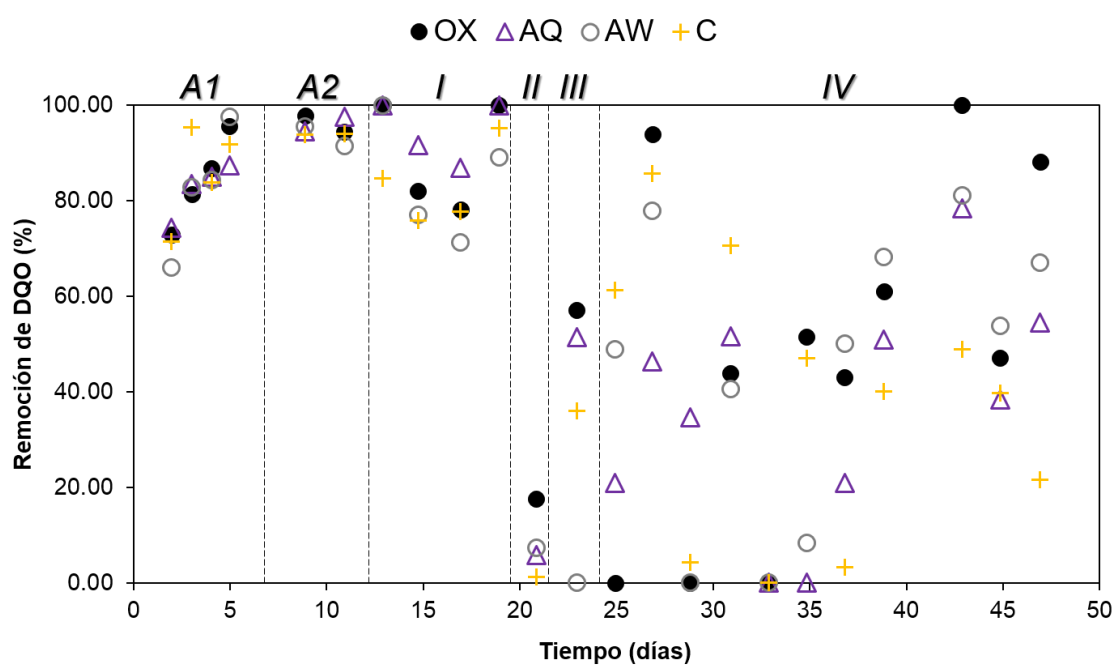


Figura 12. Remoción de DQO en los biorreactores.

La aclimatación de la biomasa granular y estabilización del sistema al consumo de etanol como sustrato es una operación que se encuentra reportada por diversos trabajos donde se evalúa la biotransformación continua de NA y colorantes azoicos. Muchos de estos trabajos mencionan tiempos de aclimatación al consumo de sustrato de entre 30 y 45 días^{29,168,169}, no obstante,

algunos pocos llegan a reportar tiempos igual o menores a 15 días. En este trabajo el proceso de aclimatación tuvo una duración de 12 días (dividido en dos etapas), sin embargo, a diferencia de los trabajos de Costa y colaboradores¹⁶⁷ y Donlon y colaboradores¹⁷⁰ donde la aclimatación constó de 12 y 15 días a TRHs fijos de 8 y 24 h, respectivamente, en este trabajo se aplicó una variación del TRH de una etapa a otra (24 h en A1 y 8 h en A2) por motivos que ya se mencionaron con anterioridad

Mediante el monitoreo de los reactores se observó la disminución del pH del medio debido a la producción de AGVs que, junto con el etanol, fueron utilizados para la producción de biogás, lo cual se vio manifestado en la disminución de la DQO por consumo del sustrato alimentado. Con esto hubo constancia de que el lodo granular en todos los reactores se adaptó en buena medida al consumo de etanol para la generación de biogás y con lo cual se vio reflejada la presencia de equivalentes electrónicos útiles para la reducción anaerobia de compuestos recalcitrantes. Fue así como se procedió a la evaluación de la biotransformación del 4NF por parte del lodo granular en presencia de FCAs de diferentes características químicas y así ver la influencia que pueden tener estos materiales y sus diferentes eficiencias en el bioproceso.

4.2.2. Etapa de biotransformación I

Las etapas de biotransformación dieron inicio al momento de que los reactores fueron empacados con los discos de FCA y comenzó el suministro de 75 mg/L de 4NF en la alimentación, siendo este el día 0. En la Figura 13 se

observa la biotransformación de 4NF a lo largo de cuatro etapas experimentales. Durante la etapa I se suministró un exceso de sustrato exógeno (etanol) en la misma concentración que en la etapa de aclimatación A2. Como resultado de este exceso, los cuatro biorreactores transformaron el 4NF a 4AF por arriba del 98% de eficiencia (Figura 14). Esto significa que el empacado (FCAs) no tienen una función relevante en el proceso de biotransformación, llevado a cabo principalmente en esta etapa por los lodos granulares anaerobios.

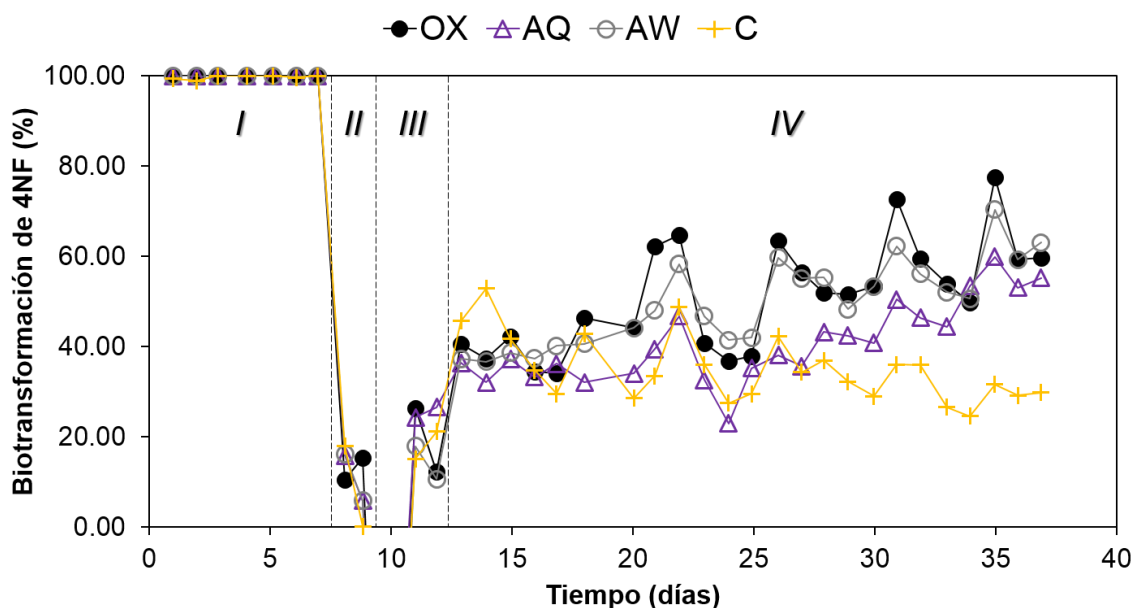


Figura 13. Etapas de la biotransformación anaerobia de 4NF.

En la etapa I, los parámetros de pH, remoción de DQO y producción de biogás se mantuvieron con un comportamiento similar a lo visto en la etapa A2 (Figuras 10-12).

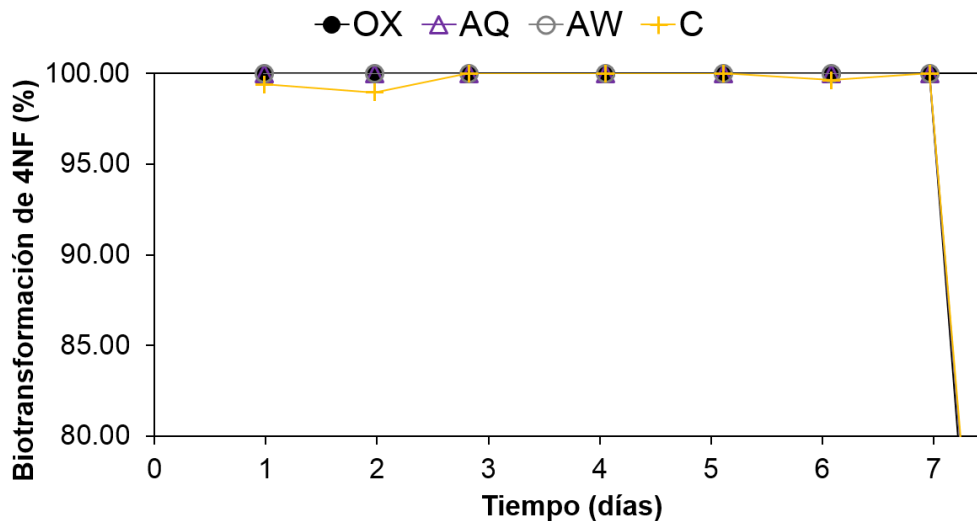


Figura 14. Etapa I de la biotransformación anaerobia de 4NF.

Para demostrar que la desaparición del 4NF era parte de un proceso de biotransformación y no por adsorción se realizaron barridos espectrofotométricos de 190 a 450 nm de los efluentes y se compararon con los barridos de referencia del 4NF, a la concentración de alimentación (75 mg/L = 0.54 mM), y del 4AF, a la concentración esperada tras la completa reducción del 4NF (0.54 mM). Como se muestra en la Figura 15, el 4NF y el 4AF presentan un pico característico de absorción en el UV-Vis a 400 nm (línea discontinua) y 296 nm (línea punteada), respectivamente. Los barridos UV-Vis mostraron que la absorbancia presentada por los cuatro efluentes fue similar al del 4AF desde el primer día (Figura 15a) y la casi total ausencia de la señal a 400 nm del 4NF. Con esta evidencia se demostró que tanto los reactores empacados como el reactor control estaba presentando la biotransformación de 4NF a 4AF.

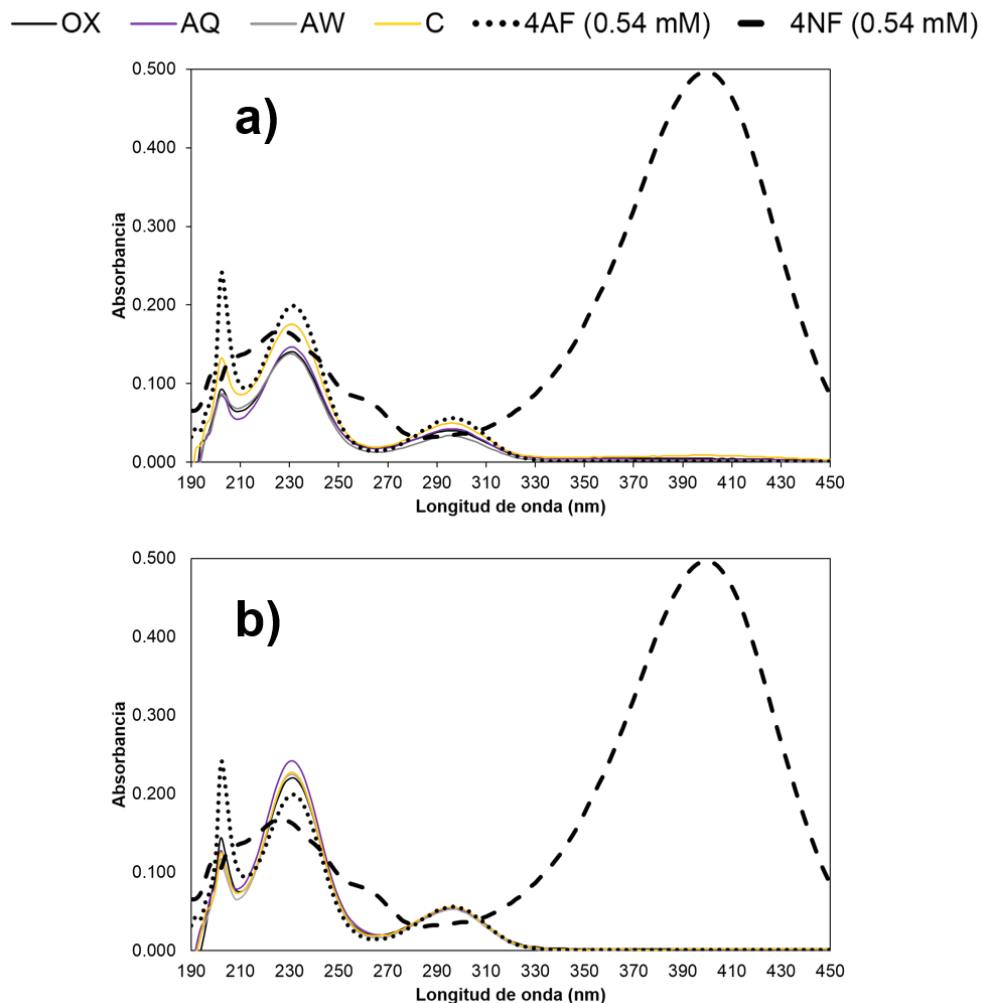


Figura 15. Espectros de absorbancia en los efluentes de los biorreactores. a) Día 1 y b) día 7 en la etapa I.

Adicionalmente se observaron diferencias en los espectros UV-Vis a la salida de los reactores entre los días 1 (Figura 15a) y 7 (Figura 15b). En el día 1 de la etapa I los porcentajes de recuperación de 4AF en los efluentes estuvieron de la siguiente manera: $60.9 < 70.3 < 73.5 < 90.1\%$, correspondiente a los reactores $FCA-AW < FCA-OX < FCA-AQ < C$. Esto nos da un indicio de que el 4AF fue retenido en los biorreactores por adsorción sobre las FCAs y la biomasa. Posteriormente, al día 7 de esta etapa I se observó que la cantidad de 4AF liberada por los

reactores eran similares: 95.1% en FCA-AQ y FCA-AW, y 98.3% para FCA-OX y el control. Esto indicó una saturación de las FCAs y la biomasa con 4AF al final de la etapa I.

En las Figuras 16, 17 y 18 se presenta la biomasa acumulada para los biorreactores FCA-OX, FCA-AQ y FCA-AW, respectivamente. Visualmente pudimos observar una acumulación de cerca de 2 cm de biomasa encima de cada disco de FCA. Esto puede ser un inconveniente para los procesos de difusión del contaminante que se lleva a cabo desde el volumen del fluido hasta la superficie del soporte, ya que, como lo reporta Speece⁸², cuando las biopelículas superan 1 mm de espesor, el flujo de nutrientes se hace mucho más lento. Bajo estas condiciones es muy complicado estimar el papel que las FCAs pudieran tener en el proceso de biotransformación, ya que tanto los reactores empacados como el control biotransformaron el 4NF con un 100% de eficiencia.

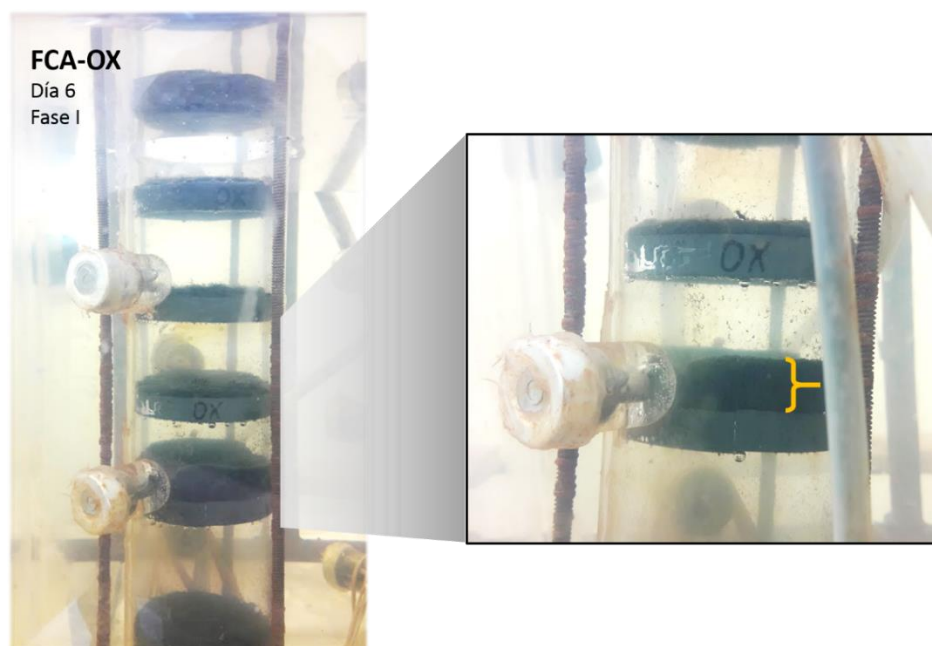


Figura 16. Vista de la acumulación de biomasa sobre los discos de FCA oxidada al 6to día de biotransformación, etapa I.

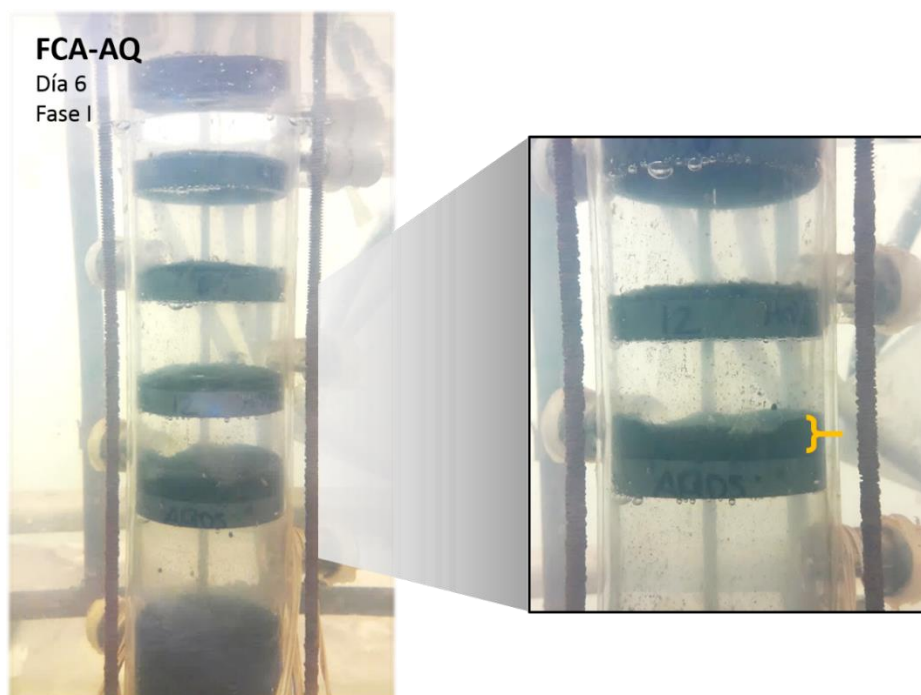


Figura 17. Vista de la acumulación de biomasa sobre los discos de FCA con AQDS al 6to día de biotransformación, etapa I.

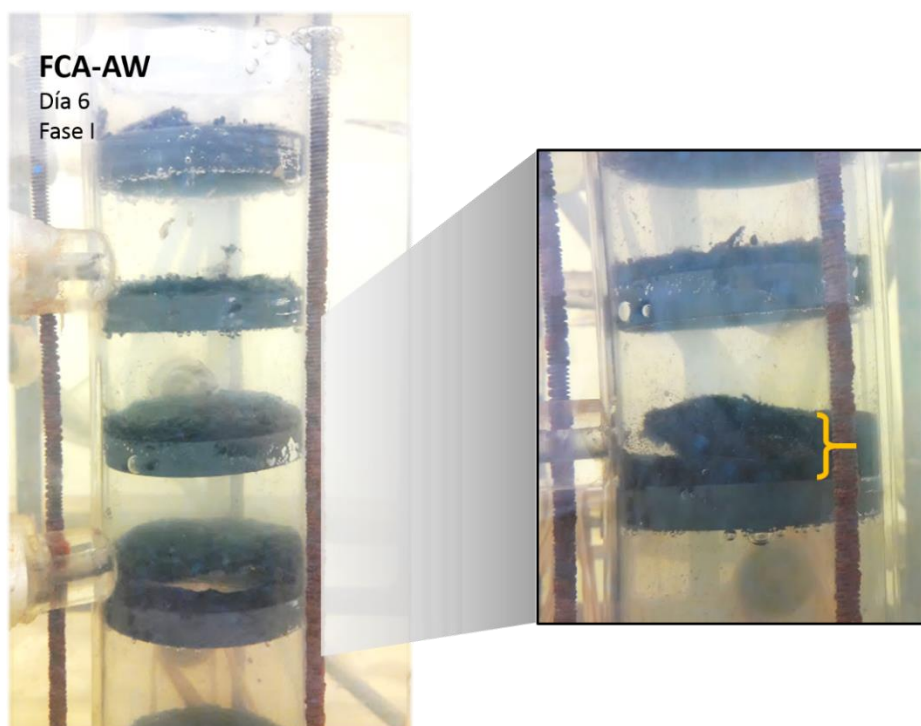


Figura 18. Vista de la acumulación de biomasa sobre los discos de FCA comercial (AW) al 6to día de biotransformación, etapa I.

4.2.3. Etapas de biotransformación II y III

En otros estudios, como el de Amezcuita-García y colaboradores⁸³, se implementó una metodología en la que, bajo las mismas condiciones de concentración del contaminante, se restringió el suministro de etanol con el fin de mejorar la interacción microorganismo–FCA en el proceso de biotransformación del 4NF.

En la etapa II las condiciones oligotróficas que se usaron fueron una concentración de 4NF de 750 mg/L (10 veces lo suministrado en la etapa I) y en ausencia de etanol, para acelerar el consumo de sustrato endógeno. Los resultados se pueden ver en la Figura 19, donde se muestra un notable descenso en la biotransformación de 4NF durante los dos días de la etapa II. Durante la biotransformación en esta etapa, menor al 20%, se favoreció la lisis celular y posiblemente la cantidad de biomasa adherida a las FCAs.

Posterior a la condición de estrés generada en la etapa II, se regresó a la concentración normal de 4NF, utilizada en la etapa I (75 mg/L), continuando en ausencia de etanol y marcando el inicio de la etapa III. Dado que en la etapa II se utilizó un exceso de 4NF, en la etapa III, entre los días 10 y 11 se registró una concentración mayor del 4NF en el efluente con respecto a la alimentación y por tal motivo no se visualizan los datos de biotransformación negativos en esos días.

Finalmente, la biotransformación de 4NF con sustrato endógeno se mantuvo por debajo del 30% en los días 11 y 12. Con lo cual se decidió pasar a la siguiente etapa de suministro de fuente de carbono a una concentración de 20.5 mg/L.

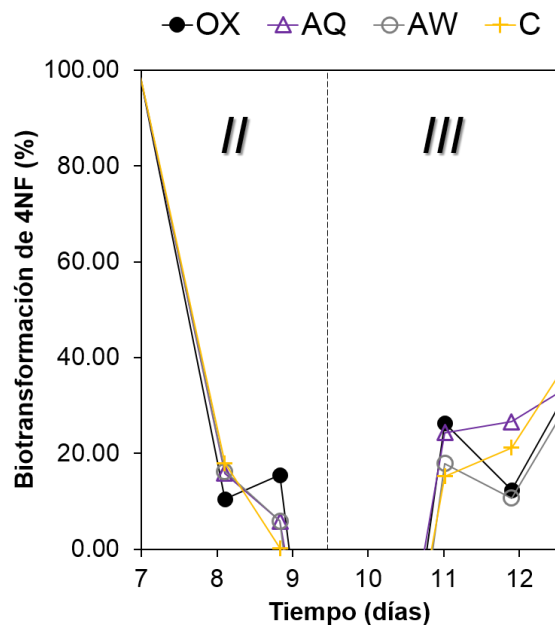


Figura 19. Etapas II y III de la biotransformación anaerobia de 4NF.

4.2.4. Etapa de biotransformación IV

En la Figura 20 se observan los cambios en la biotransformación de 4NF por el efecto de los materiales de soporte en los biorreactores. Para mayor facilidad de interpretación de los datos, en la Figura 21 se ve representado las desviaciones estándar de los datos experimentales de la Figura 20 en el que la etapa fue dividida en tres periodos. Durante los primeros nueve días, se observó que los porcentajes de biotransformación del 4NF de los cuatro biorreactores fueron similares entre ellos, alrededor del 40%. Considerando las desviaciones estándar, los tres biorreactores empacado y el control tuvieron una misma eficiencia. De los días 22 a 29, los reactores empacados con AW y OX redujeron un 10% más que el reactor control y FCA-AQ. Finalmente, en los días 30 al 37 se observó una reducción de tan sólo $30\% \pm 3.8$ de 4NF por parte del control,

seguido de FCA-AQ con $50\% \pm 5.8$, FCA-AW con $58\% \pm 6.2$ y FCA-OX con $61\% \pm 9.0$. Con las desviaciones estándar de la Figura 21 se puede concluir que los tres biorreactores empacados con FCA tienen una eficiencia de biotransformación muy similar de 56%.

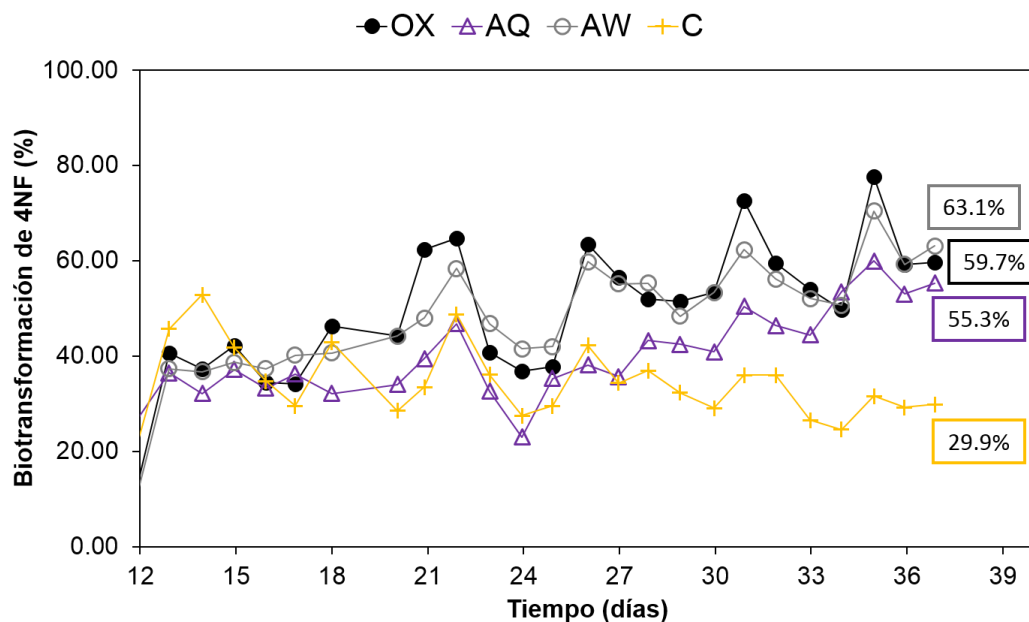


Figura 20. Etapa IV de la biotransformación anaerobia de 4NF.

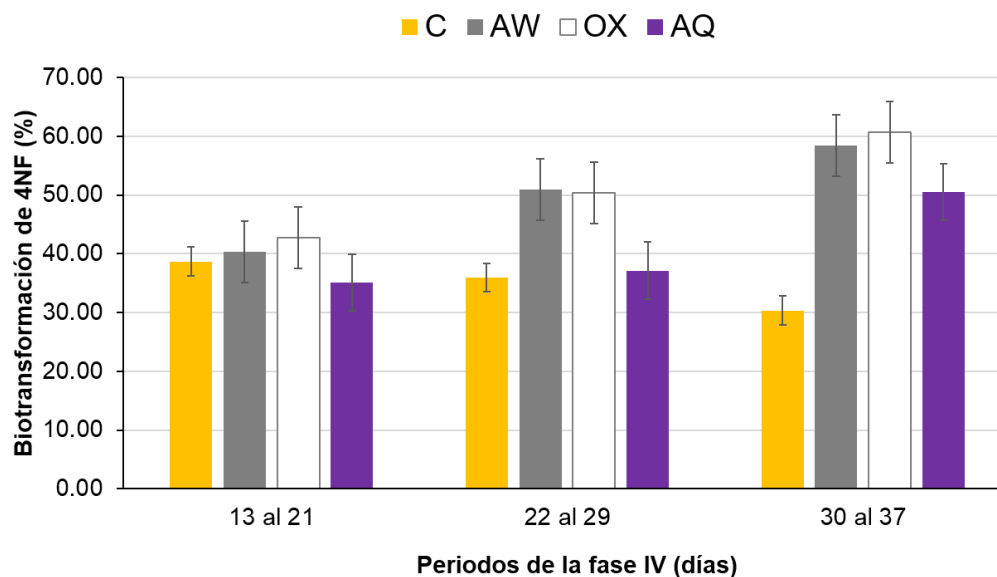


Figura 21. Comportamiento de los promedios de los porcentajes de biotransformación de 4NF de los cuatro biorreactores, durante tres periodos de tiempo de la fase IV.

Los resultados obtenidos mostraron que el empacado de los reactores fue un factor que influyó de manera significativa la biotransformación de 4NF (Apéndice C) comparado con el reactor control sin empacar, sin embargo, esto no explica que los tres biorreactores tuvieran en promedio la misma actividad de biotransformación de 4NF. En el trabajo de Amezcua-García y colaboradores⁸³ ellos encontraron una mejor biotransformación de 4NF en reactores empacados con FCAs oxidadas y FCAs funcionalizadas con AQDS después de una etapa de estrés de 14 días, la cual constó de la restricción de la fuente de carbono a una concentración de 75 mg/L de 4NF. A diferencia de este trabajo, aquí se aplicó un aumento en la concentración de 4NF, a 750 mg/L, adicional a la restricción de la fuente de sustrato durante dos días. Esta diferencia en la etapa de estrés podría ser la responsable de que los tres reactores empacados se hubieran comportado de la misma manera, contrastando con lo obtenido por otros autores. El incremento en la concentración del 4NF (10x) durante la etapa de estrés, lejos de promover un consumo acelerado del sustrato endógeno –el cual era el objetivo–, aumentó la toxicidad en el medio. Ya que en este trabajo la concentración manejada de 4NF en la etapa II fue de 5.4 mM (750 mg/L), 88.5 veces mayor a su IC_{50} (0.061 mM¹⁷¹), podríamos decir que esta condición afectó severamente la biomasa adherida a las FCAs y a su metabolismo de nitroreducción, resultando en una poca disminución en el espesor de la biomasa adherida. A pesar de que la actividad en las fibras se fue recuperando paulatinamente, el proceso de estrés afectó la interacción de los microorganismos con la superficie, derivando en una similitud entre los tratamientos empacados a un largo plazo.

Esto es un indicio de que, en este proceso, el papel que jugaron las fibras de carbón sólo fue de soporte para el crecimiento microbiano y el desarrollo de biopelícula y de que la actividad biológica fue la que dominó la dinámica de la biotransformación del 4NF, ya que, al final del experimento, los tres reactores empacados se comportaron de manera similar y con gran diferencia del control. Esta diferencia de más del 25% es atribuida a la presencia de biopelícula adherida a los discos de FCA.

La presencia de la biopelícula y la influencia que tuvo sobre la biotransformación del 4NF fueron similares a los reportados por Rios-Del Toro y colaboradores⁴⁹: en este reporte, la química superficial de fibras oxidadas no tuvo efecto sobre la biotransformación de rojo de metilo debido a la presencia notable de biomasa en la biopelícula depositada sobre las FCAs durante la experimentación realizada por lotes.

La evidencia encontrada en la literatura y el presente trabajo, indican que principal aportación de las FCAs al proceso de biotransformación del 4NF es como soporte de crecimiento y promotoras de una mayor concentración de biomasa para el mejoramiento de la actividad metabólica de los microorganismos y no como mediador redox.

4.3. Caracterización fisicoquímica de las FCA antes y después de ser sometidas a un proceso de bioreducción de 4NF.

Existen muy pocos trabajos en los que se evalúen las características fisicoquímicas de los CAs después la formación de biopelícula en su superficie. Muchas veces, los materiales carbonosos se consideran como superficies inertes, resistentes a la transformación química y biológica. Es por ello que, en este estudio se tuvo como objetivo evaluar y cuantificar los cambios que puedan sufrir las FCAs al ser utilizadas como soportes de crecimiento durante un proceso de biotransformación de un NA, todo esto con la finalidad de tener una idea de los fenómenos que pudieran presentarse en el sistema al momento de que los microorganismos interactúan con las FCAs.

Uno de los parámetros básicos para la visualización de cambios fisicoquímicos en una superficie es el PCC. Al hacer la estimación del PCC de las FCAs después de ser utilizadas en la biotransformación de 4NF, se observó un aumento en el valor de los tres materiales (Figura 22, Tabla 7). El PCC de los materiales AW, OX y AQ cambió de 5.00 a 7.74, 3.38 a 7.81 y 3.09 a 7.39, respectivamente. Esto es un indicio de que los microorganismos tienen la capacidad para neutralizar la superficie sobre la que crecen. Una posible explicación para este fenómeno sería el aminoramiento de los efectos de repulsión electrostática, los cuales se presentan durante la adhesión de los microorganismos al sólido¹²². Podríamos estar hablando de la generación de una película acondicionadora generada por microorganismos. Estas películas son

elementos que tienen el fin de promover una mejor adhesión y mayor concentración de microorganismos¹⁷² sobre una superficie, mediante la disminución de la influencia negativa que pudieran tener la tensión superficial, la carga neta o la textura sobre este proceso¹²⁵.

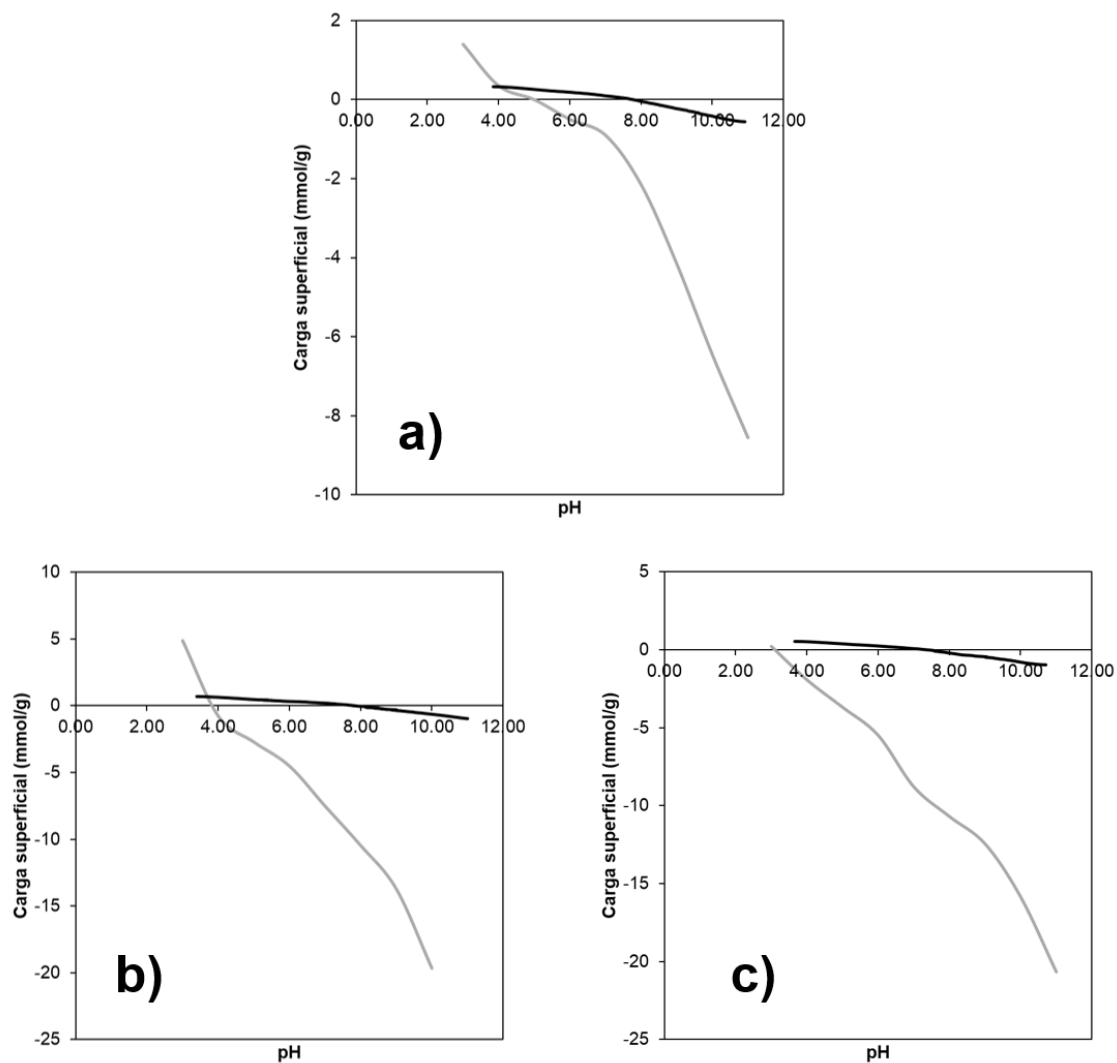


Figura 22. Determinación del PCC de las FCA antes (—) y después de 37 (---) días dentro de los biorreactores UASB en la biotransformación de 4NF. Titraciones potenciométricas de a) AW, b) OX y c) AQ

Tabla 7. Comparación de características superficiales de los materiales carbonosos antes y después del proceso de biotransformación del 4NF. Grupos funcionales (meq/L).

FCA	Previo a la biotransformación					Posterior a la biotransformación				
	PCC (pH)	Carboxílicos Fenólicos Lactónicos	Carbonilos	Ácidos totales	Básicos totales	PCC (pH)	Carboxílicos Fenólicos Lactónicos	Carbonilos	Ácidos totales	Básicos totales
AW	5.00	0.250	1.250	1.500	0.243	7.74	1.250	0.750	2.000	0.485
OX	3.38	1.750	2.750	4.500	0.243	7.81	2.000	0.500	2.500	0.728
AQ	3.09	1.000	2.250	3.25	0.000	7.39	1.750	2.000	3.750	0.728

Al revisar la literatura, se encontraron algunos mecanismos a través de los cuales se podrían explicar las alteraciones presentadas en los materiales de este trabajo por la formación de biopelículas, identificando tres principales:

- El contenido del medio de crecimiento. Esto, previo a la colonización, va a generar una capa acondicionadora sobre la superficie (sustratos que susciten la unión y nutrientes que permitan el crecimiento celular) en la que se promoverá la adhesión de microorganismos¹²³. Este proceso estaría alterando la carga neta superficial, así como la tensión, favoreciendo la accesibilidad a la interface para la deposición de microorganismos¹²¹.
- La deposición de moléculas, por parte de la biopelícula. La biomasa puede generar la unión de diversos tipos de moléculas con la superficie, las cuales van ingresando en la matriz polimérica, provenientes del fluido, o se van generando dentro de ella productos del metabolismo microbiano. Entre estas encontramos biopolímeros, aniones (silicatos o fosfatos)¹²², cationes (Ca^{2+}) y macromoléculas (enzimas, proteínas, péptidos). Los materiales carbonosos tienen grupos funcionales ácidos y básicos en su

superficie, los cuales pueden adsorber moléculas, para ayudar a la formación que las biopelículas. Estas interacciones superficiales pueden generar modificaciones de los grupos funcionales presentes, así como la adición y/o eliminación de algunos otros¹²⁵.

- La presencia de los EPS de la biopelícula. Los EPS son polímeros con la capacidad de interactuar con moléculas de diversos tipos, a fin de formar redes alrededor de una célula, lo cual le permitirá una mayor interrelación con sus alrededores. Esta particularidad de los EPS es la que les permite unirse con iones y con otras moléculas cargadas como la superficie¹²⁸.

Todas estas modificaciones ocasionan la alteración u obstrucción de las propiedades originales de un material de soporte, pudiendo modificar su PCC y/o la concentración de grupos funcionales activos.

La modificación del PCC de las FCAs es reflejo de la variación del contenido de grupos funcionales superficiales. La Tabla 7 presenta la cuantificación de los grupos ácidos y básicos presentes en la superficie de las FCAs antes y después de ser utilizadas como soporte de crecimiento. De manera general, los grupos ácidos y básicos totales se incrementaron en los tres materiales. El aumento en la concentración de grupos ácidos y básicos podría relacionarse con la deposición de EPS, iones, AGVs y materia orgánica derivada de los microorganismos.

Por el contrario, la concentración de grupos carbonilos presentó una reducción en todos los reactores. Por ejemplo, el reactor FCA-OX originalmente contenía 2.75 meq/g de grupos carbonilo, pero después de la biotransformación de 4NF su concentración se redujo a tan sólo 0.5 meq/g. Esto indica que los

microorganismos que se adhirieron a las superficies de las FCA, utilizaron a los grupos carbonilo como aceptores finales de electrones, transformándoles en grupos fenólicos, que probablemente contribuyeron al incremento de los grupos ácidos totales¹⁶¹.

En los estudios con biopelículas se tiene reportada la adaptación y los mecanismos que presentan los microorganismos para crecer y desarrollarse sobre diversos materiales¹²¹, sin embargo, poco se habla de los cambios que estos pudieran propiciar en las superficies sobre las que crecen. Este trabajo sería uno de los primeros en reportar evidencias de cambios fisicoquímicos en los materiales carbonosos después de la formación de biopelículas en la biotransformación de contaminantes recalcitrantes como el 4NF.

4.4. Cambios en la cantidad de biopelícula adherida en las FCAs

En la Figura 23 se muestra la determinación de SV para el lodo granular utilizado en el reactor control y para los discos de FCAs en las posiciones 2 y 4 como se muestra en la Figura 7.

Como se puede observar, la cantidad de SV en el lodo granular del reactor control fue de 7.4%. El contenido de SV en los discos de FCA, el cual fue mayor al control, puede explicar la mayor eficiencia de biotransformación de 4NF observada en los reactores empacados (Figura 20).

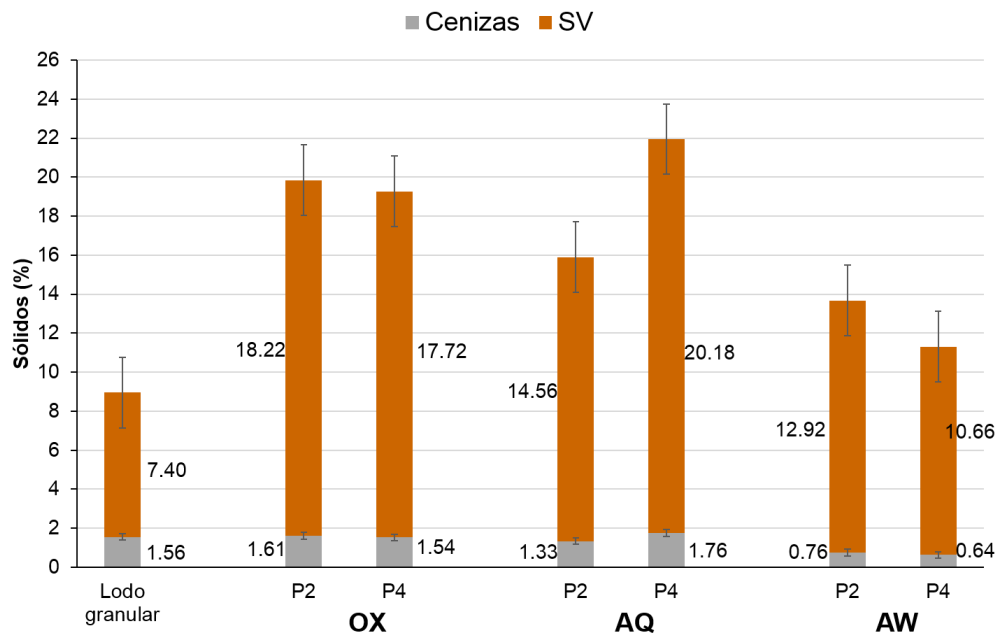


Figura 23. Cuantificación de contenido de SV en el lodo granular y las FCAs al día 37.

A pesar de que los valores de SV en OX y AW difieren en poco más del 6%, esto no se vio reflejado en los rendimientos de biotransformación que se presentaron a lo largo de la última fase. Sin embargo, ambos contenidos son lo suficientemente grandes como para poder exhibir diferencias en su actividad.

Cuando el CA es utilizado como soporte de crecimiento, algunas de sus propiedades fisicoquímicas podrían influenciar el tipo de microorganismos que se adhieren a su superficie. Se ha reportado en algunos estudios con MFCs que microorganismos como *Geobacter* spp. (*G. sulfurreducens* y *G. metallireducens*), *Pelobacter propionicus*, *Azoarcus* sp., *Desulfuromonas* sp. y *Thauera aromatica*¹⁴⁸, organismos con propiedades exoelectrogénicas, pueden enriquecerse en la superficie de materiales anódicos carbonosos como los CAs. En el trabajo de Chae y colaboradores¹⁷³ ellos emplearon fieltro de carbono como ánodo con un inóculo de lodo granular anaerobio y encontraron que las

principales poblaciones que crecieron sobre el material pertenecían a las clases β - y δ -proteobacteria como *Azoarcus* sp., *Thauera aromatica* y *Geobacter sulfurreducens* fueron las principales especies encontradas. Estos microorganismos que generan electrones pueden ser utilizados en la biotransformación de contaminantes con grupos reducibles (nitro, azo)^{84,174}.

Basado en la idea de que los microorganismos pueden generar electrones y reproducirse sobre materiales con una gran cantidad de grupos funcionales, Pereira y colaboradores⁸⁴ evaluaron el efecto del CAG sobre las comunidades microbianas de las biopelículas en un sistema de biotransformación continua de Naranja Ácido 10, utilizando AGVs como donadores de electrones. En el estudio encontraron que la población microbiana, tanto del lodo como de la biopelícula de la superficie del CAG, estaba compuesta principalmente por bacterias del género *Syntrophobacter*, *Nitrospira*, *Geobacter*, *Pseudomonas* y *Syntrophomonas*, microorganismos predominantemente de las Clases β - y δ -proteobacteria. Entre estas poblaciones resalta la presencia de *Geobacter* y *Pseudomonas*, dos géneros ampliamente estudiados y aplicados MFC por sus propiedades exoelectrogénicas¹³², sin embargo, el reactor empacado con CAG mostró una eficiencia de decoloración de Naranja Ácido 10 dos veces mayor que el reactor control. Si el reactor empacado con CAG presentó una mayor decoloración que el reactor control aún con la misma comunidad microbiana todo apunta a una mayor probabilidad de que la cantidad de biopelícula o los grupos funcionales superficiales de los CAs hayan sido el factor determinante en la biotransformación de contaminantes xenobióticos. Trabajos previos mencionaron

que la presencia de grupos funcionales quinónicos o carbonílicos en la superficie de los materiales de carbono tenía la mayor participación en los procesos de biotransformación⁸³. Sin embargo, en este trabajo se obtuvo que, a pesar de trabajar con FCAs con diferentes químicas superficiales, estos grupos funcionales no mejoraron la eficiencia de biotransformación de 4NF. Esto significó que la cantidad de biopelícula fue el factor más importante detrás de la biotransformación de 4NF.

5. CONCLUSIONES

- A partir de FCA elaboradas de PAN, se obtuvieron dos telas modificadas con PCC bajos, a partir de una oxidación con HNO_3 y una funcionalización con AQDS en su superficie.
- Se logró la aclimatación de un lodo anaerobio granular al consumo de etanol como sustrato, para la biotransformación del 4NF.
- La biomasa fue capaz de biotransformar 4NF con la ayuda de un exceso de sustrato en el sistema, sin embargo, bajo estas condiciones fue difícil ver la influencia de la química superficial de las FCAs en el proceso, ya que todos los biorreactores se comportaron de la misma manera.
- Después de aplicar una metodología de restricción de fuente de carbono, los biorreactores empacados con FCAs biotransformaron dos veces más 4NF a 4AF en comparación del reactor control sin FCAs. Las eficiencias de biotransformación de 4NF de los reactores empacados con AW, OX y AQ fueron muy similares entre sí con valores cercanos al 60%. Al no haber diferencias entre los reactores empacados y sólo haberlas con el reactor control, se concluye que la química superficial de las FCAs no tuvo un efecto significativo sobre el proceso de biotransformación, demostrando la mayor influencia de la biopelícula que creció sobre los materiales carbonosos.

- Los cambios observados en las FCAs después del crecimiento de la biopelícula indicaron la neutralización de la superficie de las tres telas, al mostrar PCCs cercanos a 7. También se observó un incremento en los sitios ácido y básicos totales superficiales, debido a diversos procesos microbianos ocurridos en la formación de la biopelícula.
- La cantidad de microorganismos activos en el lodo granular anaerobio ($7 \text{ g}_{\text{SV}}/\text{g}_{\text{muestra}}$) fue menor comparada con lo que se encontró en las FCAs ($20.18 - 10.66 \text{ g}_{\text{SV}}/\text{g}_{\text{muestra}}$). Este hecho puede estar relacionado con una mayor actividad reductora por parte de los biorreactores empacados con FCAs.
- La cantidad de biomasa presente en las biopelículas fue el factor más importante en el proceso de biotransformación de contaminantes recalcitrantes como el 4NF.
- Este es el primer reporte que evidenció cambios en las características fisicoquímicas superficiales de las FCAs por efecto de la formación de la biopelícula. Esto da una idea sobre la influencia que tienen las biopelículas en los procesos de biotransformación, como en las condiciones aquí reportadas, donde no hubo diferencias de rendimientos entre los reactores empacados con FCAs de químicas superficiales distintas.

6. RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

A partir de las experiencias y resultados generados durante este trabajo, planteamos las siguientes recomendaciones para trabajos futuros relacionados con esta línea de investigación:

- Análisis de caracterización más específicos como la espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) para la composición elemental de las FCAs, la desorción temperatura programada (TPD) para la determinación de grupos funcionales, microscopía confocal láser de barrido (CLSM) para lograr mejores observaciones del crecimiento de la biopelícula sobre las FCAs, evaluaciones moleculares para determinar la ecología microbiana de las biopelículas presentes en los procesos de biotransformación y evaluaciones electroquímicas como la conductancia de la biomasa, la voltamperometría cíclica e impedancia electroquímica (EIS) para observar las características electroquímicas del crecimiento de la biopelícula sobre las fibras con respecto al tiempo,
- Evaluación de la eficiencia de biotransformación de los sistemas anaerobios en presencia de FCAs a lo largo de varios ciclos de utilización y junto con esto, la evaluación fisicoquímica de los materiales carbonosos después de cada ciclo, estableciendo los cambios que puedan presentarse a lo largo del proceso. Los datos obtenidos de estos cambios podrían aportar información que ayude al entendimiento de la interacción

microorganismo-FCAs de los procesos de biotransformación en los que se utilizan estos materiales como soporte de crecimiento biológico.

- Aplicación y proposición de otras metodologías para el control del crecimiento de biomasa en las biopelículas, como las referidas en este trabajo, a fin de promover la reexposición de la superficie de las FCAs y así tener una mayor interacción de los microorganismos con las fibras para la mejor evaluación de estos sistemas.
- Evaluación de cambios fisicoquímicos en FCAs y otros tipos de carbones tratados bajo diferentes técnicas de modificación, en la biotransformación de otros contaminantes, con el uso de inóculos provenientes de diversas fuentes y en presencia de diversos medios de crecimiento.
- Diseño de reactores que permitan un monitoreo periódico del comportamiento de los cambios, tanto de las características fisicoquímicas de las FCAs como de la biomasa en las biopelículas. Este diseño también podría contener una mayor cantidad de tela de carbón a fin de tener una gran cantidad de muestra para caracterizarla por diversos análisis.

Las alteraciones en las FCAs como parte del proceso de formación de la biopelícula se presentan como un factor a tomar en cuenta al momento de la selección, utilización y modificación de un material de soporte con características establecidas. Estas consideraciones pueden ser extrapolables al momento de la realización de otros trabajos en los que se busque promover las interacciones de los microorganismos con la superficie, bajo condiciones de restricción de sustrato o bajo otras condiciones que se presenten normalmente en el ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arora, S. Textile Dyes : It ' s Impact on Environment and its Treatment. **5**, 6199 (2014).
2. Ali, H. Biodegradation of synthetic dyes - A review. *Water. Air. Soil Pollut.* **213**, 251–273 (2010).
3. García-Rodríguez, J. P. Estudio de dos macromicetos para la detoxificación de colorantes sintéticos. (Universidad Autónoma de Nuevo León, 2015).
4. Kovacic, P. & Somanathan, R. Nitroaromatic compounds: Environmental toxicity, carcinogenicity, mutagenicity, therapy and mechanism. *J. Appl. Toxicol.* **34**, 810–824 (2014).
5. Ju, K.-S. & Parales, R. E. Nitroaromatic compounds, from synthesis to biodegradation. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **74**, 250–72 (2010).
6. Verschuere, K. *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*. (John Wiley & Sons, Inc., 1996).
7. Ye, J., Singh, A. & Ward, O. P. Biodegradation of nitroaromatics and other nitrogen-containing xenobiotics. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **20**, 117–135 (2004).
8. Morrison, R. & Boyd, R. *Química Orgánica*. (PEARSON, Addison Wesley, 1998).
9. Pereira, L., Pereira, R., Pereira, M. F. R. & Alves, M. M. Effect of different carbon materials as electron shuttles in the anaerobic biotransformation of nitroanilines. *Biotechnol. Bioeng.* **113**, 1194–1202 (2016).
10. Razo-Flores, E., Donlon, B., Lettinga, G. & Field, J. Biotransformation and biodegradation of N substituted aromatics in methanogenic granular sludge. *FEMS Microbiol. Rev.* **20**, 525–538 (1997).
11. Pereira, R. A., Pereira, M. F. R., Alves, M. M. & Pereira, L. Carbon based materials as novel redox mediators for dye wastewater biodegradation. *Appl. Catal. B Environ.* **144**, 713–720 (2014).
12. Abu-Salah, K., Shelef, G., Levanon, D., Armon, R. & Dosoretz, C. G. Microbial degradation of aromatic and polyaromatic toxic compounds adsorbed on powdered activated carbon. *J. Biotechnol.* **51**, 265–272 (1996).
13. Alexander, M. & Lustigman, B. K. Effect of Chemical Structure on Microbial Degradation of Substituted Benzenes. *J. Food Chem.* **14**, 410–413 (1966).
14. Gorontzy, T., Küver, J. & Blotvogel, K.-H. Microbial transformation of nitroaromatic compounds under anaerobic conditions. *J. General Microbiol.* **139**, 1331–1336 (1993).
15. Roldán, M. D., Pérez-Reinado, E., Castillo, F. & Moreno-Vivián, C. Reduction of polynitroaromatic compounds: The bacterial nitroreductases. *FEMS Microbiol. Rev.* **32**, 474–500 (2008).
16. Cenas, N., Prast, S., Nivinskas, H., Sarlauskas, J. & Arne, E. S. J.

- Interactions of Nitroaromatic Compounds with the Mammalian Selenoprotein Thioredoxin Reductase and the Relation to Induction of Apoptosis in Human Cancer Cells *. *J. Biol. Chem.* **281**, 5593–5603 (2006).
17. Li, H., Teppen, B. J., Johnston, C. T. & Boyd, S. A. Thermodynamics of nitroaromatic compound adsorption from water by smectite clay. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 5433–5442 (2004).
 18. Li, B., Xu, X. & Zhu, L. Ozonation of chloronitrobenzenes in aqueous solution : kinetics and mechanism. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **86**, 167–175 (2015).
 19. Sun, M., Yao, R., You, Y., Deng, S. & Gao, W. Degradation of 4-aminophenol by hydrogen peroxide oxidation using enzyme from *Serratia marcescens* as catalyst. *Front. Environ. Sci. Eng. China* **1**, 95–98 (2007).
 20. Einschlag, F. S. G., Carlos, L. & Nichela, D. Degradation of Nitroaromatic Compounds by Homogeneous AOPs. in
 21. Keum, Y. & Li, Q. X. Reduction of nitroaromatic pesticides with zero-valent iron. **54**, 255–263 (2004).
 22. Amezcua-Garcia, H. J., Razo-Flores, E., Cervantes, F. J. & Rangel-Mendez, J. R. Activated carbon fibers as redox mediators for the increased reduction of nitroaromatics. *Carbon N. Y.* **55**, 276–284 (2013).
 23. Ammar, S., Oturan, N. & Oturan, M. A. ELECTROCHEMICAL OXIDATION OF 2-NITROPHENOL IN AQUEOUS MEDIUM BY ELECTRO-FENTON TECHNOLOGY. **17**, 89–96 (2007).
 24. Quiroz, M. A., Reyna, S., Martinez-Huitle, C. A., Ferro, S. & De Battisti, A. Electrocatalytic oxidation of p-nitrophenol from aqueous solutions at Pb/PbO₂ anodes. *Appl. Catal. B Environ.* **59**, 259–266 (2005).
 25. Rodgers, J. D. & Bunce, N. J. Electrochemical Treatment of 2,4,6-Trinitrotoluene and Related Compounds. *Environ. Sci. Technol.* **35**, 406–410 (2001).
 26. Chaplin, B. P. *et al.* Critical Review of Pd-Based Catalytic Treatment of Priority Contaminants in Water. *Environ. Sci. Technol.* **46**, 3655–3670 (2012).
 27. Dillert, R., Brandt, M., Fornefeldt, I., Siebers, U. & Bahnemann, D. Photocatalytic degradation of trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds. *Chemosphere* **30**, 2333–2341 (1995).
 28. Zhu, H., Ke, X., Yang, X., Sarina, S. & Liu, H. Reduction of nitroaromatic compounds on supported gold nanoparticles by visible and ultraviolet light. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **49**, 9657–9661 (2010).
 29. Karim, K. & Gupta, S. K. Biotransformation of nitrophenols in upflow anaerobic sludge blanket reactors. *Bioresour. Technol.* **80**, 179–186 (2001).
 30. Karim, K. & Gupta, S. K. Continuous biotransformation and removal of nitrophenols under denitrifying conditions. *Water Res.* **37**, 2953–2959 (2003).
 31. Wu, S. *et al.* Reduction of nitrobenzene catalyzed by carbon materials. *Chinese J. Catal.* **35**, 914–921 (2014).
 32. Pereira, L. *et al.* Thermal modification of activated carbon surface chemistry improves its capacity as redox mediator for azo dye reduction. *J. Hazard. Mater.* **183**, 931–939 (2010).

33. Ghoreishi, S. M. & Haghghi, R. Chemical catalytic reaction and biological oxidation for treatment of non-biodegradable textile effluent. *Chem. Eng. J.* **95**, 163–169 (2003).
34. Rodgers, J. D. & Bunce, N. J. Review paper treatment methods for the remediation of nitroaromatic explosives. **35**, 2101–2111 (2001).
35. Ng, Y. L. *et al.* Use of activated carbon as a support medium for H₂S biofiltration and effect of bacterial immobilization on available pore surface. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **66**, 259–265 (2004).
36. Ip, A. W. M., Barford, J. P. & McKay, G. Biodegradation of Reactive Black 5 and bioregeneration in upflow fixed bed bioreactors packed with different adsorbents. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **85**, 658–667 (2010).
37. Sandrin, T., Dowd, S., Herman, D. & Maier, R. Aquatic Environments. in *Environmental Microbiology* 589 (2009).
38. Donlan, R. M. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Diseases.* *Emerg. Infect. Dis.* **8**, 881–890 (2002).
39. Costerton, W. J. *et al.* Microbial Biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* **49**, 711–745 (1995).
40. Koch, B., Ostermann, M., Höke, H. & Hempel, D.-C. Sand and activated carbon as biofilm carriers for microbial degradation of phenols and nitrogen-containing aromatic compounds. *Water Res.* **25**, 1–8 (1991).
41. Melin, E. S., Järvinen, K. T. & Puhakka, J. A. Effects of Temperature on Chlorophenol Biodegradation Kinetics in Fluidized-Bed Reactors with Different Biomass Carriers. *Water Res.* **32**, 81–90 (1998).
42. Barragán, B. E., Costa, C. & Márquez, M. C. Biodegradation of azo dyes by bacteria inoculated on solid media. *Dye. Pigment.* **75**, 73–81 (2007).
43. Cao, W., Zhang, H., Wang, Y. & Pan, J. Bioremediation of polluted surface water by using biofilms on filamentous bamboo. *Ecol. Eng.* **42**, 146–149 (2012).
44. Pineda, R., Alba, J., Thalasso, F. & Ponce-Noyola, T. Microbial characterization of organic carrier colonization during a model biofiltration experiment. *Lett. Appl. Microbiol.* **38**, 522–526 (2004).
45. Ye, F. X., Chen, Y. X. & Feng, X. S. Advanced start-up of anaerobic attached film expanded bed reactor by pre-aeration of biofilm carrier. *Bioresour. Technol.* **96**, 115–119 (2005).
46. Picanço, A. P., Vallero, M. V. G., Gianotti, E. P., Zaiat, M. & Blundi, C. E. Influence of porosity and composition of supports on the methanogenic biofilm characteristics developed in a fixed bed anaerobic reactor. *Water Sci. Technol.* **44**, 197–204 (2001).
47. Chen, B., Yuan, M. & Qian, L. Enhanced bioremediation of PAH-contaminated soil by immobilized bacteria with plant residue and biochar as carriers. *J. Soil Sediments* **12**, 1350–1359 (2012).
48. Tarre, S. *et al.* High nitrification rate at low pH in a fluidized bed reactor with chalk as the biofilm carrier. *Water Sci. Technol.* **49**, 99–105 (2004).
49. Rios-Del Toro, E. E., Celis, L. B., Cervantes, F. J. & Rangel-Mendez, J. R. Enhanced microbial decolorization of methyl red with oxidized carbon fiber as redox mediator. *J. Hazard. Mater.* **260**, 967–974 (2013).
50. Brányik, T., Kuncová, G. & Páca, J. The use of silica gel prepared by sol-

- gel method and polyurethane foam as microbial carriers in the continuous degradation of phenol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **54**, 168–172 (2000).
51. Wang, R., Wen, X. & Qian, Y. Influence of carrier concentration on the performance and microbial characteristics of a suspended carrier biofilm reactor. *Process Biochem.* **40**, 2992–3001 (2005).
 52. Kindzierski, W. B., Gray, M. R., Fedorak, P. M. & Hrudey, S. E. Activated carbon and synthetic resins as support material for methanogenic phenol-degrading consortia—comparison of surface characteristics and initial colonization. *Water Environ. Res.* **64**, 766–775 (1992).
 53. Guo, J. *et al.* The accelerating effect and mechanism of a newly functional bio-carrier modified by redox mediators for the azo dyes decolorization. *Biodegradation* **21**, 1049–1056 (2010).
 54. Sevillano, X., Isasi, J. R. & Peña, F. J. Feasibility study of degradation of phenol in a fluidized bed bioreactor with a cyclodextrin polymer as biofilm carrier. *Biodegradation* **19**, 589–597 (2008).
 55. Wu, W., Yang, F. & Yang, L. Biological denitrification with a novel biodegradable polymer as carbon source and biofilm carrier. *Bioresour. Technol.* **118**, 136–140 (2012).
 56. Li, L. *et al.* Enhancement of nitroaromatic compounds anaerobic biotransformation using a novel immobilized redox mediator prepared by electropolymerization. *Bioresour. Technol.* **99**, 6908–6916 (2008).
 57. Li, G., Park, S., Kang, D. W., Krajmalnik-Brown, R. & Rittmann, B. E. 2,4,5-trichlorophenol degradation using a novel TiO₂-coated biofilm carrier: Roles of adsorption, photocatalysis, and biodegradation. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 8359–8367 (2011).
 58. Ailijiang, N. *et al.* Electrical stimulation on biodegradation of phenol and responses of microbial communities in conductive carriers supported biofilms of the bioelectrochemical reactor. *Bioresour. Technol.* **201**, 1–7 (2016).
 59. Ahmadpour, A. & Do, D. D. The preparation of activated carbon from macadamia nutshell by chemical activation. *Carbon N. Y.* **35**, 1723–1732 (1997).
 60. Suzuki, R. M., Andrade, A. D., Sousa, J. C. & Rollemberg, M. C. Preparation and characterization of activated carbon from rice bran. *Bioresour. Technol.* **98**, 1985–1991 (2007).
 61. Girgis, B. S., Yunis, S. S. & Soliman, A. M. Characteristics of activated carbon from peanut hulls in relation to conditions of preparation. *Mater. Lett.* **57**, 164–172 (2002).
 62. Kadirvelu, K. *et al.* Utilization of various agricultural wastes for activated carbon preparation and application for the removal of dyes and metal ions from aqueous solutions. *Bioresour. Technol.* **87**, 129–132 (2003).
 63. Caturla, F., Molina-Sabio, M. & Rodríguez-Reinoso, F. Preparation of activated carbon by chemical activation with ZnCl₂. *Carbon N. Y.* **29**, 999–1007 (1991).
 64. Martínez, M. L., Torres, M. M., Guzmán, C. A. & Maestri, D. M. Preparation and characteristics of activated carbon from olive stones and walnut shells. *Ind. Crops Prod.* **23**, 23–28 (2006).

65. Tan, I. A. W., Ahmad, A. L. & Hameed, B. H. Preparation of activated carbon from coconut husk: Optimization study on removal of 2,4,6-trichlorophenol using response surface methodology. *J. Hazard. Mater.* **153**, 709–717 (2008).
66. Nath, K., Panchani, S., Bhakhar, M. S. & Chatrola, S. Preparation of activated carbon from dried pods of *Prosopis cineraria* with zinc chloride activation for the removal of phenol. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **20**, 4030–4045 (2013).
67. Deng, H., Yang, L., Tao, G. & Dai, J. Preparation and characterization of activated carbon from cotton stalk by microwave assisted chemical activation—Application in methylene blue adsorption from aqueous solution. *J. Hazard. Mater.* **166**, 1514–1521 (2009).
68. Sudaryanto, Y., Hartono, S. B., Irawaty, W., Hindarso, H. & Ismadji, S. High surface area activated carbon prepared from cassava peel by chemical activation. *Bioresour. Technol.* **97**, 734–739 (2006).
69. Liu, Q.-S., Zheng, T., Wang, P. & Guo, L. Preparation and characterization of activated carbon from bamboo by microwave-induced phosphoric acid activation. *Ind. Crops Prod.* **31**, 233–238 (2010).
70. Wang, T., Tan, S. & Liang, C. Preparation and characterization of activated carbon from wood via microwave-induced ZnCl₂ activation. *Carbon N. Y.* **47**, 1880–1883 (2009).
71. Ariyadejwanich, P., Tanthapanichakoon, W., Nakagawa, K., Mukai, S. & Tamon, H. Preparation and characterization of mesoporous activated carbon from waste tires. *Carbon N. Y.* **41**, 157–164 (2003).
72. Huang, X. Fabrication and Properties of Carbon Fibers. *Materials (Basel)*. **2**, 2369–2403 (2009).
73. Mezohegyi, G., Fabregat, A., Font, J., Bengoa, C. & Stuber, F. Advanced Bioreduction of Commercially Important Azo Dyes: Modeling and Correlation with Electrochemical Characteristics. *Ind. Eng. Chem. Res.* **48**, 7054–7059 (2009).
74. Mezohegyi, G. *et al.* Effective anaerobic decolorization of azo dye acid orange 7 in continuous upflow packed-bed reactor using biological activated carbon system. *Ind. Eng. Chem. Res.* **46**, 6788–6792 (2007).
75. Wang, A.-J. *et al.* Efficient reduction of nitrobenzene to aniline with a biocatalyzed cathode. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 10186–10193 (2011).
76. Mangun, C. L., Benak, K. R., Daley, M. A. & Economy, J. Oxidation of Activated Carbon Fibers: Effect on Pore Size, Surface Chemistry, and Adsorption Properties. *Chem. Mater.* **11**, 3476–3483 (1999).
77. Rodrigues, E. G., Pereira, M. F. R., Chen, X., Delgado, J. J. & Órfão, J. J. M. Influence of activated carbon surface chemistry on the activity of Au / AC catalysts in glycerol oxidation. *J. Catal.* **281**, 119–127 (2011).
78. Van Der Zee, F. P., Bisschops, I. A. E., Lettinga, G. & Field, J. A. Activated carbon as an electron acceptor and redox mediator during the anaerobic biotransformation of azo dyes. *Environ. Sci. Technol.* **37**, 402–408 (2003).
79. Moreno-Castilla, C., Bautista-Toledo, I., Ferro-García, M. A. & Rivera-Utrilla, J. Influence of support surface properties on activity of bacteria immobilised on activated carbons for water denitrification. *Carbon N. Y.* **41**,

- 1743–1749 (2003).
80. Caldeira, M. *et al.* 4-Chlorophenol degradation by a bacterial consortium: development of a granular activated carbon biofilm reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **52**, 722–729 (1999).
 81. Mezohegyi, G. *et al.* Tailored activated carbons as catalysts in biodecolourisation of textile azo dyes. *Appl. Catal. B Environ.* **94**, 179–185 (2010).
 82. Speece, R. *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*. (Archae Press, 1996).
 83. Amezquita-Garcia, H. J., Rangel-Mendez, J. R., Cervantes, F. J. & Razo-Flores, E. Activated carbon fibers with redox-active functionalities improves the continuous anaerobic biotransformation of 4-nitrophenol. *Chem. Eng. J.* **286**, 208–215 (2016).
 84. Pereira, R. A. *et al.* Perspectives on carbon materials as powerful catalysts in continuous anaerobic bioreactors. *Water Res.* **101**, 441–447 (2016).
 85. CARBOT. *Safety data sheet Norit® GAC1240*. **1200**, (2015).
 86. Daley, M., Mangun, C. & Economy, J. Predicting Adsorption Properties for ACFs. 326–329 (2000).
 87. Menéndez, J. A., Xia, B., Phillips, J. & Radovic, L. R. On the Modification and Characterization of Chemical Surface Properties of Activated Carbon : Microcalorimetric , Electrochemical , and Thermal Desorption Probes. *Langmuir* **13**, 3414–3421 (1997).
 88. Radovic, L. R. Physicochemical Properties of Carbon Materials: A Brief Overview. in *Carbon Materials for Catalysis* (eds. Serp, P. & Figueiredo, J. L.) 608 (John Wiley & Sons, 2009).
 89. Yin, C. Y., Aroua, M. K. & Daud, W. M. A. W. Review of modifications of activated carbon for enhancing contaminant uptakes from aqueous solutions. *Sep. Purif. Technol.* **52**, 403–415 (2007).
 90. Figueiredo, J. L. Functionalization of porous carbons for catalytic applications. *J. Mater. Chem. A* **1**, 9351–9364 (2013).
 91. Taran, O. *et al.* Influence of the morphology and the surface chemistry of carbons on their catalytic performances in the catalytic wet peroxide oxidation of organic contaminants. *Appl. Catal. A Gen.* **387**, 55–66 (2010).
 92. Rey, A., Zazo, J. A., Casas, J. A., Bahamonde, A. & Rodriguez, J. J. Influence of the structural and surface characteristics of activated carbon on the catalytic decomposition of hydrogen peroxide. *Appl. Catal. A Gen.* **402**, 146–155 (2011).
 93. Tsuno, H., Kawamura, M. & Oya, T. Application of biological activated carbon anaerobic reactor for treatment of hazardous chemicals. *Water Sci. Technol.* **53**, 251–260 (2006).
 94. Barton, S. S., Evans, M. J. B., Halliop, E. & MacDonald, J. A. F. Acidic and basic sites on the surface. *Carbon N. Y.* **35**, 1361–1366 (1997).
 95. Montes-Morán, M. A., Suárez, D., Menéndez, J. A. & Fuente, E. On the nature of basic sites on carbon surfaces: An overview. *Carbon N. Y.* **42**, 1219–1224 (2004).
 96. Lopez-Ramon, M. V, Stoeckli, F., Moreno-Castilla, C. & Carrasco-Marin, F. On the characterization of acidic and basic surface sites on carbons by

- various techniques. *Carbon N. Y.* **37**, 1215–1221 (1999).
97. Biniak, S., Szymański, G., Siedlewski, J. & Świątkowski, A. The characterization of activated carbons with oxygen and nitrogen surface groups. *Carbon N. Y.* **35**, 1799–1810 (1997).
 98. Jansen, R. J. J. & van Bekkum, H. XPS of Nitrogen-Containing on Activated Functional Groups. *Carbon N. Y.* **33**, 1021 (1995).
 99. Goel, J., Kadirvelu, K., Rajagopal, C. & Garg, V. K. Removal of lead(II) by adsorption using treated granular activated carbon: Batch and column studies. *J. Hazard. Mater.* **125**, 211–220 (2005).
 100. Kitano, M. *et al.* Preparation of a sulfonated porous carbon catalyst with high specific surface area. *Catal. Letters* **131**, 242–249 (2009).
 101. Puziy, A. M., Poddubnaya, O. I., Socha, R. P., Gurgul, J. & Wisniewski, M. XPS and NMR studies of phosphoric acid activated carbons. *Carbon N. Y.* **46**, 2113–2123 (2008).
 102. Puziy, A. M., Poddubnaya, O. I., Martínez-Alonso, A., Suárez-García, F. & Tascón, J. M. D. Surface chemistry of phosphorus-containing carbons of lignocellulosic origin. *Carbon N. Y.* **43**, 2857–2868 (2005).
 103. Hutson, N. D., Attwood, B. C. & Scheckel, K. G. XAS and XPS Characterization of Mercury Binding on Brominated Activated Carbon. *Environ. Sci. Technol.* **41**, 1747–1752 (2007).
 104. Pérez-Cadenas, A. F., Maldonado-Hódar, F. J. & Moreno-Castilla, C. On the nature of surface acid sites of chlorinated activated carbons. *Carbon N. Y.* **41**, 473–478 (2003).
 105. Figueiredo, J. L. & Pereira, M. F. R. The role of surface chemistry in catalysis with carbons. *Catal. Today* **150**, 2–7 (2010).
 106. Amaringo Villa, F. A. & Hornaza Anaguano, A. Determinación del punto de carga cero y punto isoelectrico de dos residuos agrícolas y su aplicación en la remoción de colorantes. *Rev. Investig. Agrar. y Ambient.* **4**, 27–36 (2013).
 107. Menéndez, J. A., Illán-Gómez, M. J., León y León, C. A. & Radovic, L. R. On the difference between the isoelectric point and the point of zero charge of carbons. *Carbon N. Y.* **33**, 1655–1657 (1995).
 108. DeWalle, F. B., Chian, E. S. K. & Small, E. M. Organic Matter Removal by Powdered Activated Carbon Added to Activated Sludge. *J. (Water Pollut. Control Fed.* **49**, 593–599 (1977).
 109. Sansone, E. B., Tewari, Y. B. & Jonas, L. A. Prediction of removal of vapors from air by adsorption on activated carbon. *Environ. Sci. Technol.* **13**, 1511–1513 (1979).
 110. Huang, C. & Wu, M.-H. Chromium Removal by Carbon Adsorption. *J. (Water Pollut. Control Fed.* **47**, 2437–2446 (1975).
 111. Taskaev, E. & Apostolov, D. On uranium(VI) adsorption on activated carbon. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **45**, 65–71 (1978).
 112. Mattson, J. A., Mark, H. B., Malbin, M. D., Weber, W. J. & Crittenden, J. C. Surface chemistry of active carbon: Specific adsorption of phenols. *J. Colloid Interface Sci.* **31**, 116–130 (1969).
 113. Sigworth, E. A. & Smith, S. B. Adsorption of Inorganic Compounds by Activated Carbon. *J. Am. Water Works Assoc.* **64**, 386–391 (1972).
 114. Trimm, D. L. *Carbon as a Catalyst and Reactions of Carbon.* **7**, (1973).

115. Cervantes, F. J., Velde, S. Van Der, Lettinga, G. & Field, J. A. Quinones as terminal electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of phenolic compounds. *Biodegradation* **11**, 313–321 (2000).
116. Shen, W., Li, Z. & Liu, Y. Surface Chemical Functional Groups Modification of Porous Carbon. *Recent Patents Chem. Eng.* **1**, 27–40 (2008).
117. Pereira, M. F. R., Soares, S. F., Órfão, J. J. M. & Figueiredo, J. L. Adsorption of dyes on activated carbons: influence of surface chemical groups. *Carbon N. Y.* **41**, 811–821 (2003).
118. Amezcua-Garcia, H. J., Razo-Flores, E., Cervantes, F. J. & Rangel-Mendez, J. R. Anchorage of anthraquinone molecules onto activated carbon fibers to enhance the reduction of 4-nitrophenol. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **90**, 1685–1691 (2015).
119. Posudievsky, O. Y., Goncharuk, O. A., Barillé, R. & Pokhodenko, V. D. Structure-property relationship in mechanochemically prepared polyaniline. *Synth. Met.* **160**, 462–467 (2010).
120. Palmer, R. J. & Stoodley, P. Biofilms 2007 : Broadened Horizons and New Emphases. *J. Biotechnol.* **189**, 7948–7960 (2007).
121. Garrett, T. R., Bhakoo, M. & Zhang, Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Prog. Nat. Sci.* **18**, 1049–1056 (2008).
122. van Loosdrecht, M. C. M., Lyklema, J., Norde, W. & Zehnder, A. J. B. Bacterial Adhesion : A Physicochemical Approach. *Microb. Ecol.* **17**, 1–15 (1989).
123. Lorite, G. S. *et al.* Surface Physicochemical Properties at the Micro and Nano Length Scales : Role on Bacterial Adhesion and *Xylella fastidiosa* Biofilm Development. *PLoS One* **8**, 1–14 (2013).
124. Zita, A. & Hermansson, M. Effects of Bacterial Cell Surface Structures and Hydrophobicity on Attachment to Activated Sludge Flocs. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 1168–1170 (1997).
125. Hwang, G., Kang, S., El-din, M. G. & Liu, Y. Impact of conditioning films on the initial adhesion of *Burkholderia cepacia*. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **91**, 181–188 (2012).
126. van Loosdrecht, M. C. M., Lyklema, J., Norde, W. & Zehnder, A. J. B. Influence of Interfaces Microbial Activity. *Microbiol. Rev.* **54**, 75–87 (1990).
127. Rosenberg, M. E. L. & Kjelleberg, S. Hydrophobic Interactions: Role in Bacterial Adhesion. in 353–393
128. Sutherland, I. W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* **147**, 3–9 (2001).
129. Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W. & Stoodley, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**, 95–108 (2004).
130. Davey, M. E. & O’Toole, G. A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **64**, 847–867 (2000).
131. CBE, C. for B. E. Biofilm basics. *Montana State University* <http://www.biofilm.montana.edu/biofilm-basics/inde> (2016).
132. Lovley, D. R. Electromicrobiology. *Annu. Rev. Microbiol.* **66**, 391–409 (2012).
133. Simões, M., Cleto, S., Pereira, M. O. & Vieira, M. J. Influence of biofilm

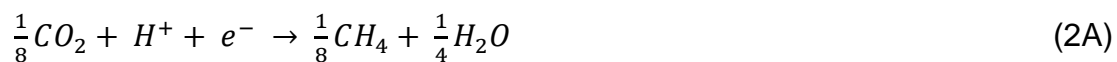
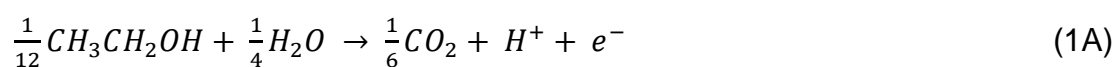
- composition on the resistance to detachment. *Water Sci. Technol.* **55**, 473–480 (2007).
134. Purevdorj, B., Costerton, J. W. & Stoodley, P. Influence of Hydrodynamics and Cell Signaling on the Structure and Behavior of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 4457–4464 (2002).
 135. Stoodley, P., Dodds, I., Boyle, J. D. & Lappin-Scott, H. M. Influence of hydrodynamics and nutrients on biofilm structure. *J. Appl. Microbiol.* **85**, 19–28 (1999).
 136. Villaverde, S., García-Encina, P. A. & Fdz-Polanco, F. Influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters. *Water Res.* **31**, 1180–1186 (1997).
 137. Rinaudi, L. *et al.* Effects of nutritional and environmental conditions on *Sinorhizobium meliloti* biofilm formation. *Res. Microbiol.* **157**, 867–875 (2006).
 138. Magalhães, C. M., Joye, S. B., Moreira, R. M., Wiebe, W. J. & Bordalo, A. A. Effect of salinity and inorganic nitrogen concentrations on nitrification and denitrification rates in intertidal sediments and rocky biofilms of the Douro River estuary, Portugal. *Water Res.* **39**, 1783–1794 (2005).
 139. Giaouris, E., Chorianopoulo, N. & Nychas, G.-J. E. Effect of Temperature, pH, and Water Activity on Biofilm Formation by *Salmonella enterica* Enteritidis PT4 on Stainless Steel Surfaces as Indicated by the Bead Vortexing Method and Conductance Measurements. *J. Food Prot.* **68**, 2149–2154 (2005).
 140. Shin, C., McCarty, P. L., Kim, J. & Bae, J. Pilot-scale temperate-climate treatment of domestic wastewater with a staged anaerobic fluidized membrane bioreactor (SAF-MBR). *Bioresour. Technol.* **159**, 95–103 (2014).
 141. Qureshi, N., Annous, B. A., Ezeji, T. C., Karcher, P. & Maddox, I. S. Biofilm reactors for industrial bioconversion processes: employing potential of enhanced reaction rates. *Microb. Cell Fact.* **4**, 1–21 (2005).
 142. Horvath, R. S. Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature. *Bacteriol. Rev.* **36**, 146–155 (1972).
 143. Dalton, H. & Stirling, D. I. Co-metabolism. *Philos. Trans. R. Soc. London. B, Biol. Sci.* **297**, 481–496 (1982).
 144. Semprini, L. Strategies for the aerobic co-metabolism of chlorinated solvents. *Curr. Opin. Biotechnol.* **8**, 296–308 (1997).
 145. Spokes, J. R. & Walker, N. Chlorophenol and chlorobenzoic acid co-metabolism by different genera of soil bacteria. *Arch. Microbiol.* **96**, 125–134 (1974).
 146. Van Der Zee, F. P. & Villaverde, S. Combined anaerobic – aerobic treatment of azo dyes — A short review of bioreactor studies. *Water Res.* **39**, 1425–1440 (2005).
 147. Van Der Zee, F. P. & Cervantes, F. J. Impact and application of electron shuttles on the redox (bio) transformation of contaminants: A review. *Biotechnol. Adv.* **27**, 256–277 (2009).
 148. Kiely, P. D., Regan, J. M. & Logan, B. E. The electric picnic: Synergistic requirements for exoelectrogenic microbial communities. *Curr. Opin. Biotechnol.* **22**, 378–385 (2011).

149. Liu, F. *et al.* Promoting direct interspecies electron transfer with activated carbon. *Energy Environ. Sci.* **5**, 8982 (2012).
150. Rotaru, A. *et al.* Direct Interspecies Electron Transfer between *Geobacter metallireducens* and *Methanosarcina barkeri*. **80**, 4599–4605 (2014).
151. Lovley, D. R. The microbe electric: conversion of organic matter to electricity. *Curr. Opin. Biotechnol.* **19**, 564–571 (2008).
152. Summers, Z. M. *et al.* Direct Exchange of Electrons Within Aggregates of an Evolved Syntrophic Coculture of Anaerobic Bacteria. *Science (80-.)*. **330**, 1413–1415 (2010).
153. Voordeckers, J. W., Kim, B. C., Izallalen, M. & Lovley, D. R. Role of *geobacter sulfurreducens* outer surface c-type cytochromes in reduction of soil humic acid and anthraquinone-2,6-Disulfonate. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 2371–2375 (2010).
154. Malvankar, N. S., Tuominen, M. T. & Lovley, D. R. Lack of cytochrome involvement in long-range electron transport through conductive biofilms and nanowires of *Geobacter sulfurreducens*. *Energy Environ. Sci.* **5**, 8651 (2012).
155. Malvankar, N. S. *et al.* Electrical conductivity in a mixed-species biofilm. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 5967–5971 (2012).
156. Richter, H. *et al.* Cyclic voltammetry of biofilms of wild type and mutant *Geobacter sulfurreducens* on fuel cell anodes indicates possible roles of OmcB, OmcZ, type IV pili, and protons in extracellular electron transfer. *Energy Environ. Sci.* **2**, 506 (2009).
157. Dai, R., Chen, X., Ma, C., Xiang, X. & Li, G. Insoluble/immobilized redox mediators for catalyzing anaerobic bio-reduction of contaminants. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **15**, 379–409 (2016).
158. Van der Zee, F. P., Bouwman, R. H. M., Strik, D. P. B. T. B., Lettinga, G. & Field, J. A. Application of Redox Mediators to Accelerate the Transformation of Reactive Azo Dyes in Anaerobic Bioreactors. *Biotechnol. Bioeng.* **75**, 691–701 (2001).
159. Rangel-Mendez, J. R. & Streat, M. Adsorption of cadmium by activated carbon cloth : influence of surface oxidation and solution pH. **36**, 1244–1252 (2002).
160. Babić, B. M., Milonjić, S. K., Polovina, M. J., Čupić, S. & Kaludjerović, B. V. Adsorption of zinc, cadmium and mercury ions from aqueous solutions on an activated carbon cloth. *Carbon N. Y.* **40**, 1109–1115 (2002).
161. Boehm, H. P. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon N. Y.* **32**, 759–769 (1994).
162. Amézquita, H. Modificación de la capacidad adsorbente de fibras de carbón activado para la eliminación de metales pesados. (2010).
163. APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. (American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, 2005).
164. Boehm, H. P. Some aspects of the surface chemistry of carbon blacks and other carbons. *Carbon N. Y.* **32**, 759–769 (1994).
165. Shi, K. & Shiu, K. K. Adsorption of copper and lead species at electrochemically activated glassy carbon electrodes. *Electrochim. Acta* **51**,

- 2631–2638 (2006).
166. Rittmann, B. & McCarty, P. L. *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. (2001).
 167. Costa, M. C., Mota, S., Nascimento, R. F. & Dos Santos, A. B. Anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) as a catalyst to enhance the reductive decolourisation of the azo dyes Reactive Red 2 and Congo Red under anaerobic conditions. *Bioresour. Technol.* **101**, 105–110 (2010).
 168. Firmino, P. I. M., Silva, M. E. R., Mota, F. S. B. & Santos, A. B. Applicability of Anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) to Enhance Colour Removal in Mesophilic UASB Reactors Treating Textile Wastewater. *Brazilian J. Chem. Eng.* **28**, 617–623 (2011).
 169. Donlon, B. *et al.* Detoxification and partial mineralization of the azo dye mordant orange 1 in a continuous upflow anaerobic sludge-blanket reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **47**, 83–90 (1997).
 170. Donlon, B. A., Razo-flores, E., Lettinga, G. & Field, J. A. Continuous Detoxification, Transformation, and Degradation of Nitrophenols in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors. *Biotechnol. Bioeng.* **51**, 439–449 (1996).
 171. Donlon, B. A., Razo-Flores, E., Field, J. A. & Lettinga, G. Toxicity of N-substituted aromatics to acetoclastic methanogenic activity in granular sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 3889–3893 (1995).
 172. Skillman, L. C., Sutherland, I. W. & Jones, M. V. The role of exopolysaccharides in dual species biofilm development. *J. Appl. Microbiol.* **85**, 13S–18S (1990).
 173. Chae, K. J., Choi, M. J., Lee, J. W., Kim, K. Y. & Kim, I. S. Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresour. Technol.* **100**, 3518–3525 (2009).
 174. Cervantes, F. J. *et al.* Selective enrichment of *Geobacter sulfurreducens* from anaerobic granular sludge with quinones as terminal electron acceptors. *Biotechnol. Lett.* **25**, 39–45 (2003).

APÉNDICES

APÉNDICE A

ECUACIONES UTILIZADAS PARA EL CÁLCULO DE LA PRODUCCIÓN
TEÓRICA DE BIOGÁS Y SUS COMPONENTES (CO₂ Y CH₄)

1 mol de etanol producirá 1.5 mol de CH₄ y 0.5 mol de CO₂.

APÉNDICE B

ESTIMACIÓN DEL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA DETERMINACIÓN DE LA DQO

Tabla 1B. Valores de absorbancia de las concentraciones de la curva de calibración de la DQO

Tubo	mg DQO/L	Absorbancia
10	50	0.031
9	100	0.051
8	200	0.082
7	300	0.123
6	400	0.163
5	500	0.191
4	600	0.257
3	700	0.305
2	800	0.332
1	1000	0.390

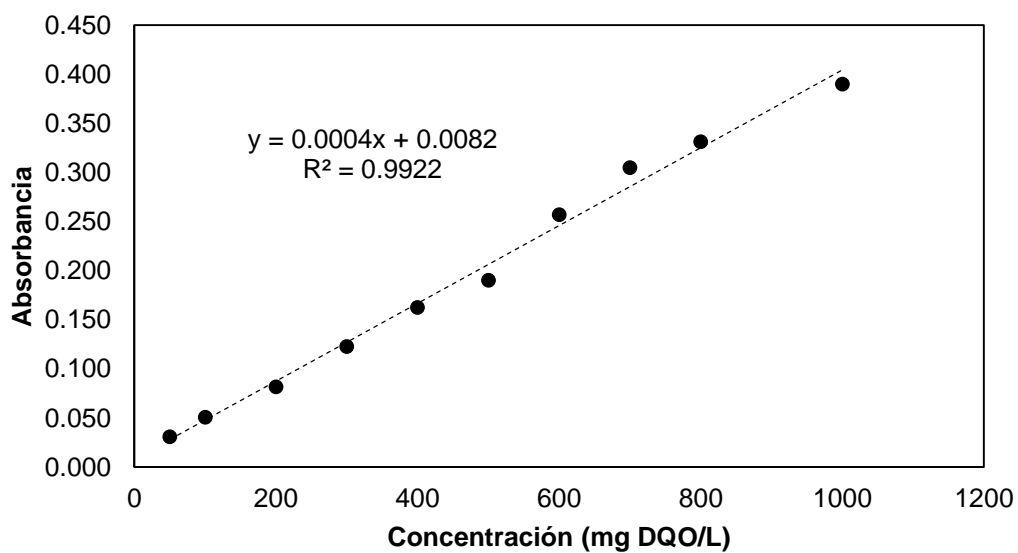
**Figura 1B.** Representación gráfica y ecuación de la recta para la curva de calibración de DQO.

Tabla 2B. Estadística de la regresión lineal de la curva de calibración de DQO.

Coefficiente de correlación múltiple	0.99610867
Coefficiente de determinación R ²	0.99223249
R ² ajustado	0.99126155
Error estándar	0.01162529
Observaciones	10

Tabla 3B. Coeficientes y errores correspondientes a la intersección y la pendiente de la curva de calibración de la DQO.

	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intersección	0.00816061	0.00683465	1.19400572	0.26667592
mg DQO/L	0.00039611	1.2391E-05	31.9676607	9.9848E-10

La fórmula para la determinación del límite de cuantificación (LdC) es la siguiente:

$$LdC = a + 10 \cdot \epsilon \quad (1B)$$

Donde:

- LdC = Límite de cuantificación, (Abs)
- a = Coeficiente de la pendiente
- ϵ = Error estándar de la regresión lineal
- 10 = Factor de confiabilidad recomendado por la IUPAC

Debido a que el valor de LdC se determinó a partir de la curva de calibración este valor muestra la absorbancia, por lo que se procedió a sustituir este valor en la ecuación de la recta de la curva de calibración para obtener la concentración mínima de cuantificación.

El límite de cuantificación obtenido fue de **274 mg DQO/L**.

APÉNDICE C

ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS EN LOS PORCENTAJES DE BIOTRANSFORMACIÓN DE 4NF ENTRE LOS CUATRO BIORREACTORES UASB QUE SE UTILIZARON

Tabla 1C. Análisis de Varianza (ANOVA) para la determinación de diferencias significativa entre los porcentajes de biotransformación de 4NF de los cuatro biorreactores. $\alpha = 0.05$.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad para F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	4272.91693	3	1424.30564	15.3231207	3.6467E-08	2.70359404
Dentro de los grupos	8551.52955	92	92.9514081			
Total	12824.4465	95				

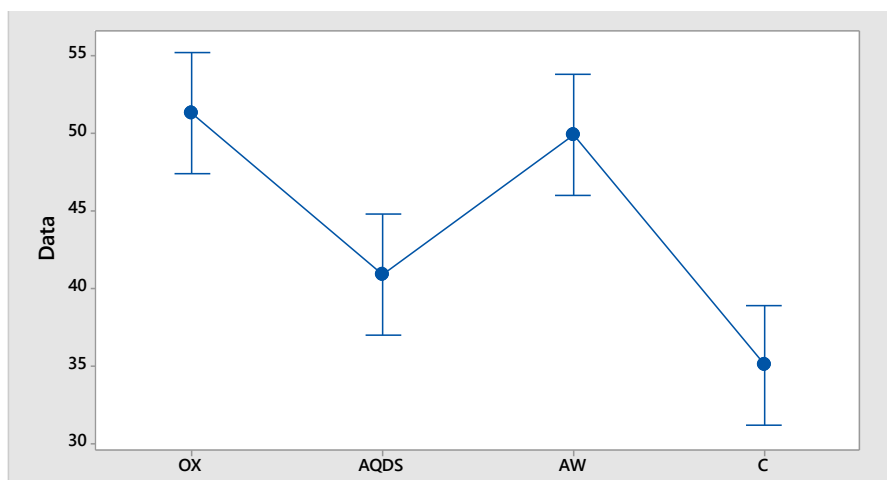


Figura 1C. Distribución de las medias de los porcentajes de biotransformación de 4NF.

Tabla 2C. Comparación de medias y agrupamiento de los biorreactores. Método de Diferencia Mínima Significativa (DMS) de Fisher con un intervalo de confianza del 95%.

Factores	N	Media	Agrupamiento
OX	24	51.28	A
AW	24	49.89	A
AQDS	24	40.91	B
C	24	35	C

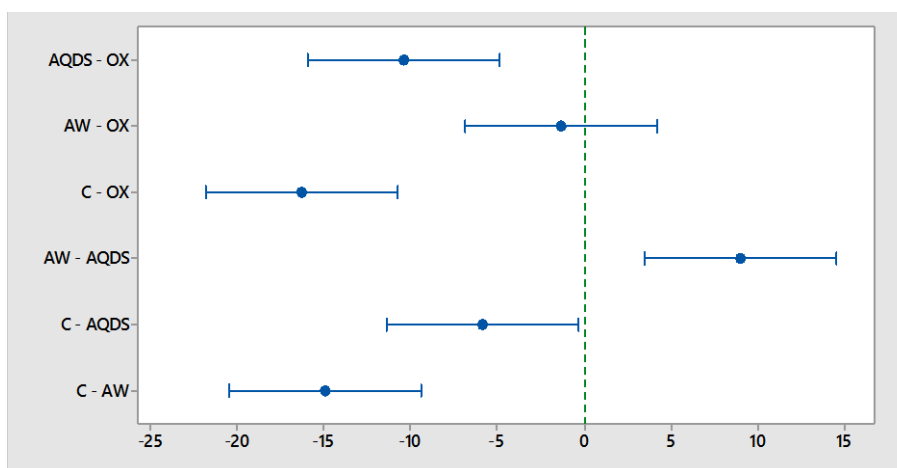


Figura 2C. Gráfico de comparación de medias por el método de Diferencia Mínima Significativa (DMS) de Fisher con un intervalo de confianza del 95%.

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Juan Pablo García Rodríguez

Candidato para el grado de
Maestro en Ciencias con orientación en Procesos Sustentables

Tesis: CAMBIOS EN LA QUÍMICA SUPERFICIAL DE LAS FIBRAS DE CARBÓN ACTIVADO Y LA CANTIDAD DE BIOPELÍCULA DESPUÉS DE LA BIOTRANSFORMACIÓN CONTINUA DE 4-NITROFENOL.

Campo de estudio:
Procesos Sustentables

Edad:
26 años

Biografía:
Nacido en Comalcalco, Tabasco el 19 de junio de 1992, hijo de Rafael García Jiménez y Aura Rodríguez López.

Educación:
Egresado de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido de Ingeniero en Biotecnología en 2016, primer lugar de la generación y premio al mérito académico.

Experiencia profesional:
Realización de tesis de licenciatura en el Laboratorio de Enzimología, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León en 2014.