

S.E.S.	Tec.N.M
	S.E.S.

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

"DESARROLLO DE UN SISTEMA PARA ELTRATAMIENTO DE EFLUENTES TEXTILES UTILIZANDO BIOMASA ENCAPSULADA DE *PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM* EN UN REACTOR AEROBIO Y UN PROCESO DE ULTRAFILTRACIÓN".

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE: DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA: ROSARIO ESMERALDA SIERRA SOLACHE No, CONTROL: 1228D1097

DIRECTORA DRA. CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA

CODIRECTOR DR. ALFREDO MACIEL CERDA

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, AGOSTO DE 2018.





Instituto Tecnológico de Toluca

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Metepec, Méx., 07/agosto/2018

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-789/2018

ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS

C. ROSARIO ESMERALDA SIERRA SOLACHE CANDIDATA AL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES P R E S E N T E.

De acuerdo con el Reglamento de Titulación del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica de la Subsecretaría de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado **"Desarrollo de un sistema para el tratamiento de efluentes textiles utilizando biomasa encapsulada de Phanerochaete Chrysosporium en un reactor aerobio y un proceso de ultrafiltración"**, la División de Estudios de Posgrado e Investigación concede autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin más por el momento, quedo de usted.

JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

A TENTAMENTE Caducación, Entegridad y Ciencia"

DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO INISTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

TTUTO TECNOLÓGICO DE TOLUC. DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE MINISTRADO S INVESTIGACIÓN

JLGR/magj



Av. Tecnológico S/N, Fraccionamiento La Virgen, C.P. 52149, Metepec, Estado de México. Tels. Dirección (01722) 208 7205, Subd. Académica 208 7207, Subd. de Planeación 208 7206, Subd. Administrativa 208 7208, Conmut. 208 72 00 e-mail: info@ittoluca.edu.mx, www.ittoluca.edu.mx

Certificado	ant.	(Anton
Gertificado		Current
	Cer	Uncado





TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO Instituto Tecnológico de Toluca

Metepec, Méx., 06/agosto/2018

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

DEPI-395-780/2018

DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN P R E S E N T E.

DR. ALFREDO MACIEL CERDA CO DIRECTOR DE TESIS

O

DR. ISAIAS DE LA ROSA GÓMEZ REVISOR

D

Por este medio comunicamos a usted que la Comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada "Desarrollo de un sistema para el tratamiento de efluentes textiles utilizando biomasa encapsulada de Phanerochaete Chrysosporium en un reactor aerobio y un proceso de ultrafiltración", que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Doctora en Ciencias Ambientales presenta la C. ROSARIO ESMERALDA SIERRA SOLACHE, con número de control 1228D1097 para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad necesarios para proceder a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

DRA, CLAUDIA ROSARIO MURO URISTA DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARIA DEL CARMEN DÍAZ NAVA REVISORA

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉNICO STITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE TEGRADO E INVESTIGACIÓ[®]DR. GUILLERMO CARBAJAL FRANCO REVISOR

DR. FRANCISCO JAVIER ILLESCAS MARTÍNEZ REVISOR



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, C.P. 52149, Metepec, Estado de México. Tels. Dirección (01722) 208 7205, Subd. Académica 208 7207, Subd. de Planeación 208 7206, Subd. Administrativa 208 7208, Conmut, 208 72 00 e-mail: info@toluca.tecnm.mx, www.toluca.tecnm.mx



AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado para el desarrollo de este trabajo a través del programa de "Becas Nacionales de Estudios de Posgrado", así como al TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO/I.T. TOLUCA.

Al Laboratorio de Investigación en Ingeniería Ambiental (LIIA) y a la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Toluca por las facilidades prestadas para el desarrollo del trabajo experimental de esta investigación.

A la Universidad Nacional Autónoma de México en particular al Instituto de Investigaciones en Materiales por el apoyo en el desarrollo de trabajo experimental y asesorías otorgadas.

Un especial agradecimiento a la Dra. Claudia Rosario Muro Urista y el Dr. Alfredo Maciel Cerda por la oportunidad y apoyo para la realización de esta investigación, así como a los revisores la Dra. María del Carmen Díaz Nava, el Dr. Isaías de la Rosa Gómez, el Dr. Guillermo Carbajal Franco y el Dr. Francisco Javier Illescas Martínez por sus aportaciones, asesorías y consejos.

DEDICATORIA

A DIOS, a mis padres, a mis hijos y a todas las personas que con su amor y apoyo han contribuido a mi formación.

"Añade el hombre conocimientos a conocimientos: nunca el saber es bastante. Si tanto es uno más hombre cuanto más sabe, el más noble empleo será el aprender". Baltasar Gracián y Morales

RESUMEN

El tema que ocupa esta investigación es el desarrollo de un sistema combinado de tratamiento para efluentes de una industria textil, consistente en un proceso biológico utilizando biomasa de *Phanerochaete chrysosporium* encapsulada y un proceso de ultrafiltración. Fueron consideradas cuatro etapas, 1) la caracterización del efluente textil en tres lotes diferentes, 2) el encapsulamiento del microorganismo utilizando diferentes materiales, 3) el tratamiento biológico del efluente mediante el microorganismo encapsulado utilizando un proceso aerobio con suministro de aire indirecto mediante agitación, y suministro aire directo en un reactor airlift, y 4) el uso de un proceso de ultrafiltración, mediante una membrana polimérica de 13 kDa de corte para complementar el tratamiento.

Los encapsulados se obtuvieron mediante la inmovilización de biomasa fúngica en esferas de material compuesto de alginato-poli(alcohol vinílico)-grafeno, los cuales presentaron una porosidad y una resistencia mecánica adecuadas para su aplicación en biorreactores aireados.

La coloración intensa en rojo y azul de las diferentes muestras de efluentes residuales textiles y la manifestación de longitudes de onda máximas en los espectros UV/vis sugirieron la presencia de los colorantes textiles sintéticos, rojo reactivo 120 y azul reactivo 171, respectivamente. Las muestras fueron tratadas con células fúngicas encapsuladas en biorreactores, con aireación por agitación y de tipo airlift, y posteriormente, con una ultrafiltración.

Los mejores rendimientos para eliminar la contaminación se lograron mediante tratamientos con agitación, con valores de 70 y 95% de reducción de DQO y coloración, respectivamente. Mientras que el tratamiento en airlift mostró un 50 y un 70% de reducción en los mismos parámetros. El tratamiento final de ultrafiltración

indicó la recuperación de agua con un alto grado de depuración de efluentes. El tratamiento más efectivo fue el compuesto por biorreactor de agitación y membrana de ultrafiltración. Los rendimientos alcanzaron el 90 y el 100% de reducción de DQO y coloración, respectivamente. El agua recuperada al final del proceso combinado mostró una alta calidad para su reutilización en la industria textil.

ABSTRACT

The aim of this paper is to present the development of a combined system for textile industry residual effluents treatment consisting of a biological process by means of encapsulated *Phanerochaete chrysosporium* biomass coupled with an ultrafiltration technology. The information is organized in four sections, 1) characterization of three different textile effluent lots, 2) microorganism encapsulation on different materials, 3) effluent biological treatment via encapsulated microorganism aerobic process by agitation as indirect air supply in flasks, and direct air supply in an airlift reactor, 4) ultrafiltration process as a complementary treatment incorporating a cutoff 13 kDa. polymeric membrane.

Fungal biomass was immobilized in spheres of an alginate-poly(vinyl alcohol)graphene matrix which was customized in terms of porosity and mechanical strength for their application in aerated bioreactors. Residual textile effluent samples were analyzed by UV/vis spectra which suggested the presence of synthetic textile dyes in maximum characteristic wavelengths for red reactive 120 and blue reactive 171 respectively. Afterwards, residual textile effluent samples were treated with encapsulated fungi in bioreactors by both types of aeration (agitation and airlift). Once, the resulting effluents were treated with an ultrafiltration membrane system.

It was found that best removal contamination results were achieved by agitation treatments, having the potential to perform 70% chemical oxygen demand (COD) removal and 95% color removal, while airlift treatment showed a 50 and a 70% of the above mentioned parameters. Ultrafiltration treatment showed ability to high degree purification water recovery. In conclusion, the decisive effective treatment was composed of an agitation bioreactor coupled with an ultrafiltration membrane system, performing up to 90% COD removal and 100% color removal, thus being able to deliver recovered high quality water ready for re-use in textile industry processes.

ÍNDICE

		Pág.
	INTRODUCCIÓN	1
1	FUNDAMENTOS	4
1.1	Efluentes de la industria textil	4
1.1.1	Colorantes presentes en los efluentes textiles	7
1.2	Tratamiento de efluentes de la industria textil	8
1.2.1	Procesos biológicos para el tratamiento de efluentes textiles	11
1.2.2	Aplicación del Phanerochaete chrysosporium en procesos biológicos	13
1.3	Inmovilización de microorganismos para el tratamiento de efluentes	16
1.3.1	Inmovilización de microorganismos en soportes	17
1.3.2	Inmovilización de microorganismos en sistemas de encapsulamiento	20
1.4	Materiales utilizados para el encapsulamiento de microorganismos en	20
	procesos de tratamiento de efluentes	
1.4.1	Polímeros utilizados como dispersantes de matrices híbridas	21
1.4.2	Materiales dispersos en matrices híbridas	25
1.5	Técnicas de caracterización de los sistemas de encapsulamiento	30
1.6	Proceso biológico combinado con membranas para el tratamiento de	34
	efluentes	
2	MÉTODO	37
2.1	Caracterización del efluente	38
2.2	Adaptación del P. chrysosporium a efluentes de la industria textil	42
2.3	Obtención y caracterización de grafeno	42
2.4	Obtención de matrices híbridas de encapsulamiento	45
2.4.1	Caracterización de las matrices híbridas de encapsulamiento	47
2.5	Encapsulamiento de biomasa de P. chrysosporium en matrices híbridas	50
	seleccionadas	
2.6	Primera etapa de tratamiento del efluente textil. Proceso biológico	51
	aerobio con biomasa encapsulada de P. chrysosporium	
2.7	Segunda etapa de tratamiento del efluente textil. Proceso de	53
	membrana de ultrafiltración	
3	RESULTADOS	55

3.1	Caracterización del efluente	55	
3.2	Adaptación del P. chrysosporium a efluentes de la industria textil		
3.3	Obtención y caracterización de grafeno	60	
3.4	Obtención de matrices híbridas de encapsulamiento	67	
3.4.1	Caracterización de las matrices híbridas de encapsulamiento		
3.5	Encapsulamiento de biomasa de P. chrysosporium en matrices híbridas	75	
	seleccionadas		
3.6	Primera etapa de tratamiento del efluente textil. Proceso biológico	76	
	aerobio con biomasa encapsulada de P chrysosporium		
3.6.1	Tratamiento biológico con suministro de aire indirecto por agitación	77	
	orbital		
3.6.1.1	Evaluación de la calidad del efluente tratado	78	
3.6.2	Tratamiento biológico con suministro de aire directo en un reactor tipo		
	airlift		
3.6.2.1	Evaluación de la calidad del efluente tratado	81	
3.6.3	Evaluación de la biomasa	84	
3.7	Segunda etapa de tratamiento del efluente textil. Proceso de	86	
	membrana de ultrafiltración		
3.7.1	Evaluación de la calidad del efluente tratado	87	
	CONCLUSIONES	90	
	REFERENCIAS	92	

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.		
1.1a	Métodos físicos para el tratamiento de efluentes textiles.	10		
1.1b	Métodos biológicos para el tratamiento de efluentes textiles.			
1.1c	Métodos químicos para el tratamiento de efluentes textiles.	11		
1.2	Microorganismos utilizados en el tratamiento de colorantes y su	12		
	mecanismo de acción propuesto para la decoloración.			
1.3	Clasificación de métodos y técnicas de inmovilización (Fajardo-Ochoa et	17		
	<i>al.,</i> 2011).			
1.4	Resumen de algunas aplicaciones del P. chrysosporium inmovilizado	18		
	sobre diferentes tipos de soporte.			
1.5	Resumen de algunas aplicaciones del P. chrysosporium encapsulado en	25		
	esferas de alginato de calcio.			
1.6	Remoción de contaminantes en efluentes a través de materiales basados	28		
	en silica (Rodrigues <i>et al.</i> , 2013).			
3.1	Caracterización fisicoquímica de los lotes 1-3 del efluente textil	55		
3.2	Análisis de área superficial de materiales obtenidos.	62		
3.3	Apariencia de las matrices poliméricas obtenidas.	68		
3.5	Esferas de encapsulamiento desarrolladas con AA y uno, o dos	70		
	materiales dispersos.			
3.6	Resistencia mecánica de los encapsulados por agitación.	71		
3.7	Análisis del tamaño de poro de los sistemas de encapsulamiento.	74		
3.8	Evaluación del tratamiento en su primera etapa en reactor, con suministro	78		
	de aire indirecto.			
3.9	Evaluación del tratamiento en su primera etapa en reactor, con suministro	82		
	de aire directo (biorreactor airlift).			
3.10	Peso de biomasa obtenida al final del tratamiento biológico con suministro	85		
	de aire indirecto y directo.			
3.11	Evaluación del tratamiento propuesto para el efluente textil.	88		
3.12	Requerimientos de calidad del agua tratada mediante un proceso de	89		
	biorremediación-UF y agua de la industria textil para fines de reciclaje y			
	reutilización.			

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
1.1	Diagrama de bloques del proceso textil productivo (Flores, 2004).	6
1.2	Clasificación de contaminantes en las aguas residuales textiles (Crespi y	6
	Huertas, 1987).	
1.3	Estructuras químicas de los principales grupos utilizados en colorantes	8
	textiles (Garzón, 2009).	
1.4	Representación esquemática de los métodos de tratamiento de efluentes	9
	textiles (Jojoa-Unigarro <i>et al.,</i> 2015).	
1.5	Fotografía del desarrollo de P. chrysosporium en laboratorio de	15
	microbiología (LIIA), a) sembrado en corteza de madera, b) en	
	medio sólido, c) extensión de las hifas en el crecimiento y d) vista	
	de las hifas al microscopio.	
1.6	Estructura de los ácidos componentes del alginato.	23
1.7	Gelificación del alginato en presencia del ion calcio.	24
1.8	Estructura del grafito (González y Horta 2011).	29
1.9	Esquema de un sistema híbrido de biorreactor con membrana en: a)	35
	configuración de recirculación, b) sin recirculación y c) membranas en	
	serie sin recirculación.	
1.10	Tamaño de partícula vs tipo de filtración.	36
2.1	Método experimental.	37
2.2	Medidor de pH HANNA modelo HI 9126.	38
2.3	Digestor modelo DRB 200 marca HACH, en modo COD (DQO).	39
2.4	Turbidímetro Thermo Scientific ORION AQ4500.	40
2.5	Espectrofotómetro marca Perkin Elmer modelo Lambda 35 e interfase de	41
	usuario UV WinLab.	
2.6	Equipo de espectroscopia RAMAN, EnSpectr R532® y Olympus CX41.	44
2.7	Materiales utilizados para el desarrollo de matrices de encapsulamiento	47
	(dispersantes). a) agar, b) alginato y c) quitosano.	
2.8	Materiales asociados para el desarrollo de matrices. a) silica gel (SG), b)	47
	grafeno (G), c) almidón (AL), d) grafito (g), e) silica coloidal (S) y f)	
	carboximetilcelulosa (CMC).	

2.9	Microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo JSM-6610LV.	48				
2.10	Sortómetro BELSORP-aqua ³ .	49				
2.11	Espectrómetro Agilent Technologies, modelo VARIAN IR-640 con	50				
	aplicación propia.					
2.12	a) Agitador de orbital Unimax 1010 Heildoph. b) Biorreactor airlift marca	52				
	SEV-prendo.					
2.13	Membrana de ultrafiltración marca PALL. 5					
2.14	Proceso de tratamiento con membrana de ultrafiltración.					
3.1	Tonalidades del efluente textil proporcionado por la empresa, a) lote 1, b)	55				
	lote 2 y c) lote 3.					
3.2	Barrido espectrofotométrico del efluente textil: a) lote 2 y b) lote 3.	56				
3.3	Estructuras químicas de los colorantes identificados en los lotes 2 y 3 del	57				
	efluente textil. a) Lote 2 rojo reactivo 120 y b) Lote 3 azul reactivo 171.					
3.4	Cultivo del P. chrysosporium en medio textil a) lote 2 y b), lote 3.	59				
3.5	Materiales obtenidos a partir de grafito. a) grafeno disperso en agua, b)	60				
	óxido de grafeno seco y c) óxido de grafeno disperso en agua.					
3.6	Micrografías SEM de: (a, b y c) grafito, (d, e y f) óxido de grafeno y (g, h e	61				
	i), grafeno.					
3.7	Espectros FTIR de las muestras de grafito, de grafeno comercial, de	63				
	grafeno y de óxido de grafeno.					
3.8	Espectro RAMAN de las muestras de grafeno comercial, de grafito, de	65				
	grafeno y de óxido de grafeno.					
3.9	Difractogramas de grafeno, de óxido de grafeno yde grafito.	66				
3.10	Micrografías (MEB) de las matrices de: (a y b) AA, (c y d) AA-S y (e y f)	72				
	AA-wallastonita.					
3.11	Micrografías (MEB) de las matrices de: (a y b) AA, (c y d) AA-PVA, (e y f)	73				
	AA-G y (g y h) AA-PVA-G.					
3.12	Encapsulados con <i>P. chrysosporium</i> en: a) AA-S y b) AA-PVA-G.	75				
3.13	Sembrado de encapsulados: a) almacenado por 30 días y b) después de	76				
	finalizar el tratamiento.					

- 3.14 Efluente textil rojo: a) sin tratar, b) tratado con micelio libre y c) tratado con
 77 el encapsulado de *P. chrysosporium*. Efluente azul: d) sin tratar, e) tratado con micelio libre y f) tratado con el encapsulado de *P. chrysosporium*.
- 3.15 a) Cinética de reducción de DQO y b) cinética de reducción de color para 79 el tratamiento biológico con aireación indirecta.
- 3.16 Reactor airlift. Efluente textil rojo: a) con biomasa libre, b) con biomasa
 81 encapsulada y c) efluente tratado. Efluente textil azul: d) con biomasa libre,
 e) con biomasa encapsulada y f) efluente tratado.
- 3.17 a) Cinética de reducción de DQO y b) cinética de reducción de color para
 83 el tratamiento biológico con aireación directa.
- 3.18 Efluente rojo reactivo 120: a) proceso biológico BL, b) permeado BL, c)
 86 proceso biológico BE y d) permeado BE.
- 3.19 Efluente azul reactivo 171: a) proceso biológico BL, b) permeado BL, c)
 87 proceso biológico BE y d) permeado BE.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Los efluentes residuales de origen textil son aguas que se destacan por su coloración predominante y DQO considerable; lo cual obedece a la presencia de un colorante o mezcla de éstos; además de residuos de diversas sustancias químicas utilizadas en los diferentes procesos de teñido y elaboración de artículos textiles que se producen. Para la preparación de las fibras, la eliminación de impurezas de las telas se requiere de sustancias alcalinas y detergentes o aplicación de enzimas. Frecuentemente, las telas son pasadas por un proceso de desteñido con peróxido de hidrógeno o cloro para quitarles el color natural, o también se añaden agentes abrillantadores, por lo que la presencia de estos químicos puede encontrarse en los efluentes residuales de este proceso. Durante la etapa de teñido, el uso de los diferentes tipos de tinte causa como residuo la coloración del agua utilizada y en las etapas textiles posteriores frecuentemente se pierde parte del colorante y se desecha. Además de los tintes, se añaden ácidos, detergentes, electrolitos, agentes nivelantes, agentes promotores, emulsificadores y agentes suavizantes, entre otros; de tal manera que también estas sustancias se encuentran en los efluentes textiles. Finalmente, en el proceso de acabado, se añaden componentes químicos que buscan la mejora de la calidad de la tela en función de su destino; lo que significa, que se aplican sustancias para proporcionar resistencia a la tensión en la tela, resistencia al agua, a los suavizantes, protección antiestática, resistencia a las manchas y protección microbial y fungicida, entre otras.

En conjunto, de acuerdo con las etapas que se utilizan en la preparación, en el teñido y en el acabado de fibras textiles, los efluentes se conforman de aguas residuales con innumerables componentes, con características tóxicas y recalcitrantes que los hacen difíciles de tratar en plantas convencionales de depuración.

INTRODUCCIÓN

A la fecha existen diferentes tratamientos físicos, químicos y biológicos para la remediación de este tipo de efluentes. Sin embargo, pocos de ellos son procesos sustentables o proporcionan resultados viables para su aplicación industrial.

Específicamente, en el campo de la biorremediación se destacan estudios sobre tratamiento de efluentes textiles mediante consorcios de microorganismos anaerobios, y pocos están enfocados a tratamientos aerobios, por lo que, el tema de investigación es un área de oportunidad actualmente. Varios estudios se han enfocado al uso de biomasa encapsulada en biopolímeros; sin embargo, muchos de estos estudios son referidos a nivel laboratorio, debido al problema que presentan los materiales utilizados para el confinamiento de los microorganismos y para la operatividad de los reactores; por lo que ha sido necesario implementar nuevas investigaciones sobre materiales para este fin. Por otra parte, debido al grado de complejidad de los efluentes, la aplicación del tratamiento biológico no es suficiente para obtener un nivel adecuado de depuración del agua; por tanto, se requieren tratamientos posteriores a fin de lograr la calidad pertinente para su reuso, como es el caso de los procesos de membrana.

Con base en lo planteado anteriormente, el objetivo de este trabajo de investigación fue desarrollar un sistema combinado de depuración para el tratamiento de efluentes de una industria textil, utilizando un proceso biológico aerobio con encapsulados del hongo *Phanerochaete chrysosporium* y un proceso de membrana en el rango de ultrafiltración.

Como hipótesis se estableció que el sistema de tratamiento compuesto de un proceso biológico aerobio con biomasa encapsulada de *P. chrysosporium* y un proceso de ultrafiltración aplicado a efluentes de la industria textil, permite la obtención de efluentes con un alto grado de depuración, proporcionando agua con características de calidad para reuso.

2

El trabajo se presenta en tres secciones: la primera sección corresponde a los fundamentos, donde se presentan los conceptos, las descripciones y el estado del arte del tema. La segunda sección es la metodología empleada con los pasos y técnicas utilizadas en la investigación. Y, por último, la tercera sección muestra los resultados obtenidos en la investigación, la discusión de éstos y las conclusiones.

Con el fin de proporcionar ciertas propiedades a los productos terminados, la industria textil utiliza una gran variedad de sustancias químicas, entre las que se encuentran colorantes, mordentes, estabilizantes, abrillantadores y bactericidas; por lo que es de esperarse que sus efluentes residuales sean de naturaleza compleja y recalcitrante, con diferentes grados de toxicidad (González et al., 2014). Debido a lo anterior es difícil identificar y cuantificar cada uno de los componentes que contienen. Sin embargo, frecuentemente se encuentran efluentes que demuestran la presencia de colorantes específicos o mezclas de éstos, así como ácidos, bases, sales, humectantes, oxidantes y surfactantes (Patel y Suresh, 2008; Kumar et al., 2009; Rodríguez-Cuoto, 2009) que conjuntamente limitan su tratamiento en plantas convencionales. Con relación a este problema, la investigación ha avanzado enormemente, de tal suerte que existen en la literatura diferentes propuestas para separar principalmente los colorantes con alto grado de eficiencia. Sin embargo, algunos son de alto costo, de efectividad parcial, con escasa viabilidad y de dudosa sustentabilidad; por lo que es necesario desarrollar sistemas de tratamiento acorde a los requerimientos de este tipo de efluentes, dada su naturaleza compleja y que actualmente, no solo se busca la depuración de estos, sino la obtención de una calidad adecuada para su reuso.

1.1 Efluentes de la industria textil

De acuerdo con la información del INEGI (2014), en México la industria textil se considera como una fuente creadora de empleo y de desarrollo económico. Esta industria representa el 2.38% del PIB, en los rubros desde el hilado hasta la manufactura de productos. Sin embargo, al igual que los grandes países textiles como China, Vietnam y Bangladesh, entre otros, México es un gran generador de efluentes contaminados por este tipo de industrias.

Las características de los efluentes de origen textil son variadas y dependen del producto a elaborar; no obstante, dichos efluentes se diferencian de otros, por su alto contenido de colorantes y sustancias químicas como ácidos, bases, peróxido de hidrógeno, almidón y surfactantes (Paul *et al.*, 2012; Kant, 2012; Li *et al.*, 2015); lo cual se manifiesta en valores de DQO altos. En las Figuras 1.1 y 1.2 se presentan diagramas con las etapas que se utilizan para teñir fibras y los posibles contaminantes o parámetros de calidad representativos de los efluentes generados en cada una de esas etapas.

Se estima que por cada kilogramo de producto teñido disperso (poliéster) se generan residuos de estas sustancias entre 100 y 140 mL, y entre 125 a 170 mL por kilogramo de producto coloreado (en forma directa o reactiva). También es de considerarse que durante el teñido se pierden aproximadamente del 30 al 50% de los compuestos en el proceso, lo que causa una mayor concentración de contaminantes en los efluentes (Adinew, 2012), y por ende, su nivel de toxicidad aumenta, así como el contenido de sustancias carcinógenas y mutagénicas (Yonni *et al.*, 2008).

Se considera que la toxicidad en los efluentes proviene de sales como Na₂SO₄ (del proceso de teñido), agentes surfactantes como fenoles, metales pesados (presentes en los colorantes), compuestos orgánicos como disolventes clorados (provenientes del lavado y de la limpieza de máquinas), biocidas como el pentaclorofenol (proveniente de fibras de lana contaminada) y aniones tóxicos como sulfuros presentes en los colorantes (Palma *et al.,* 2013; Holkar *et al.,* 2016).

Debido a lo anterior, la carga de los efluentes textiles es de dos a tres veces superior y más tóxica que la de un agua residual urbana. Por tanto, desde el año 1989, la industria textil fue catalogada por la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos) entre las diez principales actividades generadoras de residuos tóxicos líquidos.



Figura 1.1. Diagrama de bloques del proceso textil productivo (Flores, 2004).



Figura 1.2. Clasificación de contaminantes en las aguas residuales textiles (Crespi y Huertas, 1987).

1.1.1 Colorantes presentes en los efluentes textiles

Una característica esencial, quizá la más crítica, de los efluentes contaminados de la industria textil es la presencia de colorantes. Se ha estimado que las industrias descargan cerca de 280,000 ton/año de colorantes en todo el mundo, de las cuales la manufactura de textiles y el proceso de teñido son las mayores fuentes de contaminantes (Pant *et al.*, 2008; Patel y Suresh, 2008; Kumar *et al.*, 2009). Existen grandes cantidades de sustancias que brindan color. Los colorantes pueden clasificarse en dos grupos: solubles e insolubles en agua y se definen como sustancias con la capacidad de impartir color a una fibra (Garzón, 2009). Estas mismas propiedades, en adición a su estabilidad a la temperatura y a los microorganismos, hacen de los colorantes compuestos recalcitrantes de baja velocidad de biodegradación.

Desde el primer reporte de uso de un colorante sintético a finales del siglo XVII se han producido más de 10,000 tipos (Easton, 1995). Esencialmente se conforman por compuestos aromáticos con grupos amino, nitro, hidroxilo, entre otros. Sus moléculas están constituidas por tres grupos funcionales; el cromóforo (responsable de la absorción de luz), el auxocromo (afinidad a la fibra) y el solubilizador (afinidad a los disolventes). Industrialmente, los colorantes usados poseen una estructura química compleja, que comprende grupos azo, diazo, antraquinona y complejos metálicos. Se clasifican en ácidos, básicos, dispersos, reactivos y directos. Los colorantes, de acuerdo con su disociación en soluciones acuosas, pueden ser clasificados como aniónicos (ácidos, directos y reactivos), catiónicos (básicos) y no iónicos (dispersos). Los colorantes aniónicos y no iónicos están conformados principalmente por grupos cromóforos azo o antraquinona (Faraco et al., 2009; Rodríguez-Cuoto, 2009; Siddigue et al., 2011). Alrededor del 60% de los colorantes en uso de la industria textil actual son colorantes reactivos. Sus estructuras frecuentemente contienen grupos azo, antraquinona o ftalocianina. En la Figura 1.3, se muestran las estructuras químicas mencionadas.



Figura 1.3. Estructuras químicas de los principales grupos utilizados en colorantes textiles (Garzón, 2009).

Por su amplio rango de tonos, los colorantes reactivos del tipo antraquinona comprenden la segunda clase más grande de colorantes usados en la industria textil, después del tipo azo. Son resistentes a la degradación, por su estructura aromática fusionada, que les permite mantener un color por prolongados períodos de tiempo, también se encuentran entre los colorantes más tóxicos, cancerígenos y mutagénicos. El mayor problema ambiental asociado a estos colorantes es su pérdida en los procesos de teñido (Rezaee *et al.*, 2008; Siddiqui *et al.*, 2010).

1.2 Tratamiento de efluentes de la industria textil

La amplia variedad de colorantes y sustancias químicas utilizadas en la industria textil genera efluentes extremadamente variados en su composición, por lo que

algunas veces se requiere un tratamiento de aguas muy complejo, para obtener resultados de eficiencia adecuados (Adinew, 2012).

Al ser productos sintéticos, los colorantes se consideran compuestos xenobióticos de alta complejidad estructural, que en la actualidad presentan un bajo porcentaje de remoción en las plantas de tratamiento convencional (Garzón, 2009). Adicionalmente, los productos de biodegradación de los colorantes azo (aminas aromáticas) constituyen una fuente de sustancias tóxicas, mientras que los recalcitrantes y persistentes permanecen en el agua, aun cuando se trate de efluentes tratados (Casieri *et al.,* 2008; Raja *et al.,* 2010).

Por tal motivo, actualmente se cuenta con tratamientos específicos para este tipo de efluentes, como son los fisicoquímicos (adsorción, intercambio iónico, coagulación-floculación, entre otros) y los biológicos (adsorción en biomasa viva o muerta, biodegradación con hongos de podredumbre blanca (HPB), tratamientos anaerobios con cultivos puros o consorcios) (Carletto *et al.*, 2008; Jojoa-Unigarro *et al.*, 2015). En la Figura 1.4 se presentan los métodos de tratamiento de efluentes textiles.



Figura 1.4. Representación esquemática de los métodos de tratamiento de efluentes textiles (Jojoa-Unigarro *et al.,* 2015).

En las Tablas 1.1 (a, b y c) se agrupan algunos de los procesos aplicados para eliminar los colorantes en las aguas residuales, así como sus ventajas y desventajas (Rodríguez-Cuoto, 2009; Cortazar-Martínez *et al.*, 2012)

Métodos físicos	Descripción	Ventajas	Desventajas
Adsorción	Remoción por adsorción, uso principal de carbón activado. Actualmente se han usado silica y materiales celulósicos.	Remueve eficientemente colorantes. Tecnología eficiente, para materiales celulósicos los costos son factibles.	Costos elevados para carbón activado y perdida de éste. En materiales de menos costo, mayor tiempo de contacto y residuos.
Filtración por membrana	Separación física.	Remoción de bajas concentraciones de colorantes. Resistente a temperatura y ataques microbianos.	Altos costos. Baja remoción de sólidos. Tratamientos adicionales. Lodos concentrados.
Intercambio iónico	Resinas de intercambio iónico.	Remoción efectiva de colorantes catiónicos y aniónicos. Regeneración sin pérdida de adsorbente.	Disolventes orgánicos caros. Aplicaciones en base a el tipo de colorante.

Tabla 1.1a. Métodos físicos para el tratamiento de efluentes textiles.

Métodos biológicos	Descripción	Ventajas	Desventajas
Bio-absorción	La biomasa microbiana es utilizada para absorber y remover colorantes de las aguas residuales.	El proceso de absorción puede ir acompañado de una biodegradación.	En investigación. Tratamiento de pequeños volúmenes de agua. Disposición de la biomasa con los colorantes absorbidos.
Bio-degradación	Uso de microorganismos aislados con la capacidad de degradar diversos colorantes.	Utilización de consorcios mixtos en sistemas combinados aérobicos y anaeróbicos, para remover colorantes, así como sistemas con células inmovilizadas.	Se necesita más información fisiológica y genética. Requiere una larga fase de aclimatación. Resistencia de los compuestos de tipo recalcitrante.
Enzimático	Las preparaciones de lacasas y peroxidasas ofrecen un método para la decoloración de aguas residuales.	Requiere tiempos cortos de contacto. Eficiente en la degradación de colorantes antraquinona, trifenilmetano y azo.	Evaluación de la generación de subproductos, fase de escalamiento y costo beneficio para uso comercial.

Métodos químicos	Descripción	Ventajas	Desventajas
Electroquímico	Destrucción electro- química, reacción de oxidación por electricidad	Eficiente remoción de colorantes y degradación de contaminantes, sin generar subproductos tóxicos o lodos.	Los costos de la electricidad son altos.
	Reactivo de Fenton. Reacción de oxidación con H ₂ O ₂ -Fe ²⁺ .	Adecuado para el tratamiento de aguas residuales resistentes a un tratamiento biológico. Efectiva decoloración de colorantes solubles e insolubles.	Formación de lodos. El uso de hipoclorito de sodio (NaClO).
Oxidación	Oxidación NaClO. Reacción que usa el Cl ⁻ para atacar los grupos amino.	Iniciación y aceleración del rompimiento del enlace azo.	Genera subproductos tóxicos y carcinógenos. Liberación de aminas aromáticas.
	Ozonación. Reacción de oxidación avanzada con gas ozono.	Aplicación en estado gaseoso, sin alteración del volumen	Vida media corta, 20 min. Poco eficiente en oxidación de los colorantes dispersos.
Fotoquímico	Oxidación fotoquímica. Reacción con H ₂ O ₂ -UV, principalmente.	Se puede utilizar para degradar las moléculas orgánicas en CO ₂ y agua, en sistema por lote o continuo, con tiempos cortos de exposición. No se generan lodos.	Formación de subproductos como halogenuros, metales, aldehídos y ácidos. Sólo es efectivo si las concentraciones de colorantes son bajas. Presenta costo alto.
Coagulación	Coagulación electrocinética. Adición de sulfato ferroso y cloruro ferroso.	Buena eficiencia de remoción. Se realiza en un período corto de tiempo y es factible económicamente.	Resultados pobres con colorantes ácidos, alto costo para eliminar grandes volúmenes de lodos.

Tabla 1.1c.	Métodos químicos	para el tratamiento	de efluentes textiles.
-------------	------------------	---------------------	------------------------

1.2.1 Procesos biológicos para el tratamiento de efluentes textiles

En particular, los tratamientos biológicos o de biorremediación son considerados como procesos sustentables y económicos para el tratamiento de efluentes de la industria textil, ya que los productos finales son completamente mineralizados a CO₂, NH₃, H₂O u otros compuestos sencillos no tóxicos. Además, los tratamientos biológicos son eficientes en colorantes solubles y no producen grandes cantidades de lodos (Carantino *et al.*, 2012).

Específicamente, en los últimos años se ha investigado el uso de varias especies de microorganismos como hongos ligninolíticos y bacterias para degradar colorantes sintéticos, por acción de sus sistemas enzimáticos extracelulares (Yonni *et al.*, 2008; Carletto *et al.*, 2008; Casieri *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2009; Magan *et al.*, 2010; Harms *et al.*, 2011; Concetta *et al.*, 2016). Los diferentes microorganismos utilizados para este fin se muestran en la Tabla 1.2, destacando los hongos de podredumbre blanca (HPB), los cuales han mostrado afinidad a los compuestos fenólicos y a los colorantes de tipo azo en los procesos de biosorción y degradación de efluentes coloreados.

Tabla 1.2 Microorganismos utilizados en el tratamiento de colorantes y su mecanismo de acción propuesto para la decoloración

Especie		Mecanismo	Autor	
Bacterias	Citrobacter sp.	Biodegradación/absorción	An <i>et al.</i> (2002).	
	Shewanella decolorationis	Reducción anaeróbica	Hong <i>et al</i> . (2007).	
Hongos	Funalia trogii	Adsorción- biodegradación	Yesilada <i>et al</i> . (2010), Park <i>et al</i> . (2007).	
	Aspergillus niger	Adsorción- biodegradación	Fu y Viraraghavan, (2002), Bhole <i>et al</i> . (2004).	
	Pleurotus ostreatus	Peroxidasa	Novotny et al. (2001).	
	Trametes versicolor	Biosorción Ligninasa	Toh <i>et al</i> . (2003).	
	Aspergillus sp.	Adsorción/Biodegradación	Tobón y Peña, (2006).	
	T. pubescens	Biodegradación	Rodríguez-Couto (2012).	
	Coriolopsis gallica Bjerkandera adusta T. versicolor Trametes trogii	Biodegradación	Daâssi <i>et al.</i> (2013).	
	P. chrysosporium Curvularia lunata	Biodegradación	Cássia <i>et al.</i> (2013).	
	Aspergillus fumigatus	Biosorción	Kabbout y Taha, (2014).	

Entre algunos estudios se encuentran los siguientes: Yonni *et al.* (2008) publicaron resultados satisfactorios con la cepa *Bjerkandera sp.*, demostraron que este hongo posee una capacidad potencial para degradar colorantes textiles resistentes al ataque bacteriano y que los productos generados en su decoloración disminuyen la ecotoxicidad del sistema. Yepez (2011) reportó, de manera exitosa, el uso de

hongos aislados y un consorcio de éstos en la remoción de colorantes en el tratamiento de efluentes sintéticos. Daâssi et al. (2013) estudiaron la degradación del color gris lanaset de la industria textil, a través de la acción de hongos (Coriolopsis gallica, Bjerkanderaadusta, Trametes versicolor y Trametes trogii) inmovilizados en esferas de alginato de calcio; obtuvieron porcentajes de decoloración de 88.7, 89.3, 82.1 y 81.3%, respectivamente, a 72 h de contacto y con una concentración inicial de colorante de 150 mg/L. Kabbout y Taha (2014) utilizaron la biomasa de Aspergillus fumigatus como un biosorbente para reducir el azul de metileno. La concentración inicial fue de 12 mg/L a temperatura ambiente y lograron un porcentaje de remoción del 93.5%, con 2 h de contacto. Ma et al. (2014) simularon un agua residual textil con naranja 16 y se logró reducir el color y la toxicidad con un hongo de podredumbre blanca (Ganoderma sp), en cultivo líquido. Por su parte, Popa y Petruta (2015) destacaron la biodegradación de los tintes, por acción de las enzimas oxidativas producidas por hongos. En estas pruebas se utilizaron tres basidiomicetos: Pleurotus ostreatus var. florida, Ganodrema applanatum y Trametes versicolor. Los resultados resaltaron la producción de lacasa y el potencial de ésta en la decoloración de los colorantes textiles.

1.2.2 Aplicación del *Phanerochaete chrysosporium* en procesos biológicos

El *P. chrysosporium* es un basidiomiceto de los más estudiados y considerado por los investigadores como un modelo de los HPB. Desarrolla cuerpos fructíferos de hifas septadas. Puede ser encontrado en la corteza de los árboles caducifolios, en forma de grandes masas blancas debido a la descomposición de la lignina. Este alto potencial de degradación lo ha hecho merecedor de varios estudios de biodegradación. Este HPB se desarrolla principalmente en los bosques de pino y encino; es considerado uno de los principales actores en la biorremediación (Premjet *et al.,* 2009). Puede continuar la degradación en ambientes húmedos a

13

temperaturas no mayores de 40 °C, por lo que es común encontrarlo en bosques de América y Europa. Es un degradador primario de materiales orgánicos, tales como tejidos, papel, cuero, pintura, entre otros, debido a sus características de desarrollo, adaptación y degradación de lignina y lignocelulosa. La mineralización de la lignina se efectúa a través de la secreción de un grupo de enzimas peroxidasas y feniloxidasas, que producen radicales altamente reactivos. Estas enzimas son capaces de oxidar componentes fenólicos y no fenólicos.

El *P. chrysosporium* realiza la síntesis de la lignina peroxidasa (LiP) y la manganeso peroxidasa (MnP) bajo condiciones oxidantes. Debido a la semejanza de estructuras químicas con la lignina, sustancias tales como aromáticos, nitroaromáticos, aromáticos policíclicos, herbicidas, pesticidas, detergentes, clorofenoles y colorantes, también son atacadas y degradadas por estas enzimas de la especie fúngica (Solís *et al.,* 2012).

En estudios recientes, Manai *et al.* (2016) concluyeron que estas enzimas ligninolíticas están involucradas en la degradación de colorantes. Sin embargo, la capacidad de degradación de la lignina también ha sido utilizada en diferentes procesos de remediación de contaminantes. Tal es el caso de su aplicación en el tratamiento de aguas residuales de la industria del papel, alimentos para ganado e industrias del ramo textil. Además, la biomasa fúngica ha demostrado ser un excelente material, ya que posee un bajo costo, es abundante, tiene una alta velocidad y capacidad de sorción. También es efectiva cuando se aplica en efluentes con una gran variedad de colorantes, aún con la presencia de contaminantes como las sales y los metales pesados, entre otros (Patel y Suresh, 2008; Xiong *et al.*, 2010; Kabbout y Taha, 2014).

Las características degradadoras del *P. chrysosporium* han sido atractivas para el estudio y aplicación en biotratamientos de aguas residuales con diversos contaminantes, tales como metales, colorantes, nutrientes inorgánicos y

14

componentes orgánicos, lo que se demuestra en trabajos desarrollados para la biosorción de Cr en un 97% y biodegradación de color en un 67%, en el agua residual de curtidoras de pieles (Gómez-Bertel *et al.,* 2008), la biodegradación de colorantes grupo azo (González, 2012), la remoción de Pb(II) (Xu *et al.,* 2013), la biodegradación de petróleo crudo en agua salina (Behnood *et al.,* 2013) y la degradación de bisfenol A hasta en un 90% (Gassara *et al.,* 2013).

Morfológicamente, el *P. chrysosporium* puede reconocerse a través de sus hifas, las cuales le permiten expandir su área de desarrollo y un fácil contacto con el sustrato. Las hifas varían su diámetro de 3 a 9 micras (μ) y generan redes que en los extremos soportan las clamidioporas, de paredes gruesas y tamaño de 50 a 60 μ , mismas que provocan su reproducción. En la Figura 1.5 se aprecia el hongo *P. chrysosporium* desarrollado sobre madera de la corteza de un árbol y el crecimiento de sus hifas, donde se puede distinguir su expansión y forma de cobertura.



Figura 1.5. Fotografía del desarrollo de *P. chrysosporium* en laboratorio de microbiología (LIIA), a) sembrado en corteza de madera, b) en medio sólido, c) extensión de las hifas en el crecimiento y d) vista de las hifas al microscopio.

La decoloración por HPB en efluentes con color provenientes de las industrias farmacéutica, de pintura, de fotografía, textil y cosmética es objeto de investigación, donde los pigmentos textiles son de los más estudiados (Daâssi et al., 2013; Daâssi et al., 2014). Así lo demuestran Solís et al. (2012) en el resumen presentado se aprecia que el P. chrysosporium es de los degradadores más usados por su actividad enzimática de MnP y LiP, con lo que se obtienen porcentajes de decoloración desde el 84 al 100%. Sin embargo, la toxicidad de algunos efluentes ha limitado la concentración a la que una población fúngica puede sobrevivir en contacto con éstos, y/o alcanzar porcentajes significativos de degradación. Por otro lado, se ha planteado la inconveniencia de su uso en sistemas de biorremediación de efluentes, debido al exceso de la biomasa que es capaz de llegar a producir daño a tuberías y sistemas mecánicos de los procesos de tratamiento, lo que ha llevado a considerar la inmovilización de microorganismos en matrices de diferentes materiales. Bajo este esquema, desde hace más de una década se han estudiado diferentes estrategias de inmovilización en diversos soportes orgánicos y no orgánicos (Martínez-Trujillo y García-Rivero, 2012). Se considera que la degradación se ve beneficiada al minimizar la pérdida de biomasa y aumentar la actividad metabólica del microorganismo, además de beneficiar la resistencia a la toxicidad y procesos de adsorción secundarios (Cohen, 2001; Kourkoutas et al., 2004). Recientemente se busca el encapsulado del micelio en matrices porosas de polímeros naturales u otros materiales, a fin de superar las desventajas mencionadas y proteger al hongo de otros organismos y sustancias tóxicas presentes en las aguas residuales (González et al., 2014).

1.3 Inmovilización de microorganismos para el tratamiento de efluentes

La inmovilización de microorganismos se refiere al confinamiento de células en esporas o biomasa activa del microorganismo en un espacio determinado, con el fin de retener sus propiedades y sus actividades catalíticas.

16

De acuerdo con la forma en que se induce la inmovilización de microorganismos, ésta se clasifica en pasiva y activa. La inmovilización pasiva se da de forma natural cuando el microorganismo se adhiere o une a alguna superficie y crece sobre ésta, mientras que la inmovilización activa se da de manera artificial o manipulada con el uso de diferentes materiales como geles poliméricos (naturales o sintéticos) y agentes floculantes, entre otros (De Bashan y Bashan, 2010; Garzón-Jiménez y Barragán-Huerta, 2008).

La inmovilización natural se puede observar en los HPB al fijarse de manera natural en las cortezas de los árboles de manera primaria y a los residuos ligninolíticos y celulósicos de forma secundaria. La inmovilización activa puede clasificarse por el tipo de método a utilizar, de acuerdo con la reversibilidad o irreversibilidad del proceso, como lo muestra la Tabla 1.3.

Tabla 1.3. Clasificación de métodos y técnicas de inmovilización (Fajardo-Ochoa *et al.*, 2011).

Método	Técnica	
Irreversible	Atrapamiento o encapsulado	
Reversible	Por adsorción	

La inmovilización por adsorción se realiza en soportes donde el microorganismo se encuentra fijo en la superficie o dentro de los poros de éste; mientras que el atrapamiento o encapsulamiento se lleva a cabo en sistemas de confinamiento cerrado donde el microorganismo se encuentra atrapado.

1.3.1 Inmovilización de microorganismos en soportes

La inmovilización de microorganismos en soportes se da a través de la adsorción de éstos, y es reversible. La biomasa o las esporas son depositadas en soportes; de esa forma se inicia la propagación celular del microorganismo. El soporte provee

la estabilidad del microorganismo, lo que aumenta la capacidad de producción de enzimas. Sin embargo, existen varios factores que influyen para conseguirlo, tales como el material de soporte, la porosidad y el área superficial.

La aplicación de microorganismos en soportes se utiliza en varias vertientes, entre las que se encuentra el tratamiento de efluentes. En este caso, la biomasa activa de los microorganismos de forma inmovilizada tiene ciertas ventajas, en comparación con la forma libre y destaca su uso en la operación de biorreactores a velocidades de flujo independientes del crecimiento del microorganismo, mayor estabilidad catalítica, concentración de la biomasa, actividad metabólica y una mayor resistencia a la toxicidad (Garzón-Jiménez y Barragán-Huerta, 2008).

Con el propósito de aprovechar los beneficios que un soporte proporciona al microorganismo, se han probado diferentes materiales para llevar a cabo su inmovilización, a fin de aplicarlos en la degradación de diversos contaminantes. Un resumen de investigaciones en las que se han utilizado algunos soportes para inmovilizar el *P. chrysosporium* se presenta en la Tabla 1.4.

Tabla 1.4. Resumen de algunas aplicaciones o	del <i>P. chrysosporium</i> inmovilizado
sobre diferentes tipos o	de soporte.

Inmovilizado (material)	Aplicación	Resultados	Autor	
Estropajo y espuma de poliuretano	Decoloración de negro reactivo 5 en medio sólido y líquido	Reducción de colorante menor al 44%	Fernández <i>et al.</i> (2009).	
Mallas de polietileno	Remoción de metales Cd, Ni y Pb con bioadsorbentes en aguas	Reducción DQO 69%, Pb 57%, Cd 74% y Ni 98%	Morales-Fonseca et al. (2010).	
Discos de espuma de poliuretano	Remoción de color de la industria textil	Reducción del 64% y de 83% adicionando glucosa	Sangeeta et al. (2011).	
Espuma de poliuretano	Tratamiento de agua residual de la industria papelera	Reducción de color y DQO de 83 y 97%, respectivamente.	Sharari et al. (2013).	

Los resultados obtenidos en la inmovilización de *P. chrysosporium* son variados, según lo reportado en la tabla anterior. Las eficiencias para la remoción de color se encuentran entre un 40 y un 90%. La eficiencia depende de las condiciones del tratamiento, del reactor, del material de inmovilización, de la toxicidad del contaminante y de la concentración en la que se encuentra presente. El uso recurrente de la espuma de poliuretano se debe a sus características de porosidad y durabilidad, mismas que permiten que el *P. chrysosporium* se adhiera y se mantenga sobre la superficie.

Sangeeta *et al.* (2011) utilizaron la espuma de poliuretano como discos rotatorios de un reactor biológico piloto de 3 L; soportaron el *P. chrysosporium* como microorganismo degradador de color para un efluente industrial, adicionaron glucosa como fuente de carbono y, en 48 h de contacto, obtuvieron una degradación de color del 83%.

Rodarte-Morales *et al.* (2012) reportaron el uso del *P. chrysosporium* inmovilizado en espuma de poliuretano, inoculado en biorreactores de tanque agitado y de lecho fijo, con el fin de eliminar residuos de diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, carbamazepina y diazepam, de las aguas residuales de la industria farmacéutica. Obtuvieron mejores resultados de biodegradación en un biorreactor de lecho fijo.

En general, independientemente del material utilizado como soporte de microorganismos, este tipo de inmovilización presenta grandes desventajas, entre las que se encuentran la liberación de las células en procesos que requieren agitación y que presentan la dificultad de inmovilizar grandes cantidades de biomasa.

19

1.3.2 Inmovilización de microorganismos en sistemas de encapsulamiento

Una de las técnicas de inmovilización activa que actualmente se encuentra en estudio es la inmovilización del tipo encapsulado para microorganismos, la cual puede ser considerada como una forma especial de empacar o cubrir la biomasa del microorganismo en matrices de diferentes materiales, para brindar protección contra factores como humedad, toxicidad y temperatura, condiciones propias del ambiente o de influencias externas (Rathore *et al.,* 2013).

Otra función del encapsulamiento de la biomasa es el mantenimiento de ventiladores, piezas móviles y en general del biorreactor, ya que la biomasa libre puede presentar el crecimiento no controlado y su presencia en todas las partes del biorreactor, lo que generaría atascamientos y suciedad en el mismo.

Por otro lado, el encapsulamiento de la biomasa también permite una fácil separación de ésta, en comparación con la biomasa libre, e incluso inmovilizada. Pero, sin duda, la principal ventaja del encapsulamiento de la biomasa es la promoción y mejora de la liberación de enzimas del microorganismo. Sin embargo, también se presentan algunas desventajas; principalmente los materiales de encapsulamiento pueden ser frágiles, faltos de porosidad, de alta retención de agua y no compatibles con la biomasa (González *et al.*, 2014; Sierra *et al.*, 2015).

1.4 Materiales utilizados para el encapsulamiento de microorganismos en procesos de tratamiento de efluentes

La mayoría de los materiales utilizados para la preparación de sistemas de inmovilización de microorganismos son, sin lugar a duda, los polímeros, ya sea naturales y/o sintéticos. Entre los naturales se encuentran los polisacáridos, como

la celulosa, el almidón, el agar, el alginato, la quitina, el quitosano, la carragenina, etc; y proteínas fibrosas como el colágeno y la queratina. Entre los sintéticos se encuentran las poliolefinas (el poliestireno), los polímeros acrílicos (los poliacrilatos, las poliacrilamidas, los polimetacrilatos, etc.) y algunos otros como las poliamidas o el poli(alcohol vinílico) (Martínez-Trujillo y García–Rivero, 2012; Cifuentes y Rojas, 2005).

Dado que los materiales de inmovilización deben tener propiedades de resistencia, porosidad y compatibilidad con el microorganismo, éstos son generalmente conformados por materiales de matrices compuestas o híbridas, formadas por diferentes polímeros, lo que incluye también otros materiales de diferente índole y proporción, para obtener matrices con propiedades mejoradas.

Entre los polímeros mencionados se destacan aquellos que tienen la propiedad natural de asociar a otros componentes y dar origen a los materiales compuestos o matrices híbridas. Por tanto, dicha matriz se encuentra conformada por uno o varios polímeros base, que generalmente son los que se encuentran en mayor proporción, para efectos de esta investigación estos materiales también son llamados dispersantes. Al incorporarse otros materiales en menor proporción (llamados asociados o dispersos) se obtiene el material híbrido. Tanto los materiales dispersantes como los dispersos deben ser inocuos y totalmente compatibles con los microorganismos para su encapsulamiento, por lo que su selección es muy importante para conseguir el efecto deseado.

1.4.1 Polímeros utilizados como dispersantes de matrices híbridas

Entre los polímeros que se han utilizado como matriz base para la preparación de materiales híbridos se encuentran los de origen natural, como el agar, el alginato de sodio y el quitosano, por su capacidad para asociar otros componentes.

El agar ha sido ampliamente estudiado en el campo de la inmovilización de microorganismos: es un polisacárido natural, un gel vegetal de origen marino, extraído de las paredes celulares de varias especies de algas, de los géneros *Gelidium, Euchema, Gracilaria* y otras agarofitas pertenecientes a las algas rojas (rodófitas). Químicamente, el agar es un polímero de subunidades de galactosa; una mezcla heterogénea de dos polisacáridos: agaropectina (sulfatado) y agarosa (neutro). Físicamente es una sustancia que puede ser amorfa, en forma de polvo, en escamas, en bloques o en tiras delgadas. Cuando está seco es poroso, traslúcido, de color amarillo, quebradizo y, cuando está húmedo, es flexible (Mazzitelli *et al.,* 2013). Es soluble en agua a temperatura de 100 °C, al enfriar (30-40 °C) se torna gelatinoso. También es ligeramente soluble en etanolamina y formamida. Es de los mejores gelificantes; después de 15 h de gelificación, a 25 °C, alcanza su mayor resistencia. Esta propiedad se puede ver alterada por vibraciones ultrasónicas, agitación intensiva o por altas temperaturas.

El quitosano es otro de los polímeros utilizados en el desarrollo de encapsulados. Este es un poli(aminosacárido) unido por enlaces (1-4)-2-amino-2-desoxi-β-Dglucano. Es obtenido de la quitina, que es un material presente en el exoesqueleto de artrópodos (insectos, escarabajos y crustáceos) y en las paredes celulares de algunos hongos. El quitosano es producido por la desacetilación de la quitina en solución de NaOH al 40%, a 120 °C, por hasta 3 h. El producto resultante es el quitosano, un biopolímero biodegradable, biocompatible y mucoadhesivo. Es insoluble en agua y algunos disolventes orgánicos, aunque solubiliza en ácidos como el acético y el fórmico, que protonan los grupos aminos. El proceso de gelificación sucede al contacto con NaOH 1 M, y mediante diferentes técnicas reportadas con el uso de entrecruzantes (Dincer *et al.,* 2012).

En lo que respecta a su uso como encapsulante de microorganismos para la remediación de efluentes, Dincer *et al.* (2012) encapsularon la enzima tirosinasa en

22
quitosano con arcilla para la degradación de fenol. Obtuvieron una remoción del 67% y por debajo del 50% cuando se reusó por 7 veces. Bustamante (2012) inmovilizó enzimas extracelulares (lacasa y manganeso peroxidasa) en diferentes materiales (silica, quitosano y alginato), para la decoloración de índigo carmín, en donde obtuvo hasta un 98% de eficiencia. Zoheb *et al.* (2012) inmovilizaron una enzima peroxidasa en un material entrecruzado con quitosano, para la decoloración de colorantes azo provenientes de la industria textil. La inmovilización en quitosano ha proporcionado buenos resultados en la remoción de color; además no inhibe la capacidad de degradación biológica utilizada.

El alginato de calcio es de los materiales más usados para el encapsulado. El alginato es un polisacárido lineal poliiónico e hidrofílico, con su origen en las algas pardas marinas tales como la *Laminaria hyperborea*, la *Ascophyllum nodosum* y la *Macrocystis pyrifera*. Su estructura está conformada por dos monómeros: el ácido α -L-gulurónico (G) y el ácido β -D-manurónico (M), como se muestra en la Figura 1.6. Estas estructuras son las que brindan flexibilidad o rigidez (Mazzitelli *et al.,* 2013), las que dependen de la distribución en secciones de homopolímeros tipo bloques-G (-GGG-), bloques-M (-MMM-) o heteropolímeros donde los bloques tipo M y tipo G se alternan (-MGMG-).



Figura 1.6. Estructura de los ácidos componentes del alginato.

Los alginatos se presentan en forma de sales. La más empleada de ellas es la sal de sodio, debido a su alta solubilidad en agua fría y su característica de transición sol-gel de forma instantánea e irreversible ante el ión calcio (Funami *et al.*, 2009). Otra propiedad importante es su solubilidad en agua, aún a temperatura ambiente, 25 °C. Su gelificación ocurre en presencia de cationes multivalentes (excepto el magnesio) donde el ión calcio es el más empleado por la industria alimentaria. La gelificación tiene lugar al producirse una zona de unión entre un bloque-G de una molécula de alginato que se enlaza físicamente a otro bloque-G contenido en otra molécula de alginato, a través del ión calcio (Reddy-K y Reddy-P, 2010) y crea una estructura llamada caja de huevo (Avendaño-Romero *et al.*, 2013), como lo muestra la Figura 1.7.



Figura 1.7. Gelificación del alginato en presencia del ion calcio.

En lo que respecta a la inmovilización, el alginato se ha convertido en el principio activo para matrices poliméricas con encapsulados que permiten la protección de los compuestos a factores adversos como el calor, la humedad y la toxicidad.

En el área ambiental, la encapsulación de microorganismos con alginato ha sido ampliamente estudiada. La Tabla 1.5 muestra algunas de las aplicaciones del *P. chrysosporium* inmovilizado en esferas.

Algunos estudios recientes sobre decoloración y el uso de encapsulados esféricos se presentan en Gomathi *et al.* (2012) donde se demostró la decoloración de un efluente papelero con *P. chrysosporium* encapsulado en alginato de sodio, con un resultado aceptable del 83% de decoloración, mientras que González (2012) también probó el encapsulado del hongo en perlas de alginato para degradar colorantes de la industria textil y obtuvo decoloraciones del 90%.

Inmovilizado (en material)		Aplicación	Resultados	Autor
Alginato calcio	de	Biodegradación de penicilina en agua residual.	Reducción de DQO en un 60%.	Mullai y Vishali (2007).
Alginato calcio Alginato calcio-lign	de y de ina	Degradación de fenantreno.	Degradación de fenantreno de 28 con esferas de alginato-Ca y 42% con alginato-Ca-Lignina.	Zhang et al. (2008).
Alginato calcio	de	Decoloración del efluente de una industria papelera.	Decoloración hasta un 83%.	Gomathi <i>et al.</i> (2012).
Alginato calcio	de	Degradación de colorantes de la industria textil.	Decoloración de azul remazol hasta un 90%.	González (2012).
Alginato calcio	de	Degradación de efluente cervecero.	Reducción de DQO en un 70%.	Sierra (2014).

Tabla 1.5. Resumen de algunas aplicaciones del P. chrysosporium encapsuladoen esferas de alginato de calcio.

Daâssi *et al.* (2014) inmovilizaron lacasa en perlas de alginato de calcio, para eliminar colorantes de la industria textil; removieron hasta un 70% de color en el primer tratamiento y del 50% después de reutilizarla hasta por cuarta vez.

1.4.2 Materiales dispersos en matrices híbridas

Los materiales que se utilizan como componentes asociados en matrices híbridas son de diversa índole; pueden ser otros polímeros, minerales, los óxidos metálicos, la silica, los silicatos, el grafito y el grafeno, entre otros. A continuación, se presentan algunos materiales utilizados para este fin y sus características principales.

1. El poli(alcohol vinílico) conocido también como PVOH o PVA. Es un polímero sintético soluble en agua. Puede formar películas; tiene propiedades emulsionantes y adhesivas. Es resistente al aceite, a las grasas y a los disolventes; es inodoro y no tóxico. Tiene alta resistencia al oxígeno y a los diferentes aromas, también posee gran flexibilidad. Sin embargo, estas propiedades dependen de la humedad. El agua, que actúa como un plastificante, reduce su resistencia a la tracción, pero aumentan su elongación y resistencia al desgarre.

Comercialmente se encuentra disponible en diferentes grados que difieren en peso molecular o en el contenido de acetato, tiene color estable hasta 140 °C. El PVA forma un coloide reversible en agua caliente, aunque es insoluble en agua fría. En agua a 20 °C y con un contenido máximo de 10% de acetato se hincha, es soluble entre un 10 y un 38%, forma un gel fino entre 38 y 75% y contenidos mayores lo hacen insoluble.

El PVA y sus copolímeros se han usado en medicamentos de liberación controlada. A pesar de su alto contenido de agua, los hidrogeles de PVA son útiles tanto para fármacos hidrofílicos como hidrofóbicos. También se ha utilizado para la liberación de polipéptidos, para la liberación de teofilina, y, últimamente, en microesferas cargadas con sulfato de bario y metiliotalamato como marcadores de embolización endovascular.

Referente a su uso como encapsulante de microrganismos, el PVA ha sido utilizado por Cheng *et al.* (2012), para inmovilizar la bacteria *Burkholderia vietnamiensis* en la degradación de cristal violeta en medio acuoso, con resultados del 98.6%. Huang *et al.* (2015), aplicaron el atrapamiento de *P. chrysosporium* para la biorremediación de aguas residuales contaminadas con cadmio y 2,4-diclorofenol con eficiencias de remoción del 78 y 95%, respectivamente.

2. Silica. Este compuesto se puede considerar como un material que se dispersa en otro, para la obtención de matrices híbridas. La silica es también conocida como SiO₂. Se encuentra en la naturaleza como cuarzo, pero generalmente se presenta como silica gel (gel de sílice), que es un sólido de forma granular y de una gran porosidad y con un área superficial de hasta 800 m²/g, lo que lo hace un buen adsorbente de agua, o bien como silica coloidal. El gel no es tóxico o químicamente reactivo, sin embargo, resulta inflamable. Es térmicamente estable, cuenta con una alta resistencia, estabilidad física y capacidad de adsorción de agua, de acuerdo con el tamaño de poro para actuar como adsorbente selectivo (Perullini, 2009). Con respecto a la silica coloidal, es una solución de partículas de sílice (10-20 nm) dispersas en agua. Es inodora, insípida, no tóxica y de un área superficial amplia. Al ser mezclada con otros materiales se dispersa de manera homogénea, por lo cual se puede conjugar como material asociado a diferentes matrices poliméricas.

A la fecha se conocen diferentes materiales que contienen silica, los cuales han sido estudiados para encapsular microorganismos y enzimas en pruebas para el tratamiento de aguas residuales a nivel laboratorio (Rodrigues *et al.*, 2013; Duarte *et al.*, 2013; Perullini *et al.*, 2010). En la Tabla 1.6 se muestran algunas investigaciones donde la silica se ha utilizado como componente en matrices de alginato, principalmente, para el encapsulamiento de hongos y bacterias.

En las investigaciones que involucran a la silica se ha observado que ésta proporciona, al material que la contiene, un carácter hidrofílico de gran resistencia al ataque microbiano. Sin embargo, también se ha indicado que genera ligera toxicidad y un tamaño de poro reducido (Bhatia *et al.*, 2000). Su uso también se ha encaminado a la degradación de compuestos fenólicos (Kongkhaem *et al.*, 2011) y a la remoción de mercurio (Bayen y Chowdury, 2014), de ácidos grasos y de esteroles, entre otros.

27

Tabla 1.6. Remoción de contaminantes en e	efluentes a través de materiales
---	----------------------------------

Material- microorganismo	Contaminante	Resultados	Autor
Silica–alginato–Fungi: Pleurotus sajor caju, Rhizopus oryzae	Color del proceso de pulpeo	Reducción de color 65% y DQO 85% con <i>Rhizopus</i> <i>oryzae</i>	Duarte <i>et al.</i> (2013).
Silica–alginato–Fungi: Pleurotus sajor caju; Trametes versicolor	Color y fenol en la industria aceitera (olivo)	Reducción de color 45% y DQO 64% con <i>Trametes</i> versicolor	Duarte <i>et al.</i> (2012).
Silica (TEOS)-bacteria Methylobacterium sp; Acinetobacter sp.	Fenol de 100 a 10,000 mg·L ⁻¹ ; libre de fuente de carbono	Degradación de 49 mg/L·h	Kongkhaem <i>et al.</i> (2011).
Silica (TMOS)-enzima lacasa	Colorante G27	Remoción de color en un 70%	Lloret <i>et al.</i> (2011)

basados en silica (Rodrigues et al., 2013).

Otros materiales derivados de la silica son los silicatos presentes en minerales y arcillas. Las arcillas provienen de rocas sedimentarias; constituidas por agregados de aluminosilicatos hidratados; humedecidas se consideran coloides que aportan dureza a diferentes materiales. Por ejemplo, el talco industrial (filosilicato de magnesio) se utiliza en cerámicas, en la industria del hule y en relleno de productos asfaltados, entre otros. Las aportaciones al material que lo contiene se reflejan en el incremento del área superficial, una alta resistencia térmica con cierta dureza.

El caolín es un silicato de aluminio hidratado de color blanco; se refiere a arcillas en las que predomina la caolinita. Si tiene algún color indica que contiene impurezas, es higroscópico (absorbe agua), es inodoro, resiste altas temperaturas, no es tóxico ni abrasivo y tiene una capacidad refractaria elevada y facilidad de dispersión. La bentonita y la dolomita son arcillas finas de silicato que contienen hierro, magnesio y carbonato de calcio. Tiene aplicaciones en cerámica y metalurgia. Su dureza varía de acuerdo con el tipo de bentonita, lo que puede proporcionar esta propiedad a una matriz polimérica.

3. Grafito. Otro material que puede ser considerado como componente disperso de una matriz híbrida para el encapsulamiento de microorganismos es el grafito. Es un

mineral negro semimetálico, alótropo del carbono, blando, opaco y refractario. A presión atmosférica y a temperatura ambiente es muy estable. Se obtiene de yacimientos naturales y puede producirse artificialmente (Figura 1.8).



Figura 1.8. Estructura del grafito (González y Horta, 2011).

En el campo de inmovilización de microrganismos, el grafito fue utilizado por Zhou y Chen, (2001), como soporte de la enzima galactosidasa de la levadura *Kluyveromyceslactis*, para la hidrólisis de lactosa en la leche. La inmovilización aportó un incremento en la tolerancia a temperatura de 40 a 50 °C y al pH, de 1.1 a 7.7 en comparación con la enzima libre.

4. Grafeno. En general, la búsqueda de materiales sigue extendiéndose con nuevas posibilidades; entre ellas se encuentra el grafeno. Éste es un alótropo del carbono, de geometría plana hexagonal, formado por átomos de carbono y enlaces covalentes, que puede presentarse en láminas o en polvo fino, y tiene, entre otras propiedades: flexibilidad, resistencia, impermeabilidad y conductividad. Existen diferentes métodos de síntesis del material, entre los que destacan: la exfoliación mecánica, la exfoliación química, la reducción de óxido de grafeno y la deposición química de vapor (Warner *et al.*, 2013).

Actualmente, los usos y aplicaciones del grafeno se encuentran en desarrollo, en particular en las áreas de la electrónica, las comunicaciones, la aeronáutica y la industria espacial, que son los campos de aplicación e investigación más estudiados.

Los materiales compuestos con grafeno en el área de encapsulado se encuentran en investigación (Alzari *et al.*, 2013). En general están enfocados a la remoción de contaminantes por adsorción, por lo que existen oportunidades de ser utilizados como materiales para formar matrices compuestas útiles en el encapsulado de microorganismos, para el tratamiento de efluentes. Su uso como integrador de materiales adsorbentes se puede ver en el trabajo de Ye *et al.* (2014). Estos autores desarrollaron un composito de magnetita (Fe₃O₄), óxido de grafeno y quitosano como un adsorbente magnético para el enriquecimiento de proteínas. Para la remoción de metales como plomo (Pb II), cromo (Cr VI) y cobre (Cu II) en medio acuoso se han desarrollado materiales compuestos muy eficientes de óxido de grafeno con quitosano/Fe₃O₄, con polipirrol/Fe₃O₄ y con poli-clorhidrato de alilamina, respectivamente (Fan *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2015; Xing *et al.*, 2015).

En la remoción de colorantes, Wu *et al.* (2014), reportaron adsorción de azul de metileno con óxido de grafeno funcionalizado con un ramnolípido, en aguas sintéticas y residuales. Wang *et al.* (2015) publicaron la adsorción de verde de malaquita en solución acuosa a través de un nanocompuesto de óxido de grafeno, Fe₃O₄ y β -ciclodextrina, con una capacidad de remoción de hasta el 98%.

1.5 Técnicas de caracterización de los sistemas de encapsulamiento

Los sistemas de encapsulamiento se caracterizan por los materiales que los integran y la funcionalidad que proporcionan, particularmente tienen efecto en la actividad de los microorganismos. La caracterización del sistema de

encapsulamiento se realiza mediante la determinación de la dureza, la morfología, el área superficial, el volumen y el tamaño de poro de la matriz, debido a que las capacidades de los microorganismos se ven influenciadas para actuar en los efluentes a tratar. La evaluación de las características mencionadas se engloba en los siguientes aspectos:

1. Resistencia mecánica. Esta propiedad se establece con base en la resistencia que presenta el sistema inmovilizante a las deformaciones, rupturas y desprendimiento de material, ocasionado por la agitación, el pH y la temperatura del efluente durante su tratamiento. También la presión ejercida por el propio encapsulado (hinchamiento) y el desarrollo de biomasa afecta al sistema de inmovilización y provoca la liberación de ésta última, posterior a la fractura de la esfera (Perullini, 2009; Dincer *et al.,* 2012; Bashari *et al.,* 2013; Daâssi *et al.,* 2014). Estos fenómenos son medidos cualitativamente para establecer la resistencia del inmovilizante y elegir la matriz adecuada.

2. Porosidad y dimensiones del poro. Estos dos aspectos también son fundamentales para elegir la matriz o el sistema de encapsulamiento, ya que se debe permitir la aireación y transferencia de masa de solutos o alimento al microorganismo y, a su vez, la liberación de enzimas provenientes de éste para degradar los contaminantes del efluente.

Para medir estos aspectos se utiliza la técnica BET, basada en el principio de fisisorción (Wells, 1974). La fisisorción se produce cuando un gas no polar, generalmente nitrógeno, se pone en contacto con un sólido desgasificado. Durante dicho contacto se originan fuerzas de Van der Waals que pueden ser de tipo London o de tipo dipolo-dipolo, con energías que van de 1 a 5 KJ/mol. Al ponerse en contacto el gas con la superficie del sólido se produce un equilibrio entre las moléculas adsorbidas y las moléculas en fase gaseosa, que depende de la presión del gas y de la temperatura. La relación entre las moléculas adsorbidas del líquido

y la presión a temperatura constante se puede recoger en una isoterma de adsorción. Estas isotermas informan directamente del volumen adsorbido a una determinada presión, lo que permite, también, calcular el área superficial del sólido, el tamaño de poro y su distribución. La teoría de BET, en general, considera que: no existen sitios preferenciales de adsorción, no existen interacciones laterales entre moléculas adsorbidas, y las fuerzas de condensación son las fuerzas impulsoras en la adsorción (Brunauer *et al.,* 1938).

3. Morfología. La morfología describe las características microestructurales y topográficas del sistema de inmovilización. El análisis se realiza mediante el método de microscopía electrónica de barrido (MEB). Con esta técnica se generan micrografías entre 100 y 1000 veces mayor que la de un microscopio óptico (Goldstein y Yalowitz, 1977; Reimer 1985). También es posible adquirir la señal de rayos X originados por el desprendimiento de electrones de la muestra, con un detector de energía dispersiva EDS (por sus siglas en inglés Energy Disperse Spectrometer), lo que se refleja como un análisis semicuantitativo y de distribución de elementos en la superficie.

4. Composición del material. Es importante determinar la composición del material cuando ésta es desconocida. Se puede determinar con espectroscopia infrarroja mediante las frecuencias de vibración específicas de los grupos funcionales del material, ante la exposición de éste a la región infrarroja del espectro electromagnético. Cuando el rayo monocromático de luz infrarroja (IR) incide en la muestra, se registra la cantidad de energía absorbida en el rango de longitudes de onda de interés (por lo general, 4000-400 cm⁻¹); el resultado se muestra en un espectrograma IR. Para que una vibración aparezca en el espectro infrarrojo, la molécula debe someterse a un cambio en su momento dipolar durante la vibración. Asimismo, cuanto más polar sea un enlace, más intenso será el pico correspondiente a su frecuencia de vibración.

32

5. Otra técnica que determina la composición del material es la espectroscopía Raman, en la que la muestra se ilumina con un rayo láser para provocar la vibración de enlaces químicos de las moléculas del material. Por lo tanto proporciona una huella dactilar de la molécula que puede ser identificada.

El efecto Raman se produce cuando la luz incide sobre una molécula e interactúa con la nube de electrones de los átomos de esa molécula. El fotón incidente excita a uno de los electrones hacia un estado virtual y se relaja a un estado vibracional excitado, lo que genera la dispersión de Raman-Stokes. Se utiliza en física de la materia condensada, y también en química, para el estudio de los modos vibracionales, rotacionales y otros de baja frecuencia en un sistema. Se basa en la dispersión inelástica (dispersión Raman), de la luz monocromática, que por lo general procede de un láser en el rango visible, infrarrojo cercano o ultravioleta cercano. La luz láser interactúa con fonones u otras excitaciones en el sistema, por lo que la energía de los fotones láser se desplaza hacia arriba o hacia abajo. La luz del punto iluminado se recoge con una lente y se envía a través de un monocromador. Las longitudes de onda cercanas a la línea láser, debidas a la dispersión elástica de Rayleigh, son filtradas, mientras que el resto de la luz recogida se dispersa en un detector.

6. Estructura cristalina. Describe el tipo de estructura de los compuestos que conforman el sistema inmovilizante (monoclínico, ortorrómbico, hexagonal, entre otras). Para ello se realiza un análisis estructural de cristales y de la estructura atómica de los componentes por la difracción de rayos X (DRX); el resultado del análisis se muestra en un diagrama de difracción. Las posiciones de los máximos de difracción dependen de las distancias interplanares. Es decir, de la posición de los átomos en la celda unidad y las intensidades de los máximos de difracción dependen de la naturaleza química de los átomos (o número de electrones en la corteza), lo que distingue a un material de otro.

Comúnmente llamada cristalografía de rayos X, se utiliza en el estudio de materiales en estado cristalino (polvo) sobre los que se hace incidir un haz de rayos X. Los rayos X son difractados por los electrones que rodean los átomos, ya que la longitud de onda del haz incidente es, aproximadamente, de la misma magnitud que el radio atómico de la muestra. Los electrones difractados originan un patrón de difracción para obtener una representación a escala atómica de la posición de los átomos y moléculas del material estudiado.

1.6 Proceso biológico combinado con membranas para el tratamiento de efluentes

Los procesos combinados para el tratamiento de efluentes residuales son el resultado de la aplicación de dos o más operaciones de depuración; al integrarse mejoran de manera significativa la eficiencia y operatividad del proceso. En el caso del tratamiento de efluentes de la industria textil, los procesos combinados más utilizados son aquellos que incluyen un proceso biológico (Vicuña *et al;* 2009). Particularmente, uno de los procesos complementario al biológico es el de filtración por membrana; los más utilizados están en el rango de micro y ultrafiltración (Krzeminski *et al.*, 2016; Suk y Matsuura, 2006), cuyo beneficio es la obtención de agua con altos índices de calidad que promueven su reuso.

Koltuniewicz (2007) y Hai *et al.* (2007), reportaron que la combinación de un proceso biológico y un proceso de membranas es adecuada para su aplicación en el tratamiento de aguas residuales domésticas, municipales e industriales, que garantiza su purificación y reuso con un mínimo de generación de lodos.

Un aspecto importante para considerar en los sistemas híbridos es la configuración del sistema; éste puede ser de diferentes tipos: con recirculación de efluente, sin recirculación o con un arreglo de membranas, como se muestra en la Figura 1.9.



Figura 1.9. Esquema de un sistema híbrido de biorreactor con membrana en: a) configuración de recirculación, b) sin recirculación y c) membranas en serie sin recirculación.

Entre las ventajas que presenta un proceso combinado de biorreactor y membrana destacan la retención de sólidos suspendidos y disueltos, la calidad del efluente final, así como la retención de bacterias y virus.

Para un correcto uso de los procesos combinados con membrana es necesario considerar la composición del agua de alimentación, para seleccionar el tipo de membrana (Muro y Castellanos, 2006; Muro *et. al.*, 2009).

Existen varios tipos y configuraciones de membranas. De acuerdo con su forma, se pueden encontrar membranas planas, tubulares, de disco rotatorio o de fibra hueca; por su composición, pueden ser orgánicas o inorgánicas; y por su tamaño de poro, pueden ser de microfiltración (separa sustancias suspendidas de hasta una décima de micra) o de ultrafiltración (elimina sustancias suspendidas de hasta un centésimo de micra). En la Figura 1.10 se aprecia el tipo de membrana que se requiere de acuerdo al tamaño de partículas que componen el efluente.



Figura 1.10. Tamaño de partícula vs tipo de filtración.

En el tratamiento de efluentes textiles con este tipo de sistemas destacan los trabajos de Salazar *et al.* (2009), quienes utilizaron membranas de microfiltración y ultrafiltración y lograron una reducción de DQO en un 89% y la remoción de color en un 69% en un efluente textil simulado. Por su parte, De Jager *et al.* (2014) utilizaron membranas de ultrafiltración y obtuvieron reducciones del 88 y el 99% en parámetros de DQO y de color, respectivamente, en un efluente residual textil.

Las etapas de investigación que integran el proyecto se presentan en el esquema de la Figura 2.1.



Figura 2.1. Método experimental.

2.1 Caracterización del efluente

El efluente fue proporcionado en 2 lotes por una industria textil ubicada en el Valle de Toluca, Estado de México, en la que se elabora el teñido de fibras. Particularmente, el efluente proviene de un proceso de preparación, teñido y acabado de fibras para uso en tapizados.

Para la caracterización del efluente textil se consideró el pH, la demanda química de oxígeno (DQO), la turbiedad y los sólidos totales. Los lotes fueron caracterizados en las primeras 24 h posteriores a su recepción y en el caso de su preservación, se adicionó ácido nítrico a pH 2 y fueron llevados a refrigeración (4 °C) en muestras de 1/4 de L. Detalles de la caracterización del efluente se detallan a continuación.

a) Determinación de pH. Se realizó de acuerdo con la norma NMX-AA-008-SCFI-2011. Se utilizó un equipo HANNA modelo HI 9126, (Figura 2.2). Cabe señalar que esta determinación se realizó al momento de recibir la muestra y antes de realizar la preservación.



Figura 2.2. Medidor de pH HANNA modelo HI 9126.

b) Determinación de la concentración de la demanda química de oxígeno (DQO). Este análisis se determinó de acuerdo con la norma NMX-AA-030/2-SCFI-2012, conforme a lo dispuesto para muestras con alta carga orgánica, debido a que se considera que la industria textil genera grandes cargas contaminantes en sus

aguas residuales (Dos Santos *et al.,* 2007; Ranganathan *et al.,* 2007; Yonni *et al.,* 2008).

El lote analítico estuvo constituido por un control de 200 mg/L DQO, un blanco con agua destilada y las muestras textiles. Las muestras se diluyeron al 5% de su concentración, para su determinación. Se utilizó un digestor marca HACH, modelo DRB 200 (Figura 2.3), con capacidad para 15 muestras, a 150 °C, por un tiempo de 2 h.



Figura 2.3. Digestor modelo DRB 200 marca HACH, en modo COD (DQO).

Para llevar a cabo el análisis se utilizaron las siguientes disoluciones: solución digestora para altas concentraciones a base de dicromato de potasio al 0.025 M, solución de ácido sulfúrico-sulfato de plata con una relación 5.5 g de Ag₂SO₄/Kg H₂SO₄.

Se prepararon las muestras a digerir de la siguiente manera: se colocaron en cada uno de los tubos 1 mL de solución digestora, se tomó una alícuota de 2 mL de la muestra a analizar (dilución del 10%) y se añadieron cuidadosamente 2 mL de ácido sulfúrico-sulfato de plata. Se cerró el tubo y se homogeneizó la mezcla, se colocaron las muestras en el digestor y se seleccionó el modo COD (DQO) con un tiempo de 120 min. Al finalizar el proceso de digestión, las muestras se enfriaron por un período de 30 min y fueron valoradas con un equipo UV-vis, para lo cual se construyó una curva de calibración de 10 a 1000 mg/L de concentración de DQO. Los resultados obtenidos fueron multiplicados de acuerdo con el factor de dilución.

 c) Determinación de la turbiedad. Se determinó de acuerdo con la norma NMX-AA-038-SCFI-2001. Se utilizó un turbidímetro marca Thermo Scientific modelo ORION AQ4500 (Figura 2.4).



Figura 2.4. Turbidímetro Thermo Scientific ORION AQ4500.

La medición se realizó previa calibración del equipo. Se vertió la muestra en la celda hasta cubrir ³/₄ partes del llenado, se tapó la celda y se presentó en el orificio de lectura; se colocó el capuchón, para evitar falsas lecturas. Se verificó la estabilidad de la lectura y se registró el dato. Este proceso se realizó por triplicado para cada muestra.

d) Determinación de sólidos totales. Se determinaron de acuerdo con la norma NMX-F-426-1982. Este análisis se realizó por triplicado. Previamente se realizó el secado de crisoles a 103 °C por 40 min y se colocaron en el desecador por otros 20 min (para enfriar), se pesaron y se repitió la operación hasta obtener un peso constante. A continuación se colocaron 5 mL de la muestra por crisol, se sometieron a baño María (con cama de gasa) hasta la sequedad, y se dejaron en reposo por 20 min en el desecador. Para finalizar, se colocaron las porcelanas en la estufa a secar por 3 h, a 103 °C. Se dejaron en el desecador por una hora y se pesaron nuevamente. Se registraron los pesos y se determinó la masa de residuo, de acuerdo con la ecuación 1.

Sólidos totales
$$(g/100 \text{ cm}^3) = \frac{(M_2 - M_1) \cdot}{V} 100$$
 (1)

Donde:

 M_2 = Masa de la porcelana con residuo seco (g).

M₁ = Masa de la porcelana con peso constante (g).

V = Volumen de la muestra (cm^3).

e) Determinación de la concentración de colorantes. En lo que se refiere a la determinación de colorante, se realizaron barridos de las muestras textiles iniciales de 190 a 900 nm. Se utilizó un espectrofotómetro UV-vis marca Perkin Elmer modelo Lambda 35, se identificó la longitud de onda máxima de absorbancia en el rango del visible de la gráfica obtenida del barrido. Una vez identificados los elementos, se desarrolló una curva de calibración para determinar las concentraciones en los efluentes iniciales y posteriores al biotratamiento. Se definió que la concentración de color del efluente analizado fuera considerada en términos de porcentaje. El equipo utilizado se muestra en la Figura 2.5.



Figura 2.5. Espectrofotómetro marca Perkin Elmer, modelo Lambda 35 e interfase de usuario UV WinLab.

2.2 Adaptación del P. chrysosporium a efluentes de la industria textil

La cepa *P. chrysosporium* identificada como HEMIM-5 fue resembrada cada mes para su preservación en el medio de cultivo sólido agar de dextrosa y papa (PDA) esterilizado, en cajas de Petri y tubos de ensayo, a una temperatura de incubación de 30 °C, durante 7 días. Esta actividad se realizó durante toda la investigación.

La etapa de adaptación a los efluentes de la industria textil se realizó con el sembrado de la cepa en medio sólido, con base en un cereal de trigo, diluido con el efluente textil. Se utilizó un volumen final de 100 mL con presencia del efluente textil en volúmenes de 10, 25, 50, 75 y 90 mL, y factores de dilución de 10, 4, 2, 1.33 y 1.1, respectivamente. El sembrado se realizó en cajas de Petri, a una temperatura de incubación de 30 °C, durante 7 días y se observó el crecimiento del hongo.

2.3 Obtención y caracterización del grafeno

Para la obtención del grafeno se consideraron dos procedimientos:

1) Mediante la técnica de dispersión de grafito pristino (original) en un disolvente por exfoliación mecánica con sonicación (Novoselov *et al.,* 2004; Coleman 2009; Nuvoli *et al.,* 2011; Fernández, 2013; Wu *et al.,* 2014).

2) Mediante la oxidación previa del grafito por el método Hummers y su posterior dispersión (Soto Lopez *et al.*, 2015; Joshi *et al.*, 2015; Ammar *et al.*, 2016; Khan *et al.*, 2016). La dispersión fue realizada con el objetivo de romper la estructura del óxido de grafito y dar lugar a la estructura del óxido de grafeno y grafeno.

La técnica de síntesis por exfoliación mecánica (Coleman, 2009) se realizó con base en grafito técnico comercial (0.5 g), en disolución con 25 mL de N-metil pirrolidona (NMP). Se utilizó un homogeneizador marca Heidolph, modelo Silent Crusher M. La homogeneización se llevó a cabo por 1 h a 20,000 rpm; terminado este tiempo se centrifugó. El sobrenadante se secó en una parrilla dentro de una campana de extracción a 40 °C, hasta eliminar la humedad. El material obtenido se preservó en un desecador para su análisis.

La segunda técnica de síntesis, por el método de Hummers, se inició con la oxidación de grafito. En un matraz Erlenmeyer se disolvieron 2.5 g de grafito técnico comercial en 34.5 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 10%. A la mezcla se le adicionó 4.5 g de permanganato de potasio (KMn₄O) y se aumentó la temperatura a 35 °C, bajo agitación constante, a 1000 rpm durante 2 h.

Posteriormente se agregó, gota a gota, 69 mL de agua destilada, se aumentó la temperatura a 84 °C y se mantuvo en agitación durante 15 min. Se adicionaron 10 mL de una solución de H₂O₂ al 30% y se dejó en reposo por un período de 40 min. El precipitado se centrifugó a 1500 rpm por 3 min. La muestra obtenida se volvió a tratar con 69 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se adicionó permanganato de potasio (9 g), y permaneció en agitación constante por 2 h. Al terminar se agregaron 138 mL de agua destilada, se agitó por 15 min más y se agregaron 20 mL de H₂O₂; se dejó reposar. Tras el reposo se realizó el lavado del sólido obtenido mediante un proceso de diálisis, con 1 L de solución 1:10 de HCl en agua. Posteriormente se centrifugó a 5000 rpm durante 15 min. El precipitado se secó a 60 °C en estufa por 24 h.

El grafeno y el óxido de grafeno obtenidos fueron caracterizados a través de los análisis de microscopia electrónica de barrido (MEB), de espectroscopía en infrarrojo (FTIR), de difracción de rayos X y de espectroscopía Raman. La metodología utilizada de algunas de estas técnicas se expone en el apartado 2.4.1 de este trabajo, y las correspondientes a difracción de rayos X y espectroscopía Raman, se describen enseguida.

1. Análisis por espectroscopía Raman. En lo que respecta al análisis Raman, se utilizó un equipo EnSpectr R532® que utiliza un láser de longitud de onda de 532

nm y 30 mW, para garantizar mediciones Raman luminiscentes de alta precisión en un amplio rango espectral de 100 a 4000 cm⁻¹. Este se encuentra adaptado a un microscopio Olympus CX41, como se muestra la Figura 2.6.



Figura 2.6. Equipo de espectroscopía Raman, EnSpectr R532® y Olympus CX41.

La muestra fue compactada y empastillada en tabletas de 3 mm de diámetro y 1 mm de espesor. Los materiales fueron colocados en portaobjetos, identificados y puestos sobre el microscopio. Cada una de las muestras fue enfocada hasta obtener una imagen nítida de la muestra. Posteriormente se encendió el láser y se hizo el barrido de la muestra. El resultado se obtuvo en la aplicación propia del equipo.

2. Análisis por difracción de rayos-X. En el análisis por rayos-X se utilizó un difractómetro de polvos Bruker axs D8 Advance con software propio Diffrac Plus Release 2000, perteneciente al laboratorio de rayos-X del Instituto de Investigaciones en Materiales de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Las muestras en polvo se colocaron en los portamuestras de vidrio, en una cantidad de 1 g, aproximadamente; se corrió el análisis en el equipo, en librerías preestablecidas para realizar el comparativo con materiales de referencia.

2.4 Obtención de matrices híbridas de encapsulamiento

Para la obtención de las matrices híbridas se utilizaron los biopolímeros, agar (A), alginato (AA) y quitosano (Q) como matriz dispersante (Figura 2.7) y como materiales dispersos se utilizaron carboximetilcelulosa, silicatos, grafito y grafeno, entre otros (Figura 2.8).



Figura 2.7. Materiales utilizados para el desarrollo de matrices de encapsulamiento (dispersantes). a) agar, b) alginato y c) quitosano.



Figura 2.8. Materiales asociados para el desarrollo de matrices. a) silica gel (SG),b) grafeno (G), c) almidón (AL), d) grafito (g), e) silica coloidal (S) y f)carboximetilcelulosa (CMC).

A partir de la combinación de los materiales mencionados se obtuvieron matrices híbridas de dos materiales y tres materiales utilizando un polímero dispersante y

uno o dos materiales dispersos. Las matrices obtenidas de dos materiales fueron las siguientes: agar-alginato (A-AA), agar-quitosano (A-Q), agar-silica gel (A-SG), agar-carbón activado (A-CA), agar-almidón (A-AL), agar-grafito (A-g), agar-silica coloidal (A-S), alginato-quitosano (AA-Q), alginato-silica gel (AA-SG), alginatocarbón activado (AA-CA), alginato-almidón (AA-AL), alginato-grafito (AA-g), alginato-silica coloidal (AA-S), quitosano-agar (Q-A), quitosano-silica gel (Q-SG), quitosano-carbón activado (Q-CA), quitosano-almidón (Q-AL), quitosano-grafito (Qg) y quitosano-silica coloidal (Q-S).

Las matrices híbridas de tres materiales fueron las siguientes: alginato-quitosanocarbón activado (AA-Q-CA), alginato-quitosano-grafeno (AA-Q-G), alginatoalmidón-carbón activado (AA-AL-CA), alginato-almidón-grafeno (AA-AL-G), alginato-silica coloidal-carbón activado (AA-S-CA), alginato-silica coloidal-grafeno (AA-S-G), alginato-carboximetilcelulosa-grafeno (AA-CMC-G) y alginatopoli(alcohol vinílico)-grafeno (AA-PVA-G).

Las matrices híbridas con dispersante AA y materiales dispersos de silica, silicatos y grafeno se prepararon siguiendo la técnica de Xu *et al.* (2006), con una modificación en la integración de materiales. Se colocó una cantidad del 3% p/v de alginato de sodio en un vaso de precipitados con agua destilada; se mezcló vigorosamente sobre un agitador magnético hasta lograr su total disolución. Posteriormente se agregó el 1% p/v del material disperso; se continuó con la agitación hasta obtener una mezcla homogénea. Esta mezcla se colocó en un sonicador por un período de 1 h. A continuación, la mezcla fue goteada en una solución de cloruro de calcio 0.2 mol/L, para formar esferas.

Las esferas permanecieron en la solución por 24 h, a una temperatura de 4 °C. Al término del tiempo de reposo, las esferas fueron filtradas, lavadas con agua destilada a pH neutro y, posteriormente, almacenadas en agua destilada.

46

El diámetro promedio obtenido de los encapsulados esféricos fue de 3 ± 0.2 mm, los cuales se midieron con un vernier marca Starrett, modelo 721. Posteriormente, todas las matrices esféricas fueron sometidas a pruebas de resistencia a la agitación, además se evaluó la tolerancia al pH.

Para la prueba de resistencia a la agitación se colocó 1 g de esferas en un matraz Erlenmeyer de 125 mL de capacidad, con alícuotas de 50 mL de agua destilada, por un período de 10 días, en agitación orbital a una velocidad de 180 rpm. Durante el período de prueba se valoró si ocurrió deformación de las esferas, así como fractura o desprendimiento del material del encapsulado.

Para la determinación de la tolerancia al pH, se colocó 1 g de cápsulas en matraces Erlenmeyer con 50 mL de agua destilada, uno a pH 4 y otro a pH 8, por un período de 10 días. Al finalizar se seleccionaron los encapsulados estables, sin deformación, fractura o desprendimiento de material.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se seleccionaron las matrices con las mejores propiedades evaluadas para continuar con su caracterización y el encapsulado del microorganismo.

2.4.1 Caracterización de las matrices híbridas de encapsulamiento

Las matrices de encapsulamiento fueron caracterizadas como se detalla a continuación.

1. Determinación de las características morfológicas de la superficie. Las características morfológicas de superficie de las muestras se obtuvieron al analizarse por microscopía electrónica de barrido. Se utilizó un equipo marca JEOL

modelo JSM-6610LV (Figura 2.9), ubicado en las instalaciones del LIIA del Instituto Tecnológico de Toluca



Figura 2.9. Microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo JSM-6610LV.

Las muestras fueron liberadas de humedad al ser sometidas a un período de secado en un horno marca Riossa, modelo H-33, por 3 h, a 60 °C. Posteriormente se colocaron pequeñas cantidades de cápsulas secas en el portamuestras circular propio del equipo, adheridas con cinta de cobre de doble cara. El portamuestras se colocó dentro de la cámara del equipo, se despresurizó para su trabajo en vacío e inició el análisis con el encendido de la cámara infrarroja, para fijar la distancia de imagen y se enfocaron los lentes. Por último, se finalizó el ajuste de los controles de distancia, luz e imagen y se tomaron las micrografías de las muestras con el programa respectivo del equipo.

2. Determinación de la porosidad y área superficial. La técnica utilizada fue mediante la adsorción de N₂ con el método BET (Brunnauer, Emmett y Teller), relativas al área superficial, así como volumen, área y diámetro de poro. Para ello se utilizó un sortómetro BELSORP-aqua³ de BEL Japan, Inc, ubicado en las instalaciones del LIIA del Instituto Tecnológico de Toluca (Figura 2.10).



Figura 2.10. Sortómetro BELSORP-aqua³.

Las muestras de los diferentes materiales se colocaron en las celdas tubulares propias del equipo donde fueron pesadas en una balanza analítica y colocadas en la unidad Bellprep de pretratamiento, donde fueron acondicionadas a 80 °C durante 8 h y a 120 °C durante 6 h, para los encapsulados y para los materiales, respectivamente. Al finalizar fueron pesadas nuevamente. Posteriormente se colocaron en la cámara de análisis provista de nitrógeno líquido. Este equipo tiene capacidad de analizar 2 muestras a la vez en la modalidad de alta precisión. Se introdujeron los datos en la aplicación BellMaster y se inició el proceso de análisis de las muestras con la saturación de nitrógeno, para la determinación de adsorción y desorción. Al final se obtuvieron los valores del análisis en lo que respecta al área superficial y el tamaño de poro en el programa respectivo del equipo.

3. Determinación de grupos funcionales. Para la determinación de los grupos funcionales de los materiales utilizados en los encapsulados se utilizó la técnica de espectroscopía infrarroja, mediante un equipo Agilent Technologies, modelo VARIAN IR-640 (tipo FT-IR) con software propio "Agilent Pro", ubicado en el laboratorio de servicios en instrumentación avanzada del LIIA del ITT (Figura 2.11). Por procedimiento, el equipo fue encendido una hora antes del análisis. Las muestras en este estudio se utilizaron en polvo para una lectura y análisis adecuado.



Figura 2.11. Espectrómetro Agilent Technologies modelo VARIAN IR-640 con aplicación propia.

El equipo se alineó y calibró (el llamado background) antes de iniciar con las muestras, para detectar las condiciones ambientales y evitar interferencias con las lecturas. Se establecieron las condiciones de lectura de las muestras. Para esta práctica en particular, el número de barridos fue de 16, la resolución se fijó en 4 y el rango de lectura entre 4000 y 500 cm⁻¹; se estableció el tipo de barrido en porcentaje de transmitancia. Posteriormente se colocó una pequeña cantidad del material sobre el diamante del accesorio de reflectancia total atenuada (RTA), cubriéndolo por completo, se prensó la muestra y se inició su análisis. Entre cada muestra se limpió adecuadamente el área del diamante y la prensa para evitar contaminación e interferencias. Finalmente se obtuvieron las gráficas en el programa propio del equipo.

2.5 Encapsulamiento de biomasa de *P. chrysosporium* en matrices híbridas seleccionadas

Para integrar el microorganismo a los encapsulados se preparó el micelio suspendido de *P. chrysosporium* en 100 mL de agua destilada y esterilizada. Se vació el contenido de una caja de Petri de *P. chrysosporium*, previamente

seccionado en cuadros de 1 cm², ésta mezcla se sometió a agitación (200 rpm) por 24 h. Y finalmente se mantuvo en refrigeración hasta su uso.

Se procedió a inmovilizar al *P. chrysosporium* en los materiales de encapsulado que presentaron las mejores características mecánicas. La mezcla polimérica y el micelio suspendido de *P. chrysosporium* se homogeneizaron y, finalmente, se encapsuló de acuerdo con la técnica marcada en el punto 2.4. La matriz biopolimérica resultante se lavó y almacenó en agua destilada estéril a 4 °C. La permanencia del microorganismo en el encapsulado se verificó con el sembrado en medio sólido (agar dextrosa papa).

2.6 Primera etapa de tratamiento del efluente textil. Proceso biológico aerobio con biomasa encapsulada de *P. chrysosporium*

El Tratamiento biológico del efluente textil se llevó a cabo en un proceso aerobio utilizando encapsulados de biomasa bajo las siguientes condiciones:

1) Con suministro de aire indirecto por agitación orbital.

Los experimentos se realizaron en matraces de 1 L, con alícuotas de 800 mL del efluente textil, utilizando una relación de 10 g/L de encapsulados de biomasa; con agitación a 180 rpm. El equipo de agitación utilizado fue un agitador de orbital marca Heidolph modelo Unimax 1010, como se muestra en la Figura 2.12 a.

2) Con suministro de aire directo en un biorreactor tipo airlift de 4 L de capacidad. En este caso se utilizó un biorreactor como el que se observa en la Figura 2.12b; se colocaron 2 L de efluente textil y se utilizó la misma proporción de encapsulados que en el suministro de aire indirecto.



Figura 2.12. a) Agitador de orbital Unimax 1010 Heildoph. b) Biorreactor airlift marca SEV-prendo.

Ambos experimentos se realizaron a una temperatura de 30 °C, por 7 días, considerando como blanco el medio inoculado con *P. chrysosporium* en estado libre. La efectividad del tratamiento se evaluó con base en la biomasa generada, y la calidad del efluente a partir de la determinación de concentración de DQO y la concentración de colorante, una vez finalizado el tratamiento, de acuerdo con lo marcado en este método en el punto 2.1.

A partir de los resultados obtenidos en los parámetros mencionados, se consideró la mejor opción para llevar a cabo la segunda etapa de tratamiento.

La determinación de biomasa se obtuvo con base en la diferencia de pesos de los encapsulados antes de inocular y al final de la etapa de tratamiento del efluente. Para llevar a cabo la cuantificación de la biomasa, se determinó el peso del encapsulado antes del tratamiento. Los encapsulados se colocaron en una cápsula de porcelana, previo peso constante, por una hora en horno de secado a 103 °C. Al finalizar el tratamiento del efluente textil, se filtró con papel filtro el contenido de los matraces o del biorreactor. Se colocó el filtrado en una cápsula de porcelana y se secó a 103 °C por una hora, se dejó enfriar en el desecador por una hora más antes

de pesar. La biomasa se obtuvo por la diferencia de pesos entre la biomasa final y la biomasa inicial.

2.7 Segunda etapa de tratamiento del efluente textil. Proceso de membrana de ultrafiltración

Una vez seleccionado el proceso biológico aerobio utilizado en la primera etapa de tratamiento, se aplicó una segunda etapa, la cual consistió en un proceso de ultrafiltración. Para ello se utilizó un módulo cilíndrico con una membrana polimérica marca PALL modelo AC0013D, de fibra hueca, hecha de poliacitronitrilo y un tamaño de poro de 13 kDa y módulo cilíndrico, como se muestra en la Figura 2.13.



Figura 2.13. Membrana de ultrafiltración marca PALL.

Para llevar a cabo el proceso de ultrafiltración, el efluente proveniente del proceso biológico se alimentó a la membrana mediante una bomba peristáltica en un proceso continuo, del que se obtuvieron dos corrientes: una con el permeado y la otra con el rechazo; ambas fueron colectadas en matraces Erlenmeyer, como lo muestra la Figura 2.14.



Figura 2.14. Proceso de tratamiento con membrana de ultrafiltración.

La calidad del efluente tratado mediante ultrafiltración se determinó en la corriente de permeado, de acuerdo a los mismos parámetros utilizados para la caracterización del efluente textil, siguiendo los mismos procedimientos establecidos en el punto 2.1 de este trabajo.

3.1 Caracterización del efluente

En la Figura 3.1 se presentan las imágenes de las muestras del efluente industrial proporcionadas por la empresa textil, en las que es posible observar que, de acuerdo a los procesos de producción, se tienen diferentes coloraciones. Los lotes proporcionados muestran efluentes sin color (Figura 3.1 a), de tonalidad roja (Figura 3.1 b) y de color azul (Figura 3.1 c). Las características fisicoquímicas de cada lote se muestran en la Tabla 3.1.



Figura 3.1. Tonalidades del efluente textil proporcionado por la empresa, a) lote 1, b) lote 2 y c) lote 3.

Parámetro	Lote 1	Lote 2	Lote 3
рН	6 <u>+</u> 0.1	4.2 <u>+</u> 0.1	5 <u>+</u> 0.1
DQO (mg/L)	1500 <u>+</u> 50	3100 <u>+</u> 50	3800 <u>+</u> 50
Turbiedad (UNF)	8.84 <u>+</u> 0.2	91 <u>+</u> 2	73 <u>+</u> 2
Sólidos disueltos (mg/L)	452 <u>+</u> 3	452 <u>+</u> 3	660 <u>+</u> 2
Sólidos suspendidos (mg/L)	70 <u>+</u> 2	70 <u>+</u> 2	86 <u>+</u> 2
Sólidos Totales (mg/L)	352 <u>+</u> 3	522 <u>+</u> 3	746 <u>+</u> 3
Coloración/Longitud de onda(nm)		Rojo intenso/528	Azul marino/616
Absorbancia máxima		0.85 <u>+</u> 0.2	0.77 <u>+</u> 0.1
Identificación de color		Rojo reactivo 120	Azul reactivo 171

Tabla 3.1. Caracterización fisicoquímica de los lotes 1-3 del efluente textil.

Dado la procedencia de los efluentes (diferentes procesos de la industria textil), los parámetros de calidad de cada lote mostraron valores distintos. El lote 3 presentó un mayor índice de contaminación referido a la DQO, seguido por el lote 2, y marcando una mayor diferencia con el lote 1.

Por otro lado, las bandas máximas de absorción de luz visible en 528 y 616 nm confirmaron la presencia de dos colorantes: uno rojo y otro azul, para el lote 2 y 3, respectivamente.

Debido a las diferencias de color descritas en los lotes 2 y 3, los siguientes resultados son referidos a estas muestras. En la Figura 3.2 se presenta un barrido espectrofotométrico en la región del visible para los lotes 2 y 3, lo que confirma la presencia de un colorante distinto en cada caso.



Figura 3.2. Barrido espectrofotométrico del efluente textil: a) lote 2 y b) lote 3.

De acuerdo a la longitud de onda máxima que muestra el lote 2 en 528 nm, fue revelada la presencia del colorante rojo reactivo 120. Mientras que el espectro del lote 3, presentó una longitud de onda máxima en 616 nm, correspondiente a el colorante textil azul reactivo 171. Ambos colorantes son del tipo reactivo, y son reconocidos ampliamente por su aplicación en la industria textil.

En la Figura 3.3 se presentan las estructuras químicas de los dos colorantes. El rojo reactivo 120 (Figura 3.3 a) se reconoce como un colorante aniónico. Su estructura química contiene dos grupos azo y dos triazinas sustituidas con cloro. El átomo de cloro de la estructura reacciona fácilmente con los grupos hidroxilo de la celulosa mediante una sustitución nucleófila. En cuanto a la estructura del azul reactivo 171 también llamado HER azul marino (Figura 3.3 b), ésta contiene dos fracciones reactivas llamadas grupos triazina monocloro y tienen un alto peso molecular.



Figura 3.3. Estructuras químicas de los colorantes identificados en los lotes 2 y 3 del efluente textil. a) Lote 2 rojo reactivo 120 y b) Lote 3 azul reactivo 171.

En ambos colorantes, se destaca su toxicidad, derivada de los grupos azo unido a cloro. El uso de estos colorantes en la industria textil se debe a que el cloro se une fuertemente a las fibras proporcionando fijación y teñido permanente.

Los colorantes reactivos son una clase de sustancias orgánicas de intensa coloración, utilizados principalmente para textiles en estampado y teñido; se adhieren a los sustratos por la reacción química entre la molécula de colorante y la molécula de la fibra. El colorante se convierte así en una parte de la fibra. Generalmente, este tipo de colorantes se aplica en tejidos a un pH de 6-7. Para un óptimo teñido, las fibras son blanqueadas en un rango de pH alto, para lo que es necesario pretratar las telas con sosa cáustica concentrada, lo que hace posible que en los efluentes se encuentre el colorante acompañado de blanqueadores y bases

Estos colorantes también fueron reportados por Su y Lin (2013) y Saratele *et al.* (2009) cada grupo por separado. En el estudio de decoloración de rojo reactivo a una concentración de 50 mg/L se utilizó un consorcio de *Aspergillus niger* y *Bacillus sp.* y se obtuvieron decoloraciones del 90% en la muestra sola y hasta el 94% cuando se adicionaron nutrientes (Su y Lin, 2013). En el caso de decoloración de azul reactivo a una concentración de 50 mg/L, se obtuvo una decoloración del 100% y una reducción de carbono total del 95%, en un período de 24 h, con una cepa de *Trichosporon beigelii*, nivel de pH controlado y adición de nutrientes (Saratele *et al.*, 2009).

Por otro lado, es difícil realizar un comparativo en la calidad de los efluentes utilizados para el propósito de esta investigación, ya que, por tratarse de efluentes industriales, cada lote presenta diferentes características, que van de acuerdo al tipo de fibra, los tintes, los insumos y la carga de producción. Sin embargo, con respecto al valor de la DQO, esta se encuentra dentro de los parámetros relacionados con efluentes textiles (Aguilar-Martínez *et al.*, 2010).

58
Para continuar con la investigación se consideró el uso de los efluentes con presencia de color por lo que los resultados que se presentan en esta sección fueron referidos a los lotes 2 y 3.

3.2 Adaptación del P. chrysosporium a efluentes de la industria textil

Los resultados de la adaptación del microorganismo a los efluentes de la industria textil son referidos al cultivo de la biomasa en medio sólido para los lotes 2 y 3. En la Figura 3.4 se muestran las fotografías de las cajas Petri del cultivo de *P. chrysosporium,* después de 7 días de incubación, donde se observa que hubo desarrollo de biomasa en ambos tipos de efluentes. Esto indicó que la composición de éstos y su colorante no inhibió el crecimiento del microorganismo.



Figura 3.4. Cultivo del *P. chrysosporium* en medio textil: a) lote 2 y b) lote 3.

Es importante señalar que por acción del *P. chrysosporium* se muestra claramente un halo de inhibición de color blanco al centro del disco de agar en ambos efluentes, lo que conlleva el efecto de la decoloración y degradación enzimática que realiza el microorganismo y permite considerar que, en efluentes textiles con características similares a los utilizados, es posible llevar a la práctica un proceso de degradación biológico con el uso del *P. chrysosporium*.

3.3 Obtención y caracterización del grafeno

En la Figura 3.5 se presentan los materiales obtenidos como resultado de los procesos realizados para obtención de: a) grafeno por el método de exfoliación mecánica, b) óxido de grafeno por el método de Hummers, y c) óxido de grafeno dispersado en agua

Aparentemente no existen diferencias entre las imágenes a) y c), las cuales muestran el material disperso; sin embargo, se trata de grafeno y óxido de grafeno. Éste último fue reconocido por la oxidación del material, que ocasionó el cambio de color en la muestra, el cual varió desde una tonalidad negra a una marrón, como lo indican Soto-Lopez *et al.* (2015).



Figura 3.5. Materiales obtenidos a partir de grafito. a) grafeno disperso en agua, b) óxido de grafeno seco y c) óxido de grafeno disperso en agua.

A fin de hacer una distinción entre los materiales obtenidos a partir de grafito, a continuación se detallan otras características que fueron determinadas para este material, asi como para el grafeno y para el óxido de grafeno.

1. Características morfológicas superficiales.

En la Figura 3.6. se muestran las micrografías obtenidas por SEM del grafito, el óxido de grafeno y el grafeno. En las dos primeras columnas de izquierda a derecha

se presentan los materiales obtenidos en este trabajo y, en la tercera, las imágenes de otros autores, a fin de comparar los materiales.

Las micrografías obtenidas para el grafito (Figura 3.6 a y b) muestran una estructura de láminas o escamas que tienen una forma irregular y son compactas, típicas del grafito, lo que es congruente con lo que muestran Jeong *et al.* (2008). Por su parte, el óxido de grafeno (Figura 3.6 d y e) exhibe dichas escamas de manera dispersa sin perder su compactación. De acuerdo a Zinadini *et al.* (2015) la compactación se atribuye a las hojas de grafeno presentes en solución, y lo que autores como Bayer *et al.* (2014), Jia *et al.* (2016) y Yin *et al.* (2016) denominaron como topografía arrugada.



Figura 3.6. Micrografías SEM de: (a, b y c) grafito, (d, e y f) óxido de grafeno y (g, h e i), grafeno.

Las micrografías correspondientes al grafeno (Figura 3.6 g y h) son semejantes a las del grafito, por lo que que es de esperar una estructura en forma de escamas; sin embargo, se observa una mayor cantidad de éstas; más finas y más pequeñas que las del grafito, las cuales puden alcanzar tamaños nanométricos. Autores como Yasmin *et al.* (2006) mostraron que el grafeno presenta una ligera separación de láminas con respecto al grafito. Mientras que Khan *et al.* (2016) destacaron que el grafeno presenta una textura mas escamosa que el grafito.

2. Características de porosidad y área superficial.

En la Tabla 3.2 se muestran los resultados del estudio de área superficial del grafito, de grafeno y de óxido de grafeno, realizados mediante la adsorción de N₂ con el método BET.

Material	Área superficial (m²/g)	Diámetro promedio de poro (nm)
Grafito	1.32	10.51
Óxido de grafeno	14.35	3.59
Grafeno	18.18	7.08

Tabla 3.2 Análisis de área superficial de los materiales obtenidos.

De los valores obtenidos se observa que el grafito presenta un área superficial menor y tamaño de poro mayor, en comparación con el óxido de grafeno y del grafeno. Este resultado era de esperarse, debido a que éstos últimos contienen capas más pequeñas que el grafito, lo que permite considerar la posible presencia de óxido de grafeno y grafeno en los materiales obtenidos. En la literatura se reporta que el óxido de grafeno presenta un área superficial de 6.33 m²/g y un diámetro promedio de poro de 3.15 nm (Özcan *et al.,* 2016). La diferencia entre los resultados de esta investigación y los valores que presentan los autores puede atribuirse al tamaño de las escamas del grafeno. Autores como Hasan *et al.* (2015) han reportado que las hojas de grafeno individuales pueden presentar diferentes dimensiones de superficie de acuerdo al tamaño de las láminas.

Por último, Rhee *et al.* (2015) obtuvieron un grafeno con un área superficial extremadamente alta de 2274 m²/g, en comparación con los nanotubos de carbono y las nanoláminas de grafeno que tienen áreas entre 50 y 200 m²/g).

3. Identificación de grupos funcionales.

En la Figura 3.7 se muestran los espectros de infrarrojo obtenidos del análisis de cada uno de los materiales, en la cual se incluyó el grafeno comercial utilizado como referente e indicado como grafeno C.



Figura 3.7. Espectros FTIR de las muestras de grafito, de grafeno comercial, de grafeno y de óxido de grafeno.

El espectro del grafito no presentó picos significativos, esta misma observación la hicieron autores como Choi *et al.* (2010).

En el espectro del grafeno comercial se observan bandas de baja intensidad, una en 1570 cm⁻¹ lo cual es atribuido al grupo C=C, que de acuerdo a Lim *et al.* (2011) e Igbinigun *et al.* (2016) es característico de las láminas de grafeno. Y otra en 1100 cm⁻¹ aproximadamente, lo que Castro-Beltrán *et al.* (2011) atribuyen a la vibración característica de los grupos éter (C-O).

Por otra parte el grafeno obtenido se manifestó con bandas de intensidad leve en 1410 cm⁻¹ y 1010 cm⁻¹ que se atribuyen a la flexión del O-H y a las vibraciones de estiramiento de C-O. Este último identifica la posible presencia de grafeno (Choi *et al*; 2010).

El espectro del óxido de grafeno presentó picos débiles en 1700 cm⁻¹, 1610 cm⁻¹, y que se atribuyen a la vibración de C-O y C=C, un pico fuerte en 1000 cm⁻¹ atribuido a C-OH y picos tenues entre 700 y 900 cm⁻¹ que corresponden a los grupos epoxi. Las vibraciones indicadas muestran la presencia del óxido de grafeno de acuerdo con las caracterizaciones de autores como Xu *et al.*, 2008; Castro-Beltrán *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2015; Zinadini *et al.*, 2015; Igbinigun *et al.*, 2016 y Jia *et al.*, 2016.

4. Análisis por espectroscopía Raman.

En la Figura 3.8 se presentan los espectros Raman de los materiales obtenidos como óxido de grafeno, grafeno, asi como, del grafito y del grafeno comercial utilizado como referente. El espectro correspondiente al grafito presenta de manera definida una banda característica alrededor de los 1600 cm⁻¹, denominada banda-G, marcada por Jeong *et al.* (2008), mientras las bandas pequeñas mostradas aproximadamente en 1350 y 2700 cm⁻¹ corresponden a defectos de la red de carbono y son denominadas bandas D y 2D, respectivamente (Bayer *et al.*, 2014).



Figura 3.8. Espectro RAMAN de las muestras de grafeno comercial, de grafito, de grafeno y de óxido de grafeno.

El grafeno obtenido muestra un espectro Raman similar al del grafito, con las bandas definidas en 1350 cm⁻¹ (D), en 1600 cm⁻¹ (G) y en 2700 cm⁻¹ (2D), pero de mayor intensidad, lo que autores como Ferrari *et al.* (2006) y Nuvoli *et al.* (2011), consideran que esas bandas confirman la presencia de grafeno.

Por su parte, el espectro del grafeno comercial muestra las bandas en 1350 cm⁻¹ (D), en 1600 cm⁻¹ (G), pero de menor intensidad. Lo que autores como Bautista *et al.* (2013), reportaron como la cantidad de capas de grafeno, indicando que a mayor intensidad en la muestra mayor cantidad de capas de grafeno. En este sentido, se considera que el espectro del grafeno comercial es de menor número de capas, mientras que la banda 2D se manifiesta en 2500 cm⁻¹, lo que indica que no hay un corrimiento por la cantidad de capas.

En el espectro del óxido de grafeno se observó de manera clara la banda G en 1585 cm⁻¹ y la banda D en 1338 cm⁻¹ que se asignan, de acuerdo con Chen *et al.* (2015), a la estructura y defectos del grafito situados en los bordes del grafeno. Otros autores, que utilizaron el método de oxidación de Hummers, ubicaron estas dos bandas para el óxido del grafeno aunque la intensidad de la banda y la posición variaron ligeramente su ubicación en la banda D en 1347 cm⁻¹ y la banda G en 1594 cm⁻¹ (Jeong *et al.,* 2008; Bayer *et al.,* 2014; Igbinigun *et al.,* 2016; Yin *et al.,* 2016; Khan *et al.,* 2016). Con base en el análisis de las bandas presentes y lo reportado en la literatura, se consideró que el material que se obtuvo de la síntesis fue óxido de grafeno.

6. Análisis por difracción de rayos-X.

En la Figura 3.9. se presentan los difractogramas obtenidos por difracción de rayos-X de los materiales grafito, óxido de grafeno y grafeno.



Figura 3.9. Difractogramas de grafeno, de óxido de grafeno y de grafito.

El grafito muestra un difractograma que coincide y se alinea con los puntos del estándar de la librería propia del equipo, que identifican la estructura del grafito original, así como lo reportado en la literatura (Chen *et al.,* 2015).

El grafeno obtenido presentó un difractograma similar al del grafito. Bayer *et al.* (2014) argumentan que el pico ubicado en 26.5° corresponde, en ambos casos, a grafito/grafeno. Sin embargo, autores como Chen *et al.* (2015) solo lo atribuyen al grafito. Debido a esta diferencia de criterio para identificar el grafeno, en este trabajo se considera que este análisis no es suficiente para indicar que el material corresponda en su totalidad al grafeno.

El difractograma del óxido de grafeno presenta similitud con el del grafito, lo que indica que existe gran parte del material como grafito y se nota una banda adicional en un ángulo de 12° aproximadamente, lo que coincide con la oxidación de grafeno; esto basado en lo reportado por Lim *et al.* (2011), Kumar *et al.* (2012), Shahriary y Athawale, (2014), y Bayer *et al.* (2014), donde la difracción de rayos X del óxido de grafeno tiene este comportamiento y se presenta en los 9.1, 11,11.6 y12 grados, por lo que la muestra refleja la presencia de óxido de grafeno y grafito.

Al finalizar la etapa de caracterización se consideró que los materiales buscados fueron obtenidos y pueden identificarse como óxido de grafeno y grafeno. Y que es posible que exista una parte residual de grafito u óxido de grafito.

3.4 Obtención de matrices híbridas de encapsulamiento

En la Tabla 3.3 se muestra la apariencia de las matrices esféricas obtenidas con los materiales dispersantes, representados en columnas, y los materiales dispersos, representados en renglones. Los materiales desarrollados fueron: agar-silica gel (A-SG), agar-carbón activado (A-CA), agar-almidón (A-AL), agar-grafito (A-g), agar-

silica (A-S), alginato-silica gel (AA-SG), alginato-carbón activado (AA-CA), alginatoalmidón (AA-AL), alginato-grafito (AA-g), alginato-silica (AA-S), quitosano-silica gel (Q-SG), quitosano-carbón activado (Q-CA) y quitosano-grafito (Q-g).

Materiales	Agar (A)	Alginato (AA)	Quitosano (Q)
Silica Gel (SG)	States and		S. B.
Carbón activado (CA)			
Almidón (AL)			Material no desarrollado
Grafito (g)			
Silica coloidal (S)			Material no desarrollado

Tabla 3.3 Apariencia de las matrices poliméricas obtenidas.

De estos resultados se destaca que el agar presentó una baja tolerancia al pH y a la permanencia en el agua, así como dificultad para formar las esferas o encapsulados durante el goteo (en agua y aceite-emulsión) y presentó desprendimiento de material.

Las matrices de quitosano generaron problemas desde el goteo en NaOH, donde al final del tiempo de contacto en la solución hubo desprendimiento de material, lo que indicó que el proceso de reticulación no fue eficiente. Esto difiere con los reportes que presentan al quitosano como un material resistente y de posible reuso (Cifuentes y Rojas, 2005; Li *et al.,* 2012; Dincer *et al.,* 2012; Xu *et al.,* 2013; Wang *et al.,* 2014). Sin embargo, los autores indicaron que la reticulación con

glutaraldehído mejora la resistencia del quitosano, pero en el caso de su aplicación para el encapsulamiento de microorganismos, este material puede afectar debido a su toxicidad.

Por lo anterior se consideró en este trabajo usar como matriz o material dispersante el alginato (AA), al cual se adicionaron diferentes materiales dispersos para obtener compositos o híbridos de AA. En la Tabla 3.5 se presentan los materiales que fueron desarrollados. Con dos materiales: AA-caolín, AA-arcilla, AA-alumina, AA-wallastonita, AA-bórax, AA-dolomita, AA-óxido de grafeno, AA-talco industrial, AA-PVA, AA-bentonita, AA-dolomita, AA-grafeno. Para los compuestos de tres materiales se desarrollaron: alginato-silica-carbón activado (AA-S-CA), alginato-almidón-grafeno (AA-A-G), alginato-PVA-arcilla (AA-PVA-AC), alginato-carboximetilcelulosa-grafeno (AA-CC-G), alginato-silica-grafeno (AA-S-G), alginato-PVA-grafeno (AA-PVA-W).

En general, el AA formó esferas uniformes en la mayoría de los casos por el goteo en cloruro de calcio. Después del período de contacto con éste, la mayoría de las esferas presentaron estabilidad, excepto la mezcla AA-CC-G que mostró ablandamiento, con desprendimiento del grafeno, a pesar de que la carboximetilcelulosa fue reportada como un elemento que brinda estabilidad, por Trujillo-Reyes *et al.* (2014) y Nakawaga *et al.* (2013).

En el desarrollo de esta etapa se presentaron dificultades en el goteo con los materiales arcillosos principalmente, por lo que se fueron descartando los materiales de: alginato-silica-carbón activado (AA-S-CA), alginato-almidón-grafeno (AA-A-G), alginato-PVA-arcilla (AA-PVA-AC), alginato-carboximetilcelulosa-grafeno (AA-CC-G), y alginato-PVA-wallastonita (AA-PVA-W).

AA-caolin	AA-arcilla	AA-alumina	AA-wallastonita
24.2			A State Road
AA-borax	AA-dolomita	AA-óxido de grafeno	AA-talco industrial
and and		and the second	ALL AND
AA-PVA	AA-bentonita	AA-lignina	AA-grafeno
-			City.
AA-S-CA	AA-A-G	AA-PVA-AC	AA-CC-G
*	and the second		
AA-S-G	AA-Q-G	AA-PVA-G	AA-PVA-W

Tabla 3.5. Esferas de encapsulamiento desarrolladas con AA y uno, o dos materiales dispersos.

3.4.1 Caracterización de las matrices híbridas de encapsulamiento

1. Resistencia mecánica

En la Tabla 3.6 se presentan los resultados obtenidos de la resistencia mecánica de los encapsulados, en relación al pH y permanencia en el agua por 7 días. Es importante considerar que el material de referencia es el alginato. La prueba se considera aceptada (√) cuando la matriz polimérica toleró su permanencia en el

agua y a valores de 4 y 8 de pH, y no aceptada (X) cuando la matriz polimérica sufrió desprendimiento de material durante la aplicación de la prueba mencionada. Los encapsulados híbridos con los mejores resultados de este análisis fueron las compuestas de los siguientes materiales: AA, AA-S, AA-wallastonita, AA-G, AA-S-G y AA-PVA-G.

Materiales del encapsulado	Tolerancia pH 4	Tolerancia pH 8	Permanencia en el agua
AA	\checkmark	\checkmark	\checkmark
AA-g	Х	\checkmark	\checkmark
AA-S	\checkmark	\checkmark	\checkmark
AA-AC	Х	\checkmark	\checkmark
AA-alúmina	Х	\checkmark	Х
AA-caolín	Х	\checkmark	Х
AA-dolomita	Х	\checkmark	Х
AA-talco	\checkmark	\checkmark	Х
AA-bórax	Х	\checkmark	\checkmark
AA-wallastonita	\checkmark	\checkmark	\checkmark
AA-bentonita	\checkmark	\checkmark	Х
AA-lignina	\checkmark	\checkmark	Х
AA-G	\checkmark	\checkmark	\checkmark
AA-PVA	\checkmark	\checkmark	Х
AA-S-G	\checkmark	\checkmark	\checkmark
AA-OG	\checkmark	\checkmark	Х
AA-PVA-G	\checkmark	\checkmark	\checkmark

Tabla 3.6. Resistencia mecánica de los encapsulados por agitación.

2. Características morfológicas

Al considerar los resultados del punto anterior, las matrices poliméricas más estables al flujo por agitación en su permanencia en el agua y más tolerantes al pH fueron consideradas para determinar su morfología, a través de la técnica de MEB. La Figura 3.10 (a-f) muestra las micrografías de AA, AA-S y AA-wallastonita.



Figura 3.10. Micrografías (MEB) de las matrices de: (a y b) AA, (c y d) AA-S y (e y f) AA-wallastonita.

En este primer grupo de micrografías se puede apreciar la morfología rugosa característica del alginato, como material base (Figura 3.10 a y b). También se observó que la adición de silica al parecer incrementó la rugosidad del encapsulado (Figura 3.10 c y d). Cabe resaltar que estos encapsulados muestran que la silica tiene una integración homogénea con el alginato al ser muy similares las imágenes. Por su parte, la adición de wallastonita (Figura 3.10 e y f) mostró un exceso de material al exterior de la esfera, lo que puede observarse como cuerpos blancos en la superficie; esto indicó que la integración del material no es completa y éste podría desprenderse u obstruir la porosidad del encapsulado, razón por la cual fue descartada para su uso como encapsulado del microorganismo.

En la Figura 3.11 (a-h) se presentan las micrografías correspondientes a los materiales de AA, AA-PVA, AA-G y AA-PVA-G.



Figura 3.11. Micrografías (MEB) de los encapsulados de: (a y b) AA, (c y d) AA-PVA, (e y f) AA-G y (g y h) AA-PVA-G.

En este segundo grupo de micrografías se observó que la morfología del alginato (Figura 3.11 a y b) predomina en todos los encapsulados. Las matrices híbridas de

AA-PVA (Figura 3.11 c y d) presentaron una apariencia de menor rugosidad lo que se interpretó como la unión con el material dispersante. En la adición de grafeno al AA (Figura 3.11 e y f) se observó en la micrografía un incremento de la rugosidad y algunas aglomeraciones que fueron atribuidas al grafeno, en general al observar el encapsulado en la Tabla 3.5, su resistencia a la agitación y su tolerancia al pH se consideró una integración de materiales aceptable en el encapsulado.

Para el encapsulado AA-PVA-G (Figura 3.11 g y h) se observó que el PVA proporcionó aparentemente una mejor integración de los materiales en comparación con el encapsulado de AA-G.

2. Características de porosidad.

Los resultados del estudio de tamaño de poro de las matrices híbridas con base en alginato asociado a materiales de silica, PVA y grafeno se presentan en la Tabla 3.7. Se consideró el encapsulado de alginato como punto de partida para este análisis.

Sistema	Tamaño de poro (seco) [nm]	Tamaño de poro (húmedo) calculado [nm]
AA (Sierra, 2014)	6.03	15.4
AA-S	7.08	16.8
AA-PVA	5.7	14.3
AA-PVA-G	3.56	9.2

Tabla 3.7 Análisis del tamaño de poro de los sistemas de encapsulamiento.

Como puede observarse, los tamaños de poro fueron muy similares en los 3 primeros materiales, mientras que el encapsulado de AA-PVA-G mostró una reducción del 40% del valor con respecto al alginato, esto debido en un 7% por su asociación al PVA y un 32 % debido a la inclusión de grafeno. Todos los valores de tamaño de poro indicaron que es posible preservar el microorganismo en los encapsulados l

3.5 Encapsulamiento de biomasa de *P. chrysosporium* en matrices híbridas seleccionadas

El *P. chrysosporium* se encapsuló en las matrices de AA, AA-S, AA-S-G y AA-PVA-G. El encapsulado del microorganismo no presentó cambios físicos en las matrices, en las cuales solo se aprecia el tipo de material utilizado, la forma esférica y la uniformidad en el tamaño. En las fotografías de la Figura 3.12 (a y b) se aprecian las matrices que presentaron las mejores características AA-S y AA-PVA-G, respectivamente.



Figura 3.12 Encapsulados con *P. chrysosporium* en: a) AA-S y b) AA-PVA-G.

Es importante señalar en este apartado que se verificó la permanencia del microorganismo dentro del encapsulado después de 30 días de almacenado en agua estéril, a 4 °C y al finalizar los 7 días de tratamiento en el efluente. El encapsulado se sembró en medio sólido PDA y se verificó su crecimiento. La Figura 3.13 muestra estos resultados.



Figura 3.13. Sembrado de encapsulados: a) almacenado por 30 días y b) después de finalizar el tratamiento.

En la fotografía puede observarse que el crecimiento del hongo no se vio limitado por el almacenamiento o por su actividad en el tratamiento del efluente. Lo anterior indica que el microorganismo preservó sus capacidades biológicas y metabólicas en ambas condiciones. Esto indica que es posible utilizar un microrganismo confinado en un encapsulado hasta 30 días después de haberse integrado a éste. Y, que en ese tiempo, el microrganismo encapsulado mantiene sus capacidades enzimáticas activas, por lo que puede ser reutilizado con el mismo propósito en el efluente textil.

3.6 Primera etapa de tratamiento del efluente textil. Proceso biológico aerobio con biomasa encapsulada de *P. chrysosporium*

En este apartado se muestran los resultados obtenidos del tratamiento biológico del efluente textil, de acuerdo a lo establecido en la metodología. Los resultados presentados corresponden al uso de biomasa en estado libre y la biomasa contenida en los encapsulados de AA-PVA-G.

3.6.1 Tratamiento biológico con suministro de aire indirecto por agitación orbital

Al realizar el tratamiento biológico del efluente textil con encapsulados de AA-S, éstos permanecieron en el fondo del reactor, debido a su peso, promoviendo la aglomeración de esferas con resultados poco satisfactorios en el proceso biológico, por lo que la aplicación de estos encapsulados fue descartada para el tratamiento híbrido propuesto.

Las muestras del efluente textil y las obtenidas después del tratamiento biológico aerobio con suministro de aire indirecto para microorganismo en estado libre y encapsulados de AA-PVA-G se muestran en la Figura 3.14 (a-f), donde se observó que la coloración disminuyó de manera considerable al finalizar el tratamiento con agitación.



Figura 3.14. Efluente textil rojo: a) sin tratar, b) tratado con micelio libre y c) tratado con el encapsulado de *P. chrysosporium*. Efluente textil azul: a) sin tratar, b) tratado con micelio libre y c) tratado con el encapsulado de *P. chrysosporium*.

3.6.1.1 Evaluación de la calidad del efluente tratado

De manera cuantitativa, la Tabla 3.8 muestra los valores de la turbiedad, los sólidos y los porcentajes de reducción de DQO y de color, al finalizar el período de tratamiento, lo que corroboró la eficiencia del tratamiento. Como referentes se presentan los valores iniciales del efluente y los resultados obtenidos utilizando biomasa libre.

	Efluente textil rojo reactivo 120			Efluente textil azul reactivo 171		
Parámetro	Inicial	BL	BE	Inicial	BL	BE
pН	4.2 <i>±</i> 0.1	6.5 <i>±</i> 0.1	6.5 <i>±</i> 0.1	5 <i>±</i> 0.1	6.5 <i>±</i> 0.1	6.5 <i>±</i> 0.1
Turbiedad (NTU)	91 <i>±</i> 2	3.8 <i>±</i> 0.1	2.9 <i>±</i> 0.2	73 <i>±</i> 2	3.6 <i>±</i> 0.1	3.8 <i>±</i> 0.2
Sólidos totales (mg)	522 <i>±</i> 3	233 <i>±</i> 14	265 <i>±</i> 11	746 <i>±</i> 3	412 <i>±</i> 22	501 <i>±</i> 25
DQO (mg/L) / % de reducción	3100 <i>±</i> 50	930 <i>±</i> 15 / 70%	1085 <i>±</i> 18 65%	3800 <i>±</i> 50	1140 <i>±</i> 17 70%	1330 <i>±</i> 20 65%
Absorbancia / %		0.09	0.17		0.03	0.23
reducción de	0.85 <i>±</i> 0.2	<i>±</i> 0.01 /	<i>±</i> 0.01 /	0.77 <i>±</i> 0.1	<i>±</i> 0.01 /	<i>±</i> 0.01 /
color		89%	80%		95%	70%

Tabla 3.8 Evaluación del tratamiento en su primera etapa en reactor, con suministro de aire indirecto.

BL: biomasa libre. BE: biomasa encapsulada

En general, los resultados de remoción de todos los parámetros analizados, mediante el proceso biológico en mención, mostraron que el uso del microorganismo encapsulado en matrices AA-PVA-G fueron adecuados para llevar a cabo el tratamiento de un efluente textil, evidenciándose por un comportamiento similar a las biodegradaciones realizadas por la biomasa libre en ambos efluentes. La actividad metabólica del *P. chrysosporium* también se reflejó en el incremento del pH, la reducción de la turbiedad superior al 95% y la reducción de sólidos en ambos efluentes.

Para ilustrar el comportamiento de reducción de color y de DQO se presentan en la Figura 3.15 las cinéticas de remoción respectivas.



Figura 3.15. a) Cinética de reducción de DQO y b) cinética de reducción de color para el tratamiento biológico con aireación indirecta.

79

Particularmente, a través de este método, se destaca el resultado de remoción de DQO en el efluente textil, con una tendencia similar en ambos efluentes y teniendo resultados de 70% con el uso de biomasa libre y de un 65% con los encapsulados, lo cual es congruente y similar a los obtenidos por Mullai y Vishali (2007), Gomathi *et al.*, (2012), González, (2012) y Sierra, (2014), en los cuales se utilizó biomasa encapsulada para el tratamiento de efluentes.

La remoción de color fue superior en el tratamiento con biomasa libre alcanzando 89% para el efluente rojo y 95% para el efluente azul, mientras que el tratamiento con encapsulados logró una remoción de 80% en el efluente rojo y 70% en el efluente azul, esto se traduce en menor eficiencia del tratamiento con encapsulados. Resultados similares en la decoloración de tintes azo con *P. chrysosporium* inmovilizado, fueron reportados por Enayatizamir *et al.,* (2010).

3.6.2 Tratamiento biológico con suministro de aire directo en un reactor tipo airlift

El suministro de aire directo se realizó con un reactor airlift, con un flujo de aire de 1.5 L/min; la Figura 3.16 muestra el tratamiento biológico utilizado en los efluentes textiles rojo y azul. Cabe señalar que la coloración disminuyó significativamente al finalizar el tratamiento.



Figura 3.16. Reactor airlift. Efluente textil rojo: a) con biomasa libre, b) con biomasa encapsulada y c) efluente tratado. Efluente textil azul: d) con biomasa libre, e) con biomasa encapsulada y f) efluente tratado.

3.6.2.1 Evaluación de la calidad del efluente tratado

De manera cuantitativa, la Tabla 3.9 muestra los valores de la turbiedad, los sólidos totales, los porcentajes de reducción de DQO y de color, al finalizar el período de tratamiento con un suministro de aire directo. El tratamiento con biomasa libre y los valores iniciales del efluente son considerados para el análisis de resultados.

La turbiedad y los sólidos presentaron valores más eficientes para el efluente con rojo reactivo, en comparación con el efluente con azul reactivo. Esto indica un comportamiento similar al tratamiento por aireación indirecta. Sin embargo, los valores de remoción de DQO y color sí presentaron diferencias.

	Efluente textil rojo reactivo 120			Efluente textil azul reactivo 171		
Parámetro	Inicial	BL	BE	Inicial	BL	BE
pН	4.2 <i>±</i> 0.1	6 <i>±</i> 0.1	6 <i>±</i> 0.1	5 <i>±</i> 0.1	6 <i>±</i> 0.1	5.6 <i>±</i> 0.1
Turbiedad (NTU)	91 <i>±</i> 2	2 <i>±</i> 0.1	2.1 <i>±</i> 0.2	73 <i>±</i> 2	5.4 <i>±</i> 0.1	5 <i>±</i> 0.2
Sólidos totales (mg)	522 <i>±</i> 3	278 <i>±</i> 14	392 <i>±</i> 11	746 <i>±</i> 3	465 <i>±</i> 22	559 <i>±</i> 25
DQO (mg/L) / reducción (%)	3100 <i>±</i> 50	1700 <i>±</i> 22 / 45%	1900 <i>±</i> 20 38.7%	3800 <i>±</i> 50	1900 <i>±</i> 20 50%	2200 <i>±</i> 25 42%
Absorbancia /		0.25	0.42		0.08	0.46
reducción de	0.85 <i>±</i> 0.2	<u>+</u> 0.01 /	<u>+</u> 0.02 /	0.77 <i>±</i> 0.1	±0.01 /	<u>+</u> 0.02 /
color (%)		70%	50%		90%	40%

Tabla 3.9. Evaluación del tratamiento en su primera etapa en reactor, con

suministro de aire directo (biorreactor airlift).

BL: biomasa libre. BE: biomasa encapsulada

En la Figura 3.17 se presentan las cinéticas del comportamiento de reducción de DQO y de color para este tratamiento.

La reducción de la DQO en el reactor airlift para ambos efluentes, tanto para micelio libre como encapsulado, estuvo por debajo del 50%. Esto puede deberse a que el microorganismo disminuyó su capacidad de degradación por el tipo de suministro de aireación y/o el exceso de movimiento a que fue sometido (Xiong *et al.*, 2008).

Por otra parte, la decoloración disminuyó en el efluente azul un 90% y en el efluente rojo un 70% con el uso de micelio libre, mientras que el microorganismo encapsulado solo redujo el color entre un 40 y un 50%, hasta un 90%. Esta gran diferencia en los porcentajes podría estar asociada a la mayor producción de enzimas fúngicas como lacasa y su alta afinidad por la coloración azul (González *et al.*, 2014).



Figura 3.17 a) Cinética de reducción de DQO y b) cinética de reducción de color para el tratamiento biológico con aireación directa.

Los resultados de ambos procesos de tratamiento sugieren que los experimentos de degradación se vieron afectados considerablemente por el tipo de reactor, seguido de la estructura del colorante y la afinidad del microorganismo. El tratamiento de ambas muestras textiles logró la reducción de DQO y la eliminación de color; en particular, el biorreactor con suministro de aire indirecto presentó una mayor eficiencia.

Por tanto, la diferencia entre los valores de DQO al finalizar el tratamiento en los reactores se asoció al tipo de aireación. En la primera etapa, la agitación mecánica posiblemente aceleró las tasas de reducción de DQO, al permitir un mejor suministro de oxígeno; lo que no sucedió con el suministro de aire en el biorreactor airlift, en donde las condiciones hidrodinámicas no permitieron velocidades de aire óptimas hacia la biomasa encapsulada. El efecto de cizallamiento, probablemente, también fue crítico en este reactor, lo que limitó la acción metabólica del microorganismo. Otros fenómenos, como las partículas depositadas en la superficie de la esfera y el bloqueo de los poros del encapsulado por los sólidos presentes, también podrían haber reducido la transferencia de masa y causar la muerte celular dentro del encapsulado. Por último, otro posible factor que podría limitar la degradación de DQO es la presencia de sustancias tóxicas en las aguas residuales textiles.

En lo que respecta a la eliminación de color, ambos procesos presentaron comportamientos similares. Sin embargo, el reactor airlift exhibió menor reducción de color, lo que indica que, efectivamente, el flujo de aire en el reactor no fue el ideal para permitir la biodegradación. Otros factores que pudieron afectar este proceso son la estructura del colorante y la composición del agua residual textil.

3.6.3 Evaluación de la biomasa

Los datos obtenidos del peso de biomasa se presentan en la Tabla 3.10.

Suministro de aire	Biomasa en el efluente textil con rojo reactivo 120 (mg)		Biomasa en el efluente textil con azul reactivo 171 (mg)	
	Libre	Encapsulada	Libre	Encapsulada
Agitación (indirecto)	1750 <i>±</i> 35	910 <i>±</i> 20 (52%)	1160 <i>±</i> 17	912 <i>±</i> 18 (78%)
Airlift (directo)	1890 <i>±</i> 21	376 <i>±</i> 12 (20%)	510 <i>±</i> 13	256±10 (50%)

Tabla 3.10. Peso de biomasa obtenida al final del tratamiento biológico con

Se consideró como antecedente que la biomasa utilizada de manera libre es proporcional a la biomasa que contiene la cantidad de encapsulado utilizada en el tratamiento, se observó que en los valores mostrados en la Tabla 3.10, se presentó un comportamiento de control en el crecimiento de la biomasa para los encapsulados, al compararlo con el estado libre, en ambos efluentes y para los tratamientos con diferente suministro de aire.

Específicamente se observó que con suministro de aire indirecto, el microorganismo encapsulado tuvo un crecimiento con porcentajes mayores que al utilizar un suministro de aire indirecto, indicativo de que la aireación pudo influir en el desarrollo del microorganismo (Xiong *et al.*, 2008).

En general, el crecimiento fúngico durante el tratamiento con biomasa libre y con los encapsulados indicó que este tipo de efluentes tienen las condiciones suficientes de cultivo para el desarrollo de células fúngicas. Particularmente, el efluente con rojo reactivo mostró una biomasa libre máxima de 1890 mg con aireación directa y una biomasa encapsulada máxima de 910 mg con aireación indirecta. En el caso del efluente con azul reactivo, se encontró que mediante aireación indirecta fue posible alcanzar el máximo peso de biomasa. Este comportamiento se puede asociar a dos causas: a la toxicidad del efluente y a la velocidad de flujo en el reactor airlift, por la forma en que se suministró el aire, como se explicó anteriormente.

3.7 Segunda etapa de tratamiento del efluente textil. Proceso de membrana de ultrafiltración

En esta última etapa se obtuvo un flujo de permeado para los efluentes tratados en reactor por agitación y reactor airlift. La ultrafiltración de efluentes con aireación indirecta tuvo un flujo alto de permeado de 2 L/m²h durante 2 h, lo que indica una cantidad mínima de incrustaciones o bajo nivel de ensuciamiento. En el caso de la filtración de efluentes en reactor airlift, éstos mostraron un flujo de permeado similar; sin embargo, el tiempo de filtración constante fue de 1 h, lo cual reveló el ensuciamiento de la membrana en un tiempo menor.

Como parte final del tratamiento a los efluentes textiles, en la Figura 3.18 se presentan las imágenes de los efluentes depurados por el proceso biológico utilizando biomasa libre, encapsulada y el permeado que se obtuvo del tratamiento con la membrana para el efluente con rojo reactivo 120 y en la Figura 3.19 las correspondientes al azul reactivo 171.

En las imágenes (Figura 3.18 y Figura 3.19) destaca la obtención de efluentes permeados con una calidad aparentemente libre de turbiedad, coloración y, posiblemente, sin elevadas cargas de contaminantes.



Figura 3.18. Efluente rojo reactivo 120: a) proceso biológico BL, b) permeado BL, c) proceso biológico BE y d) permeado BE.



Figura 3.19. Efluente azul reactivo 171: a) proceso biológico BL, b) permeado BL, c) proceso biológico BE y d) permeado BE.

3.7.1 Evaluación de la calidad del efluente tratado

Como parte final del tratamiento se presenta la evaluación de parámetros de calidad en la Tabla 3.11, donde se observan el pH, la turbiedad, los sólidos totales, los porcentajes de reducción de DQO y reducción de color, con valores mínimos que permiten considerar que el efluente puede ser reutilizado por la industria textil.

Los resultados mostraron que la filtración por membrana redujo los parámetros de concentración de DQO y de color significativamente, con porcentajes del 95 al 100%, respectivamente, incrementando la calidad del efluente desde un 25% para reducción de DQO y desde un 5% en remoción de color, al comparar los resultados con el tratamiento biológico.

Los resultados de DQO muestran ser superiores a los obtenidos por Salazar *et al.* (2009), quienes utilizaron dos membranas de ultrafiltración y un sistema biológico de lodos activados, y reportaron una remoción de DQO de 89%, así como un porcentaje de 69% en remoción de color. En comparación con el trabajo De Jager *et al.* (2014), la reducción de DQO obtenida fue superior en un 8% y la remoción de color fue prácticamente igual. Sin embargo, su sistema de tratamiento fue basado

en un tanque de homogenización, seguido de un proceso biológico anaerobio, un proceso biológico aerobio y, finalmente, una membrana de ultrafiltración.

	Ef	luente textil r	ojo reactivo 1	20
Parámetro	BL		В	E
	Agitación	Airlift	Agitación	Airlift
рН	6.7	6.6	6.8	6.4
Turbiedad (NTU)	0.20	0.20	0.93	0.67
Sólidos totales (mg)	156 <i>±</i> 5	178 <i>±</i> 10	150 <i>±</i> 5	292 <i>±</i> 8
DQO (mg/L) / Reducción	189 <i>±</i> 6 /	150 <i>±</i> 10 /	175 <i>±</i> 8 /	150 <i>±</i> 5 /
(%)	93.9%	95.1%	94.3%	95.1%
Absorbancia / Reducción de color (%)	0 / 100%	0 / 100%	0 / 100%	0 / 100%
	Ef	luonto toxtil a	zul roactivo 1	71
		iuenie iekin a		/ 1
Parámetro	B		B	SE
Parámetro	B Agitación	Airlift	Agitación	E Airlift
Parámetro pH	Agitación 6.5	Airlift 6.8	Agitación 6.5	E Airlift 6.7
Parámetro pH Turbiedad (NTU)	Agitación 6.5 3.6	Airlift 6.8 0.61	Agitación 6.5 0.61	E Airlift 6.7 1.70
Parámetro pH Turbiedad (NTU) Sólidos totales (mg)	Agitación 6.5 3.6 312±10	Airlift 6.8 0.61 265±8	B Agitación 6.5 0.61 301 <i>±</i> 10	E Airlift 6.7 1.70 359±12
Parámetro pH Turbiedad (NTU) Sólidos totales (mg) DQO (mg/L) / Reducción	B Agitación 6.5 3.6 312±10 220±7 /	Airlift 6.8 0.61 265±8 350±11 /	B Agitación 6.5 0.61 301±10 258±11 /	E Airlift 6.7 1.70 359±12 399±10 /
Parámetro pH Turbiedad (NTU) Sólidos totales (mg) DQO (mg/L) / Reducción (%)	Agitación 6.5 3.6 312±10 220±7 / 94.2%	Airlift 6.8 0.61 265±8 350±11 / 90.8%	B Agitación 6.5 0.61 301±10 258±11 / 93.2%	E Airlift 6.7 1.70 359±12 399±10 / 89.5%
Parámetro pH Turbiedad (NTU) Sólidos totales (mg) DQO (mg/L) / Reducción (%) Absorbancia / Reducción	B Agitación 6.5 3.6 312±10 220±7 / 94.2% 0.10±0.01 /	Airlift 6.8 0.61 265±8 350±11 / 90.8% 0.10±0.01 /	B Agitación 6.5 0.61 301±10 258±11 / 93.2% 0.12±0.01 /	E Airlift 6.7 1.70 359±12 399±10 / 89.5% 0.15±0.01 /

Tabla 3.11. Evaluación del tratamiento propuesto para el efluente textil.

BL: biomasa libre. BE: biomasa encapsulada

De acuerdo a los datos obtenidos, es posible sugerir un proceso de tratamiento combinado para la depuración de efluentes textiles con alta coloración roja, basado en un proceso biológico con encapsulados de biomasa de *P. chrysosporium* de AA-PVA-G con suministro de aire indirecto por agitación, seguido de un proceso de ultrafiltración.

Por otro lado, la calidad del efluente tratado mediante el proceso sugerido muestra la posibilidad de su reuso en riego agrícola o para uso público urbano, ya que, de acuerdo a la NOM-001-SEMARNAT-1996, se establece que para esta disposición es necesaria una DQO de 150-200 mg/L. También se puede disponer para nutrir cuerpos de agua, debido a que según el banco mundial del agua, con una DQO

inferior a 250 mg/L se previene y se abate la contaminación de los efluentes receptores.

Por último, es de considerar que la industria textil estudiada marca algunos parámetros de calidad del agua para poder ser reutilizada. Estos valores se muestran en la Tabla 3.12 proporcionada por la empresa.

Tabla 3.12. Requerimientos de calidad del agua tratada mediante un proceso debiorremediación-UF y agua de la industria textil para fines de reciclaje y

Parámetro	Límites máximos requeridos en la recuperación de agua para su reutilización	Intervalo de calidad aceptable del agua tratada
рН	6.5-8.5	6.5-6.8
DQO (mg/L)	400	150-350
Turbiedad (UNT)	5	0.2-0.93
Sólidos disueltos totales	500	292-359
Sólidos totales	500	292-359
Color /Absorbancia	0	0
Coliformes fecales UFC (100 mL)	1000	250

reutilización.

Por lo tanto, el tratamiento global de aguas residuales con biomasa encapsulada en reactor con suministro de aire indirecto y posteriormente con proceso de ultrafiltración, fue adecuado para reducir todos los parámetros estudiados. El sistema combinado propuesto mostró una alta eficiencia en la producción de agua limpia recuperada para su reutilización.

CONCLUSIONES

El tratamiento propuesto para la depuración de un efluente textil con coloración roja y azul, basado en un proceso biológico aerobio y un proceso complementario de ultrafiltración, permitió obtener agua recuperada dentro de los parámetros aceptables para ser reusada en la industria textil.

La caracterización del efluente textil en sus diferentes lotes identificó la presencia de colorantes sintéticos azo reactivos que fueron reconocidos en el lote 2 como rojo reactivo 120 y en el lote 3 como azul reactivo 171, por la manifestación de las bandas máximas de absorción de luz visible en 528 y 616 nm, respectivamente.

Se obtuvieron los materiales buscados y fueron identificados como grafeno y óxido de grafeno, de acuerdo a los resultados de caracterización.

Los encapsulados que presentaron una porosidad y una resistencia mecánica adecuadas para su aplicación en biorreactores aireados (agitación y airlift) para el tratamiento de aguas residuales fueron los compuestos por AA-S y AA-PVA-G.

El proceso biológico tuvo una mayor eficiencia en el reactor con agitación con una reducción superior en parámetros del DQO y del color, en comparación con el reactor airlift. La reducción de color entre 70-80% para la longitud de onda principal, y la mayor eficiencia se encontró para el lote 2 (rojo reactivo 120). Por lo tanto, las condiciones hidrodinámicas del airlift limitaron la acción de la biomasa encapsulada. El efecto de cizallamiento en este reactor también fue probablemente crítico, reduciendo la acción metabólica del microorganismo.

El uso secuencial de ultrafiltración fue efectivo para una depuración de las aguas residuales textiles, lo que permitió la recuperación de agua. La calidad del agua

obtenida mostró características adecuadas para su reutilización según los requisitos de la industria textil, para el efluente del lote 2 con reducción de DQO hasta el 95% y reducción de color hasta un 100%.

REFERENCIAS

- Adinew, B. 2012. Textile effluent treatment and decolorization techniques A review. Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education, 434-456.
- Aguilar-Martínez, O., Ángeles, H. C., Rodríguez G.R. 2010. Remoción de colorantes de efluentes de la industria textil. Tesis Ingeniería Química. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Alzari, V., Nuvoli, D., Sanna, R., Peponi, L., Piccinini, M., Bon S.B., Marceddu, S., Valentini, L., Kenny, J.M., Mariani, A. 2013. Multistimuli-responsive hydrogels of poly (2-acrylamido-2-methyl-1propanesulfonic acid) containing graphene. Colloid Polym Sci 291, 2681–2687.
- Ammar, A., Al-Enizi, A. M., AlMaadeed, M. A., Karim, A. 2016. Review Influence of graphene oxide on mechanical, morphological, barrier, and electrical properties of polymer membranes. Arabian Journal of Chemistry. 9, 274–286.
- An, S.Y., Min, S.K., Cha, I. H., Choi, Y. K., Cho, Y. S., Kim, C.H., Lee, Y. C. 2002. Decolorization of triphenylamine and azo dyes by Citrobacter sp. Biotechnol. Lett 24, 1037-1040.
- Avendaño-Romero, G.C., López-Malo, A., Palou, E. 2013. Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 7-1, 87-96.
- Bashari, M., Wanga, P., Eibaid, A., Tian, Y., Xua, X., Jin, Z. 2013. Ultrasound-assisted dextranase entrapment onto Ca-alginate gel beads. Ultrasonics Sonochemistry. 20, 1008–1016.
- Bautista, C. F., Sato, R. Y. B., Mendoza, D. L. 2013. Observación de capas de grafeno mediante contraste óptico y dispersión Raman. Mundo Nano, 6 (11), 29-39.
- Bayen S.P., Chowdhury, P. 2014. Synthesis of chromatographic material by immobilization of 2 thioacetamide onto silica gel for easy detection and removal of mercury. Journal of Environmental Chemical Engineering 3 (1), 70–78.
- Bayer, T., Bishop, S. R., Nishihara, M., Sasaki, K., Lyth, S. M. 2014. Characterization of a graphene oxide membrane fuel cell. Journal of Power Sources. 272, 239-247.
- Behnood, M., Nasernejad, B., Nikazar, M. 2013. Biodegradation of crude oil from saline wastewater using white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Journal of Industrial and Engineering Chemestry, 7.
- Bhatia, R.B., Brinker, C.J., Gupta, A.K., Singh, A.K. 2000. Aqueous sol-gel process for protein encapsulation. Chemical Materials 12, 2434-2441.
- Bhole, B. D., Ganguly, B., Madhuram, A., Deshpande, D., Joshi, J. 2004. Biosorption of methyl violet, basic fuchsin and their mixture using dead fungal biomass. Curr. Sci. 86, 1641-1645.
- Brunauer, S., Emmett, P.H., Teller, E. J. 1938. Am. Chem. Soc. 60, 309.

- Bustamante, P. E. 2012. Comparación de la cinética de decoloración de índigo carmín utilizando diferentes sistemas de inmovilización de enzimas extracelulares de *Trametes versicolor*.
 Tesis de Maestría en Biotecnología Aplicada. Instituto Politécnico Nacional, México.
- Carantino, C. M., Suetônio, B. F., Bezerra, D. A., Farias, M. G. L., Ferreira, D. R., 2012. Effect of dye and redox mediator son anaerobic azo and anthraquinone dye reduction. Quim. Nova. 35(3), 482-486.
- Carletto, R. A., Chimirri, F., Basco, F., Ferrero, F. 2008. Adsorption of congo red dye on hazelnut shells and degradation with *Phanerochaete chrysosporium*. Bioresources 3(4), 1140-1155.
- Casieri, L., Varese, G. C., Anastasi, A., Prigione, V., Svobodova, K., Marchisio, F., Nocotný, Č. 2008. Decolourization and Detoxification of Reactive Industrial Dyes by Immobilized Fungi *Trametes pubescens* and *Pleurotus ostratus*. Folia. Microbiol. 53(1), 44-52.
- Cássia, M. R., Barros G. E., Pereira J. N., Marín-Morales M. A., Gomes M. K. M., Buarque G. N.
 2013. Biotreatment of textile effluent in static biorreactor by *Curvularia lunata* URM 6179 and *Phanerochaete chrysosporium* URM 6181. Biosource Technology 142, 361-367.
- Castro-Beltrán, A., Sepulveda-Guzmán, S., De la Cruz-Hernández, W., Cruz-Silva, R. 2011. Obtención de grafeno mediante la reducción química del óxido de grafito. Ingenierías, (XIV) 52, 34-42.
- Chen, X., Liu, G., Zhang, H., Fan, Y. 2015. Fabrication of graphene oxide composite membranes and their application for pervaporation dehydration of butanol. Chinese Journal of Chemical Engineering. 23, 1102–1109.
- Cheng, Y., Lin, H., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2012). Ecotoxicology and Environmental Safety Biodegradation of crystal violet using Burkholderia vietnamiensis C09V immobilized on PVA – sodium alginate – kaolin gel beads. Ecotoxicology and Environmental Safety. *83*, 108– 114.
- Choi, E., Han, T. H., Hong, J., Kim, J. E., Lee, S. H., Kim, H. W., Kim, S. O. 2010. Noncovalent functionalization of graphene with end-functional polymers. Journal of Materials chemistry, 1-4.
- Cifuentes, A. D., Rojas, D. M. 2005. Inmovilización de lipasa *Candida rugosa* en soporte de quitosano. Tesis de Licenciatura Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia.
- Cohen, Y. 2001. Biofiltración the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. Bioresource Technology 77, 257-274.
- Coleman, J. N. 2009. Liquid-phase exfoliation of nanotubes and graphene. Advance Functional Materials. 19, 3680-3695.
- Concetta, M. T., Soria, P. J., Mosca, A. D. 2016. Analysing performance of real textile wastewater bio-decolourization under different reaction environments. Journal of Cleaner Production 129, 468-477.

- Cortazar-Martínez, A., González-Ramírez, C. A., Coronel-Olivares, C., Escalante-Lozada J. A., Castro-Rosas, J., Villagómez-Ibarra, J. M. 2012. Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. Universidad y Ciencia. Instituto de Biotecnología, UNAM. 28 (2), 187-199.
- Crespi M., Huertas J. A. 1987. Industria Textil:¿Depuración Biológica o Fisicoquímica? Bol. Intextar. 92, 75-90.
- Daâssi, D., Mechichi, T., Nasri, M., Rodriguez-Couto, S. 2013. Decolorization of the metal textile dye Lanaset Grey G by immobilized white-rot fungi. Journal of Environmental Management. 129, 324-332.
- Daâssi, D., Rodriguez-Couto, S., Mechichi, T., Nasri, M. 2014. Biodegradation of textile dyes by immobilized laccase from Coriolopsis gallica into Ca-alginate beads. Decolorization of the metal textile dye Lanaset Grey G by immobilized white-rot fungi. International Biodeterioration & Biodegradation. 84, 71-78.
- De Bashan, L.E., Bashan, Y. 2010. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. Bioresource Technology 10, 1611–1627.
- De Jager, D., Sheldon, M. S., Edwards, W. 2014. Colour removal from textile wastewater using a pilot-scale dual-stage MBR and subsequent RO system. Separation and Purification Technology 135, 135–144.
- Dincer, A., Becerik, S., Aydemir, T. 2012. Immobilization of tyrosinase on chitosan–clay composite beads. International Journal of Biological Macromolecules 50, 815–820.
- Dos Santos, A., Cervantes, F., Van, J. (2007). Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. Bioresource Technology 98. 2369-2385.
- Duarte, K.R., Freitas, A. C., Pereira, R., Pinheiro, J. C., Gonçalves, F., Azaari, H. 2012. Treatment of olive oil mill wastewater by silica–alginate–fungi biocomposites. Water Air Soil Pollut 223, 4307–18.
- Duarte, K., Justino, C. I. L., Pereira, R., Panteleitchouk, T. S. L., Freitas, A. C., Rocha-Santos, T. A.
 P. 2013. Removal of the organic content from a bleached kraft pulp mill effluent by a treatment with silica–alginate–fungi biocomposites. J Environ Sci Health A. 48, 166–72.
- Easton, J. 1995. The dye maker's view. Society of Dyers and colourist. Nothingham 9.
- Enayatizamir, N., Tabandeh, F., Rodríguez-Couto, S., Yakhchali, B., Alikhani, H. A., Mohammadi, L.
 2011. Biodegradation pathway and detoxification of the diazo dye Reactive Black 5 by
 Phanerochaete chrysosporium. Bioresource Technology, 102, 10359–1036.
- Fajardo-Ochoa, R., Osuna-Castro, J.A., Velázquez–Mendoza, C.V., Escalante-Minakata, P. Ibarra-Junquera, V. 2011. Inmovilización de células y enzimas. Revista científica de la Universidad Autónoma de Coahuila 3 (6), 42-56.
- Fan, L., Luo, C., Sun, M., Li, X., Qiu, H. 2013. Highly selective adsorption of lead ions by waterdispersible magnetic chitosan/graphene oxide composites. Colloids Surf B 103, 523–9.
- Faraco, V., Pezzella, C., Giardina, P., Piscitelli, A., Vanhulle, S., Sannia, G. 2009. Decolourization of textile dyes by the white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleourotus ostreatus*.
 J. Chem. Technol. Biotechnol. 84, 414-419.
- Fernández, M. M. J. 2013. Grafenos preparados por métodos químicos: características y aplicaciones. Tesis Doctoral de Ciencia y Tecnología de Materiales. Universidad de Oviedo. España.
- Fernández, J. A., Henao, L. M., Pedroza-Rodríguez, A. M., Quevedo-Hidalgo, B. 2009. Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo 5. Revista Colombiana de Biotecnología 11 (1), 59-72.
- Ferrari, A. C., Meyer, J. C., Casiraghi, C., Lazzeri, M., Mauri, F., Piscanec, S., Jiang, D., Novoselov,K. S., Roth, S., Geim, A. K. 2006. Raman Spectrum of Graphene and Graphene Layers.Physical Review Letters. 97, 187401-1-4.
- Flores T. G. E. 2004. Evaluación de la contaminación generada por el vertido de aguas residuales provenientes de la industria textil en Zinapécuaro, Michoacán. Tesis Maestría en Ciencias en Ingeniería Textil, Instituto Politécnico Nacional. México.
- Fu, Y., Viraraghavan, T. 2002. Dye biosorption sites in Aspergillus niger. Biores. Technology 82, 139-145.
- Funami, T., Fang, Y., Noda, S., Ishihara, S., Nakauma, M., Draget, K.I., Nishinari, K., Phillips, G.O. 2009. Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca²⁺ binding. Food Hydrocolloids 23 (7), 1746– 1755.
- Garzón, J. R. C. 2009. Cinética de degradación de colorantes textiles de diferentes clases químicas por hongos y bacterias inmovilizados sobre fibra de Agave tequilana Webber var. Azul. Tesis de Microbiólogo Industrial. Universidad Javeriana (Colombia) – Instituto Politécnico Nacional (México).
- Garzón-Jiménez, C., Barragán-Huerta B.E. 2008. Inmovilización microbiana: Técnicas y usos en el tratamiento de residuos tóxicos. Sistemas Ambientales 2 (1), 23-34.
- Gassara, F., Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R.D. 2013. Bisphenol A degradation in water by ligninolytic enzymes. Chemosphere. 92, 1356-1360.
- Goldstein, J.I., Yakowitz, H. 1977. Practical Scanning Electron Microscopy: Electron and Ion microprobe Analysis. New York: Plenum Press.
- Gomathi., Cibichakravarthy V., Ramanathan B., Sivaramaiah N. A., Ramanjaneya V., Mula R., Rayalu J. 2012. Decolourization of paper mill effluent by immobilized cells of *Phanerochaete*

chrysosporium. International Journal of plant, animal and environmental sciencies 2 (1), 141-146.

- Gómez-Bertel S., Amaya-Bulla D., Maldonado-Saavedra C., Martínez-Salgado M., Quevedo-Hidalgo
 B., Soto-Guzmán A. B., Pedroza-Rodríguez A. M. 2008. Evaluación de tres hongos lignolíticos y de *Aspergillus niger* como alternativa para el tratamiento de aguas residuales del curtido de pieles. Revista internacional de contaminación ambiental 24 (3), 93-106.
- González, A. A., Horta, A. 2011. El año de la química y su influencia en la física y otras ciencias. Elementos 84. 47-51.
- González, R. D. F., 2012. Determinación de la capacidad de decoloración del azul índigo y azul ramazol brillante R por el hongo *Phanerochaete chrysosporium* en diferentes condiciones de crecimiento. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental. Instituto Tecnológico de Toluca. México.
- González, R. D. F., Muro-Urista, C.R., Arana-Cuenca, A., Téllez-Jurado, A., González-Becerra, A. E.
 2014. Enzyme production by immobilized *Phanerochaete chrysosporium* using airlift reactor.
 Biología 69 (11), 1464-1471.
- Harms, H., Schlosser, D., Wick, L. Y. 2011. Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. Microbiology 9, 177-192.
- Hai, F. I., Yamamoto, K., Fukushi, K. 2007. Hybrid treatment systems for dye wastewater. Critical Reviews. Environmental Science and Technology, 37 (4), 315-377.
- Hasan, M., Banerjee, A. N., Lee, M. 2015. Enhanced thermo-optical performance and high BET surface area of graphene@PVC nanocomposite fibers prepared by simple facile deposition technique: N2 adsorption study. Journal of Industrial and Engineering Chemistry 21, 828– 834.
- Holkar, C. R., Jadhav, A. J., Pinjari, D. V., Mahamuni, N.M., Pandit, A. B. 2016. A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. Journal of environmental management, 56-61.
- Hong, Y., Guo, J., Xu, Z., Mo, C., Xu, M., Sun, G. 2007. Reduction and partial degradation mechanisms of naphthylaminesulfonic azo dye amaranth by Shewanella decolorationis S12. Appl. Microbiol. Biotechnol 75, 647-654.
- Huang, Z., Chen, G., Zeng, G. Chen, A., Zuo, Y., Guo, Z., Tan, Q., Song, Z., Niu, Q. 2015. Polyvinyl alcohol-immobilized Phanerochaete chrysosporium and its application in the bioremediation of composite-polluted wastewater. Journal of Hazardous Materials.289, 174-183.
- Igbinigun, E., Fennell, Y., Malaisamy, R., Jones, K. L., Morris, V. 2016. Graphene oxide functionalized polyethersulfone membrane to reduce organic fouling. Journal of Membrane Science. 514, 518–526.

- INEGI 2014. La industria textil y del vestido en México 2014. Serie estadísticas sectoriales. Último acceso: 6 de agosto de 2018. Disponible en http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/ bvinegi/productos/nueva_estruc/ITV/702825068448.pdf.
- Jeong, H., Lee, Y. P., Lahaye, J. W. E., Park, M., An, K. H., Kim, I. J., Yang, C., Park, M., Ruoff, R., Lee, H. Y. 2008. Evidence of graphitic AB stacking order of graphite oxides. J. Am. Chem. Soc. 130, 1362-1366.
- Jia, Z., Shi, W., Wang, Y., Wang, J. 2016. Dicarboxylic acids crosslinked graphene oxide membranes for salt solution permeation Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 494, 101– 107.
- Jojoa-Unigarro, G. D., Rodriguez-Zambrano, H. L., Cardona-Gallo, S. A. 2015. Textile residual water treatments by means of biological methodologies. CINTEX. 20 (1), 11-34.
- Joshi, R. K., Alwarappan, S., Yoshimura, M., Sahajwalla, V., Nishina, Y. 2015. Review Graphene oxide: the new membrane material. Applied Materials Today. 1, 1–12.
- Kabbout, R., Taha, S. 2014. Biodecolorization of textile dye effluent by biosorption on fungal biomass materials. Physics Procedia 55, 437-444.
- Kant, R. 2012. Textile dyeing industry an environmental hazard. Natural Science. 4(1), 22-26.
- Khan, S., Ali, J., Harsh., Husain, M., Zulfequar, M. 2016. Synthesis of reduced graphene oxide and enhancement of its electrical and optical properties by attaching Ag nanoparticles. Physica E. 81, 320–325.
- Koltuniewicz, A. 2007. Separation processes with membrane-based hybrid. Memories of XXIInd international symposium on physicochemical methods of separations. 32-38.
- Kongkhaem, P., Intasiri, A., Luepromchai, E. 2011. Silica-immobilized Methylobacterium sp. NP3 and Acinobacter sp. PK1 degrade high concentrations of phenol. Lett Appl Microbiol 52, 448–55.
- Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I.M., Marchant, R., Koutinas, A.A. 2004. Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. Food Microbiol. 21, 377-397.
- Krzeminski, P., Leverette, L., Malamis, S., Katsou, E. 2016. Membrane bioreactors-a review on recent develpments in energy reduction, fouling control, novel configurations, LCA and market prospects. Journal of membrane science. 388-412.
- Kumar, K., Dastidar, M. G., Sreekirshnan, T. R. 2009. Effect of Process Parameters on Aerobic Decolourization of Reactive Azo Dye using Mixed Culture. World Academy of Science, Engineering and Technology 58, 962-965.
- Li, B., Chen, Y., Chen, X., Liu, D., Niu, H., Xiong, J., Wu, J., Xie, J., Bai, J., Ying, H. 2012. A novel immobilization method for nuclease P1 on macroporous absorbent resin with glutaraldehyde cross-linking and determination of its properties. Process Biochemistry, 47, 665–670.

- Li, K., Zhang, H., He, Y., Tang, T., Ying, D., Wang, Y., Sun, T., Jia, J. 2015. Novel wedge structured rotating disk photocatalytic reactor for post-treatment of actual textile wastewater. Chemical Engineering Journal. 268, 10–20.
- Lim, H. N., Huang, N. M., Lim, S. S., Harrison, I., Chia, C. H. 2011. Fabrication and characterization of graphene hydrogel via hydrothermal approach as a scaffold for preliminary study of cell growth. International journal of nanomedicine 6, 1817-1823.
- Lloret, L., Eibes, G., Feijoo, G., Moreira, M. T., Lema, J. M. 2011. Immobilization of laccase by encapsulation in a sol-gel matrix and its characterization and use for the removal of estrogens. Biotechnol Prog 27, 1570–9.
- Ma, L., Zhuo, R., Liu, H., Yu, D., Jiang, M., Zhang, X., Yang, Y. 2014. Efficient decolorization and detoxification of the sulfonated azo dye Reactive Orange 16 and simulated textile wastewater containing Reactive Orange 16 by the white-rot fungus Ganoderma sp. En3 isolated from the forest of Tzu-chin Mountain in China. Biochemical Engineering Journal. 82, 1–9.
- Magan, N., Fragoeiro, S., Bastos, C., 2010. Environmental Factors and Bioremediation of Xenobiotics Using White Rot Fungi. Microbiology 38 (4), 238-248.
- Manai, I., Miladi, B., Mselmi, A., Smaali, I., Hassen, A. B., Hamdi, M., Bouallagui, H. 2016 Industrial textile effluent decolourization in stirred and static batch cultures of a new fungal strain Chaetomium globosum IMA1 KJ472923. Journal of Environmental Management 170, 8-14.
- Martínez-Trujillo, M.A., García-Rivero, M. 2012. Revisión: Aplicaciones ambientales de microorganismos inmovilizados. Revista Mexicana de Ingeniería Química 11 (1), 55-73.
- Mazzitelli, S., Capretto, L., Quinci, F., Piva, R., Nastruzzi, C. 2013. Preparation of cell-encapsulation devices in confined microenvironment. Advanced Drug Delivery Reviews 65, 1533–1555.
- Morales-Fonseca, D., Ruiz-Tovar, K., Martínez-Salgado, M. M., Soto-Guzmán, A. B., Falcony-Guajardo, C., Rodríguez, V. R., Pedroza-Rodríguez, A. M. 2010. Desarrollo de un bioadsorbente laminar con *Phanerochaete chrysosporium* hipertolerante al cadmio, al níquel y al plomo para el tratamiento de aguas. Revista iberoamericana de Micología 27 (3), 111-118.
- Mullai, P., Vishali, S. 2007. Biodegradation of penicillin-G wastewater using *Phanerochaete chrysosporium* An equilibrium and kinetic modeling. African Journal of Biotechnology 6 (12), 1450-1454.
- Muro, C., Castellanos, J. 2006. Separación con membranas a distintas etapas de purificación de productos intermedios en la industria de la caña de azúcar y sus derivados. Memorias de 1er Congreso Nacional de membranas. Guanajuato México.
- Muro, C., Escobar, J., Zavala, R. E., Esparza, M., Castellanos, J., Gómez, R. M., García, M. 2009. Evaluación del proceso de microfiltración en un efluente residual de una industria alimenticia par su reuso. Rev. Int. Contam. Ambient. 25 (4), 229-238.

- Nakagawa, K., Sowasod, N., Tanthapanichakoon, W., Charinpanitkul, T. 2013. Hydrogel based oil encapsulation for controlled release of curcumin by using a ternary system of chitosan, kappa-carrageenan, and carboxymethylcellulose sodium salt. LWT Food Sci. Technol. 54, 600–605.
- NMX-AA-008-SCFI-2011 Análisis de agua. Determinación del pH. Método de prueba. Secretaria de Economía. Último acceso: 6 de agosto de 2018. Disponible en http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/PPD1/DO2650.pdf
- NMX-AA-030/2-SCFI-2012 Análisis de agua. Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de prueba. Parte 2. Determinación del índice de la demanda química de oxígeno. Método de tubo sellado a pequeña escala. Secretaria de economía. Último acceso: 6 de agosto de 2018. Disponible en http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/DO3476.pdf
- NMX-AA-038-SCFI-2001 Análisis de agua. Determinación de turbiedad en aguas naturales, residuales tratadas. Método de prueba. Secretaría Comercio y Fomento Industrial. Último acceso: 6 de agosto de 2018. Disponible en http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/NMX-AA-038-SCFI-2001.pdf
- NMX-F-426-1982. Productos alimenticios para uso humano. Determinación de sólidos totales en leche fluida. Dirección General de Normas Último acceso: 6 de agosto de 2018. Disponible en http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-426-1982.PDF
- NOM-001-SEMARNAT-1996, Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Último acceso: 6 de agosto de 2018. Disponible en http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/3290/1/nom-001-semarnat-1996.pdf
- Novotny, C., Rawat, B., Bhatt, M., Patel, M., Sasek, V., Molitors, H. P. 2001. Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes. Journal Biotechnology 89, 113-122.
- Novoselov, K. S., Geim, A. K., Morozov, S. V., Jiang, D., Zhang, Y., Grigorieva, I. V., Firsov, A. A. 2004. Electric field effect in atomically thin carbon films. Sience 22, 1-3.
- Nuvoli, D., Valentini, L., Alzari, V., Scognamillo, S., Bon, S. B., Piccinini, M., Illescas, J., Mariani, A. 2011. High Concentration Few-layer Graphene Sheets Obtained by Liquid Phase Exfoliation of Graphite in Ionic Liquid. Journal Materials Chemistry. 21, 3428-3431.

- Özcan, S, Cetinkaya, T., Tokur, M., Algül, H., Guler, M. O., Akbulut, H. 2016. Synthesis of flexible pure graphene papers and utilization as free standing cathodes for lithium-air batteries. International journal of hydrigen energy. 41, 9796-9802.
- Palma, G. R. E., Macías U. J., González, I., Torres-Palma, R. A. 2013. Tratamiento de aguas residuales provenientes de la industria textil mediante oxidación electroquímica. Revista Colombiana de Materiales 4, 93-108.
- Pant, D., Singh, A., Satyawali, Y., Gupta, R. K. 2008. Effect of carbon and nitrogen source amendment on synthetic dyes decolourizing efficiency of white-rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium*. Journal of Environmental biology 29 (1), 79-84.
- Park, C., Lee, M., Lee, B., Kim, S. W., Chase, H.A., Lee, J., Kim, S. 2007. Biodegradation and biosorption for decolorization of synthetic dyes by *Funalia trogii*. Biochemical Eng. Journal 36, 59-65.
- Patel, R., Suresh, S. 2008. Kinetic and equilibrium studies on the biosorption of reactive black 5 dye by *Aspergillus foetidus*. Biosource Technology 99(1), 51-58.
- Paul, S.A., Chavan, S.K., Khambe S.D. 2012. Studies on characterization of industrial waste water in Solapur city. International Journal of Chemical Sciences, 10 (2), 635-642.
- Perullini, A. M. 2009. Síntesis de materiales inorgánicos con porosidad controlada para la inmovilización de células. Aplicaciones en biorreactores. Tesis Doctoral Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Perullini, M., Jobbágy, M., Mouso, N., Forchiassin, F., Bilmes, S. A. 2010. Silica–alginate–fungi biocomposites for remediation of polluted water. J Mater Chem 20, 6479–83.
- Popa, G., Petruta, C. C. 2015. Relationships between extracellular laccase production and discoloring of textile dyes by white-rot basidiomycete fungi. Journal of Biotechnology. 208, S5–S120.
- Premjet, S., Bunthong, O., Premjet, D. 2009. The Ability of Five Fungal from Nature to Degrade of Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs) and Polychorinated Biphenyls (PCBs) in Culture Media.
 Australian journal of Basic and Applied Science 3 (3), 1076-1082.
- Raja, D., Arputharaj, A., Prakash, V., Ramesh, B. V., Koushik, C. V. 2010. Study on dyeing behavior of cotton/organic knitten fabrics. Indian Journal of Science and Technology 3 (7), 746-751.
- Ranganathan, K., Karunagaran, K., Sharma D.C. 2007. Recycling of wastewaters of textile dyeing industries using advance treatment technology and cost analysis- Case studies. Resources, Conservation and Recycling 50, 306-318. fabrics. Indian Journal of Science and Technology 3 (7), 746-751.
- Rathore, S.; Desai, P.; Liew, C.; Chan, L.; Heng, P. 2013. Microencapsulation of microbial cells. J. Food Eng. 116 (2), 369-381.
- Reddy-K, R., Reddy-P, S. 2010. Effect of different co-polymers on sodium alginate microcapsules containing isoniazid. International Journal of Pharm. Tech Research. 2 (4), 2198-2203.

- Reimer, I. 1985. Scanning Electron Microscopy, Physics of Image Formation and Microanalisis. New York Springer. 45.
- Rezaee, A., Ghaneian, M. T., Khavanin, A. Hashemian, S. J., Moussaui, Gh., Ghanizadeh, Gh.,
 Hajizadeh, E. 2008. Photochemical oxidation of reactive blue 19 (RB19) in textile wastewater
 by UV/K₂S₂O₈ process. Iran J. Environ. Health. Sci. Eng. 5 (2), 95-100.
- Rhee, I., Kim, Y. A., Shin, G., Kim, J., Muramatsu, H. 2015. Compressive strength sensitivity of cement mortar using rice husk-derived graphene with a high specific surface área. Construction and Building Materials 96, 189–197.
- Rodarte-Morales, A. I., Feijoo, G., Moreira, M. T., Lema, J. M. 2012. Operation of stirred tank reactors (STRs) and fixed-bed reactors (FBRs) with free and immobilized *Phanerochaete chrysosporium* for the continuous removal of pharmaceutical compounds. Biochemical Engineering Journal. 66, 38-45.
- Rodrigues, D., Rocha-Santos T. A. P., Freitas, A. C., Gomes A. M. P., Duarte, A. C. 2013. Strategies based on silica monoliths for removing pollutants from wastewater effluents: A review. Science of the Total Environment 461–462, 126–138.

Rodríguez-Couto. S. 2009. Dye removal by immobilised fungi. Biotechnology Advances 27, 227–235.

- Rodríguez-Couto. S. 2012. A promising inert support for laccase production and decolouration of textile wastewater by the white-rot fungus *Trametes pubescesns*. Journal of Hazardous Materials 233-234, 158-162.
- Salazar G. L., Crespi, M., Salazar, R. 2009. Tratamiento de aguas residuales textiles mediante un reactor de membrana. Ingeniería & Desarrollo. Universidad del Norte 26, 83-99.
- Saratale, R. G., Saratale, G. D., Chang, J. S., Govindwar, S. P. (2009). Decolorization and biodegradation of textile dye Navy blue HER by *Trichosporon beigelii* NCIM-3326. Journal of Hazardous Materials 166, 1421–1428.
- Sangeeta, P., Kheria, S., Pakshirajan, K. 2011. Biodecolourization of real textil industry wastewater using White rot fungus Phanerochaete chrysosporium. Journal of Scientific and Industrial Research 70, 982-986.
- Sharari, M., Roohani M., Latibari, A.J., Guillet, A., Aurousseau, M., Sharari, A. 2013. Treatment of bagasse preparation effluent by *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on polyurethane foam: Enzyme production versus pollution removal. Industrial Crops and Products 46, 226-233.
- Shahriary, L., Athawale, A. A. 2014. Graphene oxide synthesized by using modified hummers approach. Industrial journal of renewable energy and environmental engineering. 2 (1) 58-63.

- Siddiqui, M. F., Andleeb, S., Ali, N., Ghumro, P. B., Ahmed, S. 2010. Biotreatment of anthraquinone dye Drimarene Blue K2RL. African Journal of Environmental Science and Technology 4(1), 45-50.
- Siddique, M., Farooy, R., Shaheen, A. 2011. Removal of Reactive Blue 19 from Wastewaters by Physicochemical and Biological Process- A review. J. Chem. Soc. Pak. 33(2), 284-293.
- Sierra, S. R. E. 2014. Tratamiento de agua residual de una industria alimenticia utilizando la biomasa inmovilizada *Phanerochaete chrysosporium* en un reactor airlift con parámetros controlados.
 Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental. Instituto Tecnológico de Toluca. México.
- Sierra, S. R. E., Muro-Urista, C., Ortega, A. R. E., Arana, C. A., Téllez, J. A. 2015. Application of immobilized fungi on food efluent treatment using airlift reactor. Desalination and water treatment.12, 743-754.
- Solís M., Solís A., Pérez H. I., Manjarrez N., Flores M. 2012. Microbial decolouration of azo dyes: A review. Process Biochemistry 47, 1723-1748.
- Soto Lopez, I., Hernández López, R. P., Palacios González, B., Jiménez Hernández, A., Yee Gutiérrez, I. G., Aguilar Carrasco, L. A. 2015. Síntesis y caracterización del grafeno, a partir del método de Hummers y reducción térmica con ácido ascórbico. Memorias XII encuentro Participación de la mujer en la ciencia. León Guanajuato, México. 12.
- Su, W., Lin, C. (2013). Fungal-bacterial synergism enhanced decolorization of reactive red 120 by response surface methodology. International Biodeterioration & Biodegradation 82, 1-8.
- Suk, E. D., Matsuura, T. 2006. Membrane-based hybrid processes: a review. Separation Science and Technology. 41, 595-626.
- Tobón P. Y., Peña S. C. 2006. Remoción del color de lodos provenientes de la industria textil por *Aspergllus Sp.* Universidad Eafit 42 (142), 88-94.
- Toh, Y. C., Yen, J. L., Obbard, J. P., Ting, Y. P. 2003. Decolourisation of azo dyes by white-rot fungi (WRF) isolated in Singapore. Enz. Microbiology Technology 33, 569-575.
- Trujillo-Reyes, J., Perlta-Videa, J.R., Gardea-Torresdey, J.L. 2014. Supported and unsupported nanomaterials for water and soil remediation: Are they a useful solution for worldwide pollution? Journal of Hazardous Materials. 280, 487-503.
- Vicuña, G. E., Ara Rojas, S. L., Loayza, J. 2009. Sistemas híbridos de tratamiento de aguas residuales. Revista Per. Quim. Ing. Quim. 12, 10-17.
- Wang, H., Yuan, X., Wu, Y., Chen, X., Leng, L., Wang, H., Li, H., Zeng, G. 2015. Facile synthesis of polypyrrole decorated reduced graphene oxide–Fe₃O₄ magnetic composites and its application for the Cr (VI) removal. Chemical Engineering Journal 262, 597–606.

- Wang, Y., Chen, H., Wang, J. Xing, L. 2014. Preparation of active corn peptides from zein through doubleenzymes immobilized with calcium alginate–chitosan beads. Process Biochemistry, 49, 1682–1690.
- Warner, J. H., Schäffel, F., Bachmatiuk, A., Rümmeli, M. H. 2013 Graphene. Fundamentals and Emergent Applications Ed. Elsevier. 450.
- Wells, O. C. 1974. Scanning Electron Microscopy Ed. McGraw-Hill.
- Wu, Z., Zhong, H., Yuan, X., Wang, H., Wang, L., Chen, X., Zeng, G., Wu, Y. 2014. Adsorptive removal of methylene blue by rhamnolipid-functionalized graphene oxide from wastewater. Water research 67, 330-334.
- Xing, H.T., Chen, J.H., Sun, X., Huang, Y.H., Su, Z.B., Hu, S.R., Weng, W., Li, S.X., Guo, H.X., Wu, W.B., He, Y.S., Li, F.M., Huang, Y. 2015. NH2-rich polymer/graphene oxide use as a novel adsorbent for removal of Cu (II) from aqueous solution. Chemical Engineering Journal 263, 280–289.
- Xiong, X-J., Meng, X-J., Zheng, T-L. 2010. Biosorption of C. I. Direct Blue 199 from aqueous solution by nonviable *Aspergillus niger*. Journal of Hazardous Materials 175, 241-246.
- Xiong, X., Wen, X., Bai, Y., Qian, Y. 2008. Effects of culture conditions on ligninolytic enzymes and protease production by *Phanerochaete chrysosporium* in air. Journal of Environmental Sciences 20, 94–100
- Xu, P., Zenga, G., Huanga, D., Hua, S., Fenga, C., Lai, C., Zhaoa, M., Huanga, C., Li, N., Weia, Z.,
 Xiea, G. 2013. Synthesis of iron oxide nanoparticles and their application in *Phanerochaete chrysosporium* immobilization for Pb(II) removal. Colloids and Surfaces A: Physicochem.
 Eng. Aspects. 419, 147–155.
- Xu, R., Zhou, Q., Li, F., Zhang, B. 2013. Laccase immobilization on chitosan/poly(vinyl alcohol) composite nanofibrous membranes for 2,4-dichlorophenol removal. Chemical Engineering Journal, 222, 321–329.
- Xu, S. W., Jiang, Z. Y., Lu Y., Wu, H., Yuan, W. K. 2006. Preparation and catalytic properties of novel alginate-silica-dehydrogenase hybrid biocomposite beads. Industrial & engineering chemistry research 45 (2), 511-517.
- Xu, Y., Bai, H., Lu, G., Li, C., Shi, G. 2008. Flexible Graphene Films via the Filtration of Water-Soluble Noncovalent Functionalized Graphene Sheets. *J. Am. Chem. Soc.*, *130* (18), 5856–5857.
- Yasmin, A., Luo, J., Daniel, I. M. 2006. Processing of expanded graphite reinforced polymer nanocomposites. Composites science and technology 66, 1179-1186.
- Ye, N., Xie, Y., Shi, P., Gao, T., Ma, J. 2014 Synthesis of magnetite/graphene oxide/chitosan composite and its application for protein adsorption. Materials Science and Engineering 45, 8–14.

- Yepez, G. C. A., 2011. Remoción de detergentes de aguas residuales textiles empleando hongos seleccionados obtenidos a partir de efluentes de industria textil y evaluación a su tolerancia a metales pesados a nivel laboratorio. Tesis de Ingeniería en Biotecnología. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolqui, Ecuador.
- Yesilada, O., Cing, S., Birhanli, E., Apoan, E., Asma, D., Kuru, F. 2010. The evaluation of pre-grown mycelial pellets in decolorization of textile dyes during repeated batch process. World J. Microbiol. Biotechnol 26, 33-39.
- Yin, J., Zhu, G., Deng, B. 2016. Graphene oxide (GO) enhanced polyamide (PA) thin-film nanocomposite (TFN) membrane for water purification. Desalination. 379, 93–101.
- Yonni, F., Fasoli H., Giai M., Álvarez H. 2008. Estudio de biodegradabilidad y ecotoxicidad sobre colorantes textiles. Higiene y Sanidad Ambiental 8, 331-334.
- Zhang, K., Xu, Y., Hua, X., Han, H., Wang, J., Wang, J., Liu, Y., Liu, Z. 2008. An intensified degradation of phenanthrene with macroporous alginate-lignin beads immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. Biochemical Engineering Journal 41, 251-257.
- Zhou, Q.Z.K., Chen, X.D. 2001. Effects of temperature and pH on the catalytic activity of the immobilized galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. Biochemical Engineering Journal 9, 33–40.
- Zinadini, S., Vatanpour, V., Zinatizadeh, A. A., Rahimi, M., Rahimi, Z., Kian, M. 2015. Preparation and characterization of antifouling graphene oxide/polyethersulfone ultrafiltration membrane: Application in MBR for dairy wastewater treatment. Journal of Water Process Engineering. 7, 280–294.
- Zoheb, K., Adnan, R., Husain, Q. 2012. A b-cyclodextrine chitosan complex as the immobilization matrix for horseradish peroxidase and its application for the removal of azo dyes from textile effluent. International Biodeterioration & Biodegradation 72, 10-17.