



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA IZTAPALAPA

***DEGRADACION DE ALQUIL FENOL POLIETOXILATOS EN LOS
SISTEMAS DE DIGESTIÓN ANAEROBIA Y DESNITRIFICACIÓN***

TESIS

Para obtener el grado de Doctor en Biotecnología

Presenta

M en B ANGELICA JIMENEZ GONZALEZ

DIRECTOR: Dr. OSCAR A. MONROY HERMOSILLO

ASESORES:

Dra MAYRA DE LA TORRE MARTINEZ

Dr MARIANO GUTIERREZ ROJAS

ÍNDICE

Abreviaturas	i
Índice de figuras	iii
Índice de tablas	iv
Resumen	v
Summary	vii
Introducción	
1.1 Justificación	1
1.2 Objetivos	3
1.3 Revisión Bibliográfica	
1.3.1 Surfactante: Estructura y aplicaciones.....	4
1.3.2 Tritón X-100.....	7
1.3.3 Biodegradación de alquil fenol polietoxilatos	8
1.3.4 Toxicidad de los alquil fenol polietoxilatos	10
1.3.5 Degradación biológica de compuestos orgánicos.....	11
1.3.5.1 Microbiología de la desnitrificación	12
1.3.5.2 Digestión anaerobia.....	13
1.3.5.3 Metabolismo anaerobio de compuestos aromáticos.....	18
Referencias	22
Material y Métodos	
2.1 Surfactante	27
2.2 Reactor de lecho de lodos anaerobios de flujo ascendente (UASB).....	27
2.3 Arranque de los reactores.....	27
2.4 Cuantificación de los AFEOn adsorbido en los lodos	29
2.5 Técnicas analíticas	
2.5.1 Demanda química de oxígeno	29
2.5.2 Cuantificación del biogás	29
2.5.3 Nitrito y nitrato.....	31
2.5.4 Cuantificación de los AFEOn.....	31
2.5.5 Exopolímeros en los lodos.....	31
2.5.6 Azúcares totales.....	32

2.5.7 Proteína (Método de Lowry)	32
2.5.8 Identificación de los productos de degradación de los AFEOn	33
2.5.9 Tensión superficial	33
2.5.10 Sólidos Totales	33
Referencias	34
Resultados y Discusión	
3. Sorción de los alquil fenol polietoxilatos en lodos anaerobios y desnitrificantes y su efecto en la actividad biológica	36
4. Estudio comparativo de la adaptación de lodos anaerobios y desnitrificantes para la biodegradación de alquil fenol polietoxilatos.	55
4.1 Biodegradación de alquil fenol polietoxilatos por digestión anaerobia	57
4.2 Biodegradación de alquil fenol polietoxilatos por desnitrificación	59
Conclusiones Generales	70
ANEXO	73

ABREVIATURAS

AEO	Alcohol etoxilatos
AFEO ₂ C	Acido alquil fenol dietoxílico
AFEO ₁	Alquil fenol monoetoxilato
AFEO ₂	Alquil fenol dietoxilatos
AFEO _n	Alquil fenol polietoxilatos
ASC	Área seccional de la columna
Bv	Carga volumétrica
C _{eq}	Concentración del surfactante en equilibrio
C _i -C _{i-1}	Concentraciones del soluto en la solución final y en la etapa (i-1)
CMC	Concentración micelar critica
COH	Compuestos orgánicos hidrófobos
d	Día
DA	Digestión Anaerobia
DQO _E	Concentración de materia orgánica en la entrada
DQO _S	Concentración de materia orgánica salida
F	Flujo de alimentación
G.L	Grados de libertad
H	Coefficiente de histéresis
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
K	Constante de equilibrio
K _{af}	Constante de afinidad
L	Sitios desocupados sobre la superficie del adsorbente
LAS	Lineal dodecil-bencen-sulfonato de sodio
n	Intensidad de la adsorción en la ecuación de Freundlich
NFEO	Nonil fenol polietoxilatos
PTAR	Plantas de tratamiento de aguas residuales municipales
PEXP	Proteína exopolimérica
Q _{max}	Cantidad máxima adsorbida de surfactante

ΔQ	Cambio de concentración en la fase sólida durante la i-ésima etapa de desorción.
r	Fracción que se reemplaza del sobrenadante en cada dilución
S	Adsorbato
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
$t\text{-OFEO}n$	Tert-octil fenol polietoxilatos
V	Volumen de la fase acuosa
V_{ads}	Velocidad de adsorción
V_{des}	Velocidad de desorción
W	Masa de lodo
X_L	Fracción molar de sitios libres en la superficie del absorbente
X_{LS}	Fracción molar de sitios ocupados en la superficie del absorbente
y_{CH_4}	Fracción mol de CH_4
W_s	Masa del suelo

ÍNDICE DE FIGURAS

J.1 Tren de tratamiento en plantas de aguas residuales. (DA: digestión anaerobia; DN: desnitrificación; AE. Aerobio).	1
1.1 Productos de la degradación de los AFEOn en condiciones aerobias y anaerobias	9
1.2 Reducción desasimilatoria del nitrato a N ₂	12
1.3 Esquema de las etapas que comprende al proceso de digestión anaerobia	15
1.4 Microfotografías electrónicas de lodos anaerobios	17
1.5 Reacciones más comunes hacia los sustituyentes bencénicos	18
1.6 Rutas más representativas de ataques a los anillos aromáticos, empleando una oxidación directa del anillo	20
1.7 Rutas claves en la degradación anaerobia de compuestos aromáticos	21
2.1 Representación esquemática del reactor UASB	27
3.1 Isotermas de Adsorción de los AFEOn en los lodos (a) digestión anaerobia (b) desnitrificantes y los ajustes de los modelo de Langmuir y Freundlich	42
3.2 Linearización de la isoterma de adsorción del AFEOn en lodos anaerobios (--- y □) y lodos desnitrificantes (— y ♦) (a) Langmuir (b) Freundlich.	44
3.3 Comparación entre el modelo de adsorción de Langmuir (—) y los datos experimentales de la desadsorción (----). Para los lodos anaerobios (□) y lodos desnitrificantes (♦).	47
3.4 Efecto de la concentración de los AFEOn en la actividad microbiana de lodos desnitrificantes (♦) y lodos anaerobios (□).	48
3.5 Efecto de la concentración de AFEOn en la proteína soluble de lodos desnitrificantes (♦) y lodos anaerobios (□).	49
3.6 Efecto de los AFEOn en los componentes de los exopolímeros (proteína y carbohidratos)	50
4.1 Operación del reactor de digestión anaerobia, la DQO en función del tiempo	57
4.2 DQO en la entrada (o) y salida (-) del reactor desnitrificante	59
4.3 Eliminación de los AFEOn. Concentración de los AFEOn en el efluente (o) en la etapa "i" del reactor desnitrificante; DQO del efluente (Δ); contribución de la concentración del alquil fenol (AF) en el efluente (—).	60
4.4 Formación de compuestos no identificados DQO _D *, durante la etapa "i". (—) DQO _{efluente} (□)DQO _D * (v)DQO _{AF}	61
4.5 Cromatograma y espectros de masas del efluente del reactor desnitrificante, para los picos con tiempo de retención Rt= 20.18 (a) y Rt=23.33 (b)	64
4.6 Rutas posibles de biodegradación de los AFEOn por cultivo mixto desnitrificante	65
5.1. Tren de tratamiento para la biodegradación de los AFEOn (AE =aerobio; DN=desnitrificación; DA=digestión anaerobia)	72

ÍNDICE DE TABLAS

1.1	Clasificación de los surfactantes basándose en su porción hidrófila	4
1.2	Preparación de surfactantes no iónicos a partir del óxido de etileno	5
1.3	Propiedades físicas del Tritón X-100	7
1.4	Toxicidad de los compuestos generados por la degradación de AFEOn	10
1.5	Potencial de óxido reducción de diferentes aceptores de electrones	12
2.1	Composición del medio mineral para las bacterias anaerobias	28
2.2	Condiciones de operación del Cromatógrafo	30
3.1	Parámetros obtenidos de las linearizaciones de las isothermas de Langmuir y Freundlich	43
3.2	Prueba de Tukey para los modelos. (LM Modelo de Langmuir para lodos anaerobios, LD: Modelo de Langmuir para lodos desnitrificantes, FM: Modelo de Freundlich para lodos anaerobios y FD Modelo de Freundlich para lodos desnitrificantes.	45
4.1	Etapas de la alimentación de los reactores	56
4.2	Fragmentos iónicos obtenidos de los espectros de masa.	63
A.1	Cuadrados de las diferencias entre valores experimentales y predichos por los modelos de las isothermas de adsorción	72
A.2	ANOVA de los <i>CDF</i> de las isothermas de equilibrio de adsorción-desadsorción del AFEO en los lodos metanogénicos y desnitrificantes	73
A.3	Prueba de Tukey para los <i>CDF</i> de los modelos	73

RESUMEN

Los alquil fenol polietoxilatos (AFEOn) son compuestos xenobióticos con propiedades tenso-activas. En las aguas residuales industriales y domésticas los AFEOn se encuentran regularmente a 300 mgL^{-1} . Se ha reportado que los AFEOn tienen un efecto estrogénico en diversos organismos superiores. Los AFEOn no han sido mineralizados por tratamientos aerobios convencionales con lodos activados. Esta problemática hace necesario el diseño de procesos capaces de remover los AFEOn en el tren de tratamiento de una planta de aguas residuales. La digestión anaerobia y la desnitrificación son procesos biológicos que muestran un gran potencial en la biodegradación de AFEOn.

En el presente trabajo se estudio la habilidad de lodos anaerobios y lodos desnitrificantes para biodegradar AFEOn. En la primera etapa, se determinó la capacidad de adsorber AFEOn en la superficie de los gránulos para cada tipo de lodo. Con este propósito, se realizaron isotermas de adsorción en condiciones abióticas. Se encontró que el modelo de la isoterma de Langmuir es el que describió mejor el fenómeno de adsorción para ambos tipos de lodos. Los valores de los parámetros de la isoterma de Langmuir mostraron que los lodos anaerobios poseen una menor capacidad de saturación y mayor afinidad por los AFEOn ($K_a=39 \text{ mgL}^{-1}$ y $Q_{max}=68 \text{ mg/gssv}$) que los lodos desnitrificantes ($K_a= 58 \text{ mgL}^{-1}$ y $Q_{max}= 91 \text{ mg/gssv}$). Estos resultados implican que los lodos anaerobios presentan un área superficial menor y que las interacciones superficiales se dan a concentraciones menores de los AFEOn presentes en la fase líquida.

En la segunda etapa se estudió la adaptación de los lodos anaerobios y desnitrificantes para utilizar los AFEOn como fuente de carbono y energía, para lo cual se emplearon dos reactores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket; por su acrónimo en ingles). Inicialmente el reactor anaerobio fue alimentado solo con lactosa y el desnitrificante con acetato. En ambos reactores la concentración de AFEOn se fue incrementando progresivamente y posterior a un periodo de estado pseudoestacionario. El reactor anaerobio con lactosa como único sustrato, alcanzo una eficiencia de eliminación de la DQO de 90 %. Cuando la composición del influente fue de 400 mgL^{-1} de lactosa y 300 mgL^{-1} de AFEOn, la eficiencia de eliminación de la DQO en el reactor disminuyó hasta un 5 %. Se trato de reestablecer la eficiencia del reactor anaerobio alimentándolo con una proporción de lactosa-AFEOn igual a la etapa previa, sin embargo después de 35 días de operación los lodos anaerobios no lograron mejorar su actividad.

En el reactor desnitrificante los lodos se adaptaron a los AFEOn como única fuente de carbono y energía, obteniéndose una mineralización del 70 % de la materia orgánica. Empleando cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas se encontró que la fracción residual de materia orgánica a la salida del reactor desnitrificante era una mezcla de sustancias intermediarias de la descomposición de los AFEOn. Los intermediarios identificados fueron: octil fenol, octil fenol mono-etoxilato, octil fenol dietoxilato, propilfenol trietoxilato y heptilfenol dietoxilato. Los estudios realizados muestran que el uso del proceso biológico de desnitrificación es factible para ser aplicado como una operación más en una planta de tratamiento de aguas residuales para la biodegradación de los AFEOn.

SUMMARY

The alkylphenol ethoxylates (APEOn) are xenobiotic compounds with amphipatic properties. In the industrial and domestic wastewater the APEOn reaches 300 mgL^{-1} of concentration. The APEOn has been reported exhibit an estrogenic effect on several superior organisms. Also, APEOn have can not been mineralized by aerobic conventional treatment with activated sludge. This problematic become necessary the design of processes with the capacity to remove APEOn in the train of treatment of a wastewater plant. The anaerobic digestion and denitrification are biologic processes with a great potential to biodegrade AFEOn.

In the present work were studied the ability of both anaerobic and denitrificant sludge to biodegrade APEOn. In order to determine the capability of both type of sludge to adsorb APEOn in the granule surface, isotherms of adsorption in abiotic conditions were carried out. The results shown that isotherm Langmuir model was the best to describe the adsorption either denitrificant like anaerobic sludge. The values of the Langmuir isotherm ($K_a=39 \text{ mgL}^{-1}$ y $Q_{max}=68 \text{ mg/gssv}$) showed that anaerobic sludge present a minor saturation capacity and major affinity by APEOn that denitrificant sludge ($K_a= 58 \text{ mgL}^{-1}$ y $Q_{max}= 91 \text{ mg/gssv}$). These results implicates that anaerobic sludge have a minor superficial area, and that superficial interactions are given at minors concentrations of the APEOn in the bulk liquid phase.

The adaptation of anaerobic and denitrificant sludge to use the APEOn as only carbon and energy source was studied in two reactors UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket). Initially the anaerobic reactor was supplied only with lactose and the denitrificant reactor with acetate. In both reactors the APEOn concentration was progressively increased and after to reach a pseudo-steady state. With lactose as only substrate anaerobic reactor reached a 90% of efficiency to remove COD. When the composition of the influent was of 400 mgL^{-1} of lactose and 300 mgL^{-1} of APEOn, the efficiency to remove COD decreased up to 5%. The efficiency was treated to recover by feeding the anaerobic reactor with a lactose-APEOn proportion same at the previous period; however after of 35 days of operation the anaerobic sludge not could improved their activity.

In the denitrificant reactor the sludge were adapted to use AFEOn as only carbon and energy source, reached a 70% of mineralization of the organic matter. By gas chromatography coupled to mass spectrometry was determined that residual fraction of organic matter at the outside of the denitrificant reactor consisted of a group of intermediary substances from APEOn decomposition. The intermediaries identified were the octylphenol, octylphenol monoethoxylate, octylphenol

diethoxylate, propylphenol triethoxylate and heptylphenol diethoxylate. The studies realized demonstrate the feasibility to employ the denitrification as a stage in a wastewater plant to biodegrade APEOn.

INTRODUCCIÓN

El presente documento esta integrado de cinco capítulos, siendo el tercero y cuarto los principales pues discuten los resultados alcanzados en el trabajo doctoral. La segunda parte del cuarto capítulo fue publicada*, y en la tesis se muestra con formato de artículo. La introducción correspondiente al primer capítulo, plantea la justificación del proyecto de tesis y los objetivos. En este primer capítulo, también se da la revisión bibliográfica en la cual se describen y fundamentan los procesos biológicos de digestión anaerobia y desnitrificación, además de describirse las propiedades de los AFEOn tales como estructura, toxicidad y biodegradación.

*Biodegradation of alkylphenol polyethoxylates by denitrificationn. (*Water Science Technology*. 2003.48. 165-170)

1.1 JUSTIFICACIÓN

Los alquil fenol etoxilatos (AFEOn) son surfactantes ampliamente utilizados en la formulación de detergentes y en los procesos de manufactura de varios productos (industria de limpieza, pinturas, polímeros, textil, agroquímica metalurgia etc.). Recientemente los AFEOn se han empleado en los procesos de lavado de suelos contaminados con hidrocarburos (Chu 2003 y Lizhong *et al.*, 2004), los cuales generan efluentes que alcanzan concentraciones de AFEOn que van desde 9,000 mgL⁻¹ hasta 20,000 mgL⁻¹ (Deshpande *et al.*, 1999).

Actualmente, en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) los AFEOn son compuestos que se biodegradan parcialmente. Esto ha conducido a la generación de estructuras similares al beta-estradiol, las cuales originan alteraciones en el sistema endocrino de diversos seres vivos (Gimeno *et al.*, 1997, Argemi *et al.*, 2005). Así, los compuestos derivados de la biodegradación aerobia de los AFEOn son compuestos más recalcitrantes y tóxicos que el compuesto original.

Por otra parte, en México las PTAR deben incluir procesos que contemplen la digestión anaerobia con el propósito de transformar del 60 al 80 % de la materia orgánica en metano y dióxido de carbono. Esto permitiría que las PTAR sean energéticamente sustentables. Además, en caso que las aguas residuales contengan nitrógeno, la desnitrificación muestra ser una alternativa viable para el tratamiento de estos efluentes, ya que permitiría llevar a cabo una eliminación simultánea de nitrógeno y materia orgánica (Figura J.1).

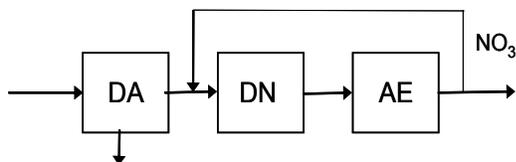


Figura J.1 Tren de tratamiento en plantas de aguas residuales. (DA: digestión anaerobia; DN: desnitrificación; AE. Aerobio).

Los estudios para la degradación de AFEOn por digestión anaerobia son pocos. Ejlertsson *et al.*, (1999) han reportado que estos compuestos son biotransformados a alquil fenol como producto final de la biodegradación. Con respecto a la

desnitrificación, recientemente se ha reportado que las bacterias desnitrificantes degradan una amplia variedad de sustancias orgánicas que van desde estructuras relativamente sencillas como los ácidos grasos volátiles (Fass *et al.*, 1994) y glicerol (Bernet *et al.*, 1995) hasta compuestos de difícil degradación como son los derivados del petróleo y pesticidas (Tomei and Annesini 2005). Por lo tanto, el estudio de la biodegradación de los AFEOn mediante los procesos biológicos de digestión anaerobia y desnitrificación, permitirá obtener criterios para el diseño de unidades de reacción que puedan acoplarse al tren de las PTAR, y así eliminar los AFEOn.

1.2 OBJETIVOS

Objetivo General

Estudiar la biodegradación de los alquil fenol polietoxilatos por los sistemas biológicos de la digestión anaerobia y desnitrificación.

Objetivos específicos

Evaluar en condiciones abióticas, la adsorción y desadsorción de los alquil fenol polietoxilatos en lodos de digestión anaerobia y en lodos desnitrificantes.

Evaluar en lodos de digestión anaerobia y lodos desnitrificantes, el efecto de la concentración de los alquil fenol polietoxilatos en la actividad microbiana.

Adaptar lodos anaerobios y lodos desnitrificantes en un reactor de flujo ascendente (UASB) con alquil fenol polietoxilatos como única fuente de carbono y energía.

Evaluar en un reactor UASB operado en continuo la biodegradación de los alquil fenol polietoxilatos por digestión anaerobia y desnitrificación.

1.3 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.3.1 Surfactantes: Estructura y aplicaciones

El término surfactante se refiere a compuestos que se caracterizan por tener la habilidad de concentrarse en las superficies de interfases y de formar en solución agregados denominados micelas, estructuras capaces de reducir la tensión superficial del agua. El prerrequisito para tener actividad de superficie es disponer de una estructura anfipática que consiste de una parte polar (hidrófila) y otra no polar (hidrófoba). Dependiendo de las características de la porción hidrófila, los surfactantes químicos se pueden clasificar en tres grupos: catiónicos, aniónicos y no iónicos, ver Tabla 1.1. (Swisher, 1997).

Los surfactantes se denominan aniónicos cuando en solución acuosa se ionizan y el grupo hidrófobo resultante se encuentra cargado negativamente. Los surfactantes catiónicos son aquellos que quedan cargados positivamente.

Tabla 1.1 Clasificación de los surfactantes basándose en su porción hidrófila.

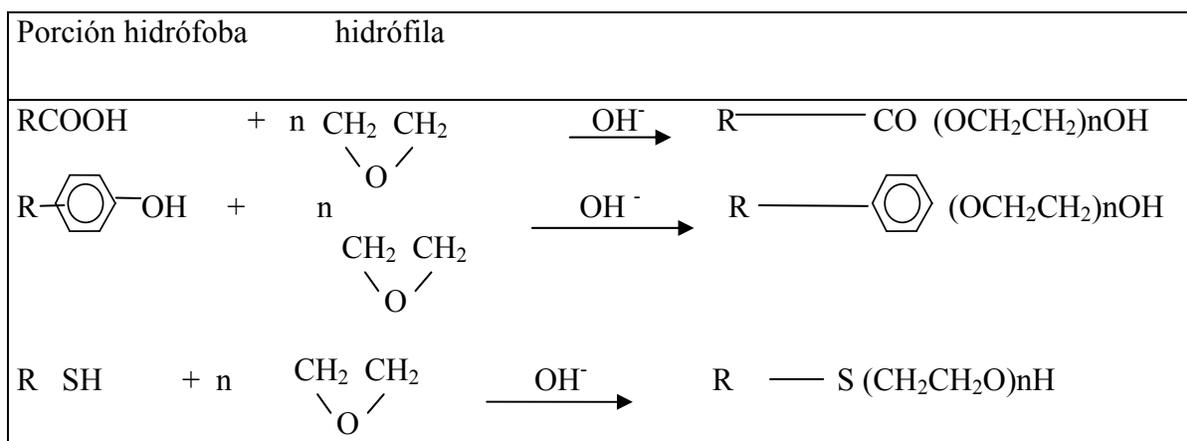
<i>Tipo de Surfactante</i>	<i>Ejemplos</i>	<i>Estructura</i>
Aniónicos	Terginol 08	$C_6H_8CH(C_2H_5)CH_2SO_3^-Na^+$
	Ultrawet	$CH_3(CH_2)_{11}C_6H_4SO_3^-Na^+$
	SK	N-metil-N-oleilaurato de sodio
Catiónicos	Roccal	$CH_3(CH_2)_{11}NH_2^+Cl^-$
	Sapamina	$CH_3(CH_2)_{11}NH_2^+Cl^-$
No iónico	Igepal CA	$RC_6H_4O(CH_2CH_2O)_nH$; R=alquil
	Tween 80	$C_9H_{19}-C_6H_4-(OCH_2CH_2)_n-OH(CH_3)_3SiO((CH_3)_2SiO)_2(CH_3SiO)_9Si(CH_3)_3$

Los surfactantes no iónicos constituyen uno de los grupos más variados y de más diversa aplicación en la industria. Las características que los diferencian de los surfactantes iónicos son

que la porción hidrófila de este grupo tiene poca carga eléctrica mientras que la solubilidad en los aniónicos y catiónicos se consigue por un grupo relativamente pequeño (sulfónico, carboxílico etc.) mientras que la porción hidrófila de los no iónicos tiene que ser muy grande (Moroi, 1992; Swisher, 1997).

Los alquil fenol polietoxilatos (AFEOn) son surfactantes no iónicos cuya porción hidrófila es una cadena polietoxilada en la que el grado de etoxilación (EOn) puede variar de 1 a 50 unidades. El grupo hidrófobo es un alquil fenol (AF). Los AFEOn más comunes son el octil y nonil fenol. Los AFEOn se sintetizan por tres métodos (Budavari, 1989). El primero es a partir del fenol al hacerlo reaccionar con el trimetil-penteno para obtener el t-octil fenol, o una mezcla de isómeros de noneno que producen el nonil-fenol. Para la reacción de la etoxilación se emplea óxido de etileno y como catalizador el hidróxido de etilo/hidróxido de potasio. El producto de la reacción es una mezcla de oligómeros homólogos de AFEOn (Tabla 1.2). El segundo es la condensación de alcohol-aminas como dietanolamina e isopropanolamina con ácidos grasos. El tercer método es la esterificación de glicoles y polioles como glicerol y el polietilenglicol.

Tabla 1.2. Preparación de surfactantes no iónicos a partir de óxido de etileno.



Los surfactantes a concentraciones bajas se adsorben en las interfases, sin embargo a cierta concentración empiezan a formar micelas. A la concentración en la que comienza la formación de micelas se le denomina concentración micelar crítica (CMC). Los valores de la CMC dependen de la estructura del surfactante. La CMC de los surfactantes no iónicos se

encuentra en el intervalo de 10^{-3} a 10^{-5} molL⁻¹, mientras que para los surfactantes iónicos los valores se encuentran entre uno y dos órdenes de magnitud por encima. Este comportamiento es debido principalmente a que en la formación de micelas los surfactantes iónicos presentan un fenómeno de repulsión electrostática (Thielle *et al.*, 1999).

Los AFEOn fueron introducidos al mercado desde 1944, por la I. G. Farben Industrie en Alemania. Se usan en la formulación de detergentes y en varios procesos de manufactura tales como agentes dispersantes en el reciclaje de papel, agentes emulsificantes en pinturas, limpiadores industriales (superficies de metal en la industria de alimentos), en la limpieza de carros, en la formulación de herbicidas y pesticidas, así como en la manufactura de tintas. En la industria textil se utilizan en el proceso de limpieza de la lana para eliminar ceras y grasas, adicionándose 8 Kg de AFEOn por cada tonelada de lana tratada (Deshpande *et al.*, 1999, U.S. EPA 2005, Thielle *et al.*, 1997; Fujita and Reinhard, 1997; Shang *et al.*, 1999, Markey *et al.*, 2001).

Recientemente los AFEOn, se emplean en la remediación de suelos para aumentar la solubilidad aparente de compuestos orgánicos hidrófobos (COH). Estos son adicionados en solución a concentraciones mayores de la CMC con el objetivo de formar micelas que atrapen a los COH en su interior hidrófobo. Por otra parte, a concentraciones por debajo de la CMC, el surfactante tiende a concentrar la materia orgánica en las interfases reduciendo la tensión superficial del agua, con lo que se favorece la desorción de los COH (Mulligan *et al.*, 2001, Chu 2003 y Lizhong *et al.*, 2004).

El aumento en la solubilidad de los COH, depende del tipo de surfactante, de la dosis, de la hidrofobicidad del compuesto y del tiempo de contacto con el sitio contaminado. En varios estudios se ha reportado que los surfactantes no iónicos son más efectivos por dos razones. La primera es que la CMC es mas baja, requiriéndose menor cantidad del surfactante en el lavado de suelos. La segunda es que los surfactantes iónicos por interacciones electrostáticas tienden a adsorberse irreversiblemente en el suelo.

Otra fuente de AFEOn que contamina al medio ambiente proviene de su proceso de producción. Por ejemplo, en el Reino Unido para la manufactura de AFEOn, se emplean dos reactores de 40 toneladas, en el que las aguas de lavado contienen hasta 500 mgL⁻¹. Aunado a esto, se adiciona otro surfactante para reducir la espuma generada por los AFEOn (Alexander, 1994, Deshpande *et al.*, 1999).

En las últimas dos décadas, la evaluación de las concentraciones de AFEOn en el medio ambiente se ha incrementado. Se ha determinado que las concentraciones de los AFEOn se encuentran en un intervalo de 80-24,000 μgL^{-1} , siendo Carolina del Norte en Estados Unidos de América el lugar con las concentraciones más altas (Thielle *et al.*, 1999, Wenzel *et al.*, 2004).

1.3.2 Tritón X-100

El Tritón X-100 es un surfactante no iónico en donde la serie X se refiere a su obtención a partir del octilfenol polimerizado con óxido de etileno, el número 100 es relacionado indirectamente con el número de unidades de óxido de etileno. En su estructura el tritón X-100 tiene en promedio 9.5 unidades de óxido de etileno por molécula, con un peso molecular promedio de 625 g/mol, el cual puede variar dependiendo de las condiciones de la manufactura. En la Tabla 1.3, se presentan las propiedades físicas del Tritón X-100. Empresas como Sigma no adicionan antioxidantes en su manufactura, sin embargo, en preparaciones comerciales del Tritón X-100, se ha encontrado hasta un 0.22 % de peróxido de hidrógeno, lo que puede interferir en las reacciones biológicas.

Tabla 1.3. Propiedades físicas del Tritón X-100.

Gravedad específica	(1.065 g/mL a 25 °C)
Absorción en UV	(275 nm a 283 nm)
Viscosidad	(240 cps a 25 °C)
pH(solución acuosa 5%)	6.8
Peso molecular aprox.	625 g/mol
Conc. Micelar Critica	110 ppm
Soluble en:	Agua, benceno, tolueno, xileno, tricloroetileno, etilen glicol, eter etilico, etano e isopropanol.

El Tritón X-100 estructuralmente es muy similar al igepal CA-630 y el nonidet P-40, sus nombres con frecuencia son reportados como sinónimos, sin embargo el Tritón es más hidrófilo.

1.3.3 Biodegradación de alquil fenol polietoxilatos

Se ha encontrado que la biodegradación de los AFEOn es lenta debido a la ramificación de la cadena alquílica y a la presencia del anillo fenólico. La mineralización de los AFEOn no ha sido determinada hasta el momento y en la última década los estudios de degradación se han enfocado a la identificación de los intermediarios en diversos sistemas biológicos (cultivos mixtos, con células libres o por enzimas purificadas).

Diversos estudios de biodegradación han mostrado que los AFEOn con alto número de etoxilatos ($n > 8$), no son mineralizados solo biotransformados. Además, estos mismos estudios señalan que los compuestos generados a partir de la degradación primaria de los AFEOn son más recalcitrantes que estos (Jonkers *et al.*, 2001 y Pryor *et al.*, 2002).

Numerosos trabajos han reportado que el metabolismo microbiano aerobio en la degradación de los AFEOn empieza por un ataque a la cadena etoxílica, dejando intacta la porción hidrófoba el alquil fenol (Figura 1.2 a, b y c). Los grupos etoxílicos son removidos progresivamente por hidrólisis o bien puede ocurrir un cambio de funcionalidad con la oxidación terminal de un alcohol obteniéndose un ácido carboxílico (Anubha *et al.*, 2003).

Ahel *et al.*, (1994), estudiaron la degradación aerobia del nonil y t-octil fenol etoxilatos ($0.5\text{-}2.5\text{ mgL}^{-1}$ del NFEOn y OFEOn) en plantas de tratamiento de aguas residuales y de agua de ríos. En este estudio el cultivo empleado fue capaz de transformar los AFEOn como única fuente de carbono en un medio mineral después de 6-23 días. El producto final que identificaron fue el ácido alquil fenoxi etoxílico (AFEOC).

Dominic and White (1998), estudiaron el mecanismo de biotransformación de nonil fenol etoxilatos (NFEOn) con *Pseudomonas putida* en condiciones aerobias, empleando como única fuente de carbono una mezcla de NFEOn ($n= 6, 9$ y 20 unidades de etoxilatos). Se identificó una transformación primaria, en la que los productos obtenidos fueron compuestos análogos del ácido carboxílico el NFEOnC y los nonil fenol dietoxilatos (NFEOn_2). Estos investigadores sugieren que el mecanismo de la biodegradación de los AFEOn comienza con una ruptura exo de la cadena etoxílica con liberación de acetaldehído, lo que muestra la degradación de NFEOn por el microorganismo *Pseudomonas putida* por una vía secuencial de eliminación de unidades de glicol.

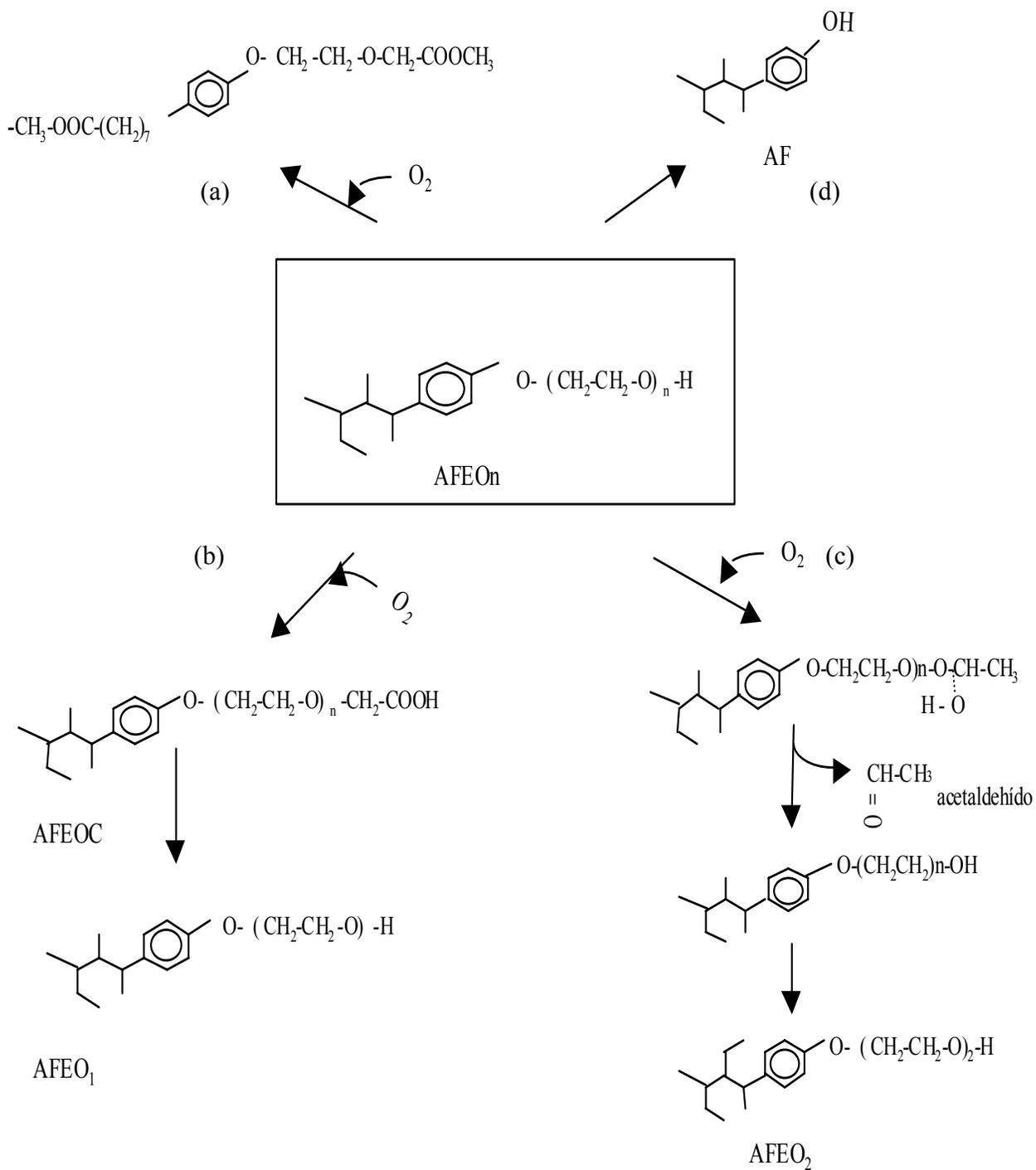


Figura 1.1. Productos de la degradación de los AFEOn en condiciones aerobias (a, b y c) y anaerobia (d).

Di Corcia *et al.*, (1998), estudiaron la caracterización de los intermediarios formados durante la biodegradación aerobia de los surfactantes, de la familia de los AFEOn. La transformación inicial es una carboxilación del extremo etoxilado, obteniendo como producto final el ácido alquil fenol dietoxílico, este resultado coincide con otros estudios realizados Jonkers *et al.*, (2001), Sato *et al* (2003) y Toshimichi *et al* (2005).

Se ha reportado la biodegradación de los surfactantes lineales del tipo de alcohol etoxilatos, empleando un consorcio microbiano (Moschel, 2004). La mineralización del surfactante fue comprobada por la cuantificación de biogás y la concentración de carbono orgánico en la fase acuosa.

1.3.4 Toxicidad de los alquil fenol polietoxilatos

Hasta el momento se ha encontrado que los productos de la degradación primaria de los AFEOn son más tóxicos y recalcitrantes que el compuesto de origen. La toxicidad aumenta generalmente por una reducción de la porción hidrófila.

Las pruebas de toxicidad para varias especies acuáticas se han determinado (dosis letal media LC₅₀), para el nonil fenol NF y los alquil fenol mono y di etoxilatos (AFEOn₁ y AFEOn₂; Tabla 1.4). Estudios de toxicidad de AF, AFEOn y AFEOn₁C en organismos, determinaron que estos compuestos tienen un efecto en el flujo de electrones de la cadena respiratoria, provocando un desacoplamiento en la producción de ATP.

Tabla 1.4. Toxicidad de los compuestos generados por la degradación de AFEOn.

Organismo	Compuesto	LC ₅₀ (mgL ⁻¹)	Referencia
<i>Nitocra spinines</i>	NF	1.18	Maguire 1999
<i>Trucha Arcoiris</i>	AFEOn ₁ y AFEOn ₂	11.5	Wenzel <i>et al.</i> , 2004
<i>Daphnia magna</i>	NF	0.19	Comber <i>et al.</i> , 1993
<i>Menidia beryllina</i>	NF	0.7	Lussier <i>et al.</i> , 2000

Estos compuestos también tienen un efecto estrogénico, debido a la similitud de la estructura del alquil fenol con el 17β-estradiol hormona que interviene en el sistema

reproductivo de todos los vertebrados, controlando el desarrollo de las gónadas en ambos sexos a partir de la glándula pituitaria (gonadotropina GTH). (Kinnberg *et al.*, 2000)

Los homólogos de los AFEOn retardan el crecimiento testicular y estimulan la síntesis de la vitellogenina que es un complejo proteico precursor de la formación de huevos en peces y aves. La incidencia de peces hermafroditas en ríos indica la presencia de sustancias estrogénicas (Sato *et al.*, 2003, Servos, 1999). En la trucha arco iris concentraciones de alquil fenol de 1 ngL^{-1} producen un aumento exponencial en los niveles de vitellogenina de 0.18 a 1.15 mgL^{-1} en 16 días.

Se han realizado estudios de estos compuestos para evaluar las implicaciones en la salud humana. En las últimas cuatro décadas se han encontrado problemas en el sistema endocrino reproductivo tales como disminución en el número y funcionalidad espermática, así como en el aumento en el cáncer de mama, próstata y testículos (Brooke, 1993; Argemi *et al.*, 2005; Olea and Zuluaga, 2001).

1.3.5 Degradación biológica de compuestos orgánicos

Las bacterias pueden degradar un amplio número de contaminantes orgánicos recalcitrantes dependiendo del aceptor de electrones presentes, los más frecuentes se presentan en la Tabla 1.5.

Para emplearse como fuente de energía un compuesto debe ser capaz de oxidarse al ceder electrones a un aceptor terminal. El aceptor de electrones que se presenta con mayor frecuencia es el oxígeno, el cuál se activa mediante un sistema de citocromos cuando el oxígeno acepta electrones y se reduce a H_2O en la cadena respiratoria. Sin embargo, otro aceptor de electrones que ha mostrado una alta capacidad oxidante de materia orgánica es el nitrato.

Tabla 1.5. Potencial de óxido reducción de diferentes aceptores de electrones.(White *et al.*, 1996)

Par redox	Potencial redox (mV)
O ₂ /H ₂ O	+ 820
Fe ³⁺ /Fe ²⁺	+ 770
NO ₃ /NO ₂	+ 430
MnO ₂ /Mn	+ 380
NO ₂ /NO	+ 350
Fumarato/Succinato	+ 33
SO ₄ ²⁻ /HS	- 230
CO ₂ /CH ₄	- 240

1.3.5.1 Microbiología de la desnitrificación.

Aunque el O₂ es el aceptor de electrones más frecuente en la oxidación de NADH, algunos microorganismos aerobios pueden utilizar nitrato como último aceptor de electrones. Estas bacterias son principalmente heterótrofas y necesitan carbono orgánico (2.86 mgDQO/mgN-NO₃).

La reducción del nitrato a nitrógeno molecular se lleva a cabo por cuatro reacciones consecutivas, cada una catalizada por una enzima diferente (Figura 1.3). La desnitrificación es un proceso respiratorio del tipo anóxico en donde se requiere un donador de electrones o sustrato oxidable como fuente de energía. La reducción desasimilatoria de nitrato a nitrito involucra la conservación de la energía a través del flujo de electrones, tal como se muestra en la Figura 1.2 (Moir and Word, 2001).



Figura 1.2 . Reducción desasimilatoria de nitrato a N₂, en donde NAR (nitrato reductasa), NIR (nitrito reductasa), NOR: (óxido nítrico reductasa), N₂OR : (óxido nitroso reductasa)

El primer paso en la desnitrificación es la reducción desasimilativa. Esta es catalizada por la nitrato reductasa, de la cual, se han identificado dos tipos. Una es de tipo membranal con tres subunidades oligoméricas (120, 60 y 20 kDa) que emplea ubihidroquinona en el transporte de electrones y cuyo centro activo se orienta hacia el citoplasma. El otro tipo es periplasmática formada por dos subunidades (94 y 19 kDa). En la segunda etapa, se han identificado dos distintas nitrito reductasas unidas a la membrana, ambas orientadas hacia el citoplasma. Una contiene cobre en el centro y la otra contiene el grupo hemo cd1. Cualquiera lleva a cabo la misma reacción fisiológica. La enzima oxido nítrico reductasa se encuentra en la membrana citoplasmática y está formada por dos subunidades. La primera de 16 kDa y contiene un grupo hemo c y otra de 53 kDa con un grupo hemo d. Finalmente, la enzima oxido nitroso reductasa contiene ocho átomos de cobre distribuidos en dos monómeros de aproximadamente 70 kDa cada uno, y se inhibe con la presencia de oxígeno molecular (Knowles, 1982, Mateju *et al.*, 1992, Cervantes *et al.*, 2000).

Un gran número de bacterias presentan un sistema respiratorio anóxico, en el cual el nitrato y el nitrito actúan como aceptores de electrones reduciéndose a nitrógeno molecular con la generación de ATP (Mateju *et al.*, 1992, Rose and Tempest, 2001). Las bacterias desnitrificantes pueden emplear el nitrato o el oxígeno de igual manera como aceptor de electrones. Esta es la razón por la que se les considera facultativas (Madigan *et al.*, 1999).

Los géneros desnitrificantes mas mencionados en la literatura incluyen *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Desulfovibrio*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Thiobacillus*, *Xanthomonas* (Mateju *et al.*, 1992, Cervantes, 1998).

1.3.5.2 Digestión anaerobia

En condiciones anaerobias algunos microorganismos llevan a cabo una secuencia de procesos metabólicos que promueve la degradación de sustancias orgánicas generando como productos principales el dióxido de carbono y el metano. El proceso de digestión anaerobia consiste de tres etapas y lo lleva acabo un consorcio bacteriano (Figura 1.3). Estas etapas son la de hidrólisis y fermentación, la acetogénesis y la metanogénesis. (Zehnder 1988, Guiot *et al.*, 1992)

En la hidrólisis los polímeros como carbohidratos, proteínas, compuestos aromáticos y lípidos son transformados por hidrólisis y fermentación en ácidos carboxílicos

(principalmente ácidos grasos volátiles), alcoholes, hidrógeno y bióxido de carbono (Rivera *et al.*, 1993). Las bacterias que intervienen pertenecen a diferentes grupos. Pueden ser anaerobias facultativas (*Enterobacteriaceae*, *Pelobacter*) o anaerobias estrictas (*Acetobacterium*, *Clostridium*).

En la etapa acetogénica y homoacetogénica, los productos de la fermentación previa son convertidos en acetato, hidrógeno y bióxido de carbono. Las bacterias que intervienen son las acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA). La peculiaridad de estas bacterias reside en que las reacciones que realizan son inhibidas por el hidrógeno que producen, por lo que es necesario que este no se acumule en el medio. Las bacterias OHPA, se asocian con las bacterias que remueven el hidrógeno (Crites and Tchobanoglous, 2000, Rose and Tempest 2001).

Se han encontrado cuatro géneros de bacterias OHPA capaces de llevar a cabo la degradación de ácidos grasos, *Syntrophomonas wolfei*, *S. Sapovorans*, *Syntrophosphora bryantii* y *Syntrophus buswelli*.

Básicamente la metanogénesis puede realizarse por dos grupos de bacterias, las hidrogenofílicas no acetoclásticas y las metanogénicas acetoclásticas. Las especies de este tipo de bacterias son *Methanobacterium formicicum*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanospirillum hungatei* y *Methanobrevibacter sp.* Las bacterias metanogénicas tienen diversas formas que van desde cocos en cadenas o sarcinas hasta bacilos largos unidos también en cadenas y espirales. Estas pueden ser *gram* positivos o negativos y son anaerobios estrictos. El intervalo de pH en el que se desarrollan es de 6.5 a 7.8. Las bacterias metanogénicas son los microorganismos más abundantes dentro de las *arqueobacterias*. (Zehnder, 1988)

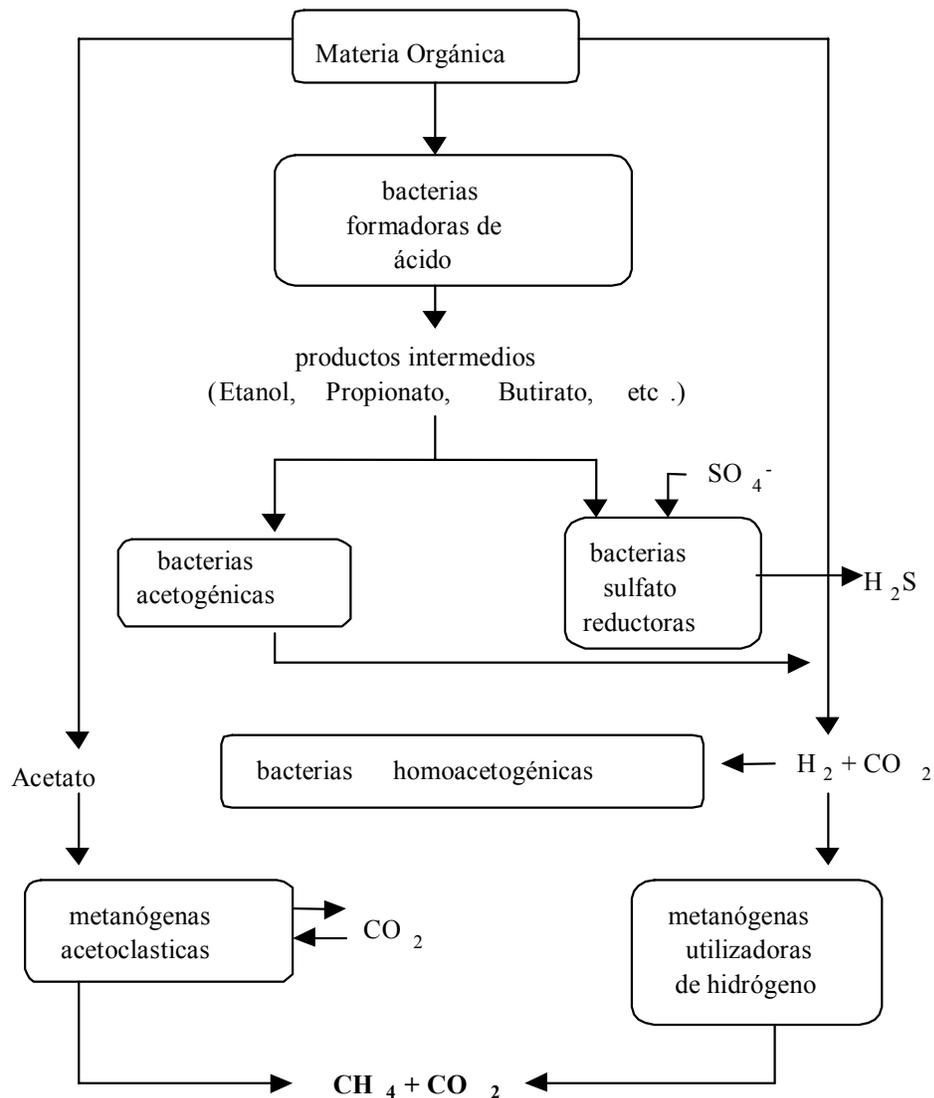


Figura 1.3. Esquema de las etapas que comprende el proceso de digestión anaerobia.

Estas bacterias realizan dos procesos reductivos con el CO_2 . En el primero se origina la formación de metano y en el segundo se hace la síntesis de material celular. Las células en crecimiento convierten cerca del 90 % del CO_2 proporcionado en metano y el resto en carbono celular. A pesar de que muchas bacterias metanogénicas crecen en forma autótrofa a partir de H_2 y CO_2 , no existen pruebas de un ciclo normal de Calvin en el que intervenga la

ribulosa difosfato carboxilasa. Estudios recientes sugieren que el ciclo de CO₂ de las bacterias metanogénicas incluye la reducción de dos moléculas de CO₂ para formar acetil -CoA, con un producto adicional de carboxilación de piruvato.

Las bacterias metanogénicas acetoclásticas producen metano a partir del grupo metilo del acetato, esta reacción es fundamental ya que el 73% aproximadamente del metano proviene del acetato. También existen las bacterias con baja afinidad por el acetato cuyo género principal es el *Methanosarcina*. Además del acetato, estas bacterias pueden utilizar como fuente de energía y carbono las metilaminas y metanol. Las especies más representativas son *Methanosarcina bakeri*, *M. mazei* y *M. thermophila* (Madigan *et al.*, 1999).

Las bacterias que intervienen en sistemas anaerobios tienen la habilidad de formar partículas macroscópicas denominadas gránulos (Figura 1.4), las cuales contienen gran cantidad de microorganismos. Estos pueden aglomerarse naturalmente en forma de agregados que se mantienen unidos debido a la generación de exopolímeros o artificialmente mediante la inmovilización de células en soportes sólidos (Veiga *et al.*, 1997).

Los gránulos anaerobios están formados por células bacterianas y polímeros extracelulares que se forman por la lisis e hidrólisis de productos de la bacteria, materia orgánica atrapada y algunos compuestos inorgánicos. Los principales componentes de los exopolímeros en los gránulos son carbohidratos, proteínas y otros que podrían ser lípidos y ácidos nucleicos (Jorand *et al.*, 1998).

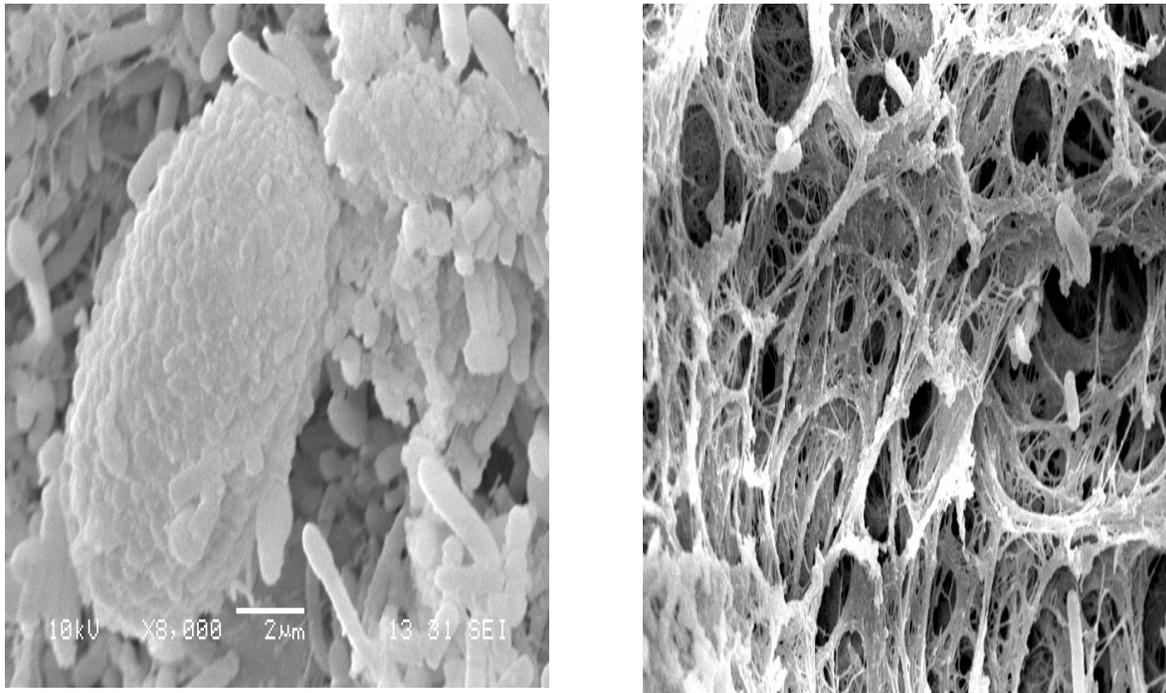


Figura 1.4. Microfotografías electrónicas de lodos anaerobios. (Jimenez A.) (a) Diferentes poblaciones que forman el gránulo. (b) Exopolímeros que mantienen unidas las poblaciones en el gránulo.

Existen tres factores que juegan un papel decisivo en la agrupación bacteriana, estos son: i) La naturaleza del sustrato (partículas de soporte) incluyendo porosidad, estructura y dimensión de poro; ii) Factores ambientales como pH, temperatura, fuerza iónica composición y iii) Las propiedades de los microorganismos involucrados tales como la hidrofobicidad y movilidad, así como la fisiología y morfología bacteriana. (Rivera *et al.*, 1993)

Entre las diversas configuraciones de reactores empleados para la digestión anaerobia se encuentra el reactor de lecho de lodos anaerobios de flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés Upflow Anaerobic Sludge Blanket) que fue desarrollado por Lettinga *et al.*, (1980) en la Universidad Agrícola de Wageningen en Holanda. Entre las características más importantes del reactor, se encuentra el flujo ascendente, el cuál crea una presión de selección constante para organismos que pueden adherirse entre sí y formar gránulos. La formación de los gránulos tiene ventajas entre las que se encuentran: i) Los microorganismos se compactan densamente, sin perder espacio por adición de un soporte inerte, ii) el gránulo esférico

proporciona al microorganismo un máximo de espacio, iii) los gránulos muestran propiedades de sedimentación excelentes debido a su gran tamaño comparado con una célula libre y iv) el área de reacción aumenta, es decir aumenta la cantidad de biomasa viable, con lo que se incrementa la productividad volumétrica. (Guiot *et al.*, 1992, Seghezzi *et al.*, 1998).

1.3.5.3 Metabolismo anaerobio de compuestos aromáticos

Muchos microorganismos pueden utilizar los hidrocarburos aromáticos como donadores de electrones en condiciones aerobias. Entre ellos, algunas bacterias del género *Pseudomonas* han sido las más estudiadas. Se ha demostrado que el metabolismo de estos compuestos es muy complejo, teniendo como eje principal la formación de catecol que posteriormente es degradado a compuestos que pueden entrar en el ciclo del ácido cítrico, tales como succinato, acetil-CoA o piruvato (Madigan *et al.*, 1999, Atlas y Bartha 2002).

Muchos microorganismos anaerobios pueden emplear compuestos aromáticos complejos y sus sustituyentes como fuente de carbono, utilizando vías de biodegradación en donde dejan intacto el núcleo bencénico (Figura 1.5). Las reacciones más comunes son: 1) la β -oxidación, 2) la hidrólisis del grupo éster, 3) la reducción de un aldehído o alcohol, 4) la demetilación reductiva y 5) la deshalogenación reductiva.

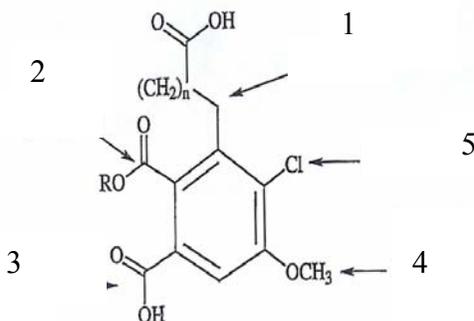


Figura 1.5. Reacciones más, comunes en la degradación anaerobia de los sustituyentes del anillo bencénico.

Los compuestos aromáticos pueden participar en el metabolismo energético como aceptores de electrones generalmente mediante modificaciones en los sustituyentes del anillo. Un ejemplo es el uso de compuestos aromáticos clorados como aceptores de electrones en la halorespiración. Las quinonas extracelulares pueden activar un puente entre diferentes

especies de microorganismos por transferencia de electrones a partir de la cadena respiratoria de un microorganismo a un aceptor de electrones insoluble del otro, posibilitando un mecanismo de la transferencia de electrones entre especies (White *et al.*, 1996, Gibson y Harwood 2002).

La mayoría de los metabolismos microbianos involucrados en la degradación de compuestos aromáticos coinciden en intermediarios centrales, con el propósito de maximizar la reactividad química del anillo aromático y minimizar el número de enzimas necesarias para oxidar los compuestos hasta acetyl-CoA o CO₂.

Muchos de los detalles bioquímicos del ataque anaerobio a compuestos aromáticos sustituidos son conocidos. Los sustituyentes de compuestos aromáticos pueden servir como fuente de carbono y energía para bacterias que no son capaces de atacar el anillo bencénico. Estas reacciones tienen el propósito adicional de facilitar el ataque del anillo aromático para su mineralización completa. La benzoyl-CoA (Figura 1.6) es el intermediario más común en la degradación de una gran cantidad de compuestos aromáticos monosustituidos como los halogenados, metoxilados, con una cadena de carbono lateral, monohidroxilados y algunos dihidroxilados (Karthikeyan and Bhandari, 2001).

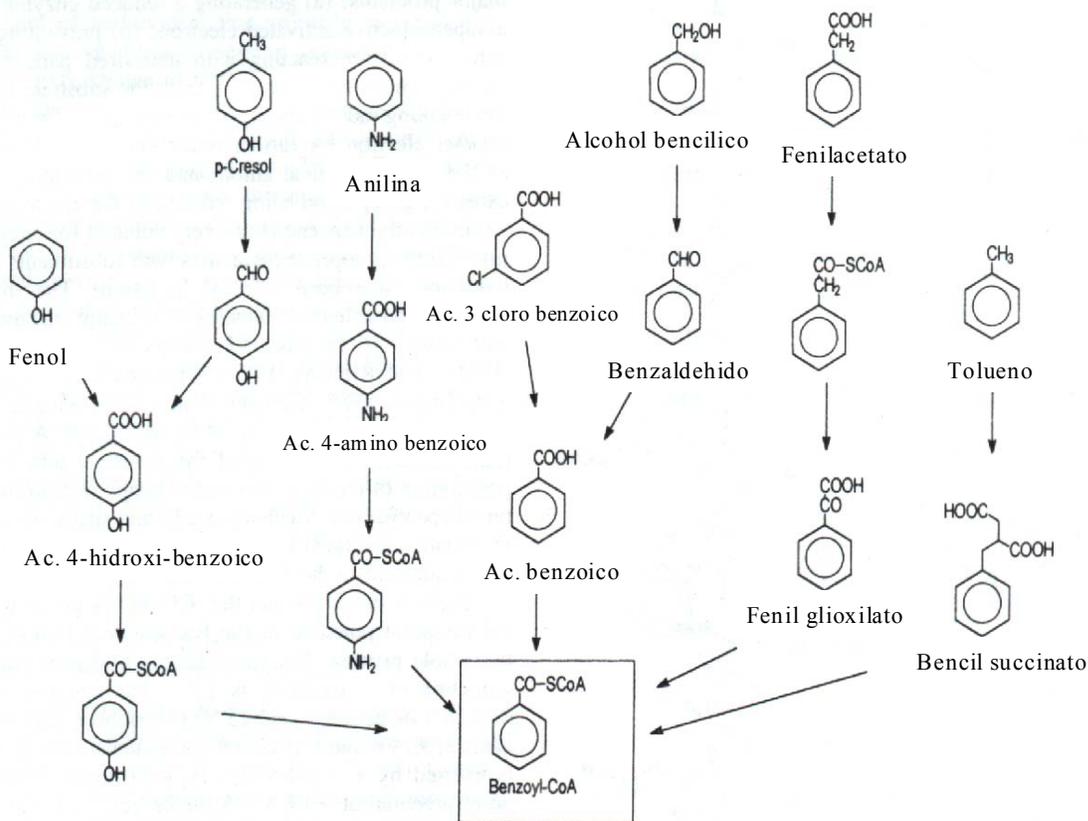


Figura 1.6. Rutas más representativas de ataques a anillos aromáticos, empleando oxidación directa del anillo para obtener un intermediario común, el benzoil-CoA.

Los compuestos aromáticos con dos o más sustituyentes hidroxilo son menos estables y por lo tanto son más fáciles de atacar. La biodegradación por medio de la hidroxilación no requiere la carboxilación en la etapa inicial y en su lugar se promueve la hidrogenación para desestabilizar gradualmente el anillo aromático, finalmente se adiciona un grupo hidroxilo promoviendo un re-arreglo alternativo con el propósito de disminuir la estabilidad del anillo.

La degradación anaerobia de compuestos aromáticos solubles procede en tres etapas (Figura 1.7). En la primera, como los compuestos aromáticos son considerados químicamente inertes, es necesario que sean activados (Figura 1.7A). Entre las reacciones características de activación anaerobia se encuentran la carboxilación, la hidroxilación y la formación del tioéster-CoA de ácidos aromáticos. En la segunda etapa, los intermediarios obtenidos benzoil-

CoA, benzoato, resorcitol (1,3 bencenodiol) y 1,3,5 bencenotriol son atacados enzimáticamente por reductasas (Figura 1.7B).

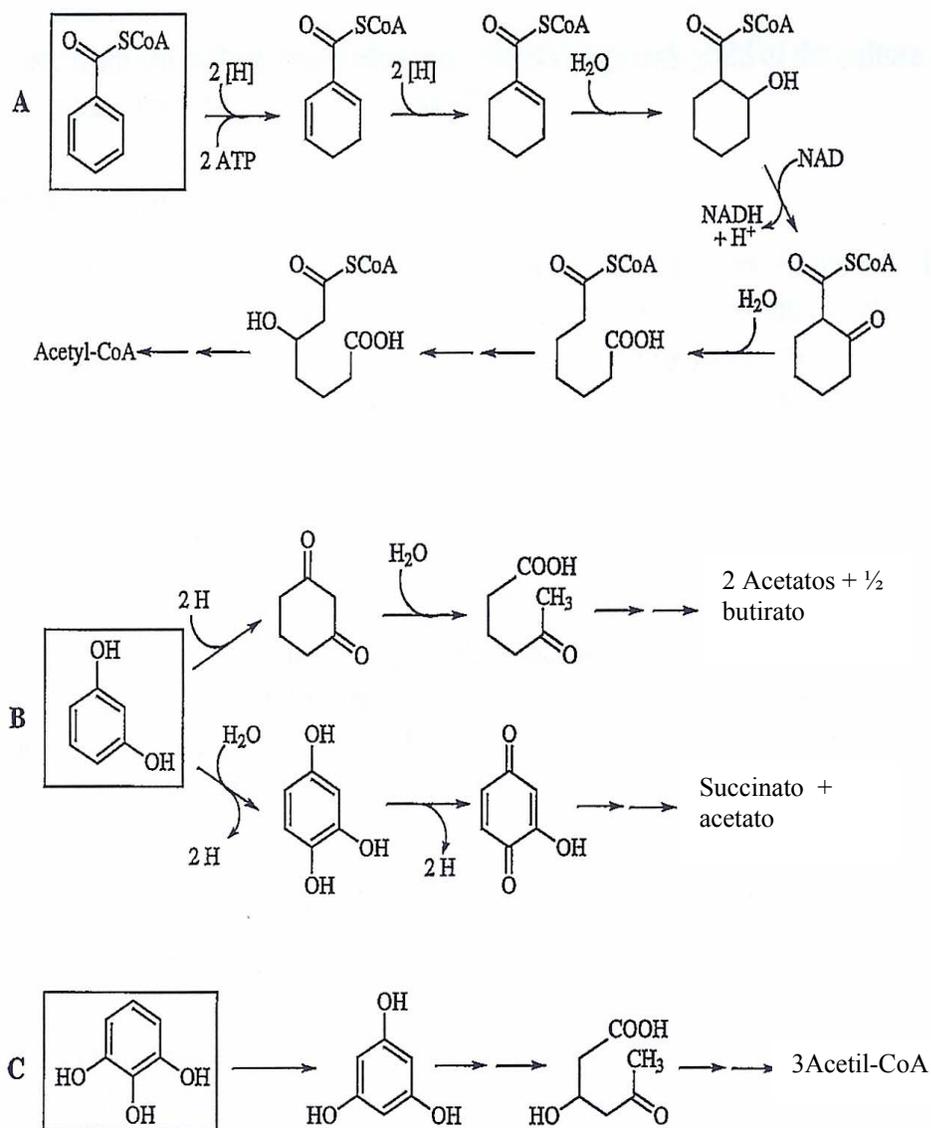


Figura 1.7. Rutas claves en la degradación anaerobia de compuestos aromáticos.

Los productos de la reducción son compuestos alicíclicos que son más fácilmente transformados por β -oxidación a compuestos 3-oxo. Finalmente, en la tercera etapa, los

compuestos no cíclicos obtenidos son transformados en metabolitos centrales mediante vías metabólicas convencionales (Figura 1.7C). Los productos obtenidos generalmente son acetil-CoA y CO₂ (Evans and Fuchs 1988 y White *et al.*, 1996).

En resumen la reducción del anillo aromático requiere de los siguientes mecanismos. i) La reducción mediante la adición de cuatro electrones del anillo aromático, ii) Una segunda reducción por la adición de dos electrones seguida inmediatamente de una reacción más favorable como hidratación, iii) dos etapas secuenciales de reducción por la adición de dos electrones en donde el di-eno generado es estabilizado por enzimas y iv) el núcleo pierde parcialmente sus propiedades aromáticas antes de la reducción, de tal manera que el di-eno es estabilizado por resonancia con el grupo funcional.

También se ha obtenido evidencia de la degradación anaerobia de benceno y tolueno. El catabolismo del primero ocurre por consorcios microbianos que producen metano. Por otra parte la oxidación de tolueno hasta CO₂ se puede lograr por cultivos axénicos, en este caso se trata de una respiración anaerobia acoplada a la reducción de hierro férrico o nitrato (Madigan *et al.*, 1999).

REFERENCIAS

- Ahel M, Giger W. and Schaffner CH. (1994) Behaviour of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants in the Aquatic Environmental- II. Occurrence and transformation in rivers. *Water Research*, 28, 5, 1143-1152.
- Alexander, M. (1994) Biodegradation and Bioremediation. Academic Press. California.
- Anubha G., Muller M., Mukesh S. and Frimmel F. (2003) Biodegradation of Nonylphenol Ethoxylate Surfactants in Biofilm Reactors. *Acta Hydrochimica et hydrobiologica*. 31. 108-119.
- Argemi F., Cianni N. and Porta A. (2005) Disrupción Endocrina: Perspectivas Ambientales y Salud Publica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 39, 3, 291-300.
- Atlas R. M. and Bartha R. (2002) Ecología Microbiana y Microbiología ambiental. Editorial Pearson Educación. S.A Madrid. Cuarta edición.
- Bernet, N., Bizeau, C., Moletta, R., Cornier, J.C. and Deguin, A. (1995) Study of Physicochemical Factors Controlling Nitrite Build-up During Heterotrophic Denitrification. *Environmental Technology*. 16. 165-172.
- Brooke L. T. (1993) Acute and Chronic Toxicity of Nonylphenol to Ten Species of Aquatic Organisms. EPA report. U.S. Environmental Protection Agency, Duluth, MN.

- Budavari, S. (1989) The Merck Index: An Encyclopedia of chemicals, Drugs and Biologicals. 11th ed. Merck and Co., Inc, Rahway. NJ.
- Cervantes C. F. (1998) Aspectos bioquímicos y Fisiológicos en la Desnitrificación de Altas Cargas Nitrogenadas en Régimen Estacionario. Tesis maestría. U.A.M. Iztapalapa, México.
- Cervantes C. F., Pérez J y Gómez J. (2000) Avances en la Eliminación Biológica del Nitrógeno de las Aguas Residuales. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 42. 73-82.
- Chu W. (2003) Remediation of Contaminated Soils by Surfactants-Aided Soil Washing. *Toxic and Radioactive waste Mgmt*. 7. 19-24.
- Comber M-H-I; Williams T-D. and Stewart K-M. (1993) The Effects of Nonylphenol on *Daphnia magna*. *Water Research*. 27 (2) 273-276.
- Crites, R. and Tchobanoglous G. (2000) Tratamiento de Aguas Residuales en Pequeñas Poblaciones. Editorial McGraw Hill. Interamericana. S.A.
- Deshpande S.S., B-J. Wade D., Sabatini D. A. and Harwell J. H. (1999) Surfactant Selection for Enhancing ex Situ Soil Washing. *Water Research* 33, 2, 351-360.
- DiCorcia A., Constantino A., Crescenzi C., Marcomini A. and Samperl R. (1998) Characterization of Recalcitrant Intermediates from Biotransformation of the Branched Alkyl Side Chain of Nonylphenol Ethoxylate Surfactants. *Environmental Science and Technology*, 32, 2401-2409.
- Dominic M.J. and White G.F. (1998) Mechanism for Biotransformation of Nonylphenol Polyethoxylates to Xenoestrogens in *Pseudomonas putida*. *Journal of Bacteriology*. 180. 4332-4338.
- Ejlertsson J., Nilsson M-L., Kylin H., Bergman A., Karlson L., Öquist M. and Svensson B-H. (1999) Anaerobic Degradation of Nonylphenol mono and Diethoxylates in Digester Sludge Landfilled Municipal Solid Waste and Landfilled Sludge. *Environmental Science and Technology*. 33, 301-306.
- Evans W.C., and Fuchs G. (1988) Anaerobic Degradation of Aromatic Compounds. *Annual Revision Microbiology* 42: 289-317.
- Fass, S., Ganaye V., Urbain, V., Manem, J. and Block, J.C. (1994) Volatile Fatty Acids as Organic Carbon Sources in Denitrification. *Environmental and Technology*. 15: 459-467.
- Fujita Y; and Reinhard M. (1997) Identification of Metabolites From the Biological Transformation of the Nonionic Surfactants Residue Octylphenoxyacetic Acid and its Brominated Analog. *Environmental Science and Technology*, 31 (5) 1518-1525.
- Gibson J. and Harwood C. S. (2002) Metabolic Diversity Aromatic Compounds Utilization by Anaerobic Microbes. *Annual Revision Microbiology* 56: 345-369.
- Gimeno S., Komen H., Venderbosch P. W. and Bowmer T. (1997) Disruption of sexual Differentiation in Genetic Male Common carp (*Cyprinus carpio*). Exposed to on

- Alkylphenol During Different life Stages. *Environmental Science and Technology*. 31. 2884-2890.
- Guiot , S.R., Pauss, A. and Costerton J. W. (1992) A structured Model of Anaerobic Granule Consortiun. *Water Science Technonogy*. 25. 1-10.
- Jonkers N., Knepper T. P. and Pim de Voogt. (2001) Aerobic Biodegradation Studies of Nonylphenol Ethoxylates in River Water Using Chromatography Electrospray tandem Mass Spectrometry. *Environmental Science and Technology*. 35. 335-340.
- Jorand F., Bigne B., Block J. C. and Urbain V. (1998) Hydrophobic/Hydrophilic Properties of Activated Sludge Exopolymeric Substances. *Water Science Technology*. 37. 307-315.
- Karthikeyan R. and Bhandari A. (2001) Anaerobic Biotransformation of aromatic and polycyclic aromatic Hydrocarbons in Soil Microcosms: Review. *Journal of Hazardous Substance Research*. 3. 3.1-3.19.
- Kinnberg K., Korsgaard B., Bjerregaard P. and Jespersen A. (2000) Effects of Nonylphenol and 17 Estradiol on Vitellogenin Synthesis and Testis Morphology in Male platyfish *Xiphophorus Maculatus*. *The Journal of Experimental Biology*. 203. 171-181.
- Knowles R. (1982) Denitrification. *Microbiological Reviews*. 46. 43-68.
- Lettinga G., Velsen A.F.M., Van de Bona S.W., Zeeuw W. and Klapwijk A. (1980) Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor Concept for Biological Wastewater Treatment, Especially for Anaerobic Treatment. *Biotechnology and Bioengineering*. 22. 699-734.
- Lizhong Z., Baoliang C. and Shu T (2004) Sorption behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil-water system containing nonionic surfactants. *Environment Engineering Science*. 21. 263-272.
- Lussier, S.M., Champlin J., LiVolsi S. and Pruell R.J. (2000) Acute Toxicity of p-nonylphenol to saltwater animals. *Environmental Toxicology Chemical*. 19. 617-621.
- Madigan M. T., Martinko J. M. and Parker J. (1999) *Biología de los microorganismos*. Editorial Prentice Hall. Octava edición.
- Maguire James R. (1999) Review of the Persistence of Nonylphenol and Nonylphenol Polyethoxylates in Aquatic Environments. *Water Quality Research Journal of Canada*. 34. 37-78.
- Markey C. M., Michaelson Ch. L., Sonnenschein C. and Soto A. M. (2001) Alkylphenols and Biphenol a as Environmental Estrogens. *Endocrine Disruptors*. 31. 129-153.
- Mateju V., Cizinska S., Krejčí J. and Janoch T. (1992) Biological Water Denitrification A review. *Enzyme Microbiology Technology*. 170-183.
- Moir J.W. and Wood N.J. (2001) Nitrate and Nitrite Transport in Bacteria. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 58. 215-224.
- Moroi Y. (1992) *Micelles: Theoretical and Applied Aspect*. Plenum Press New York.
- Moschel M. (2004) Anaerobic Degradability of Alcohol Ethoxylates and Related Nonionic Surfactants. *Biodegradation*. 15. 327-336.

- Mulligan C.N., Yong , R.N. and Gibbs, B.F. (2001) Surfactants Enhanced Remediation of Contaminated soil: a Review. *Engineering Geology*. 60. 371-380.
- Olea S. N. and Zuluaga G. A. (2001) Exposición Infantil a Disruptores Endocrinos. Anuario Español de Pediatría. 54, 1, 58-62.
- Pryor S. W., Hay A.G. and Walker L. P. (2002) Nonylphenol in Anaerobically Digested Sewage Sludge from New York State. *Environmental Science and Technology*. (36) 3678-3682.
- Rivera R. R., Rodríguez R. G., Razo F. E. y Bremauntz M. P. (1993) Algunos Aspectos Acerca del Proceso de Digestión Anaerobia Parte I: Microbiología. *Revista Latinoamericana de microbiología*. 53: 451-458.
- Rose A. H. and Tempest D. W. (2001) Microbial Physiology. Academic Press. Volume 31.
- Sato H., Atsushi S., Yang W., Hiromichi Y. and Hiroto T. (2003) Characterization of Biodegradation Intermediates of Nonionic Surfactants by MALDI-MS. Oxidative Biodegradation Profiles of Uniform Octylphenol Polyethoxylate in ¹⁸O-labeled Water. *Biomacromolecules*. 4. 46-51.
- Seghezzi L., Zeeman G., Van Lier J. B., Hamelers H. V. and Lettinga G. (1998) A Review: Anaerobic Treatment of Sewage in UASB and EGSB Reactors. *Bioresource Technology*. 175-190.
- Servos, M.R. (1999) Review of the Aquatic Toxicity, Estrogenic Responses and Bioaccumulation of Alkylpheno, and Alkylphenol Polyethoxylates. *Water Quality Research Journal of Canada*. 34. 123-147.
- Shang D-Y., Macdonald R-W. and Ikonomou M-G. (1999) Persistence of Nonylphenol Ethoxylate Surfactants and their Primary Degradation Products in Sediments from near a Municipal outfall in the Strait of Georgia, British Columbia, Canada. *Environmental Science and Technology*, 33, 1366-1372.
- Swisher R. D. (1997) Surfactant Biodegradation. Marcel Dekker. Inc. New York
- Thielle B., Gunther K. and Schwager M-J. (1999) Trace Analysis of Surfactants in Environmental Matrices. *Tenside Surfactants Detergents*. 36. 8-18.
- Tomei C. M. and Annesini C. M. (2005) 4-Nitrophenol Biodegradation in a Sequencing Batch Reactor Operating with Aerobic-Anoxic Cycles. *Environmental Science and Technology* 39. 5059-5065.
- Toshimichi M., Kazuhide H., Mu Y., Makato S., Yosuhiko Y. and Tsumeo S. (2005) Characteristics of Nonylphenol Polyethoxylate-Degrading Bacteria Isolated from Coastal Sediments. *Microbes and Environments*. 20. 253-257.
- U.S. Environmental Protection Agency (U.S.EPA) .822-R-05-005. (2005) Ambient Aquatic Life Water Quality Criteria
- Veiga M-C., Jain M-K., Wu W-M., Hollingsworth R-I., Zeikus J-G. (1997) Composition and role of Extracellular Polymers in Methanogenic Granules. *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (29) 4.3-407.

- Wenzel A., Bohmer W., Muller J. and Rudel H. (2004) Retrospective Monitoring of Alkylphenol and Alkylphenol Monoethoxylates in Aquatic Biota from 1985 to 2001: Results from the German environmental specimen bank. *Environmental Science and Technology*. 38. 1654-1661.
- White G. F., Russell N.J. and Tidswell E. C. (1996) Bacterial Scission of Ether Bonds. *Microbiological Reviews*. 60. 216-232.
- Zehnder J. B. Alexander. (1988) *Biology of Anaerobic Microorganisms*. Wiley series in Ecological and applied Microbiology. Editorial Wiley-Liss.

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Surfactante

Se utilizó el Tritón X-100 (SIGMA-ALDRICH), que es un surfactante no iónico cuya estructura es el t-octil fenol polietoxilato (A_8FP_X con $X = 9.5$ en promedio).

2.2 Reactor de lecho de lodos anaerobios de flujo ascendente (UASB)

Se emplearon dos reactores tipo UASB (Lettinga *et al.*, 1980). En la figura 2.1 se presenta su configuración. Cada reactor consistió de un cilindro de vidrio, el volumen del reactor utilizado para la digestión anaerobia fue de 1450 mL y de 2400 mL el reactor para la desnitrificación. Los reactores trabajaron en condiciones mesofílicas en un cuarto a temperatura controlada a 32 ± 2 °C y con tiempos de residencia hidráulica de un día.

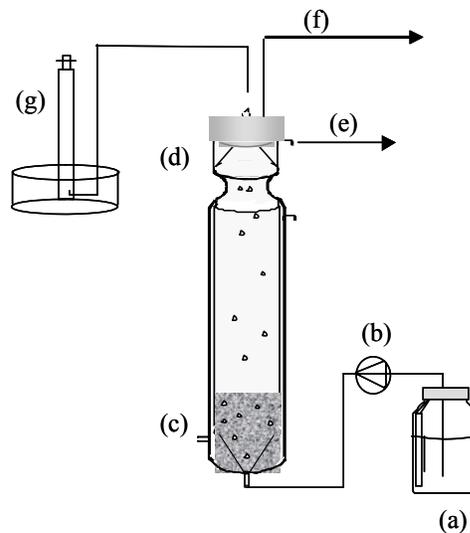


Figura 2.1. Representación esquemática del reactor UASB. (a) alimentación. (b) bomba peristáltica (c) lecho de lodos. (d) campana de separación líquido/gas/sólido. (e) efluente. (f) biogás, (g) columna de desplazamiento.

2.3 Arranque de los reactores

Los reactores se inocularon con 30 % v/v de un cultivo mixto de microorganismos, proveniente de un reactor UASB de la planta piloto que trata los efluentes de la Universidad Autónoma Metropolitana en Iztapalapa. En el reactor anaerobio, el medio mineral empleado fue el de Balch *et al.* (1979), preparado a partir de las soluciones concentradas I y II y la

solución de oligoelementos (Tabla 2.1). La solución de oligoelementos se preparó de la siguiente forma: 1.5 g de ácido nitrilo triacético en 950 mL de agua destilada, ajustando el pH a 6.5 con una solución de KOH.

Tabla 2.1 Composición del medio mineral para las bacterias anaerobias.

Reactivo	Solución concentrada (g L ⁻¹)	(mL) Solución/ L medio
<i>Solución mineral I</i>		
K ₂ HPO ₄	6.0	10
<i>Solución mineral II</i>		
KH ₂ PO ₄	6.0	
NH ₄ Cl	2.4	
NaCl	12	10
MgCl ₂ 6H ₂ O	2.1	
CaCl ₂ H ₂ O	0.16	
Solución de oligoelemento		
MgSO ₄ 7H ₂ O	3.0	
MnSO ₄ 2H ₂ O	0.5	
FeSO ₄ 7H ₂ O	1.0	5
CoCl ₂	0.1	
ZnSO ₄	0.1	
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.1	
H ₃ BO ₃	0.01	

La composición del medio mineral para la desnitrificación fue de (g L⁻¹): KH₂PO₄ (1.5), CaCl₂ 2H₂O (0.4), Na₂MoO₄ 2H₂O (0.06), MgSO₄ 7H₂O (1.0), FeCl₃ 6H₂O (0.05), CuSO₄ 5H₂O (0.05), Solución de oligoelementos MgSO₄.7H₂O (3.0), MnSO₄ 2H₂O (0.5), FeSO₄ 7H₂O (1.0), CoCl₂ (0.1), ZnSO₄ (0.1), CuSO₄ 5H₂O (0.1) H₃BO₃ (0.01) (Cuervo *et al.*, 1999).

La concentración de NO₃⁻ requerida en la desnitrificación fue calculada en base a las concentraciones de acetato y Triton X-100 de acuerdo a las reacciones estequiométricas para su mineralización.



Para los AFEOn



2.4. Cuantificación de los AFEOn adsorbidos en los lodos

Para determinar el surfactante que se adsorbe en los gránulos en condiciones bióticas, de cada reactor se tomaron 3 mL de lodo. Cada muestra fue centrifugada a 5000 rpm durante 30 min. El sedimento obtenido de cada muestra fue sometido a cuatro extracciones con diclorometano, sonicando en cada extracción durante 30 min y posteriormente centrifugando a 15,000 rpm durante 15 min. Los extractos de cada muestra fueron colectados y filtrados en membranas millipore de 45 μm , para la cuantificación de AFEOn por HPLC.

2.5 Técnicas Analíticas

2.5.1 Demanda química de oxígeno (DQO)

La DQO es una medida del contenido de materia orgánica que es susceptible a oxidación por un oxidante químico fuerte como el dicromato de potasio. El método empleado fue el de reflujo cerrado APHA (2005).

El material orgánico alimentado a los reactores, estuvo compuesto por lactosa y el Tritón X-100 para la digestión anaerobia y por acetato y el Tritón X-100 para la desnitrificación.

2.5.2 Cuantificación del biogás

Para la cuantificación del metano se empleó un cromatógrafo de gases (modelo GOW-MAC), con detector de conductividad térmica (TCD), utilizando helio como gas acarreador. En la Tabla 2.2, se muestran las condiciones en las que se operó el cromatógrafo.

Se realizó una curva estándar con metano y dióxido de carbono en botellas serológicas de 60 mL. La ecuación de ajuste fue:

$$\text{Área} = 1333.2 y_{\text{CH}_4} - 2638.8 \quad r^2 = 0.995 \quad (2.3)$$

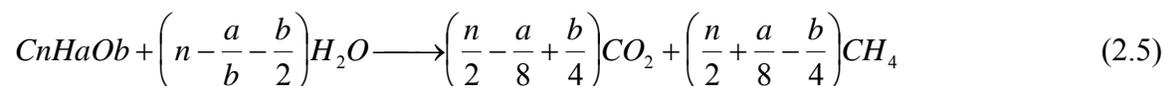
Tabla 2.2. Condiciones de operación del cromatógrafo de gases

Parámetro	
Temperatura de la columna	140 °C
Temperatura del detector	190 °C
Temperatura del inyector	170 °C
Gas acarreador	Helio
Presión He	50 psi
Flujo He	30 ml/min

El metano experimental se obtuvo por el desplazamiento de la solución saturada de NaCl en una columna (ecuación 2.4).

$$Q_{CH_4} = \left[\frac{\Delta h}{\Delta t} \right] * ASC * \left[\frac{0.8 atm * 273 K}{1 atm (273 K + 35)} \frac{1 mol}{22.4 L} \right] * y_{CH_4} \quad (2.4)$$

Para calcular el metano producido teóricamente a partir de la lactosa y el Tritón X-100, se empleó la ecuación de predicción propuesta por Buswell & Mueller (Metcalf and Eddy 2003).



Para el biogás del reactor desnitrificante, el nitrógeno experimental se determinó con

$$Q_{N_2} = \left[\frac{\Delta h}{\Delta t} \right] * ASC * \left[\frac{0.8 atm * 273 K}{1 atm (273 K + 35)} \frac{1 mol}{22.4 L} \right] * y_{N_2} \quad (2.10)$$

donde:

Q_{CH_4}, Q_{N_2} = Gasto volumétrico de metano y nitrógeno molecular

Δh = Desplazamiento del líquido (cm).

ASC = Área seccional de la columna (cm²)

Δt = Intervalo de tiempo

y_{CH_4}, y_{N_2} = Fracción mol de CH₄ y N₂ en el biogás

2.5.3 Nitrito y nitrato

La cuantificación de nitrato y nitrito se realizó por electroforesis capilar de acuerdo a Wang *et al.*, (1995). Se empleó un analizador capilar de iones. (Millipore CIA 4000) con columna de sílice fundido con diámetro interno de 75 μm y longitud 60 cm. La corriente fue de 30 mA con un voltaje de 20 KV. El electrolito empleado para la generación del campo eléctrico fue 10 mL de sulfato de sodio (0.1 M NaSO_4) más 3 mL OFM Anión-BT (Waters) aforado a 100 mL con agua desionizada. (Pérez, 1998)

2.5.4 Cuantificación de los AFEOn

Para la cuantificación de los AFEOn se empleó la técnica de cromatografía líquida de alta resolución HPLC (Thermo Separation Products). Se utilizó una columna Prodigy ODS-2 de 15 cm de longitud, un inyector manual, las bombas constaMetric 4100 (TPS # 920558001) y constaMetric 3500 (TPS # 920557), y un detector Serial UV (spectroMonitor 5000).

En el análisis de las muestras se utilizó una fase móvil compuesta por una mezcla de acetonitrilo-agua-ácido-acético en una proporción (80:15:5), con un flujo de 1mL/min, alcanzando una presión de 950-1050 psi. El tiempo de retención para los AFEOn fue de 4.8 minutos.

Cada muestra se centrifugó a 15,000 rpm durante 15 minutos y se filtró a través de acrodiscos (Millipore) de 0.45 μm con diámetro de 1 cm. Los análisis se realizaron a temperatura constante de 40 °C.

2.5.5 Exopolímeros en los lodos

Se tomaron muestras de 5 mL de los lodos, centrifugándose a 5000 rpm durante 10 minutos (Martínez *et al.*, 2000). Para cada muestra el sobrenadante se decantó y se adicionaron 5 mL de EDTA (0.1 M). Las muestras se agitaron un minuto en vortex y se mantuvieron un minuto en reposo, centrifugándose nuevamente a 5000 rpm por 10 min. El sobrenadante se filtró por membranas Millipore de 0.45 μm , cuantificándose los azúcares totales por el método del fenol sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). El resto del sobrenadante se

dializó dos días con agua destilada, haciendo un recambio a las 24 horas. Finalmente al dializado se le cuantificó la proteína (Lowry *et al.*, 1951).

2.5.6. Azúcares totales

Los azúcares totales se determinaron por el método de fenol sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). Se tomaron 2 mL de muestra, se adicionó 1 mL de fenol (5%). Posteriormente por las paredes del tubo se adicionaron 5 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada muestra y se incubaron por 20 minutos a 30 °C. Se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 480 nm. La curva estándar se realizó con lactosa a 100 mgL⁻¹. La ecuación de predicción para determinar los azúcares fue:

$$C_{azuc} = \frac{A - 0.0471}{0.0106} \quad r^2=0.990$$

Donde: A=absorbancia. C_{azuc}=concentración de azúcares totales (mgL⁻¹)

2.5.7 Proteína (Método de Lowry)

Se prepararon las siguientes soluciones:

Solución A: Se disolvieron 20 g de Na₂CO₃ en 1 L de NaOH 0.1 N. *Solución B:* CuSO₄ al 0.1 %. *Solución C:* Tartrato de sodio y potasio al 0.2 %. *Solución D:* Se mezclan 50 mL de la solución A, más 1 mL de B, se adiciona 1 mL de °C.

Procedimiento: Se colocó 1 mL de muestra en un tubo de ensaye y se adicionaron 0.1 mL de NaOH 10 N, agitándose e incubándose a 90 °C por 30 minutos. Transcurrido el tiempo se adicionaron 5 mL de la solución D, se agitaron y se dejaron en reposo en un lugar oscuro durante 30 minutos. Pasado este tiempo, se adicionó 1 mL de reactivo de Folin, y agitándose y nuevamente se dejó en reposo en oscuridad durante 30 minutos. Finalmente se midió la absorbancia a 750 nm.

Se preparó por triplicado una curva estándar con albúmina de 0 a 300 mgL⁻¹, La ecuación de predicción para cuantificar la proteína fue.

$$Y = 0.0016X + 0.1168. \quad r^2= 0.993$$

2.5.8 Identificación de los productos de degradación de los AFEOn

La identificación de los productos de la degradación se hizo en un cromatógrafo de gases (Hewlet Packard serie II 5890) acoplado a un espectrómetro de masas (serie 5972 HP), con una columna HP5-MS no polar (5 % difenil y 95 % dimetilpolisilano). Las temperaturas empleadas fueron: inyector 260 °C, detector 290 °C y el programa de temperatura para la columna 50-300 °C (10 °C/min) permaneciendo 15 min a 300 °C. La energía ionizante aplicada fue de 70 eV (Di Corcia *et al.*, 1998).

La preparación de las muestras fue la siguiente: del efluente de cada reactor se tomaron muestras de 50 mL, se filtraron con membranas de nylon de 0.45 µm y a cada muestra se le hicieron tres extracciones con diclorometano (5 mL). De la fase orgánica, se evaporó el solvente por medio de una corriente de nitrógeno. Posteriormente se resuspendió en 5 mL de diclorometano.

2.5.9 Tensión Superficial

La tensión superficial fue determinada por el método de presión máxima de la burbuja, con el equipo SensaDyne QC6000 Surface Tensiometer. Se hizo burbujear lentamente un gas inerte (nitrógeno) por dos tubos de diferente radio que se sumergieron en el líquido de prueba. Las burbujas de nitrógeno a través de los tubos producen una señal que es una diferencial de presión (ΔP) que se relaciona directamente con la tensión superficial del fluido. La calibración se realizó con agua desionizada (71.6 Dinasc^m⁻¹) y alcohol etílico (22.2 Dinasc^m⁻¹).

2.5.10 Sólidos Totales (ST)

Los sólidos totales son la suma de los sólidos disueltos y los sólidos en suspensión. 25 mL de los lodos de cada reactor se centrifugaron a 5000 rpm, durante 10 min eliminando el sobrenadante. Posteriormente, se colocó el sedimento en un crisol puesto previamente a peso constante, el crisol se colocó en una estufa a 103-105 °C durante una hora, pasado el tiempo se enfrió en un desecador y el peso se registró. El procedimiento se repitió hasta obtener peso constante (APHA 2005).

Sólidos fijos totales

Los residuos obtenidos del método de ST se calcinaron en una mufla a 550 °C durante 30 minutos. El crisol se transfirió a una estufa a temperatura de 105 °C durante 30 minutos. Posteriormente se enfrió el crisol en un desecador y se registro el peso, repitiéndose el procedimiento hasta obtener peso constante.

Sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se calcularon por diferencia de los sólidos totales (ST) y los sólidos fijos totales (SFT).

REFERENCIAS

- APHA (2005) Standard Methods for the Examination Water and Wastewater, American Public Health Association, Washington, DC, 19 th Edition. USA.
- Balch W. E., Fox G. F., Magrum L. J. and Wolfe R.S (1979) Methanogens: Reevaluation of a Unique Biological Group. *Microbiology Reviews*. 3: 260-296.
- Cuervo L. F.M; Martínez F; Gutiérrez-Rojas M; Noyola R.A, and Gómez J. (1999) Effect of Nitrogen Loading Rate and Carbon Source on Denitrification and Sludge Settleability in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors. *Water Science and Technology*. 40, 123-130.
- Di Corcia A., Constantino A., Crescenzi C., Marinoni E. and Samperi R. (1998) Characterization of Recalcitrant Intermediates from Biotransformation of the Branched Alkyl Side Chain of Nonylphenol Ethoxylate Surfactants. *Environmental Science and Technology*. 32, 2401-2409.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton, J. K., Roberts P. A. and Smith F. (1956) *Analytical Chemistry*. 28: 350-352.
- Lowry, O. H., Rosenbrouth, N. J., Farr, A. L., and Randall R. J. (1951) *Journal Biology Chemical*. 193: 265-275.
- Lettinga G., Van Velsen A.F.M., Hobman S. W., Zeeuw W. and Klapwijk A. (1980) Use of Upflow Sludge Blanquet Reactor Concept for Biological Wastewater Treatment Especially for Anaerobic Treatment. *Biotechnology and Bioengineering*. 22: 699-734.
- Martínez F., Favela Torres E. and Gómez J. (2000) Oscillations of Exopolymeric Composition and Sludge Volume index in Nitrifying Floccs. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 87, 177-188.
- Metcalf and Eddy Inc. Wastewater Engineering. Treatment and Reuse. (2003) Fourth edition. MacGraw-Hill.

- Pérez T. J., (1998) Evaluación del Efecto del pH y la Fuente de Electrones en la Desnitrificación en Estado Estacionario. Tesis de Maestría. U.A.M. Iztapalapa. México.
- Wang J.H., Baltzis B.C. and Lewandowski, G.A.(1995) Reduction of Nitrate and Nitrite in a Cyclically Operated Continuous Biological Reactor. *Biotechnology Bioengineering*. 46. 159-171.

SORCIÓN DE LOS ALQUIL FENOL POLIETOXILATOS EN LODOS ANAEROBIOS Y DESNITRIFICANTES Y SU EFECTO EN LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

En el presente capítulo se determinaron las isotermas de adsorción de los AFEOn en lodos biológicos (anaerobios y desnitrificantes), empleándose dos modelos, el de Langmuir y el de Freundlich. Se encontró que los datos experimentales para ambos tipos de lodos son mejor descritos por el modelo de Langmuir. A partir de este modelo se obtuvo la concentración máxima de adsorción del surfactante (Q_{\max}) en los lodos anaerobios y desnitrificantes, la cual fue de 68.027 mg_{AFEOn}/g_{SSV} y 91.33 mg_{AFEOn}/g_{SSV} respectivamente.

Por lote se evaluó el efecto de los alquil fenol polietoxilatos en la actividad microbiana de ambos lodos. Se encontró que la actividad microbiana para los lodos anaerobios disminuyó un 90 % a 4,000 mg_{AFEOn}L⁻¹. Además, la concentración de proteína soluble se incrementó mientras que la de proteína exopolimérica de los lodos anaerobios disminuyó, lo cual indica una probable disgregación de los gránulos anaerobios. Referente a la actividad en los lodos desnitrificantes, la disminución en la actividad fue tan solo del 35% a 4,000 mg_{AFEOn}L⁻¹, lo cual indica que los gránulos desnitrificantes probablemente poseen una propiedad fisiológica que atenúa el efecto de los surfactantes en su estructura.

INTRODUCCIÓN

La sorción es el proceso de acumulación de un soluto en una interfase y puede ser del tipo gas/líquido, líquido/sólido o líquido/líquido. El soluto se desplaza en el sistema por macrotransporte y/o microtransporte. El primero involucra el movimiento del soluto a través de la interfase por advección y difusión. Para el microtransporte el transporte se da por la difusión del soluto al interior del adsorbente.

La sorción resulta de diferentes tipos de fuerzas de atracción entre las moléculas del soluto, del solvente y las del adsorbente. Estas fuerzas pueden actuar en forma concertada. Existen dos tipos de sorción que se diferencian por el grado de interacción del soluto con las moléculas del sorbato. La primera es la adsorción, que es la acumulación del soluto limitada a la superficie del adsorbente. La segunda es la absorción que en contraste es un proceso en el cuál el soluto se transfiere a través de la interfase al seno de la fase del absorbente (Metcalf and Eddy, 2003).

Las fuerzas de atracción que intervienen en la adsorción del soluto en el adsorbente son de diferentes tipos entre las que se encuentran: las electrostáticas (Ion-dipolo, Ion-Ion), uniones químicas (puentes de hidrógeno y covalentes) e interacciones físicas (dipolo-dipolo, dipolo-dipolo inducido). Cuando se emplea el soluto a concentraciones muy altas aparecen otros procesos como son la solvatación y la precipitación. (Somasundaran *et al.*, 1998, Tohren *et al.*, 1997). La adsorción se considera un proceso muy complejo, debido a que depende de las propiedades del sólido, de la fuerza iónica de la solución y de la composición química del adsorbato.

Para que en un sistema heterogéneo líquido/sólido (lodos) pueda existir una reacción, es necesario que los reactivos se adsorban a la superficie. La adsorción puede ser física o química, en el primer caso las fuerzas de atracción son más débiles, en las segundas estas interacciones son generalmente covalentes.

El proceso global de reacción en un sistema heterogéneo se puede describir en siete pasos. (1) El transporte advectivo o difusivo del soluto del líquido a la superficie exterior del sólido, (2) la difusión del soluto en la zonas de líquido estancado, (3) la adsorción del soluto en la superficie

del adsorbente (4) la reacción, (5) la desorción del producto. (6) la difusión del producto en la zona estancada. (7) transporte advectivo y difusión del producto al seno del líquido.

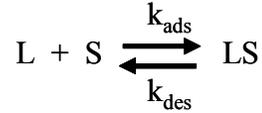
Los surfactantes por sus características anfipáticas tienden a adsorberse en suelos, sedimentos y lodos activados. El transporte, comportamiento y velocidad de la biodegradación de los surfactantes pueden ser afectados significativamente por su participación en el proceso de adsorción (Pryor *et al.*, 2002).

El proceso de adsorción altera la distribución del contaminante y por lo tanto la cantidad de este en las fases y las interfases del sistema. El intercambio de masa asociado con tales procesos altera la tasa de consumo y el transporte de las sustancias. Estos efectos son complejos dada la diversidad, magnitud y actividad de las especies químicas y las fases e interfases presentes en los sitios contaminados (Weber *et al.*, 1991).

Se han realizado estudios de adsorción de surfactantes aniónicos como el alquil bencen sulfonato de sodio en suelos (Westall *et al.*, 1999) y de surfactantes no iónicos en suelos naturales y artificiales (Cano and Dorn 1996 y Viet *et al.*, 2004). Los estudios de la adsorción de AEO (alcohol etoxilato) y AFEOn se han realizado en materiales inertes tales como silica, látex, carbonato de calcio, carbón activado y fibras textiles.

3.1 Isotermas de Adsorción.

El fenómeno de adsorción se puede representar por medio del siguiente equilibrio (Somasundaran *et al.*, 1998, Tohren *et al.*, 1997, Metcalf and Eddy 2003):



Donde: S es el adsorbato, L es el sitio desocupado sobre la superficie del adsorbente y (LS) representa las moléculas de S adsorbidas o los sitios ocupados sobre la superficie del adsorbente. La constante de equilibrio entre la adsorción y la desorción esta dada por:

$$K_{eq} = \frac{k_{ads}}{k_{des}} = \frac{\theta}{(1-\theta)C_{eq}} \quad (3.1)$$

Donde θ es la fracción de espacios activos del lodo ocupados por el adsorbato y C_{eq} es la concentración del adsorbato en la fase acuosa en el equilibrio (mgL^{-1}). La velocidad de adsorción (γ_{ads}) es directamente proporcional a la concentración del adsorbato en la fase acuosa (C_{eq}) así como a la fracción molar de sitios libres en la superficie del adsorbente (ecuación 3.1).

$$\gamma_{ads} = k_{ads}(1-\theta)C_{eq} \quad (3.2)$$

La velocidad de desorción (γ_{des}) es la disminución de los sitios ocupados por el adsorbato en el adsorbente, la cual será directamente proporcional al número de espacios ocupados por el adsorbato.

$$\gamma_{des} = k_{des}\theta \quad (3.3)$$

En el equilibrio (adsorción-desorción) las velocidades son las mismas y se pueden igualar las ecuaciones 3.2 y 3.3.

$$k_{ads}(1-\theta)C_{eq} = k_{des}\theta \quad (3.4)$$

Resolviendo para θ se obtiene la ecuación 3.5

$$\theta = \frac{k_{ads} C_{eq}}{k_{des} + k_{ads} C_{eq}} \quad (3.5)$$

Definiendo la constante de afinidad (K_{af}) del surfactante y los lodos anaerobios

$$K_{af} = \frac{k_{des}}{k_{ads}} \quad (3.6)$$

Despejando k_{des} de 3.6 y sustituyendo en 3.5, se obtiene la siguiente ecuación

$$\theta = \frac{C_{eq}}{K_{af} + C_{eq}} \quad (3.7)$$

La cantidad de surfactante adsorbido por unidad en masa de lodos (Q_g) es directamente proporcional a θ y tiene un valor máximo (Q_{max}) cuando $Q_g = Q_{max}\theta$. Sustituyendo esta última relación en la ecuación 3.7 se obtiene la isoterma de Langmuir, la cual proporciona una buena representación del fenómeno de adsorción, en un sistema monocapa y cada sitio de contacto adsorbente-adsorbato es equivalente en energía.

$$Q_g = \frac{Q_{max} C_{eq}}{K_{af} + C_{eq}} \quad (3.8)$$

Linearizando la ecuación 3.8 se obtiene la ecuación 3.9, que permite determinar los parámetros Q_{max} y K_{af} de la isoterma de Langmuir (Figura 3.1)

$$\frac{1}{Q_g} = \left(\frac{1}{C_{eq}} \right) \frac{K_{af}}{Q_{max}} + \frac{1}{Q_{max}} \quad (3.9)$$

La isoterma de Freundlich a diferencia de la de Langmuir, es una expresión empírica que se emplea con bastante frecuencia para el ajuste de datos experimentales en fenómenos de sorción de sistemas naturales (Ecuación 3.10):

$$Q_g = KC_{eq}^n \quad (3.10)$$

Donde el parámetro K es una constante que representa la capacidad de adsorción cuyas unidades dependen del valor del exponente n , el cual es una constante de la intensidad de la porción, Q_g es la cantidad adsorbida y C_{eq} es la concentración del adsorbato en el equilibrio. Aplicando logaritmo natural a la isoterma de Freundlich para su linearización se obtiene la siguiente ecuación:

$$\ln Q_g = n \ln C_{eq} + \ln K \quad (3.11)$$

La ecuación permite determinar los parámetros n y K de la isoterma de Freundlich.

Desorción del surfactante

En los sistemas biológicos después de haber alcanzado el equilibrio entre la adsorción-desorción, es importante realizar el proceso de lavado de los lodos, con el propósito de conocer si las interacciones entre surfactante-lodo se pueden desplazar hacia la desorción. El conocimiento de la reversibilidad de la adsorción puede ser una clave importante en sistemas biológicos debido a que podría indicar la fracción disponible del surfactante en el adsorbente. La liberación de los AFEOn de la fase sólida durante las etapas de desorción se puede expresar mediante la ecuación 3.12 (During *et al.*, 2003).

$$\Delta Q_{desorb} = \left[(C_i - C_{i-1})(1-r) \frac{V_A}{W_s} \right] \quad (3.12)$$

Donde ΔQ_{desorb} es el cambio de concentración en la fase sólida en la i -ésima etapa de desorción, $C_i - C_{i-1}$ son las concentraciones del soluto en la solución al final y en la etapa ($i-1$) y r ($=0.8$) es la fracción que se reemplaza del sobrenadante en cada dilución. V_A es el volumen de la fase acuosa (mL) y W_s es la masa del lodo (g). En este tipo de procesos, cuando las trayectorias en los equilibrios de adsorción y desadsorción son diferentes se presenta un fenómeno de histéresis.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizaron isotermas de adsorción del AFEOn en los lodos anaerobios y desnitrificantes, para lo cual se tomaron lodos de los reactores UASB operando en sistemas de digestión anaerobia y desnitrificante. Las unidades experimentales fueron botellas serológicas de 55 mL

que con 5 mL de lodos anaerobios y 25 mL agua destilada. Todas las botellas con los lodos anaerobios y desnitrificantes fueron selladas con tapones de neopreno y anillos de aluminio y se esterilizaron. Se utilizaron las siguientes concentraciones de alquil fenol polietoxilatos (mgL^{-1}): 0, 50, 100, 500, 1000, 2000, 2500, 3000 y 4000. Todas las unidades experimentales se mantuvieron en agitación y temperatura constante ($32\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 24 horas. Posteriormente, se centrifugaron a 5,000 rpm.

Con el propósito de evaluar el efecto de los alquil fenol polietoxilatos en la actividad de los lodos anaerobios y desnitrificantes, se emplearon botellas serológicas de 120 mL. El medio mineral de Balch *et al.*, (1979) fue utilizado para la digestión anaerobia (50 mL por botella) y el medio mineral reportado por Cuervo *et al.*, (1999) para la desnitrificación (50 mL por botella). Las botellas se cerraron con septos de neopreno y tapones de aluminio. Posteriormente, se cambio la atmósfera con nitrógeno y dióxido de carbono para el ambiente anaerobio y helio para el desnitrificante. Las botellas se esterilizaron y se adicionaron los sustratos: 500 mgL^{-1} de acetato para la desnitrificación y 1000 mgL^{-1} de lactosa para la digestión anaerobia. El surfactante se adicionó a concentraciones de 0, 50, 100, 500, 1000, 2000, 2500, 3000 y 4000 (mgL^{-1}). Finalmente, todas las botellas se inocularon en condiciones anaerobias. Las variables de respuesta fueron la producción de metano (cuantificado por cromatografía de gases), el consumo del sustrato (cuantificado por cromatografía de gases), la proteína soluble y exopolimérica (método de Lowry), los AFEOn (cuantificado por HPLC) y el nitrato (cuantificado por electroforesis capilar).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Curvas de saturación de los AFEOn en lodos anaerobios y en lodos desnitrificantes

La figura 3.1 muestra los datos experimentales de las isothermas de adsorción ($T = 32\text{ }^{\circ}\text{C}$) de los AFEOn en los lodos de digestión anaerobia y en los lodos desnitrificantes, así como las isothermas correspondientes a los ajustes de los modelos de adsorción de Langmuir y Freundlich, obtenidas por regresión de las linerizaciones correspondientes.

Para los lodos de digestión anaerobia (Figura 3.1a), se observa que a una concentración de equilibrio del surfactante por debajo de 100 mgL^{-1} , hay una relación directa entre la adsorción

del AFEOn y la concentración de equilibrio. En la segunda parte de la curva cuando la concentración de equilibrio esta por arriba de 250 mgL^{-1} , la adsorción del surfactante es independiente de la concentración de equilibrio ya que se mantiene casi constante ($70 \text{ mg}_{\text{AFEOn}}/\text{g}_{\text{SSV}}$).

Para los lodos desnitrificantes (Figura 3.1b) se observa que la tendencia también es lineal para concentraciones menores a 100 mgL^{-1} . El comportamiento es similar a los lodos anaerobios, sin embargo, en la segunda parte la curva muestra una tendencia ascendente, indicando que los lodos desnitrificantes adsorben una mayor cantidad del surfactante.

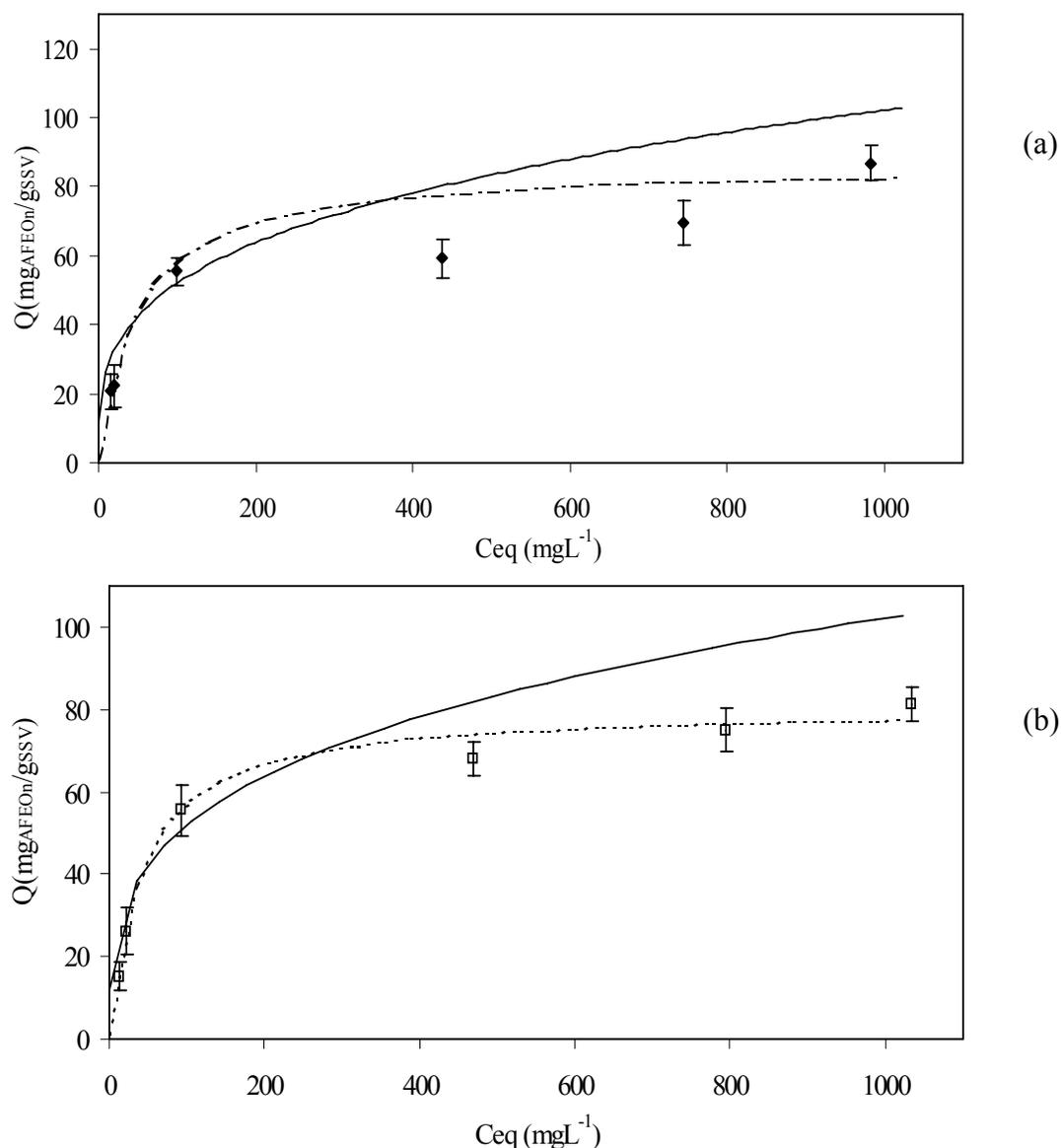


Figura 3.1. Isothermas de adsorción de los AFEOn en los lodos (a) digestión anaerobia (b) desnitrificantes y los ajustes de los modelo de (...)Langmuir y (—) Freundlich

La tendencia en ambos lodos es no lineal, lo que sugiere que la adsorción no es únicamente función de la concentración del surfactante, sino también, de propiedades del adsorbato tales como el número de sitios disponibles y los tipos de interacción de éstos con las moléculas de surfactante.

Los parámetros obtenidos a partir de la linearización de las isothermas se presentan en la Tabla 3.1, mientras que la Figura 3.2 muestra las graficas respectivas a las isothermas. En base a los valores de Q_{max} de la isoterma de Langmuir, se observa que los lodos desnitrificantes adsorben un 25% más de AFEOn que los lodos anaerobios. Sin embargo, a partir de la constante de afinidad se observa que los lodos anaerobios tienen mayor afinidad por el surfactante que los lodos desnitrificantes.

Tabla 3.1 Parámetros obtenidos de las linearizaciones de las isothermas de Langmuir y Freundlich

Sistema	Langmuir $Q_s = \frac{Q_{max} C_{eq}}{K_{af} + C_{eq}}$	Freundlich $Q = KC_{eq}^n$
Digestión Anaerobia	$Q_{max} = 68.027 \pm 7.9 (mg_{AFEOn}/g_{SSV})$ $K_{af} = 38.76 \pm 4.2 (mgL^{-1})$ $r^2 = 0.9907$	$K = 0.1297 \pm 0.0122$ $n = 0.56734$ $r^2 = 0.8818$
Desnitrificantes	$Q_{max} = 91.339 \pm 11.5 (mg_{AFEOn}/g_{SSV})$ $K_{af} = 57.867 \pm 3.6 (mgL^{-1})$ $r^2 = 0.9897$	$K = 0.1048 \pm 0.0103$ $n = 0.42387$ $r^2 = 0.8913$

A partir de los datos experimentales, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) (con un nivel de significancia $\alpha=0.05$), utilizando el paquete estadístico SPSS (proveedor Apache software Foundation). Se encontró que la variabilidad de al menos uno de los modelos es diferente a los demás, con un nivel de significancia de $\alpha=0.096$. Para determinar que modelos son diferentes entre sí, se utilizó la prueba de Tukey (Tabla 3.2). Esta prueba permitió determinar el orden de los modelos en base a su variabilidad (de mayor a menor precisión). El modelo que presentó la menor variabilidad, fue la isoterma de Langmuir para lodos de digestión anaerobia, mientras que el modelo con la mayor variabilidad fue el Modelo de Freundlich para lodos desnitrificantes. Por esta razón, es posible considerar que el fenómeno de sorción de los AFEOn en los lodos anaerobios y en los desnitrificantes, se explica mejor como un fenómeno únicamente de superficie (monocapa). Estos resultados implican que los lodos anaerobios comparados con

los desnitrificantes, presentan un área superficial menor, y que las interacciones superficiales con los AFEOn se presentan a concentraciones menores de estos en el seno de la fase líquida.

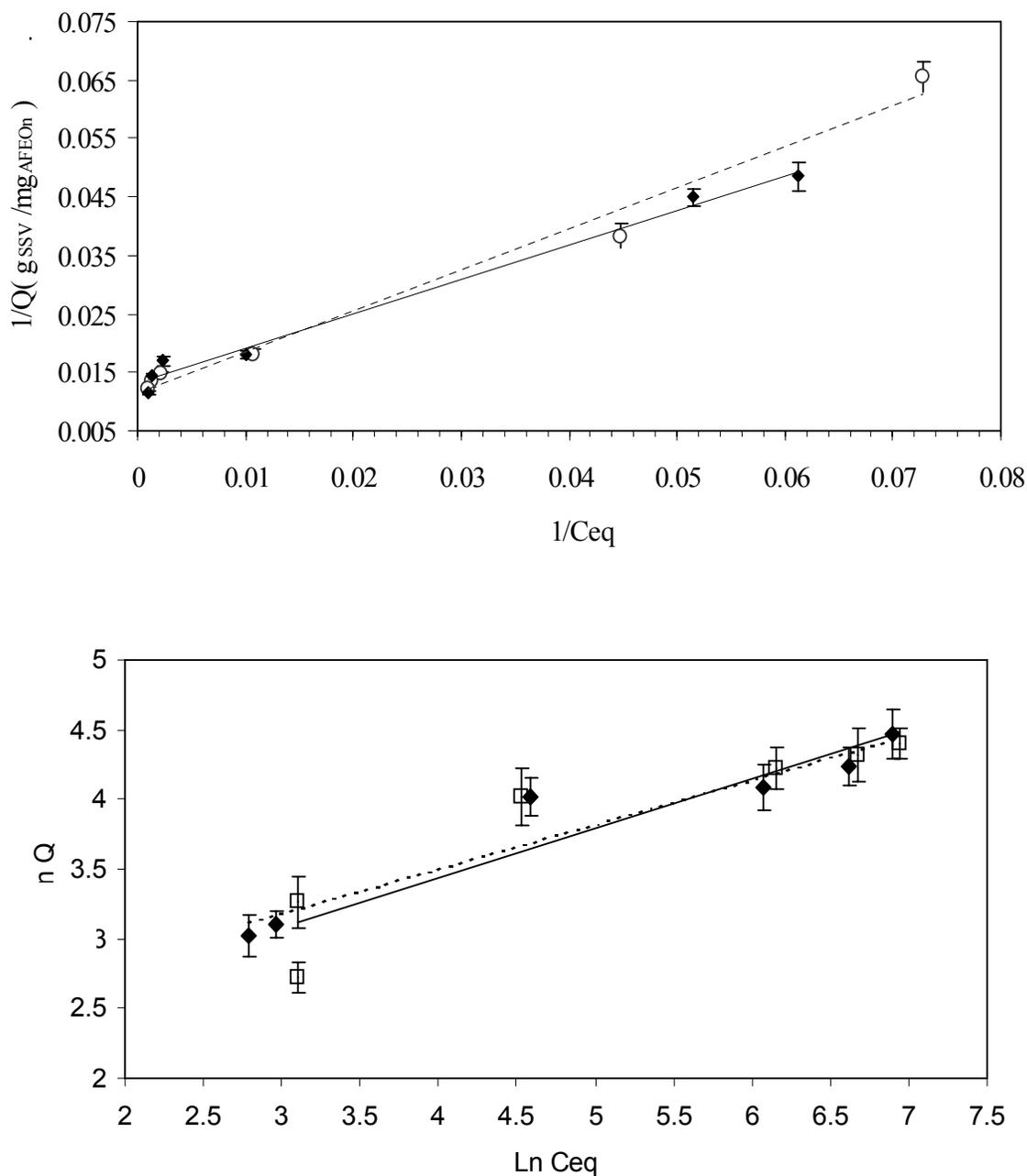


Figura 3.2. Linearización de la isoterma de adsorción del AFEOn en lodos anaerobios (----- y \square) y lodos desnitrificantes (— y \blacklozenge) (a) Langmuir (b) Freundlich.

Tabla 3.2. Prueba de Tukey (LM Modelo de Langmuir para lodos anaerobios, LD: Modelo de Langmuir para lodos desnitrificantes, FM: Modelo de Freundlich para lodos anaerobios y FD Modelo de Freundlich para lodos desnitrificantes).

MODELO	$\alpha=0.05$
LM	42.9955
LD	73.2767
FM	127.2993
FD	187.6812

Por otra parte, los valores obtenidos de los parámetros de las isothermas de Freundlich, coinciden con lo reportado en la literatura. Brownawel *et al.*, (1997) y Van Compernelle *et al.*, (2006) estudiaron el efecto de la longitud de la cadena etoxílicas en la adsorción de surfactantes no iónicos con estructura de alcohol etoxilatos $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x \text{OH}]$ en donde $x=3, 6$ y 9 unidades]. Ellos determinaron que la isoterma de Freundlich describió bien el proceso y que el pH y la concentración de Ca^{+2} , no tienen un efecto significativo en la adsorción del surfactante. Sin embargo, estos investigadores comentan que la adsorción se modifica significativamente de acuerdo a la longitud de la cadena etoxílica, encontrando que para el surfactante con la cadena más corta el comportamiento en la adsorción es casi lineal (el valor de n reportado fue de 0.92), mientras que para la cadena más larga la isoterma fue no lineal ($n=0.61$). Este último valor es similar a los obtenidos para la adsorción de los AFEOn en los lodos anaerobios ($n=0.567$) y desnitrificantes ($n=0.424$). Este efecto puede atribuirse a las interacciones de la porción etoxílica de los AFEOn con los lodos, las cuales podrían ser del tipo de puentes de hidrógeno entre la porción etoxílica de la molécula y la materia orgánica de los lodos (exopolímeros). Por lo tanto, a medida que aumenta el número de unidades etoxílicas del surfactante el equilibrio de adsorción se desvía más de la linealidad.

Para surfactantes no iónicos con estructura aromática Liu *et al.* (1992) evaluaron la adsorción de AFEOn en un suelo y determinaron que la adsorción de los AFEOn fue directamente proporcional al número de grupos oxi-etilenos. La isoterma de Freundlich describió bien los datos experimentales con $n = 1.34$ para $\text{A}_8\text{FEO}_{9.5}$ y 1.79 para $\text{A}_8\text{FEO}_{12}$. Esto sugiere también que las interacciones entre los AFEOn y los lodos dependen de la longitud de la cadena etoxílica. Además, la estructura plana del anillo aromático probablemente favorece las interacciones entre el surfactante y adsorbente. Para surfactantes iónicos Westall *et al.*, (1999),

evaluaron la adsorción en sedimentos marinos de tres surfactantes homólogos del alquil bencen-sulfonato (con 10, 12 y 14 carbonos en la cadena alquílica). La isoterma de adsorción que mejor describió los resultados fue la de Freundlich ($n = 0.90, 0.86$ y 0.66). Para este tipo de surfactantes determinaron que es más significativo el efecto del pH y la concentración de la materia orgánica presente en el adsorbente.

La forma de la isoterma también puede indicar si existe adsorción cooperativa que se da por interacciones entre adsorbato-adsorbato. Este fenómeno se ha identificado en una gran variedad de materiales puros, obteniéndose una fuerte curvatura de la isoterma de sorción ($n < 1$). Este fenómeno muy probablemente se presentó en el sistema experimental empleado, debido a que la concentración de AFEOn utilizada estuvo por encima de la concentración micelar crítica, ya que las interacciones adsorbato-adsorbato se pueden llevar a cabo durante la formación de las micelas (Lizhong *et al.*, 2004).

Desorción de los AFEOn en los lodos anaerobios y desnitrificantes

En la figura 3.3 se presenta la comparación entre la adsorción (la isoterma de Langmuir), con los datos experimentales de desorción de los AFEOn para los lodos anaerobios y los desnitrificantes.

Para ambos lodos se observa que la desorción sigue una trayectoria lineal. La diferencia entre las trayectorias en los equilibrios de adsorción y desorción de los AFEOn indica un fenómeno de histéresis. La presencia de la histéresis es una señal de que el tipo de interacciones entre el adsorbato (alquil fenol polietoxilatos) y el adsorbente (lodos) son diferentes en los equilibrios de adsorción y desorción. Esto podría deberse a que la naturaleza del adsorbente (lodos) es modificada por la adsorción del adsorbato AFEOn, debido probablemente a que las interacciones entre el adsorbato y la nueva matriz de adsorbente generado (lodo+AFEOn) fueron mayores que las interacciones entre los AFEOn y los lodos en el proceso de adsorción. Se puede observar que a lo largo de C_{eq} experimental, la cantidad adsorbida (Q_{desads}) en el proceso de la desorción siempre se encontró por debajo de los valores correspondientes al proceso de adsorción, tanto para los lodos anaerobios y los desnitrificantes.

Estos resultados coinciden con los reportados por Fytianos *et al.*, (1998) en donde evaluaron la desorción del surfactante alquilbencen sulfonato en sedimentos marinos, donde el proceso tuvo una tendencia lineal.

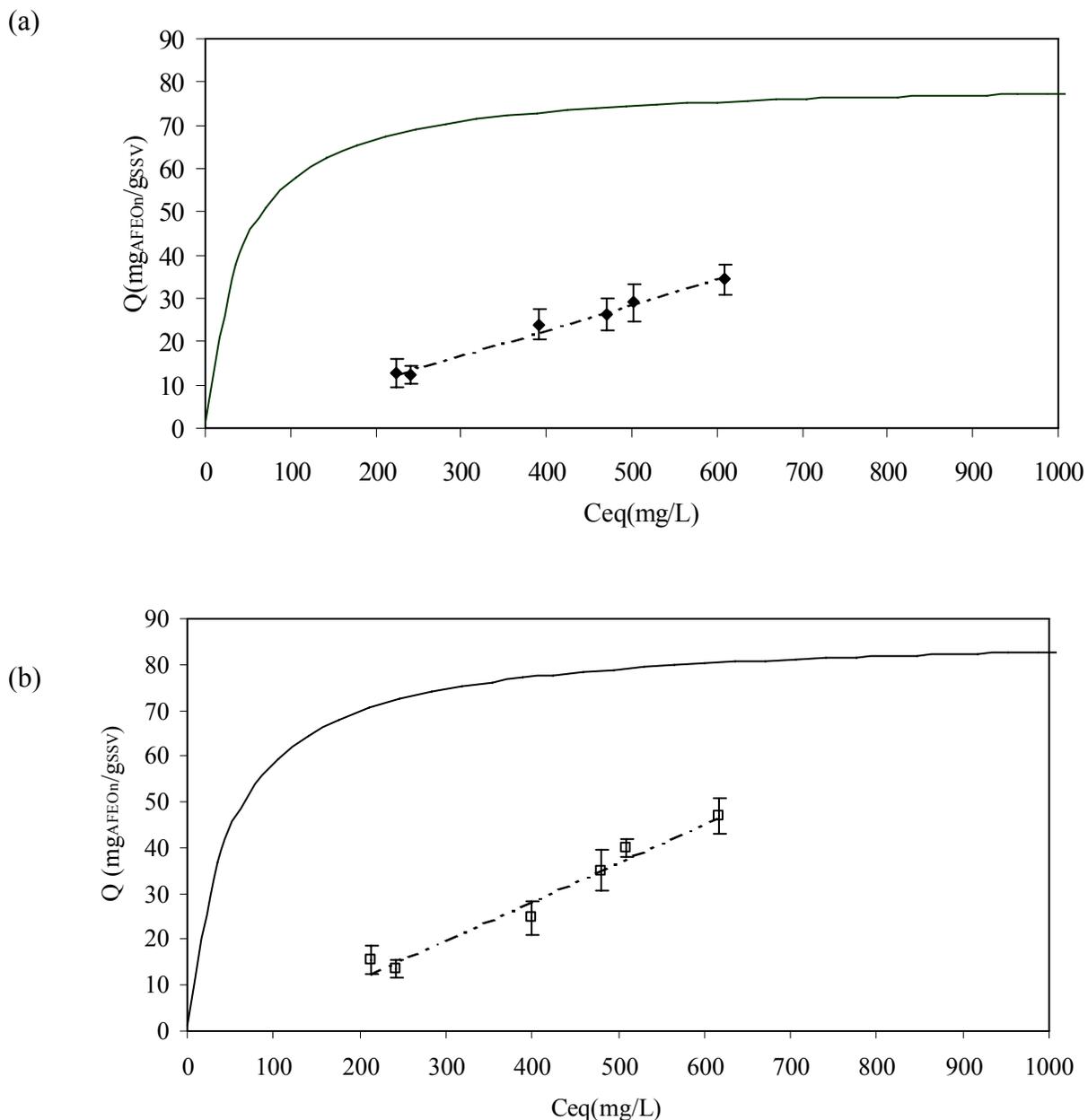


Figura 3.3. Comparación entre el modelo de adsorción de Langmuir (—) y los datos experimentales de la desadsorción (----). Para los lodos anaerobios (□) y lodos desnitrificantes (♦)

Efecto de la concentración de AFEOn en la actividad biológica de los lodos de digestión anaerobia y los lodos desnitrificantes.

El estudio del efecto de la concentración de los AFEOn en la actividad de los lodos anaerobios y desnitrificantes se llevo a cabo en sistemas por lote. Ambos lodos, no tuvieron un periodo previo de adaptación a los AFEOn. En la figura 3.4, se muestra la actividad microbiana para los lodos en función de la concentración de AFEOn. La actividad inicial en los lodos anaerobios, (AFEOn=0) fue de 0.79 ($\text{g}_{\text{DQO}}/\text{g}_{\text{SSV}} \text{d}$). Cuando la concentración del surfactante fue de $500 \text{ mgAFEOnL}^{-1}$ se presento una caída en la actividad del 50 % respecto a la actividad inicial.

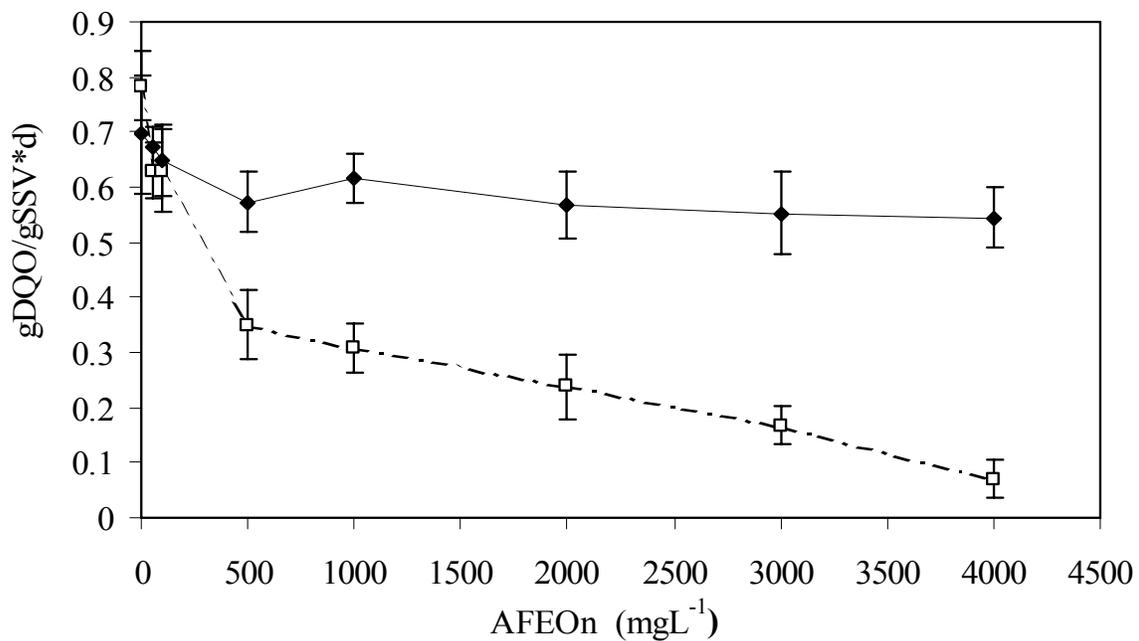


Figura 3.4 Efecto de la concentración de los AFEOn en la actividad microbiana de lodos desnitrificantes (◆) y lodos anaerobios (□).

Para los lodos desnitrificantes la actividad inicial fue de $0.7 \text{ g}_{\text{DQO}}/\text{g}_{\text{SSV}} \text{ d}$. En el mismo intervalo de concentración del surfactante ($0\text{-}500 \text{ mgAFEOnL}^{-1}$), la actividad disminuyó tan solo un 10 %. A partir de la misma figura, también puede observarse que para concentraciones experimentales mayores a $500 \text{ mg(AFEOn)L}^{-1}$, no hubo una disminución en la actividad del lodo desnitrificante, mientras que para el lodo anaerobio, en el intervalo de concentración de 500 a $4,000 \text{ mg(AFEOn)L}^{-1}$, la actividad continuo disminuyendo proporcionalmente con el incremento de la concentración de AFEOn. El hecho más relevante que se observa, es que la concentración de

los AFEOn deja de tener un efecto negativo o inhibitorio en la actividad desnitrificante, a partir de 500 mgL^{-1} , manteniéndose una actividad casi constante de los lodos.

Con el propósito de evaluar si el efecto de los AFEOn en la actividad de los lodos es debido a un cambio en la integridad física de estos, para ambos lodos se determinó proteína soluble, proteína exopolimérica (PEXP) y carbohidratos exopoliméricos (CEXP). En la figura 3.5 se presenta el efecto de la concentración de los alquil fenol polietoxilatos en la proteína soluble para los lodos anaerobios y los desnitrificantes. Puede observarse que en ambos casos, la proteína aumento al incrementar la concentración de los AFEOn, pero este incremento fue significativamente mayor para los lodos anaerobios. El aumento en la proteína soluble, muy probablemente es un indicativo de que los lodos están perdiendo su integridad por el efecto de los AFEOn.

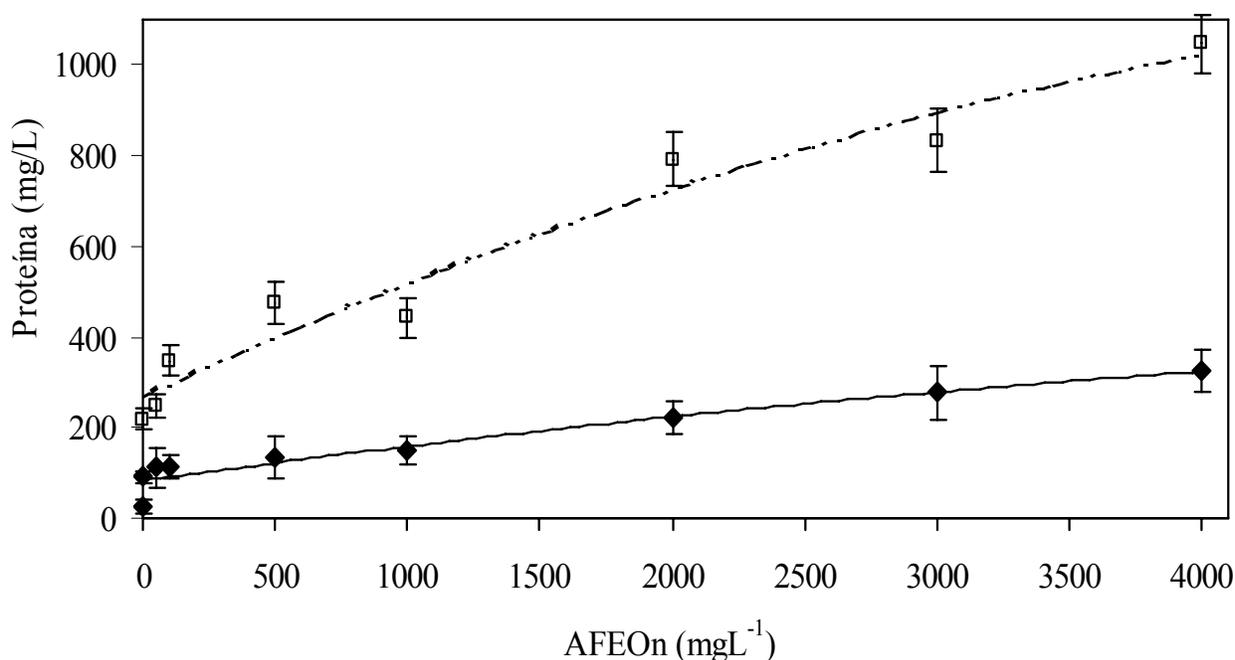


Figura 3.5 Efecto de la concentración de AFEOn en la proteína soluble de lodos desnitrificantes (◆) y lodos anaerobios (□).

En las Figuras 3.6a y 3.6b, se muestra el efecto de la concentración de los AFEOn en la PEXP y en los CESP. Puede observarse que al incrementar la concentración de AFEOn disminuye el contenido de PEXP para el lodo anaerobio (170 a 40 mgL^{-1}), pero esto no sucede

con el lodo desnitrificante, para el cual la PEXP permanece prácticamente constante (80 a 120 mgL^{-1}). Por otra parte, un aumento en la concentración de los AFEOn, también llevo a un incremento en la concentración de CEXP para ambos tipos de lodos, siendo mayor el efecto en los lodos desnitrificantes. Sin embargo, se observa que a concentraciones mayores de 500 $\text{mg}_{\text{AFEOn}}\text{L}^{-1}$ no se tiene efecto sobre la concentración de los CEXP para ambos tipos de lodos.

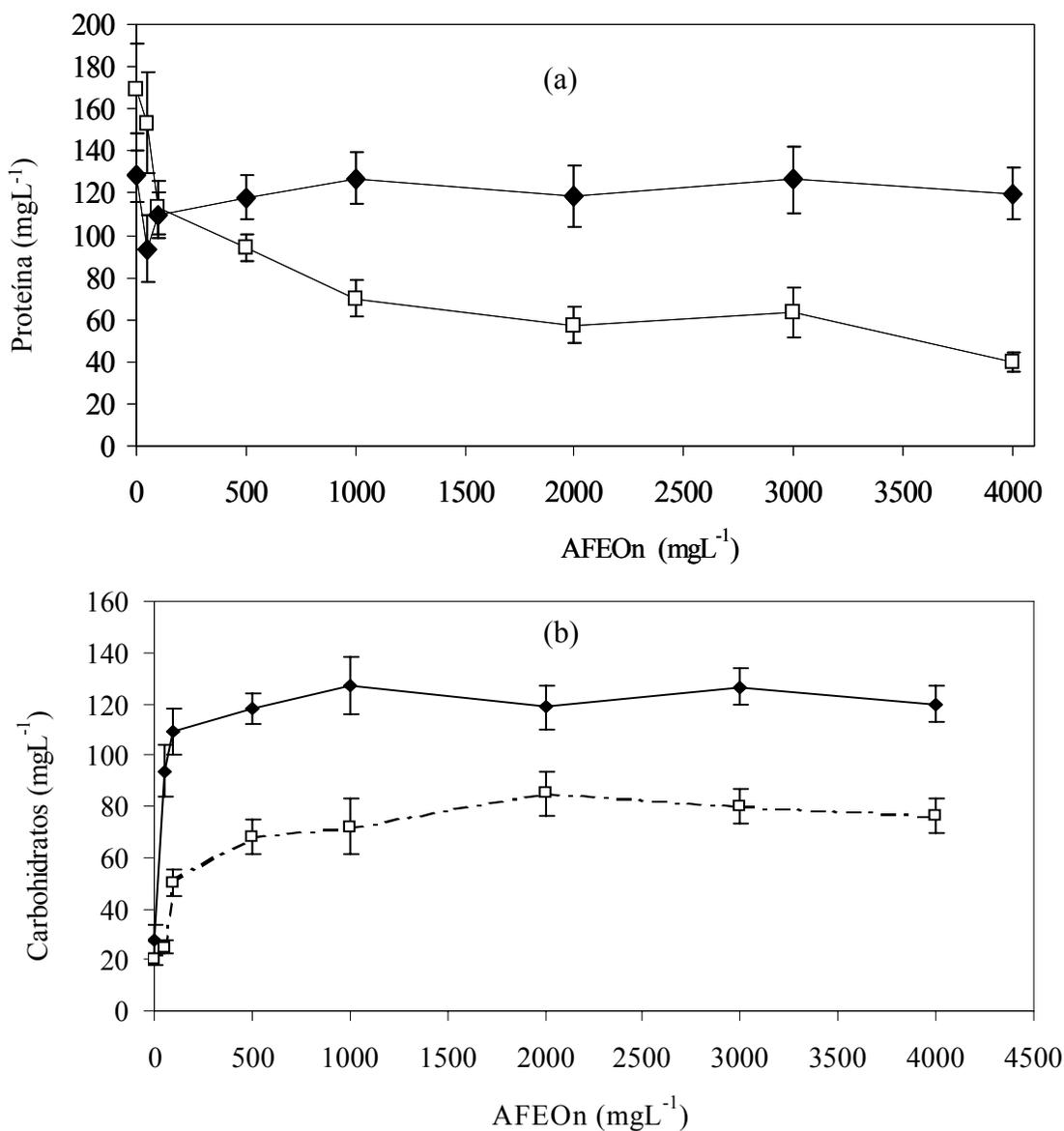


Figura 3.6. Efecto de la concentración de AFEOn en la proteína exopolimérica (a) y carbohidratos exopoliméricos (b), para los lodos anaerobios (□) y lodos desnitrificantes (◆).

En los lodos anaerobios, se observa una correlación entre la concentración de los AFEOn con la actividad de los lodos, la proteína soluble y la proteína exopolimérica. La actividad de la digestión anaerobia depende en gran medida de las interacciones entre las diferentes poblaciones del gránulo. El aumento en la concentración de proteína soluble y la disminución de la concentración de proteína exopolimérica son indicativos de que los lodos anaerobios se estaban disgregando. Este fenómeno, probablemente fue la causa principal en la disminución de la actividad de los lodos anaerobios, ya que al disgregarse las diferentes especies de microorganismos que conforman a los gránulos anaerobios por efecto de los AFEOn, no pudieron llevarse a cabo las diferentes interacciones poblacionales necesarias para el proceso de digestión anaerobia.

Por otra parte, en los lodos desnitrificantes también se presentó una correlación entre el efecto de la concentración de los AFEOn en la actividad microbiana, la proteína soluble y la proteína exopolimérica. Sin embargo, el efecto negativo fue menor respecto a los lodos de digestión anaerobia. Esto se podría atribuir a que los gránulos desnitrificantes no dependen de múltiples interacciones entre diversas especies de microorganismos para realizar el proceso completo de desnitrificación, además de que pueda presentarse algún tipo de factor (algún tipo de exopolímero o microorganismos) capaz de atenuar el efecto de los AFEOn sobre la integridad de los lodos.

El efecto de los surfactantes se ha asociado con la interacción que puede ocurrir con los complejos lípido-proteicos de la membrana celular. El surfactante puede interaccionar con los extremos hidrófobos de la parte exterior de las proteínas de membrana, desplazando a las moléculas lipídicas, conduciendo con esto a la desnaturalización de la membrana y en consecuencia a la muerte celular (Creagh *et al.*, 1993). Además, la estructura de los AFEOn tiene un anillo aromático, estructura que se ha reportado produce inhibición de la actividad metanogénica (Gavala and Ahring 2002, Fajardo *et al.*, 1997 y Donlon *et al.*, 1995).

CONCLUSIONES

En los ensayos abióticos se determinó la adsorción de los alquil fenol polietoxilatos en los lodos anaerobios y en los lodos desnitrificantes, en ambos casos la trayectoria de equilibrio no fue lineal. Empleando los modelos de las isothermas de Langmuir y Freundlich, se determinó que el modelo con la mayor capacidad de predicción de los datos experimentales fue el modelo de Langmuir.

Empleando el modelo de Langmuir se calculó la cantidad máxima adsorbida de AFEOn (Q_{max}) para el lodo de digestión anaerobia, el cual fue de $68.02 \text{ mg}_{\text{AFEOn}}/\text{g}_{\text{SSV}}$ con una constante de afinidad de $38.76 \text{ mg}_{\text{AFEOn}} \text{ L}^{-1}$, mientras que para el lodo desnitrificante estos fueron de $91.33 \text{ mg}_{\text{AFEOn}}/\text{g}_{\text{SSV}}$ y $57.86 \text{ mg}_{\text{AFEOn}}\text{L}^{-1}$ respectivamente. Estos valores muestran que aunque los lodos desnitrificantes presentan mayor capacidad de adsorber AFEOn, los lodos de digestión anaerobia tienen mayor afinidad por el surfactante.

Para la desorción de los AFEOn en ambos lodos, se identificó que el equilibrio de desadsorción sigue una trayectoria diferente a la trayectoria de adsorción, es decir existe histéresis en el proceso. Esto sugiere que la naturaleza de los lodos como material adsorbente cambia después del proceso de adsorción, conduciendo a que las interacciones sean mayores entre el surfactante y la nueva matriz (lodo-surfactante).

Para las pruebas bióticas en lote, se encontró que la actividad microbiana disminuyó por efecto de la concentración del surfactante. En los lodos de digestión anaerobia se encontró que la actividad disminuyó un 91 % (AFEOn = 4000 mgL^{-1}), respecto a la actividad inicial (AFEOn = 0), mientras que para los lodos desnitrificantes la disminución fue del 35 % a la misma concentración de los AFEOn.

Concentraciones de los AFEOn por arriba de 500 mgL^{-1} , no tienen un efecto en la actividad de los lodos desnitrificantes esto podría sugerir que los gránulos desnitrificantes poseen una propiedad fisiológica que atenúa el efecto de los surfactantes.

Además se encontró que la concentración de los AFEOn tuvo un efecto directamente proporcional de la concentración de proteína soluble, para los lodos de digestión anaerobia, la proteína aumento a medida que aumentaba la concentración del surfactante, alcanzando una

concentración de 1050 mgL^{-1} , lo que representa cuatro veces la concentración de proteína inicial para AFEOn =0. El aumento de la proteína soluble indica lisis celular y la disgregación de los gránulos anaerobios, por la pérdida de la proteína exopolimérica y celular.

REFERENCIAS

- Balch W. E., Fox G. F., Magrum L. J. and Wolfe R.S (1979) Methanogens: Reevaluation of a Unique Biological Group. *Microbiology Reviews*. 3: 260-296.
- Brownawell B.J., Chen H., Zhang and Westall J.C. (1997) Sorption of Nonionic Surfactants on Sediment Materials. *Environmental Science and Technology*. (31) 1735-1741.
- Cano M.L. and Dorn P. B. (1996) Sorption of an Alcohol Ethoxylate Surfactant to Natural Sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 15. 684-690.
- Creagh A.L., Prausnitz J.M. and Blanch H.W. (1993) The Effect of Aqueous Surfactant Solutions on Alcohol Dehydrogenase. *Biotechnology and Bioengineering*. 41. 156-161.
- Cuervo L. F.M; Martínez F; Gutiérrez-Rojas M; Noyola R.A, and Gómez J. (1999) Effect of Nitrogen Loading Rate and Carbon Source on Denitrification and Sludge Settleability in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors. *Water Science and Technology*. 40, 123-130.
- During R. A., Krahe S., and Gäth S. (2003) Sorption Behavior of Nonylphenol in Terrestrial Soils. *Environmental Science and Technology*. 1346-1353.
- Donlon B. A., Razo-Flores E., Field J.A., and Lettinga G. (1995) Toxicity of N-Substituted Aromatic to Acetoclastic Methanogenic Activity in Granular Sludge. *Applied and Environmental Microbiology*. 61. 3889-3893.
- Fajardo C., Guyot J.P., Macarie H. and Monroy O. (1997) Inhibition of Anaerobic Digestion by Terephthalic acid and its Aromatic by Products. *Water Science Technology*. 36.83-90.
- Fytianos K., Voudrias E., Mouratidou TH. (1998) The Sorption-Desorption Behavior of Linear Alkylbenzene Sulfonate in Marine Sediments. *Chemosphere*. (36) 2067-2074.
- Gavala H. N. and Ahring B. K. (2002) Inhibition of the Anaerobic Digestion Process by Linear Alkylbenzene Sulfonates. *Journal Biodegradation*. 13. 201-209.
- Liu Z., Edwards D. A. and Luthy R. G., (1992) Sorption of non-ionic surfactants onto soil. *Water Research*. (26) 1337-1345.
- Lizhong Z., Baoliang C. and Shu T (2004) Sorption behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil-water system containing nonionic surfactants. *Environment Engineering Science*. 21. 263-272.
- Metcalf and Eddy. (2003) Wastewater Engineering (Treatment and reuse). McGraww-Hill Fourth edition.

- Pryor S. W., Hay A.G. and Walker L. P. (2002) Nonylphenol in anaerobically digested sewage sludge from New York State. *Environmental Science and Technology*. 36. 3678-3682.
- Somasundaran P., Shrotri S. and Huang L. (1998) Thermodynamics of adsorption of surfactants at solid-liquid interface. *Pure and Applied Chemistry*. (70) 621-626.
- Tohren C.G., Kibbey and Hayes K.F.(1997) A Multicomponent Analysis of the Sorption of Polydisperse Ethoxylated Nonionic Surfactant to Aquifer Materials: Equilibrium Sorption Behavior. *Environmental Science Technology*. 31. 1171-1177.
- Van Compernelle R., McAvoy D. C., Sherren A., Wind T., Cano M. L. and Kerr K.M. (2006) Predicting the sorption of fatty alcohols and alcohol ethoxylates to effluent and receiving water solids. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64. 61-74.
- Viet H. N., Tatedaf M., Ike M., Fujita M., Tsunoi S. and Tanaka M. (2004) Sorption of biodegradation end products of nonylphenol polyethoxylates onto activated sludge. *Journal of Environmental Sciences*. 16. 564-569.
- Weber W. J., McGinley P. M. and Katz L. E. (1991) Sorption phenomena in subsurface systems: Concepts models and effects on contaminant fate and transport. *Water Research*. 25. 499-528.
- Westall J.C., Chen H., Zhang W. and Brownawell B. J. (1999) Sorption of linear alkylbenzene sulfonates on sediment materials. *Environmental Science Technology*. (33) 3110-3118.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ADAPTACIÓN DE LODOS ANAEROBIOS Y DESNITRIFICANTES PARA LA BIODEGRADACIÓN DE ALQUIL FENOL POLIETOXILATOS.

El propósito en este punto del trabajo doctoral fue adaptar a los lodos anaerobios y desnitrificantes para usar los alquil fenol polietoxilatos como única fuente de carbono y energía. Se utilizaron dos reactores tipo UASB a escala laboratorio. De manera progresiva, se fue incrementando la concentración de los alquil fenol polietoxilatos y se fue disminuyendo la concentración de fuentes de carbono de fácil degradación.

En la primera etapa de operación del reactor UASB con lodos anaerobios, la única fuente de carbono y energía en el influente fue lactosa. Cuando la composición de las fuentes de carbono en el influente fue de 400-100 mgL⁻¹ de lactosa-AFEOn, la eficiencia de remoción en el reactor UASB fue del 70-80 %. Sin embargo, al modificarse la composición del influente a 400-300 mgL⁻¹ de lactosa-AFEOn, la eficiencia de eliminación de la DQO disminuyó hasta un 5 %. En esta etapa, el pH disminuyó a 4.5 y la actividad metanogénica se inhibió. El reactor se retornó a condiciones de operación y alimentación de la etapa previa a la inhibición, sin embargo, después de operarlo durante 35 días no se logró recuperar la actividad en los lodos anaerobios. Así, en condiciones de digestión anaerobia, no se logró que los AFEOn fueran la única fuente de carbono y energía.

En la primera etapa de operación del reactor UASB con lodos desnitrificantes, se alimentó con acetato como único sustrato. La composición del influente fue modificándose gradualmente hasta que los alquil fenol polietoxilatos fueron la única fuente de carbono y energía. En esta última etapa, el reactor operó con una carga de 300 mgAFEOn.L⁻¹d⁻¹. Alcanzado el periodo de adaptación de los lodos desnitrificantes, se obtuvo un 100 % de eliminación de AFEOn y un 70 % de eficiencia de eliminación de la DQO.

Del efluente del reactor UASB con lodos desnitrificantes y en la última etapa, se identificaron los compuestos de la transformación primaria de los AFEOn. Estos compuestos fueron: el t-octil-fenol, los t-octil-fenol mono y di etoxilatos, el heptil-fenol dietoxilato y el propil-fenol trietoxilato.

INTRODUCCIÓN

La versatilidad metabólica es una de las mejores características de las bacterias. Sin embargo, esta versatilidad tiene límites que se hacen evidentes con compuestos xenobióticos. La aclimatación o adaptación microbiana se define comúnmente como el período en el que un microorganismo o población microbiana logra utilizar como nutriente una sustancia xenobiótica, originando con esto una disminución apreciable de dicha sustancia en el medio en que esta se encuentra. La adaptación de microorganismos a un sustrato particular es un factor importante en compuestos de difícil degradación y ha sido demostrado en diversos ambientes. Los periodos de adaptación varían dependiendo del compuesto, de la concentración del mismo, de las condiciones ambientales y del tipo de microorganismo. El periodo de adaptación puede durar de uno a 90 días. Por ejemplo, para un consorcio la adaptación para el uso del cloruro de dodecil trimetil amonio requirió de un periodo de adaptación de 24 h, mientras que el periodo de adaptación para utilizar el ácido nitrilotriacético para el mismo consorcio fue de dos meses (Alexander 1994). La adaptación de microorganismos anaerobios para utilizar diversos tipos de hidrocarburos como fuentes de carbono y energía, se ha reportado de manera extensa (Chakrabarty and Coates, 2004, Spormann and Widdel 2000, Widdel and Rabus 2001; Haggblom *et al.*, 2000 y Chen, 2004).

Por el período de tiempo en que un compuesto es empleado como nutriente por un microorganismo o población microbiana, puede clasificarse en tres categorías: (i) sustratos rápidamente utilizables; son aquellos en que las enzimas que pueden biodegradarlos son constitutivas, (ii) biodegradables después de una adaptación; en este caso los compuestos después de estar un periodo de tiempos con los microorganismos propician la inducción de enzimas que puedan biodegradarlos, y (iii) los sustratos recalcitrantes y tóxicos (Atlas y Bartha, 2002). Por otra parte, la aclimatación se puede dar por: a) enriquecimiento con inóculos degradadores específicos, b) inducción enzimática o represión catabólica con ayuda de un co-sustrato biodegradable (Hong *et al.*, 1996) y c) adaptación genética (Guieysse *et al.*, 2004).

Se ha encontrado que en ambientes anaerobios el surfactante lineal alquilbencen sulfonato (LAS) es un compuesto persistente. Almendariz *et al.*, (2001) encontraron que durante un periodo de 265 días de operación continua de un reactor anaerobio, la máxima

remoción del LAS fue del 35 %. En sistemas aerobios Prats *et al.*, (1997) estudiaron la degradación del LAS en una planta de tratamiento de aguas residuales, observando que existe una eliminación superior al 90 % sin presentar datos de mineralización. Cuando se emplea la aclimatación de bacterias, el tiempo para la degradación de compuestos xenobióticos se puede reducir (Speece 1996). La toxicidad del ácido acrílico se ha visto reducida hasta lograr su degradación empleando técnicas de adaptación de lodos anaerobios (Chen y Berthoeux, 2002).

DISEÑO EXPERIMENTAL

Los experimentos se realizaron en dos reactores continuos del tipo UASB uno operado en condiciones de digestión anaerobia y otro en condiciones de desnitrificación. Los volúmenes de trabajo fueron de 1.5 y 2.4 L respectivamente. El tiempo de residencia hidráulica (TRH) en ambos reactores fue el mismo, siendo de 1 día. La composición en la alimentación de los reactores se modificó progresivamente (ver Tabla 4.1 a y b).

Tabla 4.1a. Etapas de alimentación del reactor de digestión anaerobia.

Etapas	I	II	III	IV	V	VI
Duración(días)	23	24	30	22	15	36
Lactosa (mgL ⁻¹)	500	500	400	400	400	400
AFEOn (mgL ⁻¹)	0	100	100	150	250	300

Tabla 4.1b Etapas de alimentación del reactor desnitrificante.

Etapas	a	b	c	d	e	f	g	h	i
Duración(días)	22	29	21	26	21	23	23	17	
Acetato (mgL ⁻¹)	6000	6000	6000	3000	1500	1500	500	300	0
AFEOn (mgL ⁻¹)	0	100	200	200	200	300	300	300	300

Técnicas analíticas. La cuantificación del NO₂⁻ y NO₃⁻ se hizo por electroforesis capilar (Wang *et al.*, 1995). El OFEOn y el OF se cuantificaron por HPLC. La demanda química de oxígeno (DQO) por el método de reflujo cerrado (APHA, 2005). La identificación de los productos de la biodegradación de los AFEOn se realizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GS-MS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Biodegradación de los alquil fenol polietoxilatos por digestión anaerobia

En la figura 4.1 se presenta el funcionamiento del reactor de digestión anaerobia, respecto a la DQO_{total} en el influente y efluente como función del tiempo. La composición del influente se fue cambiando de acuerdo a la tabla 4.1. El criterio para cada cambio fue que el reactor estuviera operando en estado pseudosestacionario definido este como una variación menor al 14 % de la DQO en cinco determinaciones consecutivas.

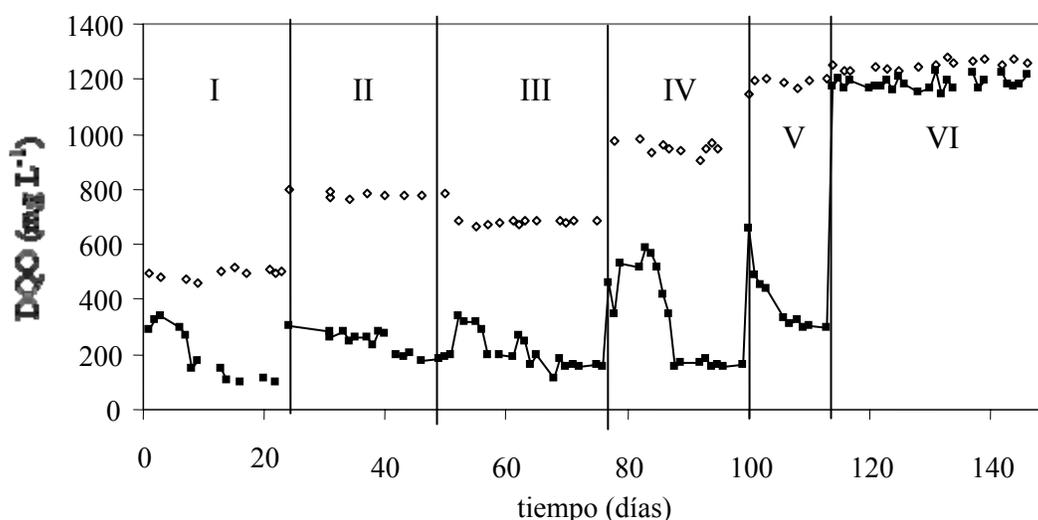


Figura 4.1 Operación del reactor de digestión anaerobia, la DQO en función del tiempo.

En la puesta en marcha del reactor la carga volumétrica (B_v) fue de $500 \text{ (mg}_{DQO}L^{-1}d^{-1})$ con lactosa como único sustrato. En esta primera etapa la remoción de la DQO fue del 90 %. En la etapa II el influente contenía 100 mgL^{-1} de AFEOn y 500 mgL^{-1} de lactosa. En esta etapa se observa una perturbación inicial en el reactor en la que la eliminación de la DQO disminuyó a 65 %; sin embargo, después de 17 días la eficiencia de remoción alcanzó el 80 %.

En la etapa III la concentración de los AFEOn en el influente fue de 100 mgL^{-1} y la lactosa se disminuyó a 400 mgL^{-1} . En esta etapa el periodo de perturbación fue menor y se estabilizó con una eficiencia de eliminación de la DQO de 75 %. El mismo comportamiento

se observó en las etapas IV a V, y la DQO de cada etapa disminuyó progresivamente (68, 64 %).

En la última etapa en donde la composición de los sustratos fue de 400-300 mgL⁻¹ (lactosa-AFEOn) la eficiencia de eliminación de la DQO disminuyó hasta 5 % sin que se incrementara después de 36 días operación. Posteriormente se cambió la composición del influente a la utilizada en la etapa IV, pero después de 35 días no se recuperó el sistema. Es así, que los lodos anaerobios no lograron adaptarse para utilizar los AFEOn como única fuente de carbono y energía.

Cabe mencionar que en esta última etapa de operación del reactor anaerobio, se presentó el fenómeno de esponjamiento (bulking) de los lodos. Este fenómeno ocurre por crecimiento de microorganismos filamentosos que tienden a atrapar burbujas de aire en cantidades suficientes para que los gránulos floten (Crites y Tchobanoglous, 2000). Este fenómeno fue debido probablemente a una des-acoplamiento entre las poblaciones de los microorganismos que llevan a cabo la digestión anaerobia, lo cual se manifestó en un aumento de los ácidos grasos volátiles (pH 4.5) en el efluente, generando con esto un ambiente propicio para el crecimiento de otros microorganismos ajenos a la digestión anaerobia. Además, otro de los factores probables que propiciaron el fenómeno de esponjamiento fue la caída de la tensión superficial (30 dinas cm⁻¹).

Aunque los lodos de la digestión anaerobia no pudieron ser adaptados a utilizar los AFEOn como única fuente de carbono y energía, no deben ser descartados para el tratamiento de AFEOn. Con base a los estudios realizados, debe haber dos condiciones para que la digestión anaerobia sea aplicable. La primera es utilizar un co-sustrato de fácil degradación que mantenga a las poblaciones del gránulo, y la segunda operar el reactor a una concentración de AFEOn en el influente menor a 250 mgL⁻¹.

El efecto de la inhibición en la digestión anaerobia, coincide con lo reportado por varios autores. Almendáriz *et al.* (2001) observaron inhibición en lodos anaerobios al realizar un estudio de biodegradación de LAS (lineal alquil-bencen sulfonato de sodio) mediante digestión anaerobia con lactosa como co-sustrato. Ellos alcanzaron solamente un porcentaje de remoción del surfactante del 30 %. Jiménez *et al.*, (2001) reportaron que el t-octil fenol polietoxilatos actúa como un inhibidor no competitivo en el proceso de digestión anaerobia. Ejlertsson *et al.*, (1999), empleando nonil fenol monoetoxilato, nonil fenol dietoxilato y una

mezcla de ambos a tres diferentes concentraciones (2, 60 y 308 mgL⁻¹) observaron inhibición de la digestión anaerobia y encontraron que el producto final fue el nonil fenol, el cuál se acumuló en los lodos.

Wagener y Schink (1987) estudiaron la biodegradación anaerobia y el efecto inhibitorio de surfactantes iónicos y no iónicos en la metanogénesis en sedimentos marinos y en lodos. Encontraron que los surfactantes iónicos alquil sulfonatos y alquil bencen sulfonatos a concentraciones de 10 mgL⁻¹, inhiben la actividad metanogénica de los lodos. Sin embargo, después de un periodo de adaptación hubo una degradación parcial de estos compuestos al alimentarse a concentraciones menores de 100 mgL⁻¹.

4.2 Biodegradación de alquil fenol polietoxilatos por desnitrificación

En la puesta en marcha del reactor UASB este se alimentó inicialmente con acetato (6 gL⁻¹) como única fuente de carbono. Posteriormente, la concentración de acetato y AFEOn se fue modificando de acuerdo a la tabla 4.1b, hasta dejar como única fuente de carbono los AFEOn en el día 190 de operación del reactor.

En la figura 4.2 se presenta la DQO en la entrada (o) y salida (-) del reactor respecto al tiempo de operación, en donde las líneas verticales indican cambios en la alimentación.

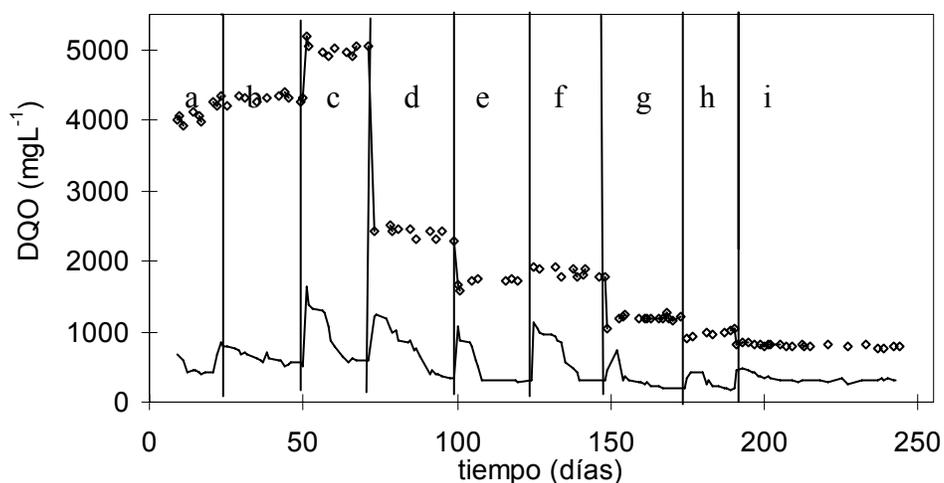


Figura 4.2. DQO en la entrada (o) y salida (-) del reactor desnitrificante.

En el reactor desnitrificante se realizaron ocho cambios en la composición del influente. En la primera etapa se obtuvo una eficiencia de la remoción de la DQO del 90 %. En la etapa “b” la composición del influente fue de 6000 mgL⁻¹ de acetato y 100 mgL⁻¹ de AFEOn. En esta etapa se observa una perturbación inicial en el funcionamiento del reactor. Sin embargo, después de 7 días se alcanzó una eficiencia de remoción del 90 %. En las etapas “c” y “d” se observa el mismo comportamiento, obteniéndose una eficiencia de remoción del 85 %. En las etapas “g” y “h”, en donde la concentración de acetato fueron de 500 y 300 mgL⁻¹ mientras que la de AFEOn de 300 mgL⁻¹, se observa que una vez recuperados los estados estacionarios en el reactor, se alcanzaron eficiencias de remoción del 80 y 75 % respectivamente. En la última etapa de operación, donde el influente tuvo una concentración de 300 mg_{AFEOn}L⁻¹, la eficiencia de remoción de la DQO fue del 70 %.

En la figura 4.3 se presenta la concentración de los AFEOn en la entrada y salida del reactor después del periodo de adaptación (etapa i). En esta etapa se observa que hay una remoción del 100 % de los AFEOn en el efluente, comprobando que estos compuestos se transforman fácilmente por los lodos desnitrificantes. Después del día 160 de operación del reactor, se identifico y cuantifico como producto de la biodegradación el alquil fenol (AF). Antes del día 300 de operación, este compuesto fue el principal producto de la biodegradación. Sin embargo, posterior a este tiempo su aportación en el efluente fue disminuyendo.

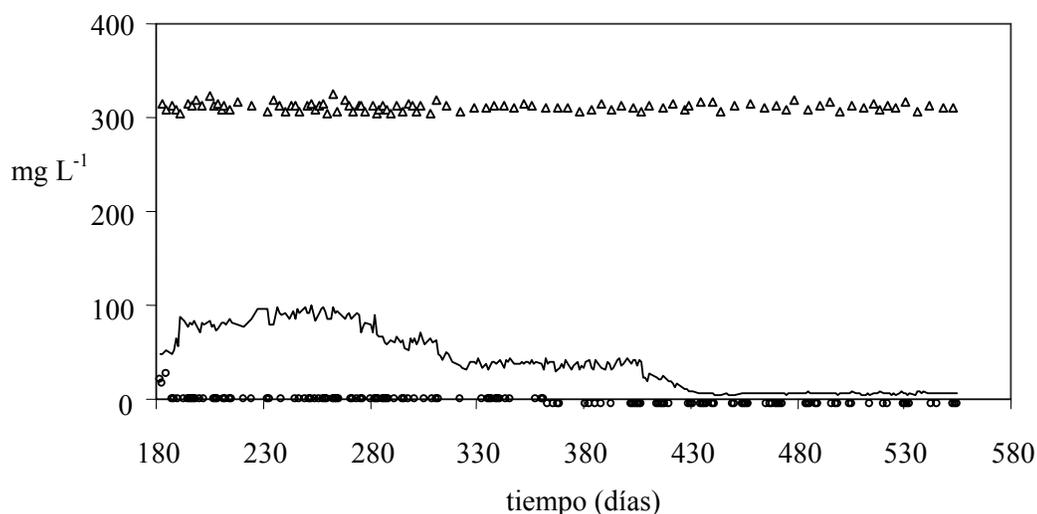


Figura 4.3. Eliminación de los AFEOn. Concentración de los AFEOn en el efluente (o) en la etapa "i" del reactor desnitrificante; DQO del efluente (Δ); contribución de la concentración del alquil fenol (AF) en el efluente (—).

Mediante un balance de la DQO, pudo estimarse la proporción de los compuestos no identificados en el efluente (ecuación 4.1).

$$DQO_D = DQO - DQO_{AF} \quad (4.1)$$

Donde DQO_D es la aportación a la DQO de los compuestos desconocidos, DQO_{AF} es la aportación a la DQO del alquil fenol (AF) y DQO es la materia orgánica total del efluente. En la Figura 4.4 se observa que hasta el día 280 el AF predominó en el efluente. Entre los días 290 y 440 su concentración en el efluente disminuye, y posterior a este periodo su aportación en la DQO del efluente es del $4 \pm 0.5 \%$, mientras que la aportación de los compuestos no cuantificados aumento en promedio a $90 \pm 4 \%$.

Debido a la aportación de estos compuestos no cuantificados en el efluente (90 %), se asumió que eran intermediarios de la degradación de AFEOn y se procedió a su identificación mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

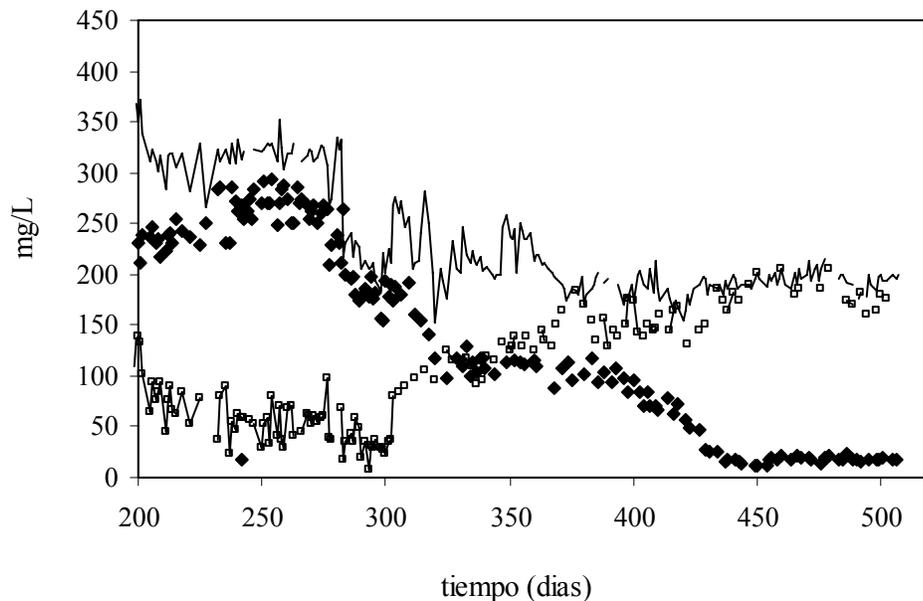


Figura 4.4. Formación de compuestos no identificados DQO_D^* , durante la etapa "i". (—) DQO_{efluente} (□) DQO_D^* (∇) DQO_{AF}

En la figura 4.5, se muestran dos espectros de masas para el tiempo de retención de espectro A (20 min) y el espectro B (23.17 min). Estos espectros corresponden a compuestos

homólogos de los AFEOn con una relación masa/carga (m/z) de 250 y 294 por una diferencia de u.m.a (unidad de masa atómica de 44), que corresponde a la pérdida de $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-O}^+\text{H}]^+$ los cuales se podrían asignar a la estructura del octil-fenol monoetoxilato y octil-fenol dietoxilatos, obtenidos por la degradación de la porción etoxilica del AFEOn.

Comparando los dos espectros, tienen 3 señales m/z iguales 107, 135 y 179, estas pueden ser respectivamente asignadas a los fragmentos de los iones $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-O+H}]^+$, $\text{C}_3\text{H}_7\text{-C}_6\text{H}_4\text{-O+H}]^+$ y $\text{C}_3\text{H}_6\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OCH-CH}_2\text{-O+H}]^+$ los cuales se forman por pérdida de C_6H_{13} y C_7H_{15} y C_5H_{11} con formula general $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ de la porción alquílica. Además, ambos espectros de masas tienen las señales de los iones fragmentados con m/z 28, 43 y 57 que corresponden al grupo alquil con formula general C_nH_{n+1} . El espectro A tiene las señales con m/z 235 y 250 que puede ser asignado al fragmento del ion $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{-C}_6\text{H}_5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{-O+H}]^+$, y $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{-C}_6\text{H}_5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{-O+H}]^+$, con lo que se confirma que un producto de la degradación del AFEOn por desnitrificación es el octil fenol monoetoxilato OFEOn.

Para el espectro B se tiene la señal con m/z 223, 279 y 295 la cual se puede asignar a los fragmentos de los iones $\text{C}_3\text{H}_7\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{-O}^+\text{H}]^+$, $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{-O}^+\text{H}]^+$ y $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{-C}_6\text{H}_4\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_2\text{-O}^+\text{H}]^+$ respectivamente, los cuales podrían formarse por la pérdida de $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$. Con lo que se tendría la evidencia de la formación del octil fenol dietoxilato. El mismo análisis se realizó para los espectros de masa correspondientes a los picos a tiempo de retención 16.95, 23.73 y 26.44 min. (Figura 4.5). Los fragmentos iónicos se muestran en la tabla 4.2.

Tabla 4. 2. Fragmentos iónicos obtenidos de los espectros de masa.

Fragmentos masa/carga	Estructura de los fragmentos
m/z = 223 : C ₁₃ H ₁₉ O ₃] ⁺ ,	o-(CH ₂) ₃ = C ₆ H ₄ -o-(= O) ⁺ - CH ₂ CH ₂ -O-
m/z = 179 : C ₁₁ H ₁₅ O ₂] ⁺	CH ₂ CH ₂ -O-H
m/z = 135 : C ₉ H ₁₁ O] ⁺	o-(CH ₂) ₃ = C ₆ H ₄ -o-(= O) ⁺ - CH ₂ CH ₂ -O-H
m/z = 107 : C ₇ H ₇ O] ⁺	o-(CH ₂) ₃ = C ₆ H ₄ -o-(= O) ⁺ - H
m/z = 45 : C ₂ H ₅ O] ⁺	o-(CH ₂)= C ₆ H ₄ -o-(= O) ⁺ - H
m = 44 : C ₂ H ₂ O	C ₂ H ₄ -o-(= O) ⁺ - H
m = 71 : C ₅ H ₁₁	C ₂ H ₄ -1,2- (= O)

Evidentemente, existe también la posibilidad que este fragmento m=71 podría ser el resultado de: m=43: C₂H₃O [CH₂- CH= O][•] más m = 28: CO [C= O] (ó también: CH₂= CH₂).

Se obtuvieron las estructuras del octil fenol (OF), el octil-fenol monoetoxilato (OFEO₁), el octil-fenol dietoxilato (OFEO₂), el propil-fenol trietoxilato (PFEO₃) y el heptil-fenol dietoxilato (HFEO₂). Para los tres primeros compuestos la biodegradación sucede por el ataque microbiano en la porción etoxílica de la molécula, los subproductos de la degradación primaria de los AFEOn coinciden con los reportados por Thielle *et. al.*, (1997); Ejlertsson *et. al.*, (1999); Thangue *et. al.*, (1998) y Shang *et. al.*, (1999).

Este tipo de ataque a la molécula de los AFEOn, coincide también con lo reportado por Dominic y Graham (1998) en donde el mecanismo empieza con la ruptura *exo* de la cadena etoxílica, liberándose acetaldehído con una eliminación secuencial de unidades de glicol.

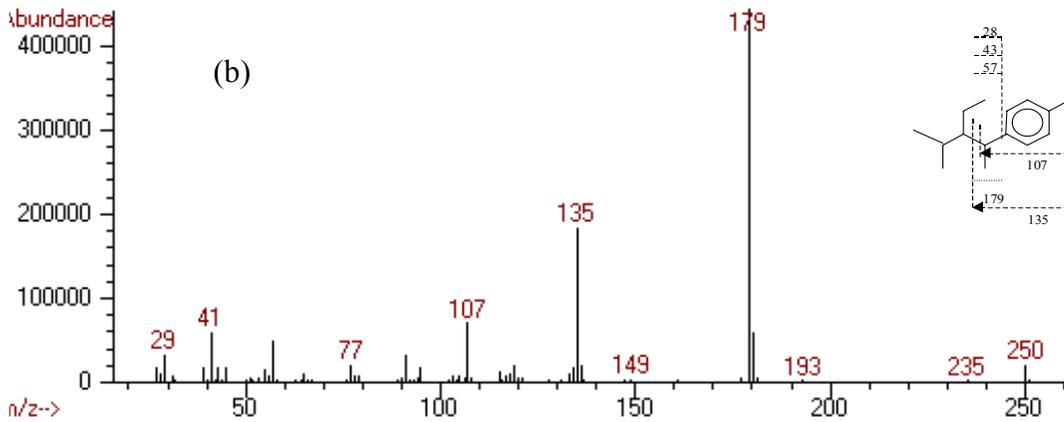
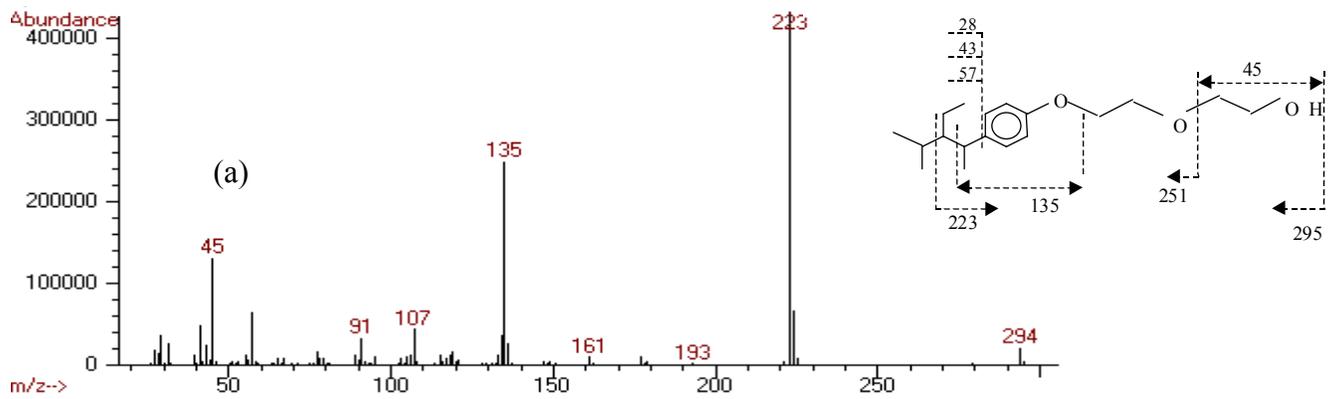
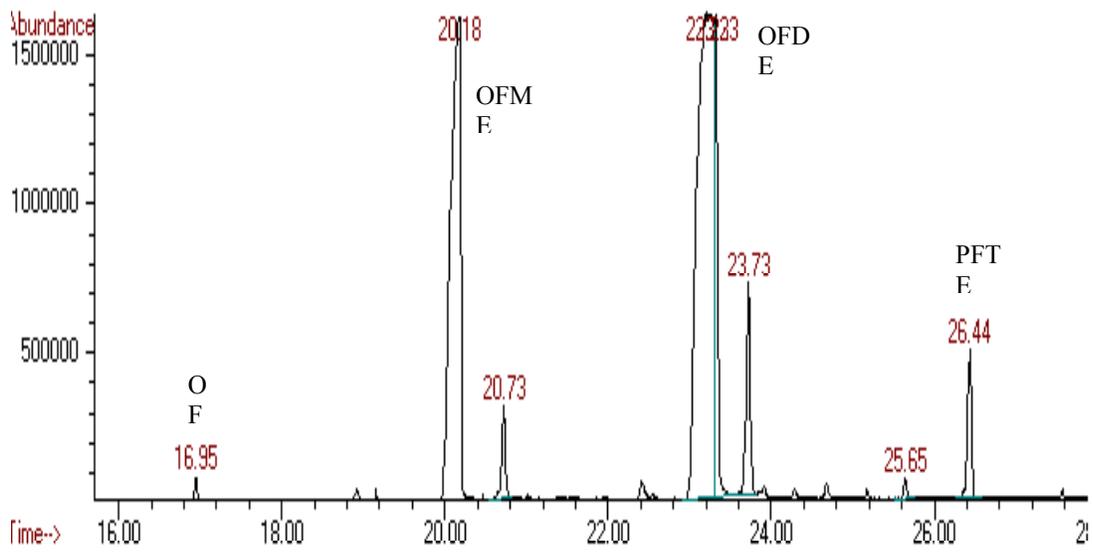


Figura 4.5. Cromatograma y espectros de masas del efluente del reactor desnitrificante, para los picos con tiempo de retención $R_t=20.18$ (a) y $R_t=23.33$ (b)

Sin embargo, surge la pregunta ¿por qué los microorganismos de la digestión anaerobia son más susceptibles a los surfactantes que los microorganismos desnitrificantes? La respuesta puede estar dada a nivel evolutivo. Las bacterias metanogénicas son organismos con un nivel menor de evolución, en donde una de sus principales diferencias es la composición de la pared celular, ya que esta formada por pseudo-peptidoglicano, mientras que algunos solo tienen proteínas, polisacáridos y glicoproteínas. Por ejemplo, en el caso de la especie *Methasarcina*, su pared celular está formada por polisacáridos, ácido glucurónico y galactosamina (Madigan *et al.*, 1999). Estas son diferencias importantes en comparación con los microorganismos procariotes más evolucionados, cuya pared celular está formada de peptidoglicanos. Al existir esta diferencia estructural, las bacterias metanogénicas probablemente se encuentran más expuestas al efecto tenso-activo del surfactante.

CONCLUSIONES

En el sistema continuo (reactor de lecho de lodos anaerobios de flujo ascendente UASB) no fue posible adaptar los lodos anaerobios a los AFEOn como único sustrato pues inhibieron su actividad metanogénica. En la primera etapa con lactosa como único sustrato la eficiencia de eliminación de DQO fue del 90 %. Cuando la composición en la alimentación fue de 400-300 mgL⁻¹ lactosa-AFEOn, la eficiencia de eliminación de la DQO fue del 5 %. Así, no fue posible llegar a la etapa de alimentar el reactor con 100% de AFEOn. Sin embargo, la digestión anaerobia puede emplearse para la remoción de los AFEOn siempre que se utilice un co-sustrato de fácil degradación que sostenga a las poblaciones del lodo anaerobio, y que la concentración de los AFEOn se encuentre por debajo de 250 mgL⁻¹.

En contraparte, después de un periodo de adaptación, los lodos desnitrificantes pudieron emplear a los alquil fenol polietoxilatos como única fuente de carbono y energía, alcanzándose una eficiencia de eliminación del 100 % y de mineralización del 70 %. El 30% de la DQO residual, se determinó estar compuesta por una mezcla de cinco subproductos, identificados todos ellos con la transformación de los AFEOn. Estos productos fueron: el octil-fenol, octil-fenol monoetoxilato, octil-fenol dietoxilato, propil-fenol trietoxilato y heptil-fenol dietoxilato. Todos estos compuestos se encontraron en concentraciones por arriba de sus DL₅₀ (4 a 12 mg L⁻¹).

En los primeros tres compuestos identificados, la biotransformación de los AFEOn sucede por un ataque nucleofílico en el lado etoxílico de la molécula. Para los dos últimos compuestos identificados, el propil-fenol trietoxilato y heptil-fenol dietoxilato, el ataque a la molécula es de ambos lados, tanto a la porción alquílica como a la etoxílica. El mecanismo propuesto sería la oxidación del carbono terminal de la parte alquílica por un ataque nucleofílico, que posteriormente por descarboxilación va reduciendo paulatinamente la cadena alquílica.

Es posible que estos compuestos puedan ser eliminados mediante la misma bioreacción, pero utilizando concentraciones de nitrato en exceso a la requerida estequiométricamente (1.465 g NO_3^- /0.3gAFEOn).

REFERENCIAS

- Alexander M. (1994) Biodegradation and Bioremediation. Academic Press Inc. San Diego, California. Primer edition.
- Almendariz F. J., Meráz M., Soberon G. and Monroy O. (2001) Degradation of Lineal Alkylbenzene Sulphonate (LAS) in an Acidogenic Reactor Bioaugmented with a *Pseudomonas aeruginosa* (M113) Strain. *Water Science and Technology*. 44, 183-188.
- Atlas R.M. and Bartha R. (2002) *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*. Cuarta edición. Editorial Addison Wesley.
- APHA (2005) Standard Methods for the Examination Water and Wastewater, 16th. American Public Health Association, Washington, DC, 19 th Edition. USA.
- Chakraborty R, Coates JD (2004) Anaerobic Degradation of Monoaromatic Hydrocarbons. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64:437–446
- Chen G (2004) Reductive Dehalogenation of Tetrachloroethylene by Microorganisms: Current Knowledge and Application Strategies. *Applied Microbiology Biotechnology* 63:373–377.
- Chen T. S. and Berthoeux P. M. (2002) Use of an Anaerobic Sludge Digestion Process to Treat Pentachlorophenol-(PCP-) Contaminated Soil. *Journal Environmental Engineering*, 129, 1112-1119.
- Crites, R., and Tchobanoglous G. (2000) Tratamiento de Aguas Residuales en Pequeñas Poblaciones. Editorial McGraw Hill. Interamericana. S.A.
- DiCorcia A., Constantino A., Crescenzi C., Marinoni E. and Samperi R. (1998) Characterization of recalcitrant intermediates from biotransformation of the branched alkyl side chain of nonylphenol ethoxylate surfactants. *Environmental Science & Technology*. 32, 2401-2409.
- Dominic M. J. and Graham F. W. (1998) Mechanism for biotransformation of nonylphenol polyethoxylates to xenoestrogens in *Pseudomonas putida*. *Journal of Bacteriology*, 180, 4332-4338.
- Ejlertsson J., Nilsson M-L., Kylin H., Bergman A., Karlson L., Öquist M., Svensson B-H. (1999) Anaerobic degradation of nonylphenol mono and diethoxylates in dugestor sludge landfilled municipal solid waste and landfilled sludge. *Environmental Science & Technology*. 33, 301-306.
- Guieysse B., Wikström P., Forsman M. and Mattiasson B. (2004) Biomonitoring of Continuous Microbial Community Adaptation Towards more Efficient Phenol-Degradation in a Fed-Batch Bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 780-787.
- Hagblom M. M, Knight V.K, Kerkhof LJ. (2000) Anaerobic Decomposition of Halogenated Aromatic Compounds. *Environmental Pollution* 107:199–207.

- Hong Y., Mamie N., Koichi F., Tsuyoshi M. and Kohei Urano (1996) Studies of Microbial Acclimation to Hard Chemicals on the Basis of Respiratory Quinone Profiles and Kinetic Analyses. *Water Science and Technology*. 34, 249–256.
- Jimenez G. A., Salazar M., Gutierrez- Rojas M. and Monroy O. (2001) Anaerobic digestion of a nonionic surfactant inhibition effect and biodegradation. *Water Science and Technology*. 44, 175-181.
- Madigan M. T., Martinko J. M. and Parker J. Brock *Biología de los Microorganismos*. (1999) Prentice Hall Iberia, Madrid.
- Prats D., Ruiz F., Vásquez B., and Rodríguez-P.M. (1997) Removal of Anionic and Nonionic Surfactants in a Wastewater Treatment Plant with Anaerobic Digestion. A Comparative Study. *Water Research*. 31: 1925-1930.
- Shang D-Y., Macdonald R-W. and Ikonomou M-G. (1999) Persistence of nonylphenol ethoxylate surfactants and their primary degradation products in sediments from near a municipal outfall in the Strait of Georgia, British Columbia and Canada. *Environmental Science & Technology*, 33, 1366-1372.
- Speece R.E. (1996) *Anaerobic Biotechnology for industrial wastewaters*. Published by Archae Press. Nashville Tennessee.
- Spormann A.M, Widdel F (2000) Metabolism of Alkylbenzenes, Alkanes, and other Hydrocarbons in Anaerobic Bacteria. *Biodegradation* 11:85–105
- Tanghe T., Devriese G. and Verstraete W. (1998) Nonylphenol degradation in lab scale activated sludge units is temperature dependent. *Water Research*, 32 (10), 2889-2896.
- Wagener S; Schink B. (1987) Anaerobic Degradation of Nonionic and Anionic Surfactants in Enrichment Cultures and Fixed-Bed Reactors. *Water Research*, 21 (5) 615-622.
- Wang J.H., Baltzis B.C. and Lewandowski G. A. (1995) Reduction of nitrate and nitrite in a cyclically operated continuous biological reactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 46, 159-171.
- Widdel F. and Rabus R. (2001) Anaerobic Biodegradation of Saturated and Aromatic Hydrocarbons. *Biotechnology* 12. 259–276.

CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

Debido a su uso doméstico e industrial los alquil fenol polietoxilatos (AFEOn) son contaminantes frecuentes en las aguas residuales. Los AFEOn por sus características anfipáticas, tienden a adsorberse en suelos, sedimentos y lodos biológicos, por lo que se acumulan en el medio ambiente causando efectos estrogénicos en los seres vivos. En el presente trabajo, se realizaron estudios de la biodegradación de AFEOn en dos sistemas biológicos complementarios al sistema aerobio (comúnmente utilizado en tren de tratamiento de aguas residuales): la digestión anaerobia y la desnitrificación.

Para sistemas heterogéneos líquido-sólido (solución-lodo_{Sbiologicos}) el proceso de adsorción puede alterar el transporte, la velocidad de biodegradación y distribución de contaminantes entre las interfases de un sistema. Con el propósito de evaluar la cantidad de AFEOn que se adsorbe en los lodos biológicos se realizaron isotermas de adsorción en lodos anaerobios y desnitrificantes. Estadísticamente se identificó que el modelo que describió mejor el fenómeno de adsorción de los AFEOn en ambos tipos de lodos fue el de Langmuir con el que se determinó que la cantidad máxima que se adsorbe en los lodos anaerobios (Q_{max}) fue de $68 \text{ mg}_{\text{AFEOn}}/\text{g}_{\text{SSV}}$ con una constante de afinidad de 39 mgL^{-1} . Para los lodos desnitrificantes los valores obtenidos fueron $91 \text{ mg}_{\text{AFEOn}}/\text{g}_{\text{SSV}}$ y 58 mgL^{-1} respectivamente. Estos valores indican que el lodo anaerobio tiene mayor afinidad por el adsorbato que los lodos desnitrificantes, pero su capacidad de adsorción es menor, por lo que a una más baja concentración de AFEOn en el medio, los lodos anaerobios se saturan con una delgada capa de estos compuestos. Si esta capacidad no es igualada o sobrepasada con la velocidad de degradación de los AFEOn, entonces el lodo queda completamente cubierto con una sustancia que no puede degradar y que probablemente conduzca a su inhibición.

También, se determinaron isotermas de desadsorción de los AFEOn en condiciones abióticas para ambos lodos. Se identificó que el equilibrio de desorción siguió una trayectoria diferente a la trayectoria de adsorción, por lo que se presentó el fenómeno de histéresis en el proceso. Esto sugiere que la naturaleza de los lodos como material adsorbente cambia después del proceso de adsorción, conduciendo a que las interacciones sean mayores entre el surfactante y la matriz nueva (lodo-surfactante).

En las pruebas llevadas a cabo en sistemas por lote, se encontró que la actividad microbiana en ausencia de AFEOn fue de $0.78 \text{ g}_{\text{DQO}}/\text{g}_{\text{SSVd}}$ para lodos anaerobios y de $0.7 \text{ g}_{\text{DQO}}/\text{g}_{\text{SSVd}}$ para lodos desnitrificantes. Este parámetro disminuyó por efecto de la concentración del surfactante. Se encontró que a una concentración de $4,000 \text{ mg}_{\text{AFEOn}}\text{L}^{-1}$, la actividad anaerobia disminuyó un 91%, mientras que la actividad desnitrificante en las mismas condiciones disminuyó solamente un 35 %. También, se encontró que concentraciones de AFEOn por arriba de $500 \text{ mg}_{\text{AFEOn}}\text{L}^{-1}$, no tienen un efecto en la actividad de los lodos desnitrificantes. Para los lodos anaerobios, se determinó que la concentración de los AFEOn tuvo un efecto directamente proporcional en el incremento de la concentración de proteína soluble en el medio, y por lo tanto en la disgregación de los gránulos. La proteína soluble para los lodos anaerobios aumentó de 200 a 850 mgL^{-1} , mientras que en los desnitrificantes el incremento fue de 75 a 150 mgL^{-1} . Estos comportamientos entre ambos tipos de lodos, podría sugerir que los gránulos desnitrificantes poseen una propiedad fisiológica que atenúa el efecto del surfactante.

En los estudios en continuo, los lodos anaerobios no lograron adaptarse para emplear los AFEOn como única fuente de carbono y energía, ya que estos inhiben la actividad metanogénica de los lodos. Sin embargo, la biodegradación de los AFEOn por digestión anaerobia es posible si se dan dos condiciones. La primera, es la presencia de un co-sustrato de fácil degradación (lactosa), el cual sea empleado como la principal fuente de carbono y energía que sostenga a las poblaciones de los lodos anaerobios. La segunda, es la concentración de los AFEOn, la cual debe mantenerse por debajo de 250 mgL^{-1} .

Los lodos desnitrificantes pudieron adaptarse para emplear los AFEOn como sustrato único a una concentración de 300 mgL^{-1} , y fueron capaces de mineralizarlos en un 70 %. En el proceso de biodegradación de los AFEOn por desnitrificación, se generan los siguientes compuestos intermedios: octil fenol, octil fenol mono-etoxilato, octil fenol dietoxilato, propil fenol trietoxilato y heptil fenol dietoxilato. Los tres primeros productos fueron generados por un ataque en la porción etoxílica de las moléculas de AFEOn.

El propil fenol trietoxilato y el heptil fenol dietoxilato, se obtienen por un ataque en ambos lados de las moléculas de AFEOn. Se ha comprobado que la porción alquílica es la parte más recalcitrante de la molécula. El mecanismo propuesto sería la oxidación del carbono

terminal por un ataque nucleofílico que posteriormente por descarboxilación va reduciendo paulatinamente la cadena alquílica.

En base a lo anterior, el uso combinado de los procesos de digestión anaerobia y desnitrificación, acoplados a un proceso aerobio de lodos activados, probablemente permitan en una planta de tratamiento de aguas residuales la remoción por mineralización de los AFEOn. Los estudios realizados en este trabajo, muestran que un reactor anaerobio no debe ser el primer paso en el tren de tratamiento cuando se trata un efluente con AFEOn a concentraciones mayores a 250 mgL^{-1} , ya que los lodos se saturan del surfactante y eventualmente pierden su actividad. Entonces, debe ser el reactor aerobio con lodos activados el que va en el primer paso para eliminar y biotransformar la materia orgánica, además de producir nitrato a partir de la oxidación de todas las sustancias amoniacales en el agua residual. El segundo reactor debe ser el desnitrificante, el cual además de reducir la carga de nitritos y nitratos, eliminaría una gran cantidad de la materia orgánica debida a los AFEOn, Finalmente, el reactor anaerobio protegido por los dos primeros reactores, recibiría una concentración no inhibitoria de los AFEOn, manteniendo la actividad de los lodos anaerobios (Figura 5.1).

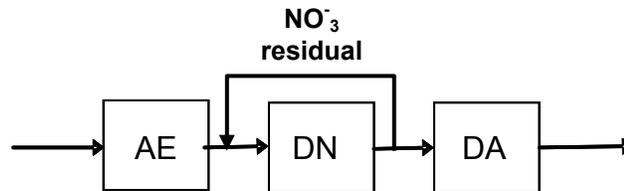


Figura 5.1. Tren de tratamiento para la biodegradación de los AFEOn (AE =aerobio; DN=desnitrificación; DA=digestión anaerobia)

ANEXO

Análisis Estadístico.

Este se baso en los cuadrados de las diferencias (**CDF**) de los valores experimentales (Q_{exp}) y los valores predichos por el correspondiente modelo (Q_{modelo}), es decir:

$$CDF-modelo=(Q_{exp}-Q_{modelo})^2$$

En la Tabla A.1, se muestran los valores de los **CDF** para cada uno de los modelos

Tabla A.1. Cuadrados de las diferencias entre valores experimentales y predichos por los modelos de las isothermas de adsorción.

CDF-LD	CDF-FD	CDF-LM	CDF-FM
5.535	80.670	25.257	168.375
13.213	77.737	5.413	38.997
158.000	23.610	0.130	51.151
208.497	246.309	202.738	141.571
46.141	307.834	2.344	185.749
8.274	389.927	22.091	177.953

LD=modelo de Langmuir en lodos desnitrificantes, **FD**=modelo de Freundlich en lodos desnitrificantes, **LM**=modelo de Langmuir en lodos metanogénicos y **FM**= modelo de Freundlich en lodos metanogénicos.

El conjunto de valores del **CDF** de cada modelo fue considerado como un nivel de tratamiento. Tanto para el cálculo del ANOVA como para la prueba de Tukey, se utilizó el paquete estadístico SPSS. Para el análisis de ANOVA, se consideró homogeneidad en las medias de las poblaciones (es decir una hipótesis nula $H_0: X_{CDF-LD} = X_{CDF-FD} = X_{CDF-LM} = X_{CDF-FM}$). En la Tabla A.2, se muestra el ANOVA del **CDF** de los modelos.

De acuerdo a la Tabla A.2 (ANOVA), la variabilidad de al menos uno de los modelos es diferente a los demás con un nivel de significancia de $\alpha=0.096$ es decir, la probabilidad de que la variabilidad de al menos uno de los modelos sea diferente es del 90.4%. Para determinar que modelos son diferentes entre sí, así como para determinar también el orden de estos en base a su variabilidad (de mayor a menor precisión), se utilizó la prueba de Tukey (Tabla A.3).

Tabla A.2 ANOVA de los *CDF* de las isothermas de equilibrio de adsorción-desadsorción del AFEO en los lodos metanogénicos y desnitrificantes

	Suma de cuadrados	G.L	Promedio de los cuadrados	F	nivel de Sig.
Entre grupos	72916.247	3	24305.416	2.425	.096
Dentro de grupos	200497.289	20	10024.864		
Total	273413.536	23			

En base a la Tabla A.3, el modelo que presentó la menor variabilidad (mayor precisión), fue el *LM* (Modelo de Langmuir para lodos metanogénicos), mientras que el modelo con la mayor variabilidad (menor precisión) fue el *FD* (Modelo de Freundlich para lodos desnitrificantes). Finalmente, el orden de precisión de los modelos para describir los datos experimentales de mayor a menor precisión es: *LM*>*LD*>*FM*>*FD*. Por esta razón se podría considerar que el fenómeno de sorción del surfactante en los lodos anaerobios y desnitrificantes, se explica mejor como un fenómeno únicamente de superficie (monocapa).

Tabla A.3. Prueba de Tukey para los *CDF* de los modelos

MODELO	Num	$\alpha=0.05$
<i>CDF-LM</i>	6	42.9955
<i>CDF-LD</i>	6	73.2767
<i>CDF-FM</i>	6	127.2993
<i>CDF-FD</i>	6	187.6812

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, **aprobó** la tesis

DEGRADACION DE ALQUIL FENOL POLIETOXILATOS EN LOS SISTEMAS DE DIGESTION ANAEROBIA Y DESNITRIFICACIÓN

Que presentó

ANGELICA JIMENEZ GONZALEZ

Comité Tutorial

Dr. Oscar A. Monroy Hermosillo
Director, UAM-Iztapalapa

Dra. Margarita Salazar González
Asesor, UAM-Iztapalapa

Dr. Mariano Gutierrez Rojas
Asesor, UAM-Iztapalapa

Dra. Mayra De la Torre Martínez
Asesor, CIAD

Jurado

Dr. Mariano Gutiérrez Rojas
Presidente, UAM-Iztapalapa

Dra. Mónica A. Meraz Rodríguez
Secretaria, UAM-Iztapalapa

Dra. Mayra de la Torre Martínez
Vocal, CIAD

Dr. Frédéric Thalasso Siret
Vocal, CINVESTAV-IPN

