

SEMARNAT

SECRETARÍA DE
MEDIO AMBIENTE
Y RECURSOS NATURALES



IMTA
INSTITUTO MEXICANO
DE TECNOLOGÍA
DEL AGUA

**“EVALUACIÓN DE DIFERENTES PROCESOS DE TRATAMIENTO PARA LA REMOCIÓN DE
COLORANTES SINTÉTICOS UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA TEXTIL”**

INFORME FINAL

SUBCOORDINACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

TC-1303.01

Jefe de proyecto:

M. en I. Luciano Sandoval Yoval

Colaboradores:

M. en I. Erika Viviana Miranda Mandujano

Dra. Gabriela Moeller Chávez

Pte. ITA Yoomara

Ing. Ernesto Bahena Castro

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	iv
1 ANTECEDENTES.....	1
1.1 Colorantes empleados en el sector industrial.....	1
1.2 Industria textil en México.....	2
1.2.1 Generación de aguas residuales en la industria textil.....	3
1.2.2 Impacto ambiental de efluentes textiles.....	3
1.2.3 Efectos tóxicos.....	4
1.3 Regulación de descargas de aguas residuales de la industria textil.....	4
1.4 Procesos de tratamiento para colorantes azo utilizados en el sector textil.....	5
1.4.1 Proceso de oxidación de Fenton.....	12
1.4.2 Métodos enzimáticos para el tratamiento efluentes textiles.....	15
2 OBJETIVOS.....	23
2.1 Objetivo.....	23
2.2 Objetivos particulares.....	23
3 METODOLOGÍA.....	24
3.1 Selección y caracterización del efluente general de la industria textil.....	24
3.2 Estrategia de operación para el proceso Fenton.....	24
3.3 Estrategia de operación para el proceso enzimático.....	24
3.3.1 Obtención de peroxidasa de residuo industrial.....	24
3.3.2 Determinación de actividad enzimática de PRS.....	25
3.3.3 Pruebas de remoción de color.....	25
3.4 Determinaciones analíticas.....	26
3.4.1 Remoción de color.....	26
3.4.2 Remoción de materia orgánica.....	26
3.4.3 Pruebas de toxicidad.....	26
3.4.4 Pruebas de carbón orgánico total.....	26
3.5 Elaboración de artículos.....	27
3.5.1 Para su publicación en una revista indexada.....	27
3.5.2 Para su presentación en un congreso.....	27
4. RESULTADOS.....	28
4.1 Sistema experimental.....	28
4.2 Caracterización de efluentes textiles.....	28
4.2.1 Efluente general de textilera Santa Ana Xalmimilulco.....	28
4.2.2 Efluente general de textilera Gutermann.....	31
4.3 Pruebas preliminares.....	32
4.4 Validación de resultados en prototipo experimental.....	37
4.3.1 Determinación de condiciones óptimas de operación para la decoloración y remoción de materia orgánica.....	38
4.3.2 Pruebas de toxicidad.....	45
4.3.3 Pruebas de COT.....	45
4.4 Tratamiento enzimático.....	46
4.4.1 Tiempo de contacto.....	46
4.4.2 pH y Temperatura.....	47

4.4.3 Concentración óptima de H ₂ O ₂	48
4.4.4 Concentración de colorante.....	49
4.4.5 Cinéticas enzimáticas con efluente de la industria Gütermann	51
4.4.6 Pruebas de toxicidad	53
4.4.7 Pruebas de COT	54
4.4 Elaboración de artículos	54
4.4.1 Para su publicación en una revista indexada	54
4.4.2 Para su presentación en un congreso	66
5 CONCLUSIONES.....	80
6 BIBLIOGRAFÍA.....	82



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Diagrama de fracción de las especies de Fe(III) y Fe(OH) ₃ en equilibrio a 25 °C.....	14
Figura 1.2 a) Cambio en la concentración del producto en función del tiempo b) Rapidez de la reacción en función de la concentración de la enzima.....	17
Figura 1.3 Rapidez inicial de la reacción en función de la concentración del sustrato.....	18
Figura 1.4 Gráfica Lineweaver-Burk.....	19
Figura 1.5 Mecanismo de reacción general de las peroxidasas (Welinder, 1992).....	21
Figura 4.8 Final de la prueba Fenton.....	73
Figura 4.17 Superficie de respuesta estimada para los factores de FeSO ₄ y H ₂ O ₂	74
Figura 4.18 Superficie de respuesta estimada para los factores de VAL y TAL.....	75
Figura 4.22 Superficie de respuesta estimada para los factores de VAL y TAL.....	76



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Clasificación de colorantes de acuerdo a su grupo cromóforo.	1
Tabla 1.2 Procesos físicos empleados en el tratamiento de efluentes de la industria textil.....	6
Tabla 1.3 Procesos químicos empleados en el tratamiento de efluentes de la industria textil.	8
Tabla 1.4 Procesos biológicos convencionales empleados en el tratamiento de efluentes de la industria textil.....	10
Tabla 1.5 Trabajos realizados utilizando el proceso de Fenton para la oxidación de colorantes.	13
Tabla 1.6 Enzimas y su principal aplicación en el tratamiento de residuos orgánicos	20
Tabla 1.7 Factores que influyen en la capacidad catalítica de las enzimas.	22



1 ANTECEDENTES

1.1 Colorantes empleados en el sector industrial

El color es el primer signo contaminante que se observa en las aguas residuales. Este es proporcionado tanto por colorante como por pigmentos, ambos se diferencian por sus características de solubilidad. Los colorantes son compuestos solubles, que se aplican principalmente a materiales textiles en disolución acuosa y los pigmentos son compuestos insolubles, que se incorporan a productos tales como pinturas, tintas de imprenta o plásticos (Christie, 2003).

La industria de colorantes constituye, aproximadamente, el 6% de la producción total del sector Industrial. Sólo unos pocos colorantes o pigmentos tienen una demanda superior a 1000 Ton/año; de la mayoría se producen 100-200 Ton/año. En términos de población, el consumo medio en el mundo de colorantes por persona al año es de unos 200 g. En los países desarrollados, el consumo llega a ser de 600-700 g/persona al año (Zollinguer, 2001; Herbst *et al.*, 1997).

El consumo por aplicaciones es el siguiente:

- Industria textil: 60%.
- Pinturas y tintas (pigmentos): 25%.
- Resto de aplicaciones (papel, cuero, alimentos y otras): 15%.

Los colorantes usados en la industria textil son de diversos tipos y pueden ser clasificados dependiendo de varios factores, tales como su estructura química (Tabla 1.1), clase de aplicación ó uso final. Cada tipo de colorante presenta características físicas, químicas y biológicas diferentes, que les atribuyen propiedades recalcitrantes y efectos tóxicos para el ambiente.

Tabla 1.1 Clasificación de colorantes de acuerdo a su grupo cromóforo.

Familia	Grupo cromóforo	Descripción
Azoicos	$Ar-N=N-Ar$ Grupo azo	Estos colorantes se caracterizan por tener un grupo funcional azo, consistente en un enlace doble $-N=N-$, unido a átomos de carbono. En cuanto a sus propiedades de color, aportan un rango de matices prácticamente completo y alta intensidad de color. Presentan buenas propiedades técnicas: solidez a la luz, al calor, al agua y a otros disolventes.
Antraquinonas	 Antraquinona	Los colorantes a base de antraquinonas y quinonas aromáticas policíclicas tienen gran importancia ya que colorantes ácidos con solidez a la luz, mordentes y dispersos corresponden a esta categoría.

<p>Indólicos</p>	 <p>indigo</p>	<p>El compuesto progenitor del grupo de colorantes indigoides, es el indigo, es un colorante de uso común desde tiempos prehistóricos. El indigo natural se obtiene de una planta, la indigófera. Puede reducirse por fermentación así como por medio de hidrosulfito de sodio, una vez reducido puede aplicarse a fibras celulósicas para después oxidarlo y obtener teñidos azules de gran brillantez.</p>
<p>Trihalometanos</p>	 <p>Catión trifenilmetilo</p>	<p>Estos colorantes están caracterizados por un grupo cromóforo altamente estabilizado por resonancia, son uno de los colorantes más intensos y brillantes que existen, pero generalmente exhiben poca solidez a la luz.</p>

(EPA 1996; O'Neil *et al.*, 1999; Robinson *et al.*, 2001; Hunger, 2003; Husain 2006; Gupta y Suhas 2009)

Los colorantes más ampliamente utilizados en la industria textil de acuerdo a sus propiedades de color, aporte de matices y alta intensidad, son los de tipo azo, los cuales constituyen la familia más importante entre los colorantes industriales. Se caracterizan por tener un grupo funcional azo, consistente en un enlace doble $-N=N-$, unido a átomos de carbono. Generalmente el grupo azo se une a dos anillos aromáticos.

1.2 Industria textil en México

La industria textil es considerada como uno de los principales generadores de contaminantes de agua y desechos peligrosos debido a que en el proceso de fabricación incluye una serie de etapas que provocan una seria contaminación al medio ambiente, los principales puntos de generación de contaminantes están centrados en el manejo de materiales peligrosos, emisiones al aire, residuos sólidos y líquidos, consumo de energía y generación de grandes cantidades de aguas residuales altamente coloreadas constituidas por compuestos recalcitrantes (Amjad y Qayyum, 2007).

En el 2010 en México se produjeron 122,422 toneladas de fibras químicas para uso textil. De ellas el 85.8% corresponden a fibras sintéticas, principalmente, poliéster filamento textil, poliéster fibra corta y nylon. Para este mismo año se reportó que sumaban 14,950 los establecimientos del sector textil y del vestido en México (INEGI, 2011).

El volumen de descarga de aguas residuales de la industria textil era de 64,196 m³/día, lo que representa el 0.69% del volumen de descarga proveniente de usos industriales en el país (SEMARNAT-CNA, 2004).

1.2.1 Generación de aguas residuales en la industria textil

Los aportes de contaminantes de la industria textil incluyen agua procedente del proceso de teñido, enjuagado y agua de enfriamiento, entre otros. El efluente de enjuagado representa del 60 al 70% del consumo total de agua (EPA, 1996; IPPC, 2003).

La composición de los efluentes generados en esta industria es muy variable de acuerdo a la categoría de producción (Zeybek *et al.*, 2007). El agua residual de este sector es típicamente alcalina y presenta concentraciones de DBO_5 que puede variar de 700 a 2000 mg/L y una demanda química de oxígeno (DQO), aproximadamente de 2 a 5 veces el valor de DBO_5 (Kaushik y Malik, 2009).

Los efluentes de los procesos de teñido son típicamente calientes y coloreados, los principales contaminantes presentes son: sólidos suspendidos, aceites minerales, compuestos orgánicos (incluyendo fenoles y orgánicos halogenados de solventes usados en el blanqueado), los cuales son considerados compuestos xenobióticos recalcitrantes a los procesos biodegradativos. También están presentes concentraciones significativas de metales pesados (cromo, cobre, zinc, níquel o plomo) (World Bank Group, 2011). En el proceso de fabricación de la fibra natural el agua residual puede contener plagicidas y contaminantes microbiológicos como (bacterias, hongos y otros patógenos).

La problemática de los efluentes textiles no solo está asociada a la presencia de colorantes. En la industria resultan bastante notables los elevados consumos de agua 150-350 L/kg fibra, la fijación variable de los colorantes, la presencia de auxiliares químicos tóxicos (Schonenberger y Schafer, 2002; Sponza, 2006) que conducen una serie de problemas operativos en sistemas de tratamiento tanto físicos, químicos y biológicos (Pignatello *et al.*, 2006; Hai *et al.*, 2007; Buitron *et al.*, 2004; van der Zee y Villaverde, 2005).

Los datos reportados para la Zona Metropolitana del Valle de México (CAM 1998) señalan que las empresas textiles representaban el 14% de las empresas instaladas a nivel nacional, los residuos generados por dichas empresas corresponden a 1,600,901 ($\text{m}^3/\text{año}$) de agua de las cuales el 54% (801,937 $\text{m}^3/\text{año}$) son arrojados sin previo tratamiento.

1.2.2 Impacto ambiental de efluentes textiles

El principal problema ambiental derivado del aporte de color a las aguas de los ríos y lagos se debe a la reducción de la transparencia y la disminución del oxígeno disuelto, debido a que altas cargas de color dificultan la función fotosintética de las plantas. Adicionalmente algunos problemas asociados a los efluentes textiles son debidos a la presencia de metales pesados ó azufre, que producen problemas ambientales debido a su naturaleza tóxica. Se ha comprobado que algunos colorantes de naturaleza azoica presentan un carácter cancerígeno potencial, y al menos 3000 colorantes azo comerciales han sido catalogados como cancerígenos (Guaratini y Zanoni, 2000). Su toxicidad radica en que pueden dar lugar a las aminas aromáticas de las cuales derivan, debido a procesos de oxidación, hidrólisis o reducción del enlace azo. Algunas aminas aromáticas utilizadas en la fabricación de los tintes son carcinógenos reconocidos (Weisburger, 2002).

La exigencia actual de la industria textil radica en la búsqueda de colorantes con estabilidad química y fotolítica, por lo que se diseñan colorantes resistentes a la ruptura debida a la exposición a la luz, agua, jabones, lo cual hace más complicado se degradación. El alto consumo de agua generando volúmenes de agua residual representa un 90-95% del agua utilizada en el proceso (Blánquez, 2005) y las elevadas pérdidas como consecuencia de la incompleta fijación de los colorantes a las fibras representando un porcentaje de 200 t/d de estos compuestos al medio ambiente (Guaratini y Zanoni, 2000; McMullan *et al.*, 2001).

1.2.3 Efectos tóxicos

Los riesgos toxicológicos de los colorantes sobre la salud humana están relacionados con el modo y tiempo de exposición. Estos compuestos presentan una baja toxicidad aguda, que es la resultante de los tiempos de exposición cortos. Esto es debido a que los colorantes tienen una baja solubilidad en fluidos corporales (Christie, 2003) y una alta solubilidad en agua, de manera que estos compuestos suministrados oralmente son metabolizados en la microflora intestinal y excretados más rápidamente que los compuestos menos solubles (Guaratini y Zanoni, 2000). Estos compuestos únicamente producen efectos de poca gravedad, tales como dermatitis de contacto o sensibilización respiratoria. La toxicidad crónica debida a exposición prolongada a los colorantes es baja. Se ha comprobado que algunos colorantes de naturaleza azoica presentan un carácter cancerígeno potencial, y al menos 3000 colorantes azo comerciales han sido catalogados como cancerígenos (Guaratini y Zanoni, 2000). Su toxicidad radica en que pueden dar lugar a las aminas aromáticas de las cuales derivan, debido a procesos de oxidación, hidrólisis o reducción del enlace azo. Algunas aminas aromáticas utilizadas en la fabricación de los tintes son carcinógenos reconocidos (Weisburger, 2002). Aun así, el análisis del grado de toxicidad de los colorantes, medido a partir de 50% de la dosis letal (LD_{50}) ha demostrado que apenas un número reducido de colorantes presenta toxicidad aguda ($LD_{50} < 5$ g/kg) y son principalmente colorantes azo y básicos.

1.3 Regulación de descargas de aguas residuales de la industria textil

En México la escasa cobertura de infraestructura de los sistemas de tratamiento presentan deficiencias en la remoción de contaminantes por la mezcla de sustancias tóxicas aportadas por las industrias que limitan los procesos de remoción, y aunado a lo anterior los estándares de calidad del agua impuestos a través de la NOM-001-SEMARNAT-1996 provoca que las descargas de diferentes giros industriales en la mayoría de los casos cumplan con los parámetros y los contaminantes específicos de cada giro no sean considerados provocando que la incorporación de sustancias tóxicas deteriore el ambiente acuático y cause la pérdida de flora y fauna, así como los límites de uso del cuerpo receptor (Saldaña *et al.*, 2001).

Países como EUA y Canadá cuentan con legislación ambiental segura, algunos países de Europa como Francia, Austria e Italia tienen valores límites para las descargas de efluentes coloreados. Sin embargo, debido a que estos países utilizan unidades diferentes para su estimación, hace imposible una comparación. En Francia, las unidades que utilizan para realizar su determinación son mg/L Pt-Co (Hessel, 2007).

1.4 Procesos de tratamiento para colorantes azo utilizados en el sector textil

El tratamiento de aguas residuales de la industria de colorantes y textil es un problema ambiental al que se le ha dado mucha atención ya que muchos colorantes textiles son tóxicos y no biodegradables y, en consecuencia, son descargados a canales y ríos permaneciendo en el ambiente.

Existen diferentes procesos de tratamiento tales como: físicos (Tabla 1.2), químicos (Tabla 1.3) y biológicos (Tabla 1.4) que pueden ser aplicados para remover colorantes de las aguas residuales. Cada método tiene sus limitaciones técnicas y económicas. Se ha reportado en la literatura que el uso de un solo proceso no es eficiente para la degradación del color y la mineralización de los compuestos que se forman (Supaka *et al.*, 2004).

Los tratamientos biológicos son los más utilizados para tratar los efluentes líquidos de la industria textil, e incluyen básicamente tratamientos aerobios que pueden ser combinados por una o más etapas de tratamiento, como sedimentación, tamizado, coagulación o cualquier otro tratamiento fisicoquímico avanzado, como ultrafiltración o adsorción (Wang *et al.* 2009, García-Montaña 2007, Rivas *et al.* 2004).

La eficiencia del tratamiento biológico para la disminución de la DQO depende de la relación DBO_5/DQO (Lapertot *et al.*, 2007, Rodríguez 2003). El valor medio de esta relación en una industria textil es de 0.35 (Doménech *et al.*, 2001), lo que hace difícil la eliminación total de la DQO. Es conveniente llevar esta relación a un valor no menor de 0,6 para lograr una biodegradabilidad aceptable en el efluente (García-Montaña, 2007, Doménech *et al.*, 2001).

Los procesos biológicos han sido considerados como alternativas efectivas para el tratamiento de efluentes coloreados (van der Zee y Villaverde, 2005; Pandey *et al.*, 2007), pero la necesidad de aclimatación, los tiempos elevados de residencia y el carácter recalcitrante de algunos colorantes y auxiliares de manufactura, constituyen en la actualidad a las mayores limitantes encontradas para su operación estable (Rai *et al.*, 2005)

Tabla 1.2 Procesos físicos empleados en el tratamiento de efluentes de la industria textil

Proceso	Descripción	Ventajas	Desventajas	Fuente
Adsorción	La eficacia del proceso de adsorción está influenciada por una gran variedad de parámetros, entre ellos la interacción entre el colorante y el soporte, superficie específica, tamaño de la partícula, temperatura, pH o tiempo de contacto. La eficacia del método depende en gran medida del tipo de soporte elegido. Se emplean tanto soportes inorgánicos como orgánicos. Los primeros tienen una gran estabilidad mecánica y química, alta superficie específica y alta resistencia a la degradación microbiana. Los soportes orgánicos se generan a partir de fuentes renovables o son residuos industriales.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Los procesos de adsorción generan efluentes de alta calidad. ✓ Aplicable a diferentes colorantes (ácidos, básicos, reactivos). Posibilidad de reutilización del agua dentro del proceso. ✓ Capacidad de tratamiento del orden de cientos de m³/d. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Son procesos lentos; no selectivos, de manera que hay una competición entre las moléculas del colorante y otros compuestos presentes en el efluente; no destructivos, generándose un residuo que debe ser eliminado. ✓ La desorción es un proceso muy difícil y costoso. ✓ Los adsorbentes suelen ser caros y en ocasiones requieren un proceso de activación previo 	<p>Hai <i>et al.</i>, 2007 Allegre <i>et al.</i>, 2004 Forgacs <i>et al.</i>, 2004 Rai <i>et al.</i>, 2005</p>
Coagulación flóculación	Este proceso se basa en la adición de polielectrolitos ó flóculolantes inorgánicos (sales de hierro o aluminio), que forman flóculos con las moléculas de colorante facilitando su eliminación por sedimentación.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Este proceso es eficiente al tener altos porcentajes de remoción de color. ✓ El equilibrio del sistema se alcanza en tiempos cortos de 2-4 horas. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ El proceso genera lodos que deben ser eliminados. ✓ Los mejores rendimientos se logran al aplicar un exceso de coagulante, que aumenta la concentración de 	<p>Lee <i>et al.</i>, 2006 Mishra y Bajpai, 2006 Yue <i>et al.</i>, 2008 Shi <i>et al.</i>, 2007 Wang <i>et al.</i>,</p>

Proceso	Descripción	Ventajas	Desventajas	Fuente
			<p>contaminante en el efluente.</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Este proceso no es eficiente para colorantes altamente solubles y el resultado con colorantes azoicos, ácidos, reactivos generalmente no son muy buenos. 	<p>2006a Zhou <i>et al.</i>, 2008 Hai <i>et al.</i>, 2007</p>
Membranas de filtración	<p>Los métodos de tratamiento basados en el empleo de membranas permiten una separación efectiva de las moléculas de colorante y otros compuestos de tamaño mayor al del poro de la membrana seleccionada. Los métodos, tales como microfiltración, ultrafiltración, nanofiltración, ósmosis inversa y la adsorción, son altamente eficientes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Aplicable a un número amplio de colorantes. ✓ Resulta factible con la combinación de procesos biológicos y de oxidación avanzada. ✓ La fracción de rechazo de la membrana puede ser incinerada favoreciéndole balance energético del proceso 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Costo elevado. ✓ Altos costos energéticos del tren de tratamiento. ✓ Generación de lodos tóxicos. ✓ Taponamiento de las membranas. ✓ Adsorción del colorante sobre la membrana 	<p>Rai <i>et al.</i>, 2005 Hai <i>et al.</i>, 2007 Zhang <i>et al.</i>, 2009 Gomes <i>et al.</i>, 2005</p>

Tabla 1.3 Procesos químicos empleados en el tratamiento de efluentes de la industria textil.

Proceso	Descripción	Ventajas	Desventajas	Fuente
Oxidación química	La oxidación química emplea agentes oxidantes como el ozono (O ₃), peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂), permanganato (MnO ₄), Cloro y Reactivo Fenton, para cambiar la composición química de un compuesto o grupo de compuestos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Tiempos de reacción bajos en min. ✓ Posibilidad de combinación con procesos de oxidación avanzada. ✓ Aprovechamiento de las sales presentes en el influente. ✓ Puede ser utilizado como alternativa de pretratamiento económica. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Generación de efluentes más tóxicos. ✓ Costos elevados de materias primas. 	<p>Metcalf y Eddy, 2003. Aleboyeh <i>et al.</i>, 2009 Li <i>et al.</i>, 2009</p>
Ozonización	Las técnicas de ozonización consisten en la destrucción de compuestos con base a la elevada capacidad oxidativa del ozono. La reacción de oxidación es rápida, se pueden tratar altos caudales, no se generan residuos ni lodos y se obtiene un efluente incoloro y con baja DQO, de manera que es apto para su vertido al medio ambiente	Algunos autores sugieren que este proceso puede ser utilizado para el reuso del agua ya que puede llegar a remover el color en su totalidad y la DQO hasta cierto punto, incluso en condiciones críticas como el teñido con tonos claros.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Corto tiempo de vida aproximadamente de 20 min, lo cual repercute fuertemente en el coste del proceso. ✓ Los compuestos generados tienen mayor carácter tóxico que los colorantes de partida. 	<p>Soares <i>et al.</i>, 2006 Wu <i>et al.</i>, 2008b Sundrarajan <i>et al.</i>, 2007</p>
Foto-Fenton	El reactivo Fenton es una combinación de H ₂ O ₂ y sales de Fe (II). El ion ferroso se oxida a férrico mientras el H ₂ O ₂ produce	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Es eficiente en la decoloración de colorantes solubles como insolubles. ✓ Tiempo de 	Generación de lodos debida a la flóculoulación de los reactivos con el colorante.	<p>Meric <i>et al.</i>, 2003 Cheng, 2004 Pignatello <i>et al.</i>, 2006</p>

	<p>iones hidróxido y radicales hidroxilo. Estos últimos oxidan al colorante y el compuesto formado precipita con el ion férrico y compuestos orgánicos.</p>	<p>residencia cortos. ✓ Formación de lodo mínima. ✓ Aplicación exitosa en procesos a escala piloto y semi-industrial.</p>		<p>Papadopoulos et al., 2007</p>
--	---	---	--	----------------------------------



Tabla 1.4 Procesos biológicos convencionales empleados en el tratamiento de efluentes de la industria textil.

Proceso	Descripción	Ventajas	Desventajas	Fuente
Aerobios	Pocos estudios han reportado que los colorantes azo pueden ser utilizados por las bacterias aerobias como fuente de carbono y energía. Por lo general, los tratamientos aerobios basados en consorcios de bacterias en sistemas convencionales no son capaces de degradar colorantes procedentes de efluentes textiles. Sin embargo se ha conseguido aislar cepas de bacterias que son capaces de degradar algunos colorantes.	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Económicos y con una infraestructura disponible en algunos casos. ✓ Capacidad de tratamiento del orden de m³/d. ✓ Impacto ambiental bajo. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ El mecanismo primario de remoción es la adsorción sobre la pared celular. ✓ La reducción de la DQO no está correlacionada con la decoloración del efluente. ✓ Altos tiempos de retención hidráulica. ✓ Inhibición por compuestos recalcitrantes. 	<p>Robinson <i>et al.</i>, 2001</p> <p>McMullan <i>et al.</i>, 2001</p> <p>Buitrón <i>et al.</i>, 2004</p> <p>Stolz, 2001</p> <p>Tan, 2001</p> <p>Pandey <i>et al.</i>, 2007</p>
Anaerobios	Este proceso ha sido empleado en gran medida para el tratamiento de colorantes ya que ha demostrado una gran eficiencia de decoloración. La decoloración de compuestos azo mediante este proceso no es considerada específica debido a que diversas cepas pueden romper el enlace azo de manera eficiente. Desde sus investigaciones en 1970 se han reportado trabajos con altas eficiencias de decoloración. Es	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Posibilidad de aplicación de mediadores redox para mejorar el porcentaje como la velocidad de decoloración. ✓ Factibilidad de bio-aumentación de los cultivos. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Generación de subproductos tóxicos. ✓ Requerimiento de cepas específicas. ✓ Bajas remociones de materia orgánica expresada como DQO. ✓ Probable efecto recalcitrante de los auxiliares del proceso de tinción. ✓ Largos periodos de aclimatación. ✓ Los colorantes y otros compuestos 	<p>Delee <i>et al.</i>, 1998</p> <p>Forgacs <i>et al.</i>, 2004</p> <p>Rai <i>et al.</i>, 2005</p> <p>van der Zee, 2005</p> <p>Rai <i>et al.</i>, 2005</p> <p>Razo Flores <i>et al.</i>, 1996</p>

Proceso	Descripción	Ventajas	Desventajas	Fuente
	importante destacar que el tipo de reactor, el tiempo de retención hidráulica, el origen y la estrategia de aclimatación del inóculo, la presencia de mediadores redox, así como el tipo y la concentración de co-sustrato juegan un papel importante en la eficiencia de decoloración.		<p>refractarios no se mineralizan,</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ Los micronutrientes presentes en las aguas residuales como N y P no se remueven mediante este sistema ✓ Los sulfatos dan lugar a sulfuros. 	
Acoplados	<p>Cuando se conocen las bondades, capacidades y limitaciones de diferentes tipos de tratamientos, físicos, químicos y biológicos, es conveniente utilizar las ventajas encontradas en cada uno de ellos y combinarlas en tratamientos que se denominan acoplados. Los tratamientos acoplados, ya sea combinando procesos fisicoquímicos y biológicos o sólo biológicos (anaerobio-aerobios) son una buena alternativa para el tratamiento de estos efluentes.</p>	<p>Mineralización completa que a menudo se logra gracias a la acción sinérgica de diferentes organismos. la reducción del enlace azo se puede lograr en las condiciones de reducción en biorreactores anaeróbicos y las resultantes aminas aromáticas incoloras puede ser mineralizada en condiciones aeróbicas</p>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Tiempos elevados de residencias en fase anaerobia. ✓ Requerimientos de cepas específicas para degradar colorantes específicos. ✓ Uso de co-sustratos. ✓ Persistencia de las aminas aromáticas. 	<p>Cruz <i>et al.</i>, 1996 Moeller y Garzón, 2006 Melgoza, 2004. López Ayala 2004. Stolz, 2001. Buitrón <i>et al.</i>, 2004 van der Zee, 2005</p>

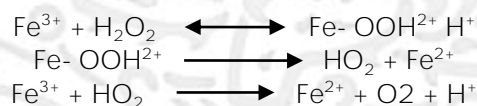
1.4.1 Proceso de oxidación de Fenton

El proceso Fenton es considerado uno de los más prometedores debido a su elevada eficacia y bajo coste en la remediación de aguas contaminadas con compuestos tóxicos y/o no biodegradables (Bauer *et al.*, 1997). El proceso Fenton ha resultado efectivo para degradar compuestos alifáticos y aromáticos clorados, PCBs, nitroaromáticos, colorantes azo, clorobenceno, fenoles. Son muy pocos los compuestos que no pueden ser atacados por este reactivo; entre ellos la acetona, o el ácido acético (García-Montaña 2007, Pignatello *et al.*, 2006, Parag *et al.*, 2004, Vogelpohl *et al.*, 2004). Se ha aplicado exitosamente para la reducción de la DQO de aguas municipales y subterráneas y en el tratamiento de efluentes de lixiviados de vertederos municipales y empresas papeleras y textiles.

El proceso de oxidación de Fenton es un método de oxidación catalítico homogéneo que usa una mezcla de iones de Fe^{2+} y peróxido de hidrógeno en un medio ácido. Este es conocido por ser muy efectivo en la remoción de compuestos contaminantes en el agua. La principal ventaja es la completa destrucción de los contaminantes en compuestos más simples logrando la decoloración de efluentes coloreados con bajos tiempos de reacción. Esta reacción se realiza sin la presencia de radiación ultravioleta, pero, recientemente se ha demostrado que su poder oxidante puede ser incrementado significativamente, empleando radiación ultravioleta ó ultravioleta/visible (reacción de FotoFenton). El mecanismo que describe la reacción de Fenton principalmente incluye las siguientes reacciones (Neyens y Baeyens, 2003).



El ion ferroso inicia y cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno, resultando la generación de radicales hidroxilos. Los radicales hidroxilos pueden rápidamente y no selectivamente reaccionar con un amplio rango de contaminantes orgánicos para mineralizarlos hasta CO_2 , H_2O y productos inorgánicos (Sun *et al.*, 2009). El ion ferroso es generado lentamente entre la formación del ion férrico y el peróxido de hidrógeno, como se indica en las siguientes reacciones:



Consecuentemente, la tasa de oxidación de compuestos orgánicos es rápida cuando grandes cantidades del ion ferroso están presentes porque grandes cantidades de radicales hidroxilo se producen. El proceso de oxidación de Fenton tiene doble ventaja, la oxidación y la coagulación así reduciendo contenido de color como a su vez la DQO de las aguas residuales (Kuo, 2000).

Las ventajas del método son varias: el Fe (II) es abundante y no toxico, el peróxido de hidrogeno es fácil de manejar y ambientalmente benigno, no se forman compuestos clorados como en otras técnicas oxidantes, y no existen limitaciones de transferencia de masas por tratarse de un sistema homogéneo. El diseño de reactores para la aplicación tecnológica es bastante sencillo. En contra posición requiere la adición continua y estequiometria de Fe y H_2O_2 , es decir, necesita una alta concentración de Fe. Sin embargo debe tenerse en cuenta siempre que un exceso de Fe (II) puede causar condiciones para el atrapamiento de HO.

La oxidación avanzada en el reactivo de Fenton es un método adecuado para aguas residuales resistentes a un tratamiento biológico, este método puede ser usado para tratar colorantes solubles e insolubles. Una desventaja de este método es la formación de lodos residuales y de aminas aromáticas que pueden resultar ser tóxicas.

Existen muchos estudios dedicados a los procesos de Fenton para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil en la Tabla 1.5 se muestran algunos trabajos realizados:

Tabla 1.5 Trabajos realizados utilizando el proceso de Fenton para la oxidación de colorantes.

Tipo de colorante	Agua real mg/L	Reactivos	Tiempo	% Remoción	Condiciones	Parámetros	Bibliografía
Rojo directo 28	10 130 250	FeSO ₄ 7 H ₂ O H ₂ O ₂ H ₂ SO ₄ NaOH	15 minutos	100	pH=3 150 rpm T (23-25°C)	pH Absorbancia COT	Filiz, et al., 2008
Rojo ácido 18	100	Virutas de acero H ₂ O ₂ H ₂ SO ₄ NaOH	120 h	88.7	pH=2.5 T= 25°C	pH Absorbancia DQO	Barbusiński, 2004
Tartrazina	100	Fe ³⁺ H ₂ O ₂ H ₂ SO ₄ NaOH	2 h	99.3	pH=3 T (20-25°C)	pH Absorbancia	Arroyave, 2008
Violeta cristal	1.2x10 ⁻⁴ mol/L	FeSO ₄ 7 H ₂ O H ₂ O ₂ H ₂ SO ₄ NaOH	30 minutos	87	T (20-50°C)	Absorbancia Temperatura H ₂ O ₂ Fe ²⁺	Wu, et al., 2010
Azul reactivo 221 Amarillo 145	86 25	FeSO ₄ 7 H ₂ O H ₂ O ₂ HCL NaOH	90 minutos	96	pH=3 T (20-25°C)	pH Absorbancia DQO	Kabdasli, et al., 2007

1.4.4.1 Parámetros que influyen en el proceso

Las condiciones de operación en las que el proceso se lleva a cabo, así como la composición del agua residual, afectan sustancialmente a la eficacia y velocidad del proceso de oxidación. Los principales parámetros que influyen en el proceso son:

pH

El sistema Fenton, como se ha comentado anteriormente, depende del pH del medio de reacción. La velocidad de las reacciones tiende a ser máxima en un pH cercano a 2,8 (Pignatello *et al.*, 2006, Neyens *et al.*, 2003). El valor óptimo se encuentra entre 2,5 y 2,8, donde el Fe(III) existe en solución mayoritariamente como $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}(\text{H}_2\text{O})_5$. A pH altos, la velocidad disminuye debido a la precipitación de hierro en forma $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (Figura 1.1). A pH excesivamente bajos ($\text{pH} < 2,0$), y a partir del Fe(II) se produce la formación de $\text{Fe}(\text{OOH})^{2+}$ que reacciona muy lentamente con el H_2O_2 obstaculizando la generación de OH. Además, disminuye el coeficiente de absorción de los complejos de hierro.

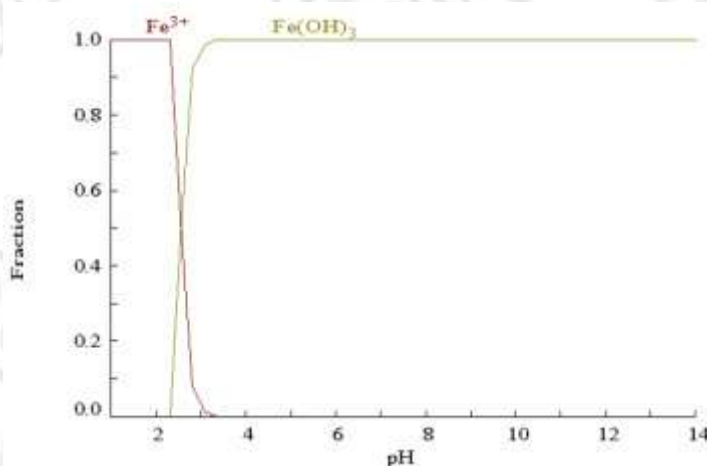


Figura 1.1 Diagrama de fracción de las especies de Fe(III) y $\text{Fe}(\text{OH})_3$ en equilibrio a 25 °C.

El Fe(III) aparece como $\text{Fe}^{3+}(\text{H}_2\text{O})_6$ y es mucho menos efectivo en la absorción de luz y en la producción de OH. Este grupo de reacciones requiere, por tanto, un control riguroso del pH (García-Montaño 2007, Pignatello *et al.*, 2006, Parag *et al.*, 2004, Neyens *et al.*, 2003).

Relación Fe(II)/H₂O₂

La dosis de H_2O_2 influye fundamentalmente sobre la eficacia del proceso mientras que la concentración de hierro afecta a la cinética (Pignatello *et al.* 2006, Parag *et al.* 2004, Neyens *et al.* 2003). Tanto la eficacia como la velocidad de reacción tienden a aumentar con la concentración de reactivos. Sin embargo, un exceso de hierro da lugar a una disminución de la eficacia debido a la activación de reacciones secundarias no deseadas, como es el caso de la formación de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ que puede precipitar, por lo que se ha de tener en cuenta la Kps de esta especie para evitarnos este problema. Por otro lado un exceso de peróxido daría lugar a la degradación del mismo por los radicales hidroxilos la cual es una reacción no deseada (Arslan *et al.*, 2009, Farias *et al.*, 2009, García-Montaño 2007, Pignatello *et al.*, 2006, Pérez *et al.*, 2002, Pérez *et al.*, 2001, Kuo 1992).

La relación estequiométrica $[\text{Fe}(\text{II})]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ ha sido estudiada por varios autores, debe tenerse en cuenta las características del efluente a tratar. Dependerá del mismo para encontrar la relación adecuada entre Fe(II) y agente oxidante para poder tener la condición más favorable de operación desde el punto de vista técnico, económico y medioambiental (Neyens *et al.*, 2003).



Temperatura

La reacción de oxidación Fenton es endotérmica. La velocidad de oxidación aumenta con el incremento de temperatura (Zhang *et al.*, 2005). A presión atmosférica, el rango recomendable de operación es entre 25 y 45 °C, ya que si se sobrepasa los 50 °C, ocurre una descomposición acelerada del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua (Torrades *et al.*, 2008) y la precipitación del hierro en forma de hidróxido debido a que su constante de producto de solubilidad (Kps) disminuye (Pérez *et al.*, 2002, Pérez *et al.*, 2001). Operando a presiones de hasta 3 atmósferas se pueden alcanzar temperaturas superiores a los 100 °C sin riesgo de descomposición del peróxido (Neyens *et al.*, 2001).

Este aspecto es muy importante debido a que las industrias textiles tienen una temperatura elevada en su proceso de producción, por lo que no sería necesario aplicar un aporte energético extra.

Concentración de aniones inorgánicos

Ciertos aniones inorgánicos actúan como inhibidores de la acción de los radicales ·OH o forman especies no reactivas con el hierro. Algunos estudios han mencionado la disminución de la velocidad del proceso debido a la presencia en altas concentraciones de fluoruros y sulfatos (F⁻, SO₄²⁻) (Pignatello *et al.*, 2006, Parag *et al.*, 2004), ya que reducen la reactividad del Fe(III) a través de mecanismos de coordinación y secuestrando radicales hidroxilo; bromuros y cloruros (Br⁻, Cl⁻) (García-Montaña 2007), ya que actúan secuestrando los radicales hidroxilos; nitratos (NO₃⁻), percloratos (ClO₄⁻) e hidrogeno fosfatos (H₂PO₄⁻), ya que forman complejos insolubles con el Fe(III) (Pignatello *et al.*, 2006, Parag *et al.*, 2004, Neyens *et al.*, 2003).



1.4.2 Métodos enzimáticos para el tratamiento efluentes textiles

En los últimos años se han realizado estudios de métodos enzimáticos para la remoción de compuestos recalcitrantes, cuando no pueden ser eliminados por tratamientos biológicos o físicos, esto mediante el uso de enzimas (Villalobos y Buchanan 2002, Villegas *et al.*, 2003), ya que presentan ventajas por ser altamente selectivas (Aitken, 1993), son menos probables a que se inhiban por sustancias que pueden ser tóxicas para los organismos vivos y su costo podría llegar a ser inferior a la de otros métodos. Por otra parte, requiere bajos tiempos de retención con respecto a otros tratamientos (Siddique *et al.*, 1993).

A diferencia de los tratamientos biológicos las enzimas son aplicables a una extensa gama de compuestos; actúan en presencia de sustancias tóxicas para los microorganismos; poseen un amplio rango de acción de pH y temperatura; no necesitan aclimatación y no generan biomasa y necesitan procesos de control más simples (Wagner y Nicell, 2002). En comparación con los tratamientos

físicos y químicos, su funcionamiento no es corrosivo y reduce el consumo de compuestos oxidantes.

Clasificación de las enzimas

Las enzimas son proteínas con longitudes de cadena de 100 a 2500 residuos aminoácidos y se clasifican de acuerdo al tipo de reacción y sustrato en cuestión. Hay seis tipos principales de reacciones catalizadas por enzimas:

1. Reacciones de óxido reducción catalizadas por oxido reductasas;
2. Reacciones de transferencia de grupo catalizadas por transferasas;
3. Reacciones hidrolíticas catalizadas por hidrolasas;
4. Reacciones de eliminación con formación de un doble enlace, catalizadas por liasas;
5. Reacciones de isomeración catalizadas por isomerasas;
6. Reacciones donde se unen dos moléculas a expensas de una fuente de energía, generalmente ATP, catalizadas por ligasas.

Dentro de la familia de las oxidoreductasas se encuentran las peroxidasas (EC 1.11.1.7) las cuales se encuentran distribuidas en el reino vegetal, los tejidos animales y microorganismos. Catalizan la oxidación de un amplio número de sustratos orgánicos e inorgánicos, utilizando la capacidad oxidante del peróxido de hidrógeno. De entre ellas la extraída de la raíz del rábano picante (HRP) es la más usada.

Las enzimas peroxidasas se emplean como biocatalizadores para la generación de productos de interés biotecnológico e industrial como resinas fenólicas, adhesivos, antioxidantes, antiestáticos y protectores de radiación magnética, colorantes alimentarios y componentes bioactivos de detergentes (Rodríguez *et al.*, 2002).

La especificidad de las enzimas y sus propiedades regulatorias no se han entendido completamente. Las evidencias sugieren que las cadenas polipeptídicas de la enzima se dobla de tal forma que un **grupo de aminoácidos “reactivos” se coloca para formar un sitio activo. Este sitio es la región donde se localiza la actividad catalítica de la enzima.** El sustrato se une a este sitio activo mediante varios enlaces débiles que incluyen puentes de hidrógeno y ocasionalmente enlaces covalentes para formar un complejo enzima-sustrato. La reacción se lleva a cabo en una serie de mecanismos y los productos se liberan de este complejo en el sitio activo.

1.4.2.1 Cinética de reacciones con sustrato

Para estudiar la cinética enzimática es importante crear métodos confiables y reproducibles para la medición de la actividad enzimática en condiciones específicas. El propósito del ensayo enzimático es medir la rapidez de formación del producto o la rapidez de desaparición de los sustratos en condiciones controladas de temperatura, pH y concentración de compuestos modificadores de la actividad. Se usan dos tipos básicos de ensayo denominados ensayos en continuos o discontinuos. En cualquier caso se debe asegurar que la rapidez inicial de la reacción se pueda medir en presencia de una concentración de sustrato fija

La cinética enzimática simple se basa en tres principios experimentales:

1. Que es el sustrato (S), forma un complejo intermediario enzima-sustrato, (ES), con la enzima (E).
2. Que la rapidez de la reacción al tiempo t (es decir, la rapidez de desaparición del sustrato, $-ds/dt$, o bien, la rapidez de formación del producto, dp/dt) se representa con una pendiente de la curva P o $S = f(t)$. Estas pendientes varían con el tiempo durante el curso de la reacción, debido a la desaparición del sustrato (Figura 1.2). Las mediciones cinéticas se basan generalmente en la parte de la lineal de la curva, es decir, la velocidad inicial o la rapidez inicial de la reacción. En esta región, la concentración del producto es extremadamente pequeña y, en consecuencia, la descomposición del producto a sustrato es insignificante.
3. Para una concentración dada de sustrato, la determinación de la variación en la rapidez de reacción como función de la concentración de la enzima no es lineal, sino hiperbólica (Figura 1.2). Esto se debe a que todo el sustrato está en la forma del complejo enzima-sustrato, (ES), a altas concentraciones de la enzima. En consecuencia, la rapidez inicial de la reacción como función de la concentración de la enzima permanece constante en estas condiciones.

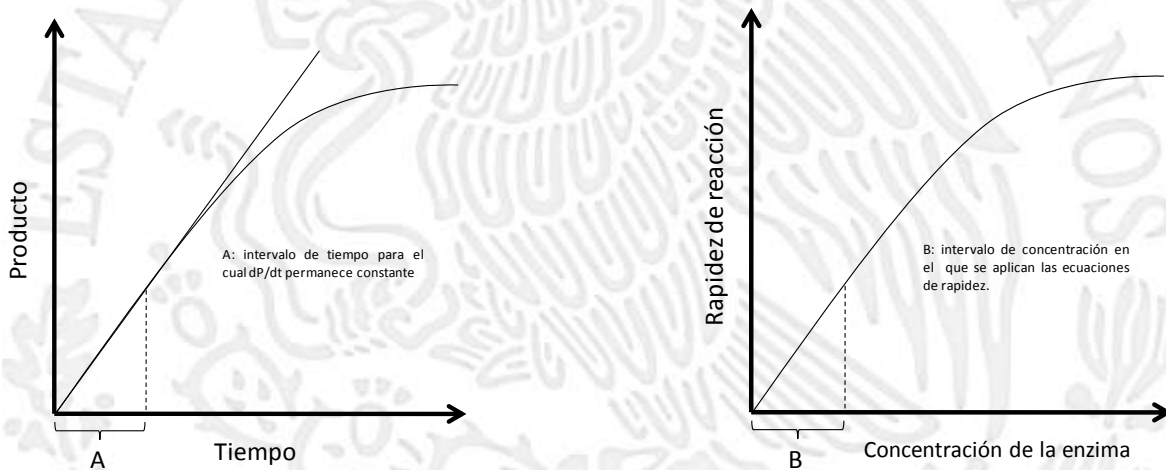
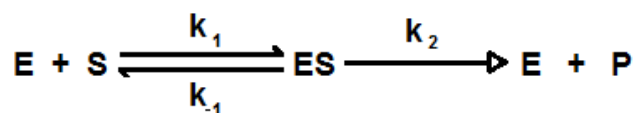


Figura 1.2 a) Cambio en la concentración del producto en función del tiempo b) Rapidez de la reacción en función de la concentración de la enzima

1.4.2.2 Ecuación de Michaelis-Menten

La teoría del estado estacionario de la cinética enzimática fue desarrollada por L. Michaelis y M. Menten, con modificaciones hechas por G. Briggs y J. B. S. Haldane. En este modelo la enzima se combina reversiblemente con su sustrato para formar el complejo enzima-sustrato (ES) que subsecuentemente se rompe para formar el producto, hecho que regenera la enzima. El modelo para una molécula de sustrato se muestra a continuación:



La ecuación de Michaelis y Menten describe como varía la velocidad de reacción con la concentración de sustrato:

$$v = \frac{v_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

v= velocidad inicial de la reacción
Vmax= velocidad máxima
Km= constante de Michaelis-Menten
S= sustrato

Las reacciones catalizadas por enzimas exhiben cinéticas de saturación. A bajas concentraciones de sustrato, la velocidad de la reacción es proporcional a la concentración del sustrato y la reacción es de primer orden con respecto al sustrato. A medida que la concentración de sustrato aumenta, la rapidez de la reacción disminuye y ya no es proporcional a la concentración de sustrato; la reacción es de orden mixto. A concentraciones aún más altas la rapidez de reacción es constante e independiente de la concentración de sustrato, la reacción se vuelve de orden cero (Figura 1.3).

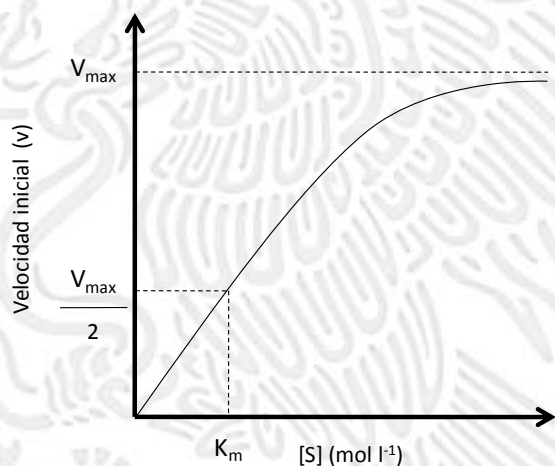


Figura 1.3 Rapidez inicial de la reacción en función de la concentración del sustrato.

La constante K_m de Michaelis-Menten es característica de una enzima y particular para un sustrato. Refleja la afinidad de la enzima por ese sustrato. K_m es numéricamente igual a la concentración de sustrato a la cual la velocidad de reacción es la mitad de la V_{\max} ($K_m = V_{\max}/2$). Este parámetro, K_m no varía con la concentración de enzima. Un valor numérico pequeño de K_m refleja una alta afinidad de la enzima por su sustrato porque a una baja concentración del mismo, la enzima ha desarrollado ya la mitad de la velocidad máxima. El valor numérico grande de K_m refleja una baja afinidad de la enzima por su sustrato porque a una concentración elevada del mismo, la enzima desarrolla la mitad de la velocidad máxima. La velocidad de la reacción es directamente proporcional a la concentración de la enzima a cualquier concentración de sustrato.

Para el análisis de reacciones enzimáticas, sólo se utiliza la velocidad inicial de la reacción, que es la velocidad ejercida por la enzima, inmediatamente después de que se ha puesto en contacto con el sustrato y hasta antes de que se haya consumido el 10 % de la concentración inicial del mismo. La razón de lo anterior es que en ese momento, la concentración del producto de la reacción que se ha acumulado, es muy pequeña y, por tanto, la reacción en el sentido inverso, es decir, la transformación del producto en el sustrato original, puede ser ignorada.

1.4.2.3 Representación de datos cinéticos

En una curva hiperbólica es difícil determinar con precisión V_{\max} y, en consecuencia, K_m . Debido a esto se ha recurrido a muchas linealizaciones de las ecuaciones de Michaelis -Menten, de las cuales se puede ajustar a métodos de linealización como: Eadie-Hofstee y la gráfica lineal directa de Eisenthal y Cornish-Bowden pero la más utilizada es la gráfica de Lineweaver-Burk, la cual simplemente implica tomar los recíprocos de ambos lados de la expresión. Una gráfica (Figura 1.4) de $1/V$ contra $1/S$ produce una línea recta con una pendiente, K_m/V_{\max} , una ordenada al origen $1/V_{\max}$ y una ordenada a la abscisa de $-1/K_m$.

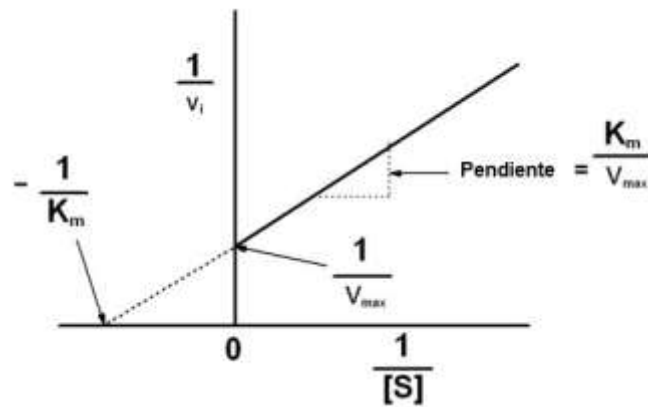


Figura 1.4 Gráfica Lineweaver-Burk

1.4.2.4 Acción de efectores sobre la actividad enzimática

La rapidez de las reacciones catalizadas se puede modificar en presencia de ciertos compuestos, distintos del sustrato, denominados efectores. Estos desempeñan una función principal en la regulación del metabolismo, hay dos clases de efectores:

- ✓ Inactivadores: aumentan la rapidez de la reacción
- ✓ Inhibidores disminuyen la rapidez de la reacción.

Hay tres tipos principales de inhibición enzimática:

1) Competitiva

El inhibidor es una sustancia con una estructura química y espacial análoga a la del sustrato que se une al sitio activo de la enzima inhibiendo así la unión del sustrato.

2) Incompetitiva

El inhibidor se une a complejo ES pero no a la enzima libre. Por lo tanto, aun cuando la concentración de sustrato este en forma saturada, la enzima se distribuirá entre el complejo formador de producto ES y el complejo que contiene el inhibidor EIS.

3) No-competitiva

Un inhibidor no-competitivo se puede unir a la enzima libre, E, y al complejo enzima-sustrato, ES, para formar EI e EIS. EIS no se puede descomponer para dar el producto y la enzima.

1.4.2.5 Estudio de procesos enzimáticos para la degradación de colorantes

Las principales investigaciones realizadas en este campo se encuentran en la India lideradas por los investigadores Mahreen Matto, Anirban Bhunia y Qayyum Husain del Departamento de Bioquímica y Facultad de Ciencias de la vida en la Universidad Aligarh Muslim. Los estudios se centran en la aplicación potencial de enzimas oxidoreductasas en la decoloración y detoxificación de colorantes sintéticos presentes en las aguas residuales.

Las limitantes en estas investigaciones son la pérdida de enzima en los tratamientos y los bajos rendimientos de las enzimas inmovilizadas, aunado a esto todas las pruebas realizadas se llevan a cabo utilizando un efluente sintético únicamente con colorante como sustrato.

Las enzimas que han presentado mayor utilidad en el tratamiento de compuestos recalcitrantes y de efluentes coloreados en el mundo son: Peroxidasa, Lignina Peroxidasa, Manganese Peroxidasa, Lacasa y Azoreductasa (Husain, 2006). En la Tabla 1.6 se presenta una lista de enzimas y su principal aplicación en el tratamiento de residuos orgánicos.

Tabla 1.6 Enzimas y su principal aplicación en el tratamiento de residuos orgánicos

Enzimas	Fuente	Aplicación	Referencia
Azoreductasa	<i>Pseudomonas</i> ssp.	Degradación de colorantes	Husain, 2006
Cloro-peroxidasa	<i>Caldariomyces fumago</i>	Oxidación de compuestos fenólicos	Aitken <i>et al.</i> , 1993.
Cyanidasa	<i>Alcaligenes denitrificans</i>	Descomposición de la cyanida	Basheer <i>et al.</i> , 1992.
Lacasa	<i>Trametes versicolor</i> Soya	Fenoles, aminas aromáticas, colorantes sintéticos	Duran <i>et al.</i> , 2002; Christian <i>et al.</i> , 2005; Husain 2006
Lignina peroxidasa	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Fenoles, aminas aromáticas, colorantes sintéticos	Christian, 2005; Husain, 2006, Yu <i>et al.</i> , 2006; Park <i>et al.</i> , 2006; Kalmeet <i>et al.</i> , 2007; Park <i>et al.</i> , 2007.
Manganese peroxidasa	<i>Bacterias</i> <i>Phanerochaete chrysosporium</i> <i>Basidiomycetes</i>	Oxidación de compuestos aromáticos y fenoles, colorantes azo	Duran <i>et al.</i> , 2002; Christian <i>et al.</i> , 2005; Eibes <i>et al.</i> , 2005; Husain, 2006; Babarova <i>et al.</i> , 2006.
Peroxidasa	<i>Raíces de rabano, tomate, hongos blancos, soya.</i> <i>Pleurotus ostreatus</i>	Oxidación de compuestos aromáticos, fenoles y sus derivados, colorantes sintéticos, colorantes reactivos	Shaffiqu <i>et al.</i> , 2002; Gudelj <i>et al.</i> , 2002; Mohan, 2005; Akhtar <i>et al.</i> , 2005a, 2005b; Husain 2006; Matto y

	<p><i>Ipomea palmata</i> <i>Saccharum spontaneum</i> <i>Coprinus cinereus</i></p>		Husain, 2007.
--	---	--	---------------

1.4.2.6 Peroxidasas

Las peroxidasas (EC 1.11.1.7) son oxidorreductasas que se encuentran distribuidas en el reino vegetal, los tejidos animales y microorganismos. Catalizan la oxidación de un amplio número de sustratos orgánicos e inorgánicos, utilizando la capacidad oxidante del peróxido de hidrógeno. De entre ellas la extraída de la raíz del rábano picante (HRP) es la más usada.

1.4.2.7 Mecanismo de reacción

Las peroxidasas oxidan una amplia variedad de sustratos, siguiendo un mecanismo bi-sustrato ordenado, donde participan dos sustratos y se obtienen dos productos. Las peroxidasas catalizan reacciones de peroxidación, como se muestra en la Figura 1.5.

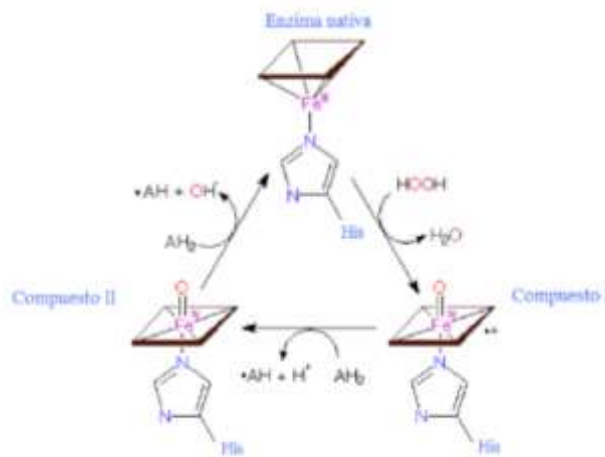


Figura 1.5 Mecanismo de reacción general de las peroxidasas (Welinder, 1992).

La reacción enzimática general es la siguiente: $H_2O_2 + AH_2 \rightarrow 2(\cdot AH) + H_2O$

Los radicales libres formados durante el ciclo catalítico se unen formando cadenas de polímeros con baja solubilidad y que tienden a precipitar en la solución. En la Tabla 1.7 se presentan algunos de los factores que influyen en la actividad catalítica de las enzimas.

Tabla 1.7 Factores que influyen en la capacidad catalítica de las enzimas.

<p>pH</p>	<p>Se ha demostrado que no hay coincidencia en el pH óptimo de las peroxidasas de diversas fuentes vegetales cuando se emplea el guayacol como donador de hidrógeno. Sin embargo, la mayoría de las peroxidasas son activas en un rango de pH relativamente amplio (3-12), lo que puede deberse a la presencia de diferentes isoenzimas las cuales tienen cada una un pH óptimo para realizar su función catalítica.</p>
<p>Temperatura</p>	<p>La complejidad de la inactivación de las peroxidasas es debida a la presencia de diferentes especies isoenzimáticas, por ejemplo la peroxidasa del maíz consta de fracciones resistentes y lábiles al calor, donde el 5% de la actividad total pertenece a la fracción resistente al calor la que requiere un tratamiento adicional para ser inactivada. Estudios demuestran que las peroxidasas de varios vegetales contienen isoformas resistentes y sensibles al calor.</p> <p>La peroxidasa es una de las enzimas más termoestables de las plantas y bajo ciertas condiciones de tratamiento con calor puede retener la actividad durante el almacenaje. Investigaciones muestran que al estudiar la peroxidasa de coliflor determinaron que la temperatura óptima era de 40°C y que la actividad disminuía drásticamente a temperaturas superiores hasta llegar al 50% a 48°C y aproximadamente 0% a 60°C, por lo que llegaron a la conclusión de que la enzima de la coliflor es termolábil.</p>
<p>Otros factores</p>	<p>Se han realizado investigaciones de la influencia de los metales pesados sobre la actividad enzimática de la papa alcañón de Jerusalén (<i>Helianthus tuberosus</i> L.). Evaluando el efecto in vitro de metales pesados como: hierro (Fe^{2+} y Fe^{3+}), cobalto (Co^{2+}), estroncio (Sr^{2+}), zinc (Zn^{2+}), mercurio (Hg^{2+}), níquel (Ni^{2+}), aluminio (Al^{2+}) y plomo (Pb^{2+}), determinando que ciertas concentraciones de dichos metales inhiben la actividad peroxidásica hasta en un 50 %</p>

(Lee et al., 1984; Shaffiqu et al., 2002; Mohsina y Khalil, 2009)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo

Validar resultados obtenidos de procesos de tratamiento químico y enzimático en un prototipo de 50 L para determinar si se mantienen las eficiencias de remoción de contaminantes y si el efluente cumple con las condiciones particulares de descarga.

2.2 Objetivos particulares

Determinar condiciones de operación óptimas para tratamiento químico utilizando el efluente general de la industria Guttermann

Determinar condiciones de operación óptimas para tratamiento enzimático utilizando el efluente general de la industria Guttermann

3 METODOLOGÍA

3.1 Selección y caracterización del efluente general de la industria textil

Se realizará una búsqueda de las industrias textiles cercanas al IMTA para obtener el agua residual que será sometida a tratamiento mediante el proceso Fenton. Una vez seleccionada se realizará una caracterización inicial.

3.2 Estrategia de operación para el proceso Fenton

Se realizará un análisis de 15 pruebas que se realizaron con anterioridad para obtener las dosis y condiciones de operación que se emplearan en pruebas preliminares del agua residual sometida a estudio.

Se realizarán pruebas preliminares a cada lote de agua residual, utilizando una prueba de jarras con 6 reactores completamente mezclados (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), se justará el pH a 3 unidades y se determinaran las dosis de FeSO_4 y de H_2O_2 a emplear en el prototipo.

Una vez obtenidas las dosis y las condiciones de operación se realizará una prueba en el prototipo, con la finalidad de comprobar la eficiencia del mismo en la eliminación de color y de materia orgánica.

Para las determinaciones analíticas se tomaron muestras al inicio y final de la prueba, donde los factores de respuesta son:

- % de remoción de color
- % de remoción de materia orgánica

3.3 Estrategia de operación para el proceso enzimático

3.3.1 Obtención de peroxidasa de residuo industrial

Se obtendrá la peroxidasa (enzimas) de un residuo industrial (OKARA) del procesamiento del frijol de soya para la elaboración de un jugo comercial, bajo el siguiente procedimiento:

- Homogenizar 200 g de okara en 2 L de agua desionizada y mantener en agitación por 15 h a 4°C.
- Centrifugar a 10,000 rpm durante 20 min a 4°C.
- Dializar el sobrenadante con un tampón de acetato de sodio/ácido acético en una relación 1/50 a una concentración 10 mM (Villegas 2003, Bhunia 2001).
- Obtener las peroxidasas del residuo de soya (PRS) mediante cromatografía de intercambio iónico utilizando una columna de 142.35 ml de volumen total, empleando como intercambiador aniónico Dietilaminoetil Celulosa (DEAE53) de acuerdo a Jakoby, 1971 y Zia 2002. Equilibrar el intercambiador con buffer de fosfato 0.2 mM a pH de 7.4 y posteriormente buffer de fosfatos 0.01 M a pH 7.4 manteniéndolo a 4 °C. Como solución eluyente se utilizar 100 ml de NaCl 1 M.

3.3.2 Determinación de actividad enzimática de PRS

Determinar La actividad enzimática de la PRS mediante el empleo del método de la 4-aminoantipirina (Bhunja, 2001), estimación colorimétrica que implica el uso de fenol y H_2O_2 como sustratos y 4-aminoantipirina ($Am-NH_2$) como cromógeno.

Desarrollar la prueba a $25^\circ C$ adicionando buffer de fosfatos con pH de 7.4 que contenga Fenol 0.2 M, H_2O_2 2×10^{-3} M, 4-aminoantipirina 4.8×10^{-2} M y extracto enzimático.

Estimar la tasa de consumo de peróxido midiendo la absorción del producto de color a una longitud de onda de 510 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis. Una unidad de actividad peroxidasa representa la oxidación de un mol de sustrato en 1 minuto.

3.3.3 Pruebas de remoción de color

Realizar como pruebas preliminares experimentos para evaluar la degradación enzimática del colorante azul directo 2 (AD2) en fase acuosa empleando PRS. Este colorante esta clasificado como un diazo. La selección de este colorante fue debido a amplia aplicación en México.

Realizar los experimentos variando los parámetros de proceso tales como:

- Temperatura: 25 a $50^\circ C$
- pH: 3.5 a 7.5 unidades.
- Tiempo de reacción: 2 a 4 horas
- Concentración de peróxido: 10 a 500 mol/L
- Concentración de colorante: 10 a 60 mg/L.

Realizar las cinéticas en matraces erlenmeyer de 50 ml con un volumen útil de 30 ml a la temperatura seleccionada.

Adicionar al matraz 30 ml de colorante AD2 a la concentración y pH seleccionados, así como PRS y H_2O_2 .

Agitar la mezcla utilizando un agitador magnético a 150 rpm.

Tomar una muestra cada 10 min realizar una estimación de la concentración del colorante residual en fase acuosa para determinar el tiempo requerido para la remoción del colorante.

Determinar el color residual utilizando un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 576 nm, a la cual se presenta la máxima absorción de colorante AD2. Para llevar a cabo la determinación de las concentraciones en cada una de las muestras previamente realizar una curva de calibración.

Una vez obtenidas estas lecturas se realizará el cálculo para determinar el porcentaje de remoción de color.

Una vez determinadas las condiciones de operación a escala laboratorio realizar la validación de los resultados empleando agua del efluente general de la industria textil seleccionada, así como su escalamiento.

3.4 Determinaciones analíticas

Para llevar el seguimiento de los tratamientos utilizar análisis establecidos por la APHA (2005) para la determinación de pH, temperatura y conductividad así como técnicas específicas para la remoción de color, materia orgánica y toxicidad:

3.4.1 Remoción de color

Realizar el monitoreo de la remoción de color (U_{Pt-Co}) mediante un colorímetro DR890. El cálculo para la determinación del porcentaje de decoloración se realiza mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de decoloración: } \left[1 - \frac{C_t}{C_i} \right] \times 100$$

3.4.2 Remoción de materia orgánica

Realizar el monitoreo de la remoción de materia orgánica, medida como DQO, mediante el método 34534 de HACH utilizando un reactor DRB200 para su digestión y un colorímetro DR890 para su lectura. El cálculo para la determinación del porcentaje de remoción de materia orgánica se realiza mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de decoloración: } \left[1 - \frac{C_t}{C_i} \right] \times 100$$

Donde C_i es la concentración de materia orgánica medida como DQO (mg/L) al inicio de la prueba y C_t es la concentración (mg/L) a un determinado tiempo de reacción.

3.4.3 Pruebas de toxicidad

Realizar las prueba de toxicidad se realiza empleando Microtox® Azure Ambiental. El reactivo es una preparación liofilizada de un cepa especialmente seleccionada de la bacteria marina *Vibrio fischeri*.

Realizar la prueba de toxicidad a muestras tomadas al inicio, intermedio y final de la cinética para obtener la EC_{50} . La toxicidad se expresa en unidades de toxicidad (UT), en donde $TU = 100/EC_{50}$.

3.4.4 Pruebas de carbón orgánico total

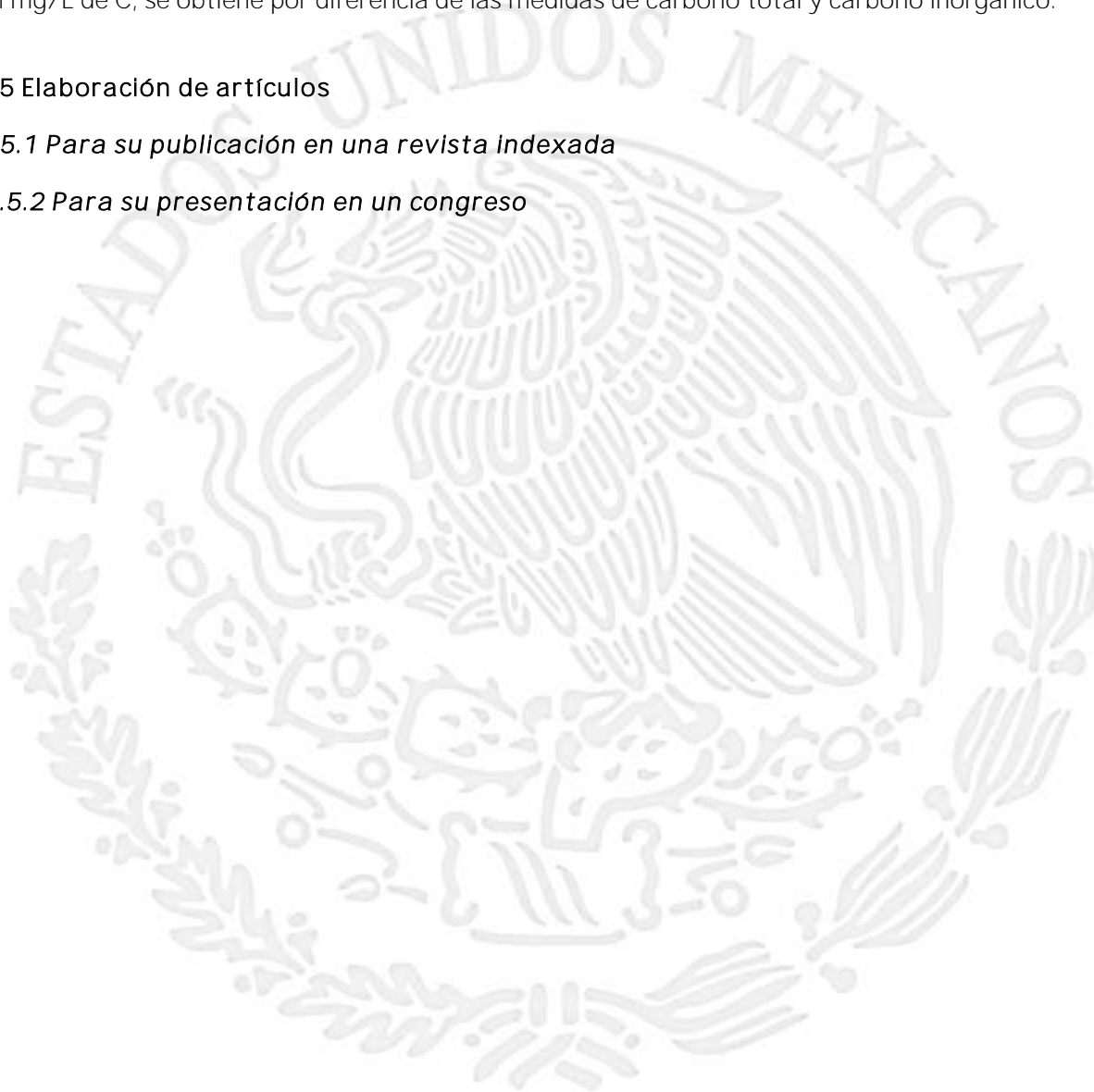
El grado de mineralización de los compuestos en estudio se determinará con un analizador Shimadzu TOC-Vcsh-TNM-1 de acuerdo a la metodología estándar, utilizando como estándares ftalato potásico (HOCC6H4COOK), carbonato de sodio (Na₂CO₃) y una solución de nitrato de sodio (NaNO₃).

En el análisis todo el carbono existente en la muestra es convertido en CO₂ y posteriormente arrastrado hasta un detector infrarrojo no dispersivo. El analizador de TOC no diferencia entre el carbono de diferentes compuestos químicos, pero sí lo hace entre orgánico e inorgánico. Un horno catalítico a 720 °C nos asegura una total combustión catalizada del carbono orgánico en la muestra, mientras que el carbono inorgánico es volatilizado por acidificación de la solución. El COT, expresado en mg/L de C, se obtiene por diferencia de las medidas de carbono total y carbono inorgánico.

3.5 Elaboración de artículos

3.5.1 *Para su publicación en una revista indexada*

3.5.2 *Para su presentación en un congreso*



4. RESULTADOS

4.1 Sistema experimental

El sistema experimental utilizado en esta investigación fue un prototipo a escala piloto (Figura 4.1). El sistema está constituida por 3 tanques de acero inoxidable de 50 L c/u, 5 bombas peristálticas para controlar carga, descarga y dosis de reactivos y un sistema de mezclado con velocidad variable. Para su alimentación se instaló un tanque de almacenamiento de agua residual industrial con capacidad de 400 L, colocando un sistema de recirculación para mantenerla homogenizada. El diseño del prototipo estuvo en función de datos experimentales obtenidos en pruebas previas.

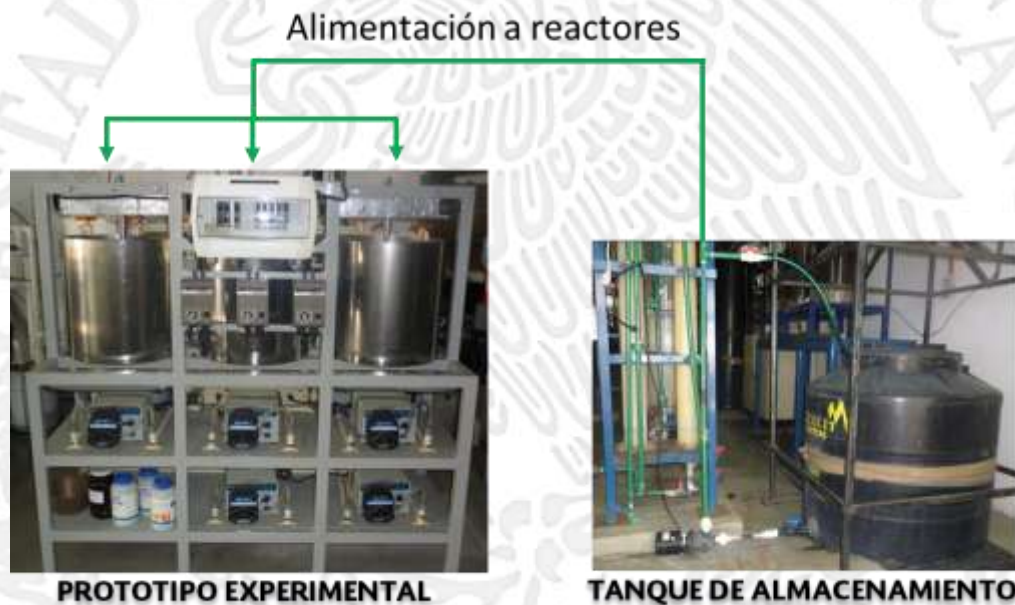


Figura 4.1 Prototipo experimental

4.2 Caracterización de efluentes textiles

4.2.1 Efluente general de textilera Santa Ana Xalmimilulco

La caracterización del efluente textil se realizó en la zona de Santa Ana Xalmimilulco Puebla. Esta población se caracteriza por tener un sector productivo de microempresas familiares para lavado de mezclilla, debido a estas actividades se ha generado un problema local en contaminación del agua, afectando de manera potencial al río Xochiac. La ubicación de la zona de muestreo así como su descarga general al cuerpo receptor se presenta en la Figura 4.2. Debido a las características heterogéneas que presentan estos efluentes se realizó un muestreo compuesto durante una jornada de trabajo analizando los parámetros de la NOM 001-SEMARNAT-1996.



Figura 4.2 Ubicación de zona de muestreo. Santa Ana Xalmimilulco Puebla y descarga de efluente general

La lavandería cuenta con 3 procesos de teñido y solo tiene un canal de descarga donde se unen todos los efluentes del proceso (Figura 4.3) los cuales llegan a una planta de tratamiento de coagulación floculación la cual no funciona satisfactoriamente por falta de técnicos para su operación, provocando la descarga general sin ningún tratamiento previo.



Figura 4.3 Efluente general de la lavandería de Mezclilla en Santa Ana Xalmimilulco

El muestreo se realizó en un día laboral de 7 am a 2 pm. En este día se tiñeron más 1000 pantalones de mezclilla utilizando el colorante azul directo, en la Figura 4.4 se observa el muestreo realizado. Cabe hacer mención que el efluente general era muy heterogéneo, iniciando por el caudal, ya que se tuvieron flujos de 0.5 hasta 5 L/s. El efluente presentó temperaturas entre 15 y 35 °C y las tonalidades cambiaban constantemente pudiendo observar algunas precipitaciones por el aumento del pH provocado por el NaOH oscilando entre 5 a 12 unidades.



Figura 4.4 Toma de muestras de efluente general

Los resultados obtenidos del muestreo se presentan en la Tabla 4.1. Observando que la concentración de DBO₅ es de 465 mg/L, DQO 1111 mg/L y color 1000 UPt-Co.

Tabla 4.1 Caracterización del efluente general de la lavandería de mezclilla

Parámetro	Valor
DQO (mg/L)	1111
DBO (mg/L)	465
SST (mg/L)	1200
S Sedimentables (ml/L)	12
NT (mg/L)	10.4
N-NO ₃ (mg/L)	<0.118
N-NO ₂ (mg/L)	<0.0213
G y A (mg/L)	2.73
Color aparente (UPtCo)	1000
Color verdadero (UPtCo)	25
As (mg/L)	0.0014
Cd (mg/L)	<0.02
Cu (mg/L)	0.383
Cr (mg/L)	<0.10
Hg (mg/L)	0.0016
Ni (mg/L)	0.065
Pb (mg/L)	<0.10
Zn (mg/L)	<0.10
Coliformes fecales (NMP/100 ml)	2.4*10 ⁴
Huevos de Helmintos (No. Huevos /5 L)	0

4.2.2 Efluente general de textilera Gütermann

En Cuernavaca Morelos se cuenta con un corredor industrial ubicado en la zona de CIVAC. Toda el agua residual generada se concentra en un colector que la conduce hasta la planta de tratamiento de ECCACIV (Empresa para el Control de la Contaminación del agua de CIVAC). Dentro de las principales industrias generadores de aguas residuales con alto contenido de color se encuentra Gütermann ubicada en el centro del corredor industrial (Figura 4.5), empresa dedicada a la generación y teñido de hilos (Figura 4.6).



Figura 4.5 Ubicación de zona de muestreo en Gütermann Civac y descarga de efluente general



Figura 4.6 Proceso de elaboración de hilos y teñido

En esta industria se realizó un muestreo simple del efluente general, las muestras se tomaron de un tanque de almacenamiento de agua residual, donde son concentradas las descargas de cada uno de los reactores. De ahí son bombeadas al canal colector para enviarse a ECCACIV (Figura 4.7).



Figura 4.7 Tanque de almacenamiento de agua residual, industria Gütermann

Los resultados obtenidos del muestreo se presentan en la Tabla 4.2. Observando que a diferencia del efluente general de la lavandería de Xalmimilulco la DQO y el color verdadero son 8 veces mayor. Realizando una comparación de los efluentes se puede ver que la descarga de Gütermann es más compleja.

Tabla 4.2 Caracterización del efluente general de la Industria Gütermann

Parámetro	Valor
DOO (mg/L)	9313
DBO (mg/L)	794
SST (mg/L)	20.3
S Sedimentables (ml/L)	<0.50
NT (mg/L)	471
N-NH ₃ (mg/L)	404
G y A (mg/L)	24.3
Color verdadero (UPtCo)	2000
PT (mg/L)	113.53
Sulfatos (mg/L)	1566

Como anteriormente se mencionó, se decidió utilizar el efluente general de Gütermann para la realización de esta investigación. Debido a la cercanía con el lugar de investigación y a la disposición para colaborar.

4.3 Pruebas preliminares

Iniciados los muestreos, a la llegada de cada lote de agua de la descarga general se realizó una prueba preliminar en 6 reactores completamente mezclados con el objetivo de determinar las mejores dosis de FeSO₄ y H₂O₂ para la decoloración y remoción de materia orgánica del agua industrial (Figura 4.8).



Figura 4.8 Inicio Prueba Fenton con efluente general de la industria Gütermann

En esta prueba además de determinar las concentraciones de reactivos a utilizar se estimaron los gradientes de agitación utilizados para obtener una formación de flóculos de mayor tamaño disminuyendo así los tiempos de sedimentación (Figura 4.9).

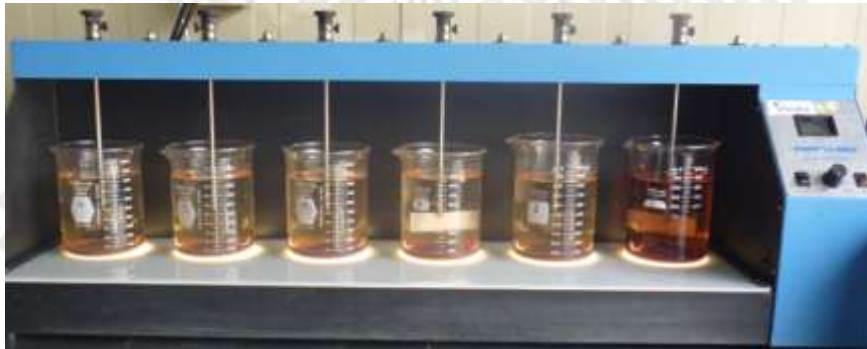


Figura 4.9 Final de Prueba Fenton con efluente general de la industria Gütermann

Los intervalos de tiempo que se utilizaron para las pruebas fueron:

- Tiempos de agitación rápida (TAR) a 200 rpm: 2, 5 y 8 min.
- Tiempo de agitación lenta (TAL) a 20 rpm: 30, 45 y 60 min.
- Tiempo de sedimentación (SED): 60, 90 y 120 min.

Los mejores resultados se obtuvieron al utilizar un TAR de 2 min, TAL 60 min y SED 60 min. Logrando porcentajes de decoloración del 96% y remoción de materia orgánica del 85%. En las pruebas se observó que al utilizar tiempos de sedimentación mayores a 60 minutos, solo aumentan un 2% los porcentajes de decoloración y remoción de materia orgánica, lo cual no lo hace significativo para ser considerado.

En la Figura 4.10 se presentan las muestras obtenidas en una de las pruebas preliminares.

En total se analizaron 18 lotes de muestras del efluente general de la Industria Gütermann, en un periodo de Junio a Noviembre. En la Tabla 4.3 se presenta un resumen general de las pruebas realizadas, indicando la caracterización previa de la muestra (Color Pt-Co y DQO mg/L), las dosis evaluadas de FeSO_4 y H_2O_2 así como los resultados obtenidos en la decoloración y remoción de materia orgánica. Se observa que las muestras de agua fueron totalmente heterogéneas

presentando concentraciones de DQO en un intervalo de 346 hasta 6800 mg/L y de color de 1300 hasta 10000 UPtCo.



Figura 4.10 Muestras finales de prueba a escala piloto

Tabla 4.3 Resultados de pruebas preliminares

Prueba	Color (UPtCo)	DQO (mg/L)	FeSO4 (mg/L)	H2O2 (mg/L)	% Rem Color	% Rem DQO
1	2390	346	300	300	80	70
			320	640	91	63
			250	500	86	58
2	1775	1215	300	300	91	65
			250	500	90	64
			300	500	90	60
3	1430	853	400	800	98	82
			500	1000	99	84
			600	600	98	83
54	5200	4150	550	1100	91	76
			500	1000	84	75
			600	600	92	83
5	6200	2750	600	600	93	83
			600	800	94	86
			700	700	94	86
6	3530	2594	420	840	97	80
			300	300	96	79
			600	600	96	81
7	7000	3780	600	600	98	91
			580	1160	98	89
			600	900	98	89
8	2590	1023	400	400	95	86
			500	500	94	82
			300	600	93	89
10	2125	1346	300	600	89	93
			400	400	86	91
			400	500	87	92
11	4000	1340	400	800	95	66
			300	600	96	63
			300	300	93	62

Prueba	Color (UPtCo)	DQO (mg/L)	FeSO ₄ (mg/L)	H ₂ O ₂ (mg/L)	% Rem Color	% Rem DQO
12	1315	1357	300	300	87	83
			200	400	86	81
			300	400	85	83
13	9500	3750	500	1000	96	85
			600	1200	96	84
			800	800	95	80
15	4700	1738	400	800	96	73
			300	300	94	68
			400	600	92	76
16	6337	4640	300	900	97	85
			300	900	96	85
			300	600	96	85
17	7875	6850	300	900	79	70
			300	300	84	77
			600	600	96	83
18	10275	4860	1800	3600	88	83
			1500	3000	89	82
			2100	2100	86	80

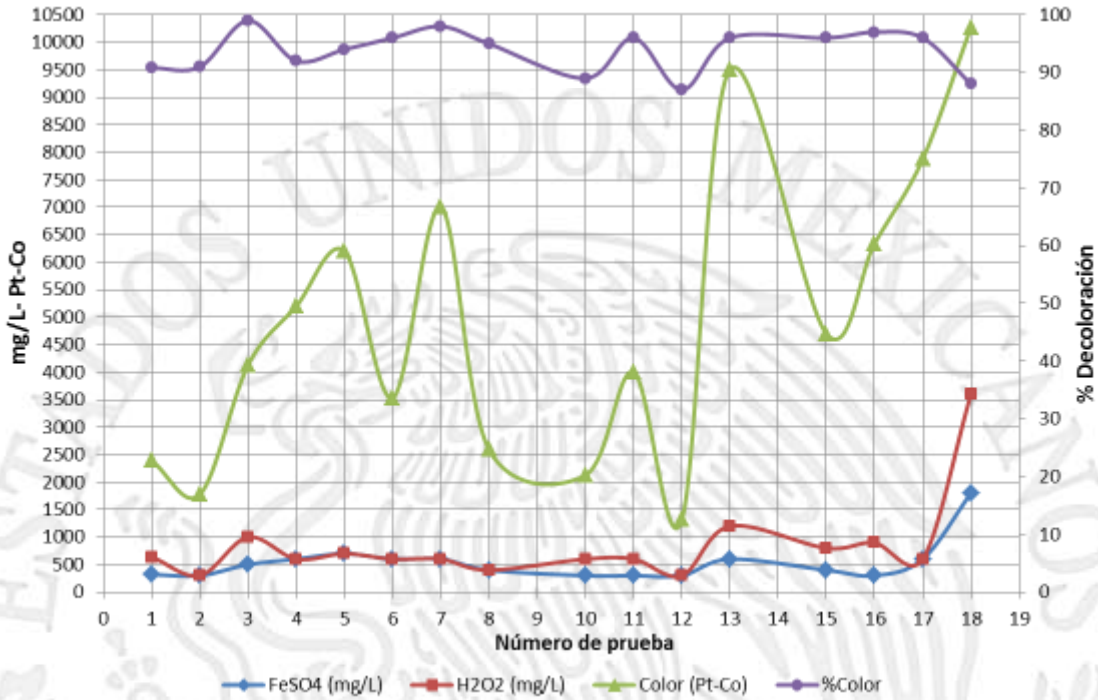
No se presentan resultado para las pruebas 9 y 14, debido a que las dosis de reactivos empleadas mostraron una deficiencia en la decoloración del efluente, esto se debió principalmente a la presencia de ciertos aniones inorgánicos (Cl⁻, SO₄²⁻) en altas concentraciones en el agua residual, los cuales actuaron como inhibidores de los radicales hidroxilo (·OH) a través de mecanismos de coordinación y secuestro, formando especies no reactivas con el hierro.

En la Gráfica 4.1 se observan las oscilaciones de color presente en los efluentes, que variaron en un intervalo de 1315 a 10275 UPt-Co. Se puede observar que los porcentajes de decoloración estuvieron en un promedio 92%, con un mínimo de 87 y un máximo de 99%, utilizando dosis de FeSO₄ y H₂O₂ en rango de 300 a 900 mg/L siendo la relación máxima de 1 a 3, sin embargo, generalmente osciló entre 1 a 1 o 1 a 2. El color final en el agua en promedio fue de 270 UPtCo, con un mínimo de 14 y un máximo de 1130 UPtCo.

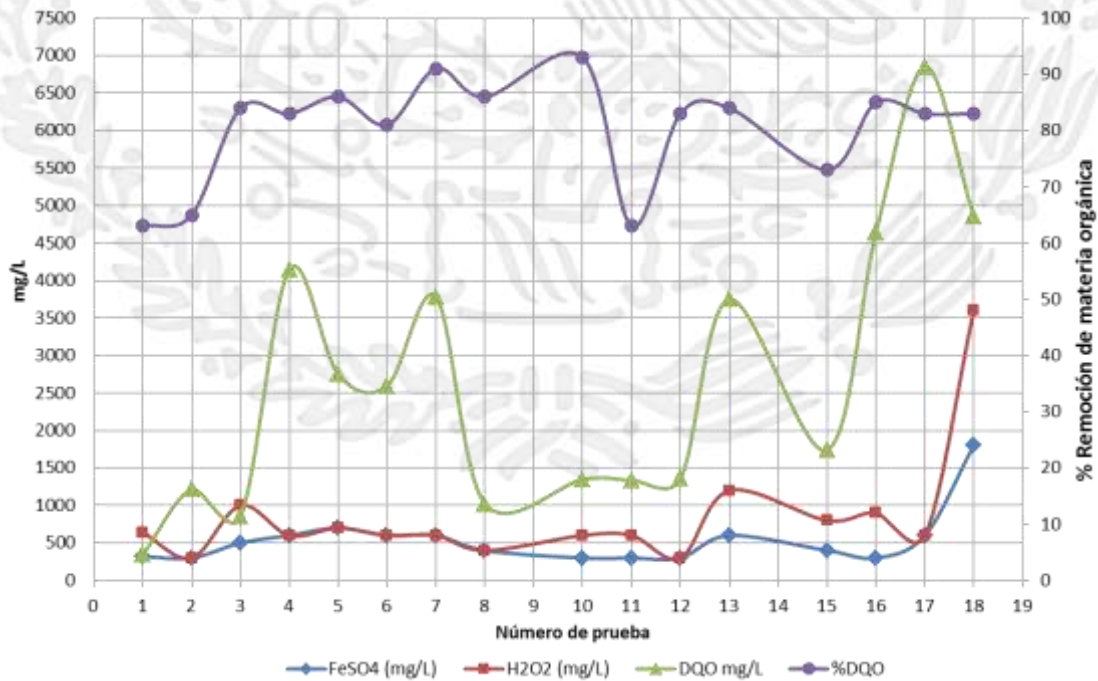
En la prueba 18 el efluente general de la industria presentó valores de color de 10275 UPt-Co, por lo fue necesario aumentar las concentraciones de FeSO₄ y H₂O₂ a 1800 y 3600 mg/L (relación 1 a 2), para lograr un porcentaje de decoloración del 83%.

Con respecto a la remoción de materia orgánica, la concentración de DQO presente en los efluentes estuvo en un intervalo de 346 a 6850 mg/L. Utilizando dosis de FeSO₄ y H₂O₂, en rango de 300 a 900 mg/L, se logró remover en promedio un 80% de materia orgánica (Gráfica 4.2). En el gráfico se observa una gran variabilidad en los porcentajes de remoción que van desde 66 hasta el 93%, esto se debe principalmente a los constituyentes presentes en el agua residual, tales como; suavizantes, detergentes, fijadores, entre otros, los cuales no son oxidados en su totalidad por el proceso Fenton, dando como resultado un residual en el efluente después del tratamiento. Cabe hacer mención que las dosis de FeSO₄ y H₂O₂ se incrementaron con el objetivo de aumentar el porcentaje de oxidación de materia orgánica, pero los resultados obtenidos no fueron satisfactorios, ya que solo se logró

aumentar un 5% de remoción, pero debido a la presencia de Fe en exceso, las eficiencias de decoloración disminuyeron hasta un 70%.



Gráfica 4.1 Desempeño del tratamiento Fenton en la decoloración



Gráfica 4.2 Desempeño del tratamiento Fenton en la remoción de materia orgánica

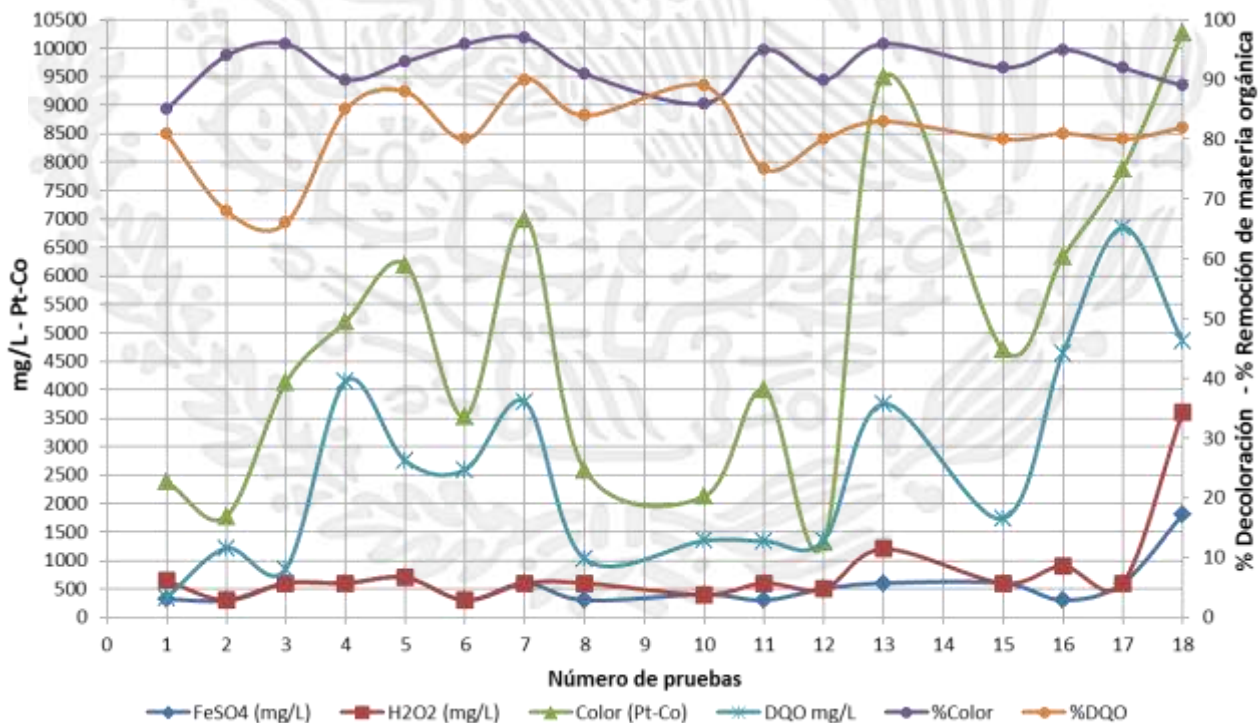
4.4 Validación de resultados en prototipo experimental

Los resultados obtenidos en pruebas preliminares se validaron en una planta piloto. Las condiciones de operación que se emplearon fueron 200 rpm para la agitación rápida, 20 rpm para agitación lenta y 1 hora de sedimentación, las concentraciones de reactivos (FeSO_4 y H_2O_2) variaron conforme a lo que proporcionaron las pruebas preliminares, generalmente en una relación 1 a 1.

La planta piloto operó en lote con un volumen útil de 35 L cada tanque. Inicialmente se realizó la alimentación de cada uno de los reactores. Posteriormente se llevó a cabo el ajuste de pH a 3 unidades, utilizando ácido sulfúrico. Se encendió el sistema de mezclado y se adicionó el volumen correspondiente de FeSO_4 y peróxido de hidrogeno, en ese momento se consideró como el inicio de la reacción.

De las pruebas se observó que en la mayoría de las pruebas las concentraciones de 600-600 mg/L de FeSO_4 y H_2O_2 respectivamente, fueron las más empleadas, sin demeritar los resultados del tratamiento, aún en altas concentraciones de color y DQO.

Las pruebas realizadas en el prototipo mostraron que el escalamiento del tratamiento mantiene constante los porcentajes de decoloración y de remoción de materia orgánica, ya que en promedio se obtuvieron 92 y 81% respectivamente, sin embargo, se observa que si mejora la remoción de color disminuye la de DQO y viceversa (Gráfica 4.3).



Gráfica 4.3 Validación de resultados en prototipo experimental para la decoloración y remoción de materia orgánica



Inicio



Final

Figura 4.11 Pruebas en prototipo experimental

Uno de los principales inconvenientes de los procesos fisicoquímicos es el alto costo de los tratamientos ya sea por reactivos o gastos energéticos, debido a esta problemática se realizó un estudio de las condiciones óptimas de operación del tratamiento Fenton para llegar a la máxima decoloración y remoción de materia orgánica del efluente de Gütermann mediante un diseño experimental.

4.3.1 Determinación de condiciones óptimas de operación para la decoloración y remoción de materia orgánica

Para determinar las condiciones óptimas de operación del sistema se utilizó un diseño de experimentos estadístico. La estimación de los efectos causados por los factores e identificación de variables que afectan significativamente en el tratamiento, se realizó mediante un diseño factorial a dos niveles (2^k). El programa empleado para el análisis fue el *STATGRAPHICS Centurion*.

El número de factores evaluados fue de 6, dando un diseño factorial de 2^6 , lo que proporciona 64 pruebas, a las cuales se les adicionaron 6 pruebas más como centros. En total se realizaron 70 pruebas experimentales. Las pruebas fueron totalmente aleatorias, fijando como factor de respuesta la decoloración y remoción de materia orgánica. En la Tabla 4.4 se presenta el diseño experimental para esta investigación. Cabe hacer mención que los niveles de experimentación se fijaron en función de los resultados obtenidos en las pruebas anteriores.

Tabla 4.4 Factores y niveles del diseño experimental

Factores	Bajo	Alto	Centro
FeSO ₄ (mg/L)	300	900	450
H ₂ O ₂ (mg/L)	300	900	450
TAR (min)	2	8	5
VAL (rpm)	5	20	15
TAL (min)	30	60	45
SED (min)	60	120	90

4.3.1.1 Determinación de parámetros óptimos para la decoloración

Para la remoción del color y de acuerdo al análisis de varianza, las variables significativas son: concentración de FeSO₄ y VAL, además las interacciones; concentración de H₂O₂ con SED, la TAR

con VAL y la TAR con TAL. Estas variables o la combinación son significativas con un nivel de confianza del 95.0% (Tabla 4.5).

Tabla 4.5 Análisis de varianza para la remoción de color

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:FeSO ₄	1218.88	1	1218.88	4.68	0.0345
B:H ₂ O ₂	239.863	1	239.863	0.92	0.3411
C:TAR 200 rpm	0.00140625	1	0.00140625	0.00	0.9982
D:VAL	1123.09	1	1123.09	4.31	0.0421
E:TAL	467.1	1	467.1	1.79	0.1856
F:SED	4.05016	1	4.05016	0.02	0.9012
BF	1184.22	1	1184.22	4.55	0.0371
CD	1882.48	1	1882.48	7.23	0.0093
CE	9469.72	1	9469.72	36.36	0.0000
Error total	15627.8	60	260.463		
Total (corr.)	31217.2	69			

En la Figura 4.12 se presenta el diagrama de Pareto estandarizado para remoción de color, el cual indica en orden decreciente los factores con mayor efecto significativo en el tratamiento, siendo la relación existente entre el TAR y VAL los que tienen mayor influencia.

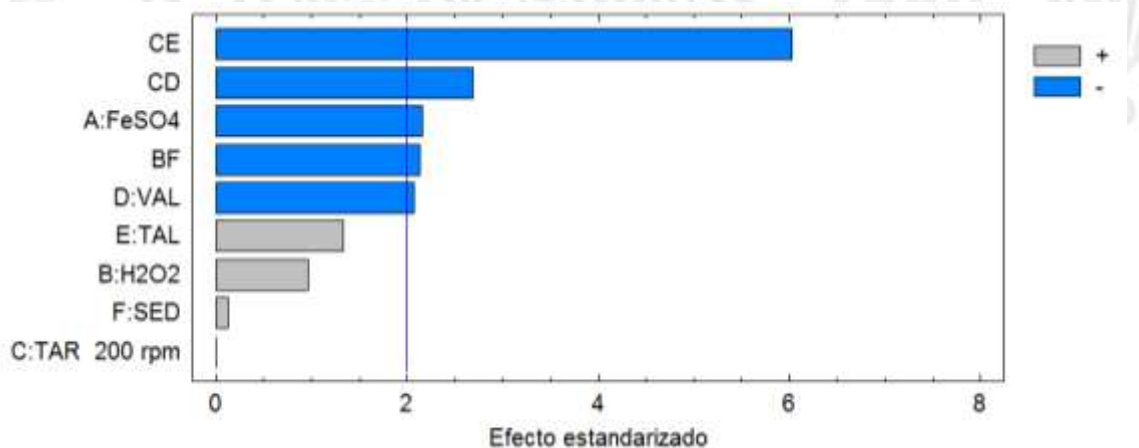
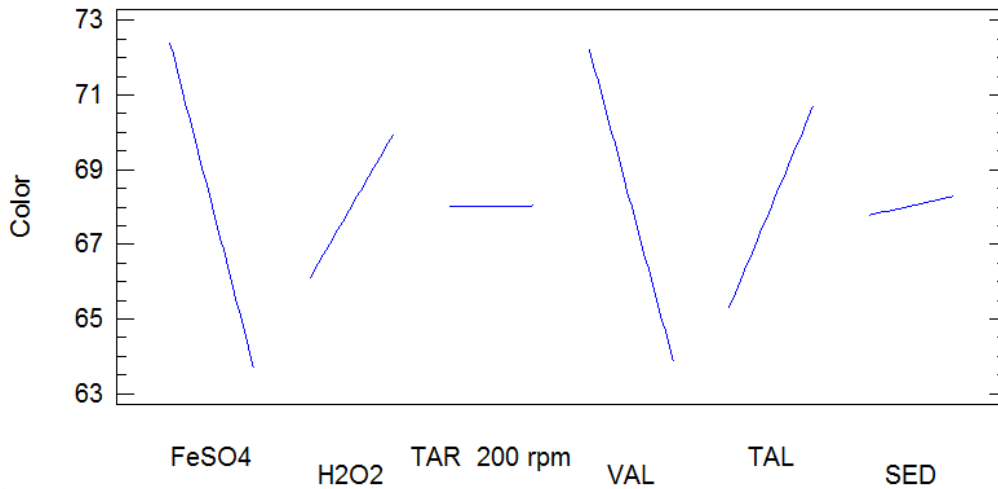


Figura 4.12 Diagrama de Pareto estandarizado para color

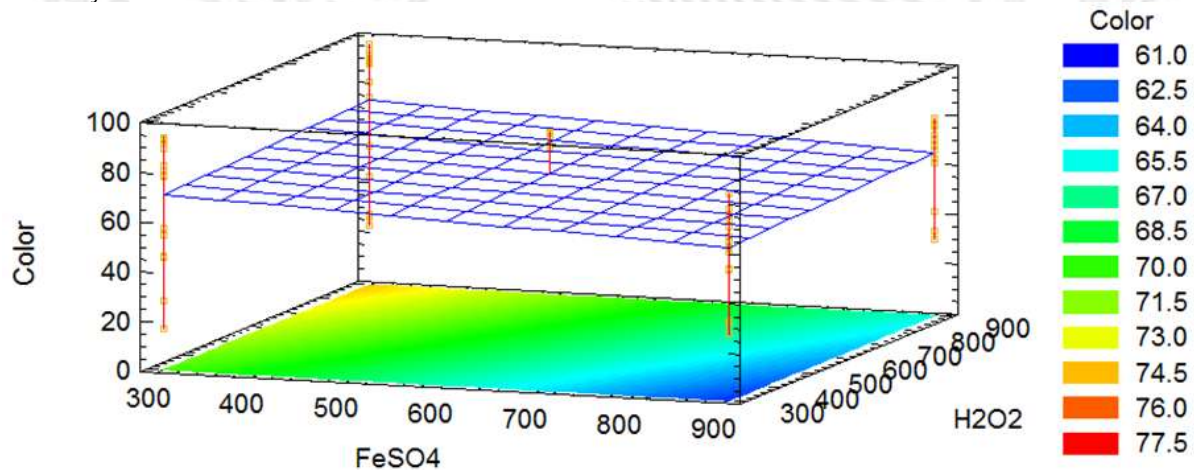
En la Gráfica 4.4 de efectos principales se muestra el comportamiento de cada uno de los factores en sus niveles bajos y altos, observando que a concentraciones altas de FeSO₄ la eficiencia en la decoloración disminuye de 72.5 a 63.5%, esto puede ser atribuido a un exceso de hierro en la solución, ya que éste aportando color a la muestra. Un efecto similar ocurre con la VAL cuanto mayor es la velocidad de agitación la eficiencia disminuye cerca de un 10%, probablemente a que mayores velocidades no propician la formación de flóculos y quedan muchas partículas suspendidas. Mientras que para la concentración de peróxido y el TAL, el comportamiento es inverso, con los niveles altos se obtienen las mejores eficiencias de decoloración.



Gráfica 4.4 Gráfico de efectos principales para color

Para poder observar de una manera más gráfica los comportamientos de cada uno de los factores se presentan los gráficos de superficie en donde se muestran el efecto significativo de cada nivel en la prueba.

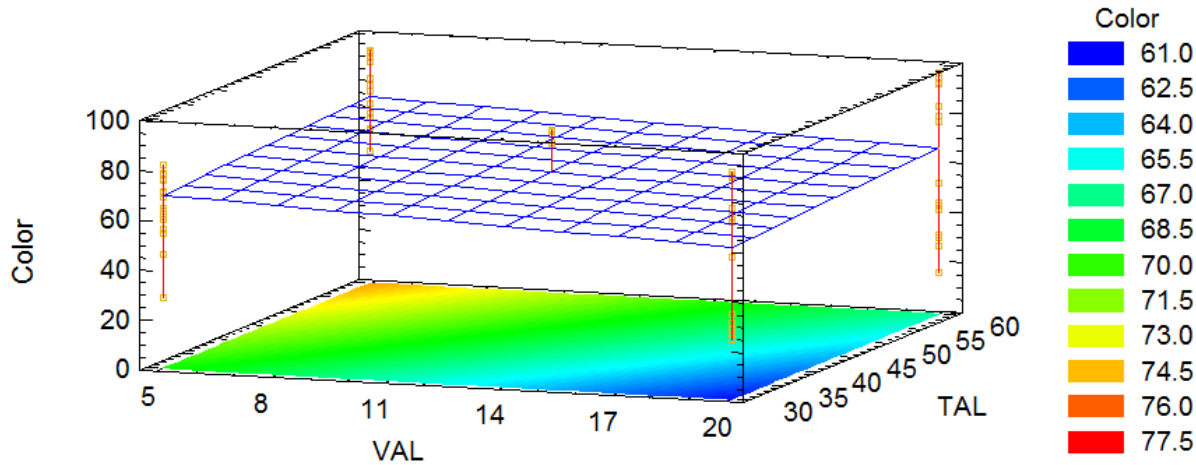
En la Gráfica 4.5 se presenta el gráfico de respuesta para las concentraciones de FeSO_4 y H_2O_2 . Se puede observar que los mejores resultados son obtenidos cuando las concentraciones de FeSO_4 son bajas 300 mg/L, como anteriormente se había comentado, mientras que para la concentración de H_2O_2 se requieren del nivel más alto siendo 900 mg/L, dando una relación de 1 a 3, logrando porcentajes de decoloración del 77.5%



Gráfica 4.5 Superficie de respuesta estimada para los factores de FeSO_4 y H_2O_2

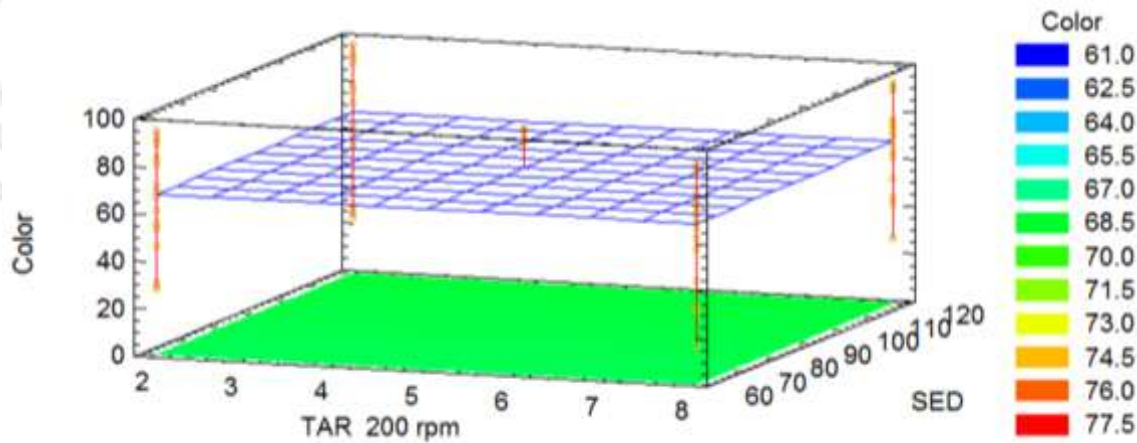
Para los factores de VAL y TAL se observa un comportamiento similar a los del FeSO_4 y H_2O_2 (Gráfica 4.6). Siendo la VAL de 5 rpm con un TAL de 60 min, los valores que lograron un mayor porcentaje de decoloración. Si la velocidad de agitación aumenta de 5 hasta 20 rpm las eficiencias disminuyen un 16 % esto debido a la influencia que tiene la velocidad de agitación en la formación de los flóculos, si la velocidad aumenta no permite su crecimiento. Mientras que para los tiempos de

agitación lenta se requiere al menos 60 min para permitir la formación de flóculos y así generar una mejor sedimentabilidad.



Gráfica 4.6 Superficie de respuesta estimada para los factores de VAL y TAL

Con respecto al tiempo de agitación rápida a una velocidad de 200 rpm y el tiempo de sedimentabilidad no se observó un efecto significativo, ya que con los niveles bajos y altos se obtuvieron porcentajes de decoloración del 67%.



Gráfica 4.7 Superficie de respuesta estimada para los factores de TAR y SED

La optimización del proceso para lograr porcentajes de decoloración del 97 se presentan en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6 Niveles óptimos para el proceso Fenton para la decoloración

Factor	FeSO ₄ (mg/L)	H ₂ O ₂ (mg/L)	TAR (min)	VAL (rpm)	TAL (min)	SED (min)
Óptimo	300	900	8	5	30	60

El modelo de reacción es de primer orden y la ecuación del modelo ajustado para realizar predicciones del comportamiento del proceso en condiciones específicas se presenta a continuación.

Ecuación del modelo ajustado para decoloración con una r^2 del 0.49:

$$\% \text{ Remoción de color} = -30.694 - 0.0145469 \cdot \text{FeSO}_4 + 0.0494688 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 + 15.1786 \cdot \text{TAR}_{200 \text{ rpm}} + 0.646667 \cdot \text{VAL} + 1.53167 \cdot \text{TAL} + 0.295156 \cdot \text{SED} - 0.000477951 \cdot \text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{SED} - 0.241042 \cdot \text{TAR}_{200 \text{ rpm}} \cdot \text{VAL} - 0.270312 \cdot \text{TAR}_{200 \text{ rpm}} \cdot \text{TAL}$$

4.3.1.2 Determinación de parámetros óptimos para la remoción de materia orgánica

Para la remoción de materia orgánica y de acuerdo al análisis de varianza, las variables significativas son: VAL y las interacciones; TAR con TAL y VAL con TAL. Estas variables o combinaciones son significativas con un nivel de confianza del 95.0% (Tabla 4.7).

Tabla 4.7. Análisis de Varianza para remoción de DQO

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
C:TAR	0.330625	1	0.330625	0.00	0.9697
D:VAL	2940.35	1	2940.35	12.93	0.0006
E:TAL	269.781	1	269.781	1.19	0.2802
CD	347.823	1	347.823	1.53	0.2208
CE	6666.72	1	6666.72	29.32	0.0000
DE	1046.52	1	1046.52	4.60	0.0358
Error total	14326.2	63	227.4		
Total (corr.)	25597.7	69			

En la Figura 4.13 se presenta el diagrama de Pareto estandarizado para remoción de materia orgánica, el cual indica en orden decreciente los factores con mayor efecto significativo en el tratamiento, siendo la relación existente entre el TAR y TAL los que tienen mayor influencia.

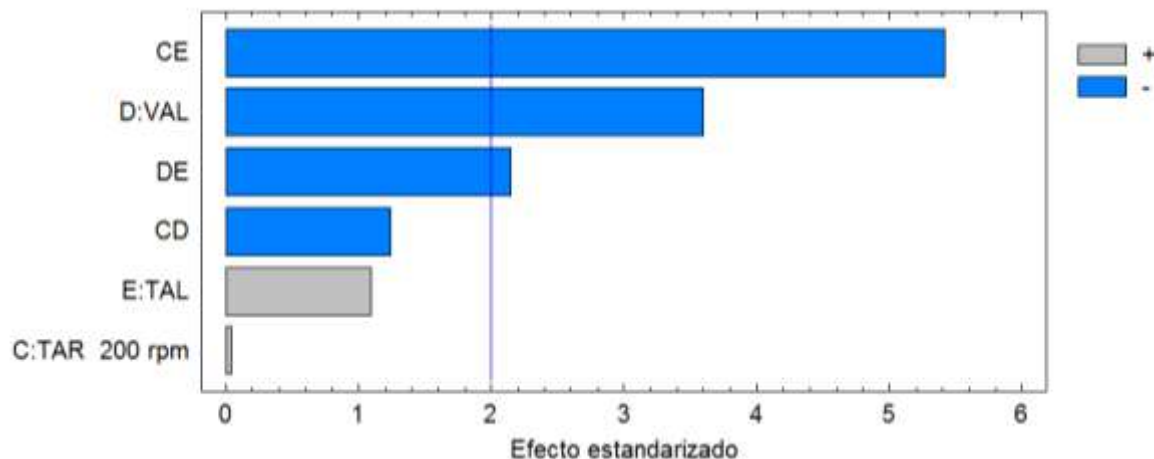
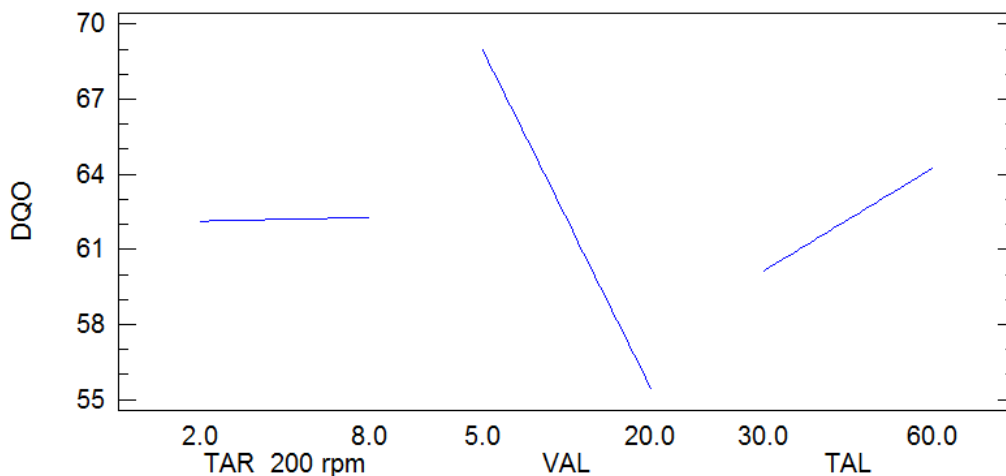


Figura 4.13 Diagrama de Pareto estandarizado para remoción de materia orgánica

En la Gráfica 4.8 de efectos especiales se muestra el comportamiento de cada uno de los factores en sus niveles bajos y altos. Se puede observar que el factor que tiene mayor significancia en el tratamiento es la velocidad de agitación lenta, ya que mientras menor sea este valor contribuirá con una mejor adherencia de las partículas suspendidas para formar los flóculos de tal tamaño que éstos pueda sedimentar con facilidad, disminuyendo con esto los sólidos suspendidos que pueden aportar DQO, mientras que TAR y TAL no tienen un efecto significativo ya que la eficiencia de remoción se mantiene alrededor de un 62%.



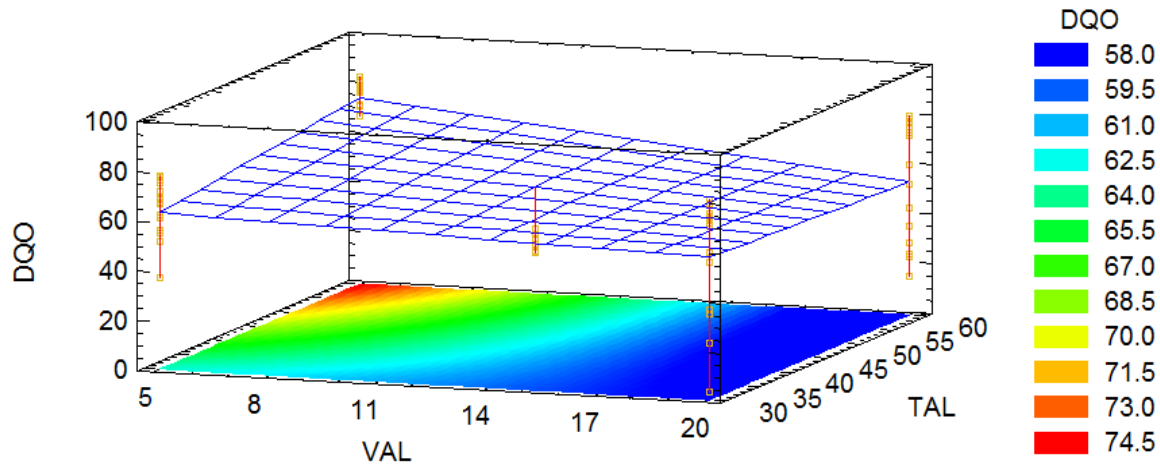
Gráfica 4.8 Gráfico de efectos especiales para la remoción de materia orgánica

Para poder observar de una manera más grafica los comportamientos de cada uno de los factores se presentan los gráficos de superficie en donde se muestran el efecto significativo de cada nivel en la prueba.

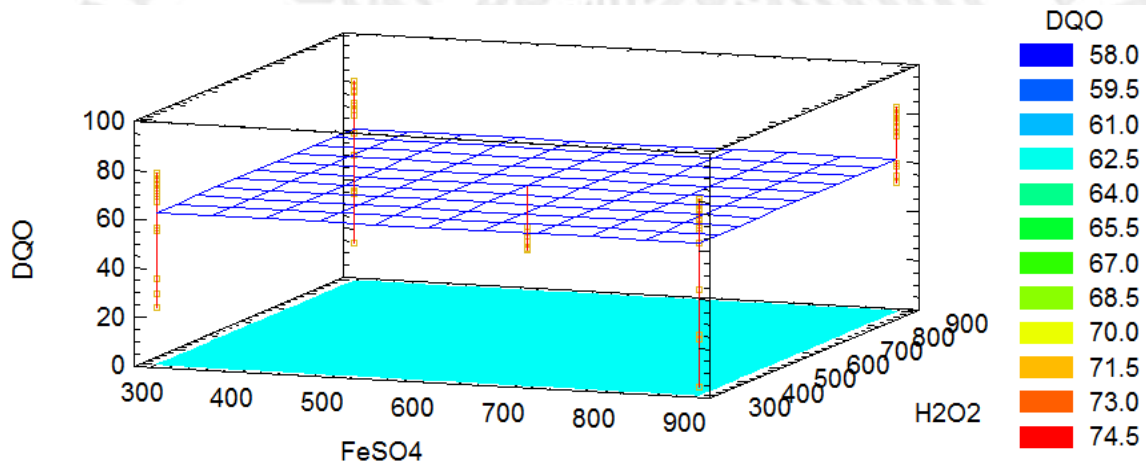
Los parámetros óptimos para obtener el máximo porcentaje de remoción de materia orgánica estuvieron influenciados principalmente por los factores de VAL y TAL. Ya estos parámetros repercuten en la remoción de sólidos suspendidos en la solución que puedan contribuir con el aumento o remoción de la DQO.

En la Gráfica 4.9 se muestra el efecto que tienen los factores con sus niveles bajos y altos, de acuerdo a éste se observa que es necesario agitar durante 60 min a una velocidad de 5 rpm para obtener las mayores eficiencias, logrando porcentajes de remoción de materia orgánica del 74.5 %. Aumentando la velocidad de agitación o disminuyendo el tiempo de agitación los porcentajes decrecen.

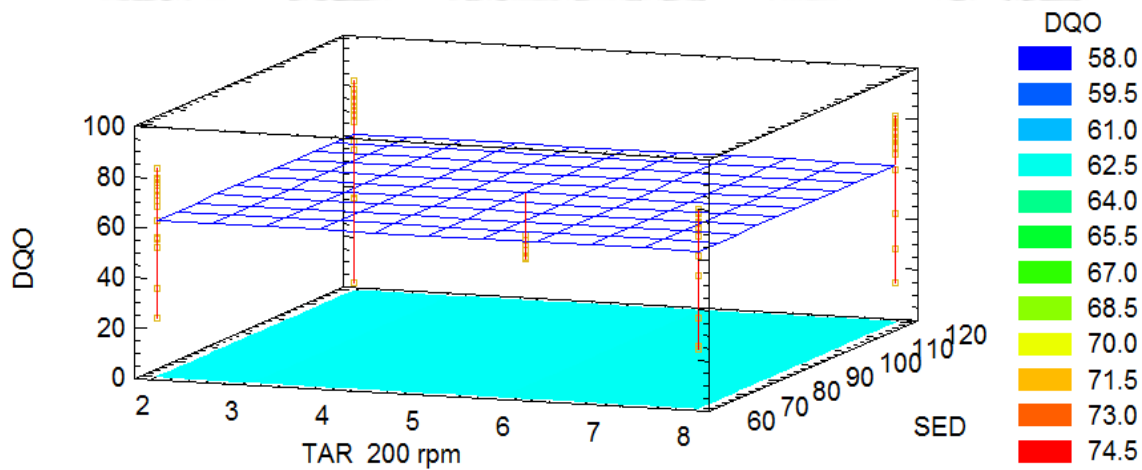
En la Gráfica 4.10 y en la Gráfica 4.11 se presentan las respuestas para las concentraciones de FeSO_4 y H_2O_2 así como el TAR y SED. Con respecto a las concentraciones de reactivos, y tiempos de agitación lenta y sedimentación no se observó un efecto significativo, ya que con los niveles bajos y altos se obtuvieron porcentajes de remoción de materia orgánica constantes.



Gráfica 4.9 Superficie de respuesta estimada para los factores de VAL y TAL



Gráfica 4.10 Superficie de respuesta estimada para los factores de FeSO_4 y H_2O_2



Gráfica 4.11 Superficie de respuesta estimada para los factores de TAR y SED

Optimización del proceso Fenton para la remoción de materia orgánica del efluente general de la industria Gütermann

La optimización del proceso para lograr porcentajes de remoción de materia orgánica del 82 % se presentan en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8 Optimización del proceso Fenton para la remoción de materia orgánica

Factor	FeSO ₄ (mg/L)	H ₂ O ₂ (mg/L)	TAR (min)	VAL (rpm)	TAL (min)	SED (min)
Óptimo	300	300	2	5	60	120

El modelo de reacción es de primer orden, la ecuación del modelo ajustado para realizar predicciones del comportamiento del proceso en condiciones específicas se presenta a continuación.

Ecuación del modelo ajustado para la remoción de materia orgánica con una r² del 49%:

$$\% \text{ Remoción de DQO} = -10.5051 + 11.5253 \cdot \text{TAR}_{200 \text{ rpm}} + 1.23181 \cdot \text{VAL} + 1.72021 \cdot \text{TAL} - 0.103611 \cdot \text{TAR}_{200 \text{ rpm}} \cdot \text{VAL} - 0.226806 \cdot \text{TAR}_{200 \text{ rpm}} \cdot \text{TAL} - 0.0359444 \cdot \text{VAL} \cdot \text{TAL}$$

4.3.2 Pruebas de toxicidad

Con la finalidad de establecer si el agua residual antes y después del tratamiento químico Fenton es tóxica, se realizaron pruebas de toxicidad empleando la bacteria marina *Vibrio fischeri*. Las muestras analizadas fueron colectadas al inicio y final de la prueba.

La caracterización del agua residual estudiada presentó unidades de color Pt-Co de 6337 y concentraciones de DQO de 4640 mg/L. Las dosis de reactivos empleadas para el tratamiento estuvieron en función de experimentos previamente realizados evaluando concentraciones de FeSO₄ y H₂O₂ de 300-300 y 300-900 mg/L respectivamente. Los porcentajes de decoloración estuvieron en un rango de 96.2% y remoción de materia orgánica en un 85%.

La descarga de agua residual de la industria Gütermann presentó 19.105 UT y una CE50% de 5.234. El efluente tratado con 300 mg/L de H₂O₂ presentó una CE50% 5.180 y 19.305 UT. Para la dosis de 900 mg/L la toxicidad aumentó a 91.575 UT y una CE50% de 1.092. Lo anterior muestra que el agua no se hace más tóxica después del tratamiento con Fenton, sin embargo, un exceso de H₂O₂ puede generar una alta toxicidad en el efluente.

4.3.3 Pruebas de COT

Los resultados de las pruebas de carbón orgánico total se muestran en la Tabla 4.9.

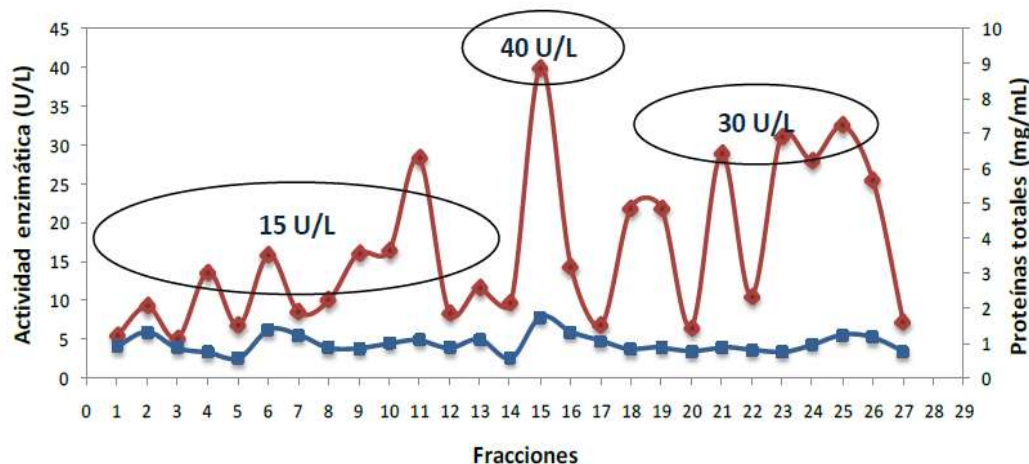
Tabla 4.9 Resultados obtenidos en la prueba de COT para el tratamiento Fenton

Muestra	Inicio	Efluente 1 (300-300)	Efluente 2 (300-900)
COT (mg/L)	1328	414	299
% Rem COT		68.8	77.5

Estos resultados muestran que una relación 1:1 proporciona una remoción de COT de 68.8% y que un aumento de la dosis de H₂O₂ en una relación 1:3, incrementa la mineralización de la materia orgánica en un 8.7%, valor demasiado pequeño en relación a la cantidad de H₂O₂ empleada, además es necesario recordar que el aumento de este compuesto también origina una mayor toxicidad. Por lo que es recomendable continuar con una relación 1:1, en el empleo del FeSO₄ y H₂O₂.

4.4 Tratamiento enzimático

La actividad peroxidasa obtenida del residuo industrial de soja fue aproximadamente de 2.8 U/ml después de la diálisis. Comparada con 2.36 y 2.94 U/ml que reporta Mohan *et. al.*, 2005 del extracto obtenido de raíces de rábano picante el cual es utilizado como estándar, por lo que se puede observar que no existe diferencia significativa. Los resultados mostraron que realizando cromatografía de intercambio aniónico se puede incrementar la actividad de la peroxidasa hasta en un 30 ± 5 U/ml (Gráfica 4.12).



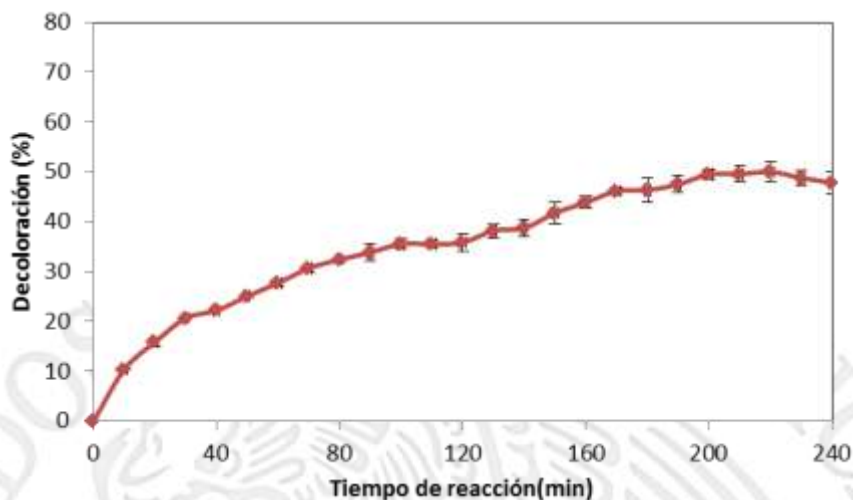
Gráfica 4.12 Obtención de fracciones con actividad enzimática

Obtenidas las fracciones de enzima parcialmente purificada, se llevaron a cabo cinéticas experimentales con el objetivo de obtener las condiciones de operación en las cuales la enzima presentara la mayor capacidad catalítica evaluando los parámetros de: tiempo de contacto, pH, temperatura, concentración de peróxido y concentración de colorante.

4.4.1 Tiempo de contacto

El tiempo de decoloración muestra una relación con la estructura química de los colorantes. Colorantes con estructuras simples y pesos moleculares bajos generalmente presentan mayores tasas de remoción de color.

La eficiencia de decoloración del AD2 está en función del tiempo de contacto con la enzima, como se puede observar en la (Gráfica 4.13). La decoloración fue del 50% ± 1.95 en 200 min. Después de este tiempo se consideró despreciable. Otros autores reportaron que 240 min es el tiempo de reacción para catalizar la degradación del colorante (Remazol Turquoise blue G133), logrando un porcentaje de decoloración del 60%.

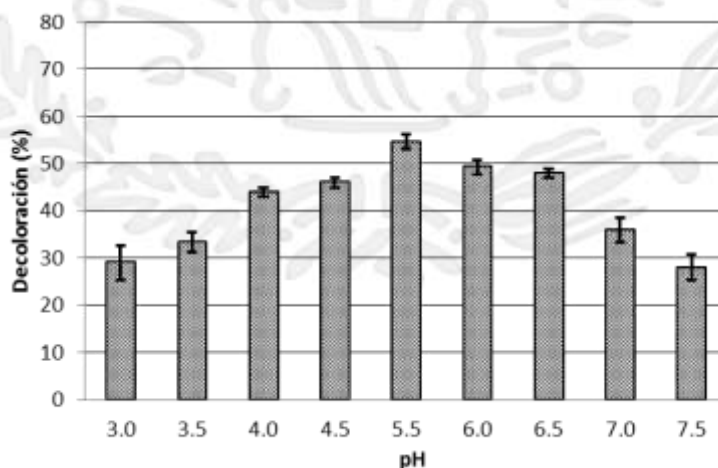


Gráfica 4.13 Efecto del tiempo de reacción en la decoloración del AD2 utilizando PRS

4.4.2 pH y Temperatura

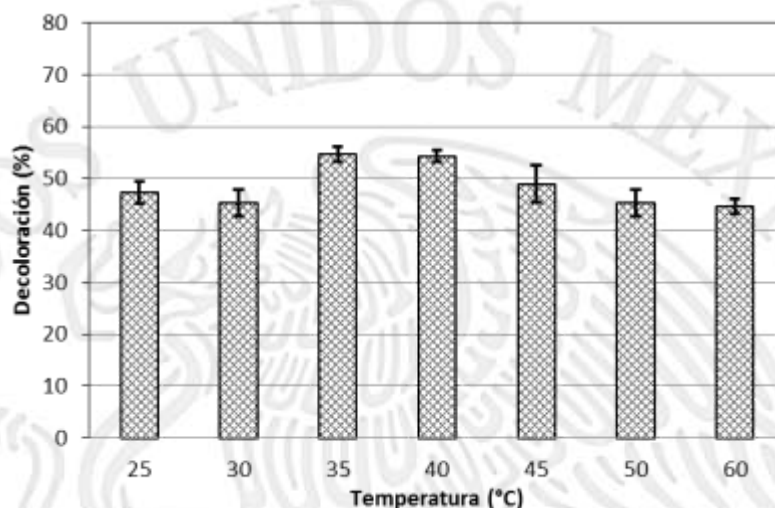
Las enzimas tienen un rango de pH y temperatura en el cual su actividad es máxima, éstos en particular no son necesariamente idéntico para otras enzima (Mohan, 2005). Los estudios para evaluar los parámetros de pH y temperatura se llevaron a cabo manteniendo una concentración constante del colorante de 60 mg/L y tiempo de reacción de 200 min. Las variaciones de pH estuvieron en un rango de 3 a 7.5 y temperatura de 25 a 60 °C. La concentración de enzima y peróxido fueron de 15 U/ml y 200 mol/L respectivamente.

Los experimentos mostraron que el proceso de decoloración es estrictamente dependiente del pH de la solución (Gráfica 4.14). La actividad enzimática de PRS aumenta considerablemente cambiando el pH de 3 a 5.5. Con pH altos de la solución la decoloración disminuye. El pH para obtener la mayor decoloración (55% ± 1.5) del AD2 fue de 5.5. Kalsoom *et al.*, 2013 reporta que el pH óptimo para la mayor decoloración fue de 4 unidades y Marchis *et al.*, 2011, de 3.9 unidades.



Gráfica 4.14 Efecto del pH en la decoloración de AD2 en presencia de PRS

Con respecto a la temperatura existen pocas investigaciones que estudien este parámetro en una enzima específica, sin embargo es bien sabido que las proteínas y enzimas son sensibles a altas temperaturas ya que pueden desnaturalizarse y desactivarse (Kalsoom 2013). En este trabajo las pruebas previas se realizaron a 25°C, sin embargo, se observó que un incremento de la temperatura de 25 a 35 °C, causa un aumento en la decoloración del 45 al 56%, como se muestra en la Gráfica 4.15.



Gráfica 4.15 Efecto de la temperatura en la decoloración del AD2 en presencia de PRS

No obstante se puede observar la resistencia térmica de la PRS ya que a temperaturas de 60°C se logra obtener 43% de decoloración. Similares resultados fueron reportados por Kalsoom 2013 y Marchis 2011. En estudios anteriores han reportado que la enzima de peroxidasa del frijol de soya es térmicamente estable a 90.5°C y 8 unidades de pH (McEldoon, 1996).

Por los resultados obtenidos y las propiedades específicas que presenta la PRS como la estabilidad a altas temperaturas y actividad enzimática en rango de pH 4 a 6.5 es prometedora para ser empleada en aplicaciones industriales.

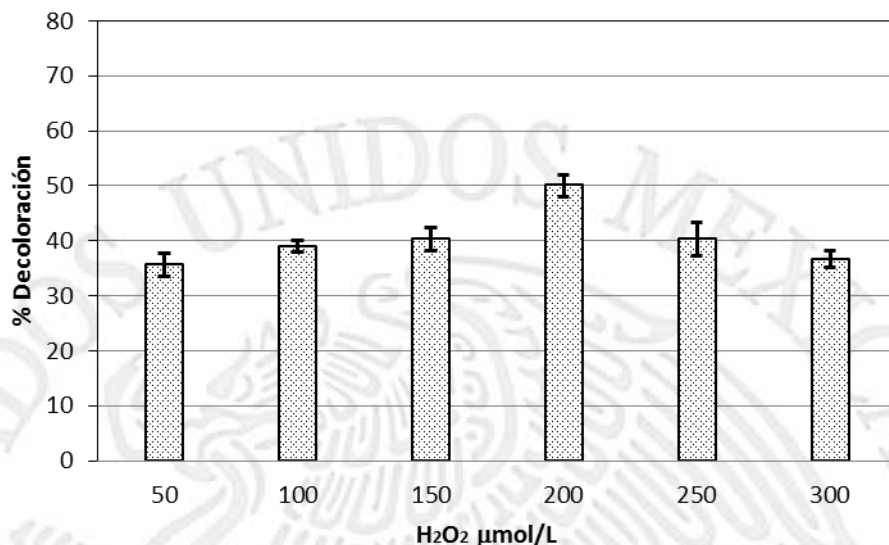
4.4.3 Concentración óptima de H₂O₂

El peróxido de hidrógeno actúa como un co-sustrato para activar la acción enzimática de la peroxidasa. Esto contribuye en el ciclo catalítico de las peroxidasas, donde inicialmente se oxida la enzima nativa para formar un intermediario enzimático el cual acepta los compuestos aromáticos para llevar a cabo su oxidación llegando a la formación de un radical libre.

Por tal situación la dosis de peróxido juega un papel muy importante en las reacciones enzimáticas ya que al tener un exceso de este reactivo en la reacción puede llegar a causar inhibición en la actividad enzimática y cuando está presente en cantidades pequeñas puede ser un limitante en la velocidad de reacción. Los experimentos se llevaron a cabo para determinar la dosis de peróxido requerida para obtener la máxima decoloración.

Las dosis de H₂O₂ evaluadas estuvieron en un intervalo entre 50 y 300 mol/L. En la Gráfica 4.16 se puede observar que 200 mol/L es la dosis donde se obtiene la mayor actividad enzimática logrando

decolorar un 50% \pm 2, sin embargo la actividad enzimática con dosis de 100, 150 y 250 mol/L muestran un comportamiento similar teniendo en promedio un 40% \pm 1.92 de decoloración.



Gráfica 4.16 Efecto de la dosis de peróxido en la decoloración de AD2 en presencia de PRS

Concentraciones menores de 50 y mayores de 250 mol/L presentan una disminución en la velocidad de reacción. Silva *et al.*, 2012 reportan resultados similares con 100 mol/L al obtener porcentajes de decoloración del 57% utilizando peroxidasa de nabo.

4.4.4 Concentración de colorante

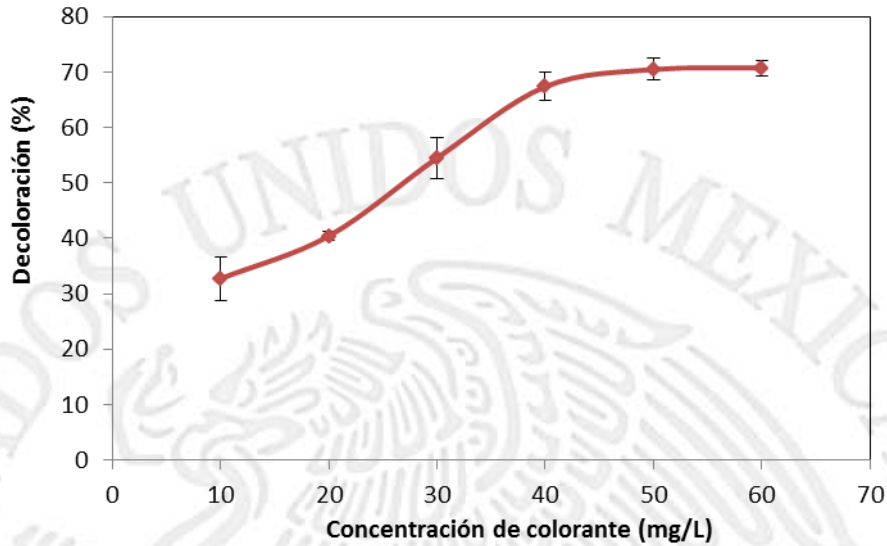
La concentración del sustrato presente en la fase acuosa es un factor clave la cual afecta la velocidad de oxidación catalizada por una enzima. Los estudios se llevaron a cabo a diferentes concentraciones de colorante (10 a 50 mg/L) manteniendo constante los mejores parámetros establecidos en pruebas anteriores: pH 5.5, temperatura 35°C, concentración de enzima 15 U/ml, concentración de peróxido de 200 mol/L y tiempo de reacción de 200 min.

Los resultados se muestran en la Gráfica 4.17 donde se observa que el mayor porcentaje de decoloración se obtiene a concentraciones mayores de 40 mg/L logrando decolorar un 70%, mientras que a concentraciones menores de 30 mg/L los resultados en relación a la decoloración resultaron ser bajos. Silva 2012 y Mohan 2005 reportaron resultados similares en estudios de decoloración enzimática empleando peroxidasa del rábano picante, concluyendo que a concentraciones menores de 30 mg/L la eficiencia de decoloración resulta baja.

Esto es debido a la existencia de una relación óptima entre la concentración de enzima y la del sustrato. Si la cantidad de enzima se mantiene constante y gradualmente se incrementa la concentración del sustrato, la velocidad de reacción puede maximizarse (Mohan 2005).

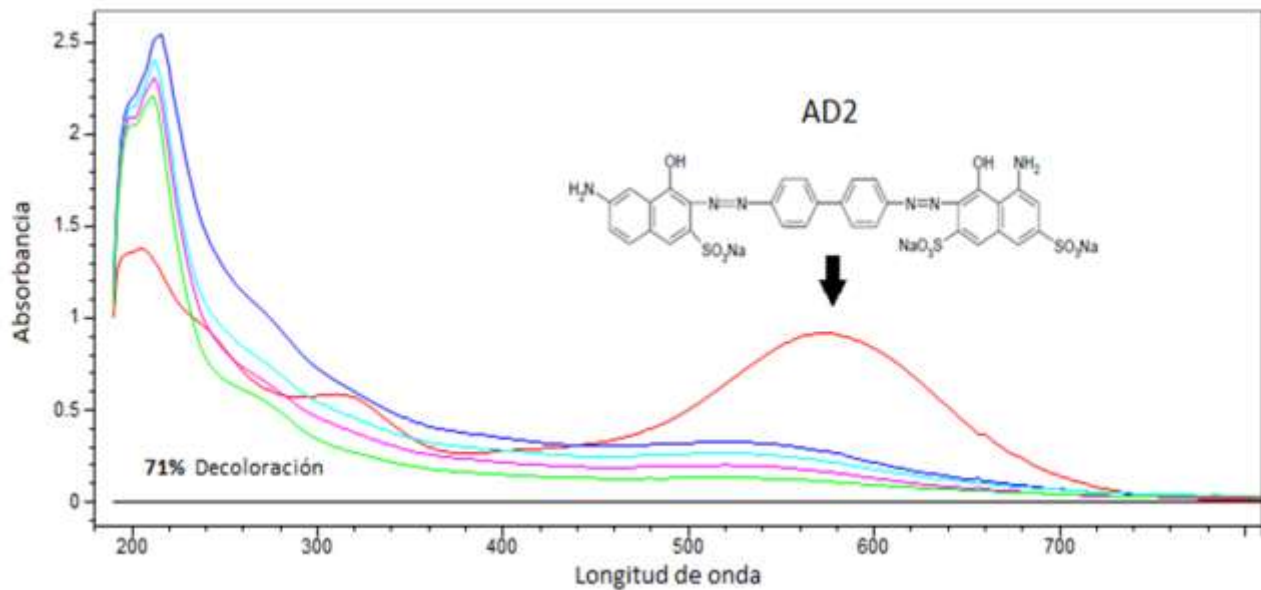
En esta investigación la concentración de enzima no fue estudiada debido a que la fuente de obtención fue un residuo industrial y la máxima actividad enzimática obtenida fue de 15 U/ml, el aumentar la concentración de ésta aumentaría los costos del tratamiento. Estudios previos reportan

que a concentraciones de 14.88 U/ml corresponden al 58% de decoloración y aumentado la concentración de la enzima al doble solo se puede alcanzar un incremento del 4%.

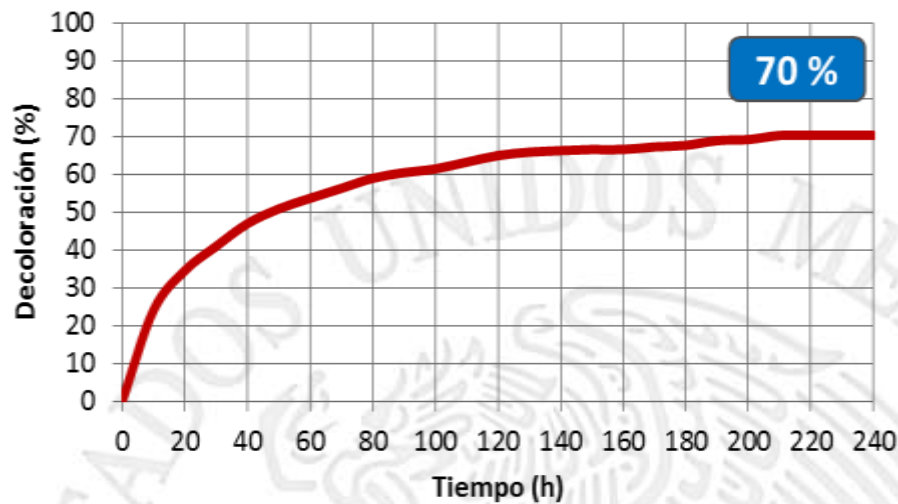


Gráfica 4.17 Efecto de la concentración de color en la decoloración del AD2 en presencia de PRS.

Posteriormente determinadas las condiciones de operación en las cuales la enzima presentará la mayor actividad enzimática, se realizó una reproducibilidad de los resultados obtenidos. En la Gráfica 4.18 se presentan la cronología de la reacción en un tiempo de 200 min para una concentración de 40 mg/L observando que conforme transcurre el tiempo de reacción en condiciones específicas, el pico característico del colorante disminuye logrando un porcentaje de decoloración del 70% (Gráfica 4.19). En el tratamiento se obtuvieron velocidades de decoloración de 5.97 mg/L-h.



Gráfica 4.18 Espectros de la decoloración del AD2 mediante el proceso enzimático



Gráfica 4.19 Porcentaje de decoloración obtenido en el tratamiento enzimático del AD2 en un tiempo de reacción de 240 min. Muestras antes a) y después b) del tratamiento

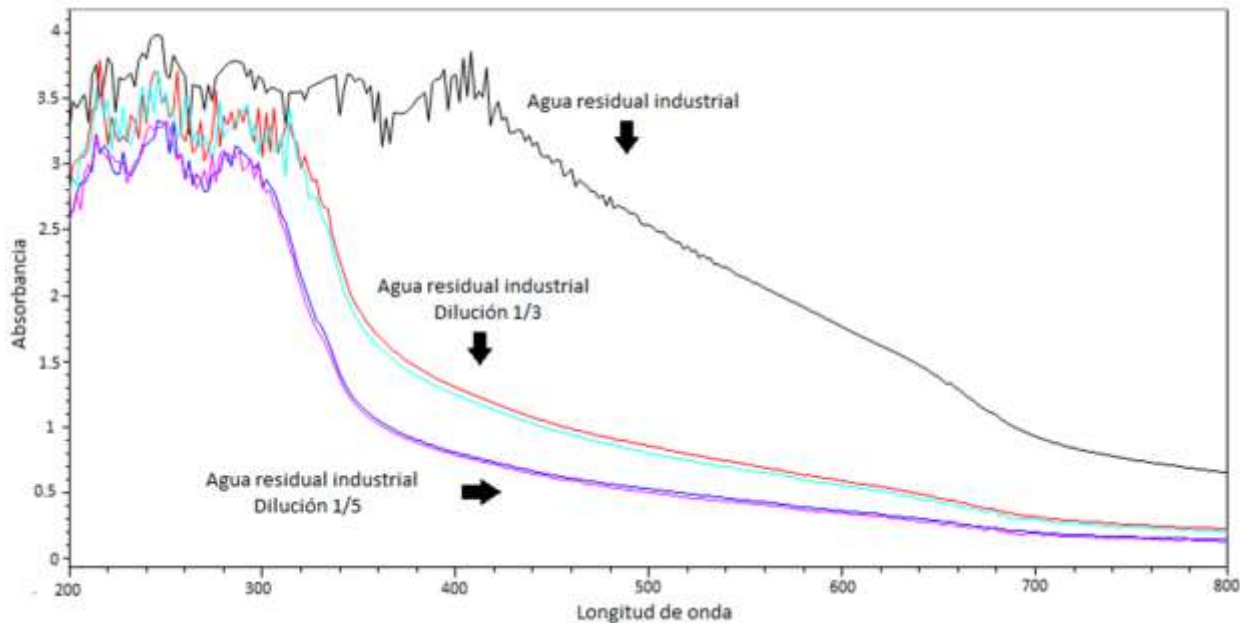
4.4.5 Cinéticas enzimáticas con efluente de la industria Gütermann

Obtenidas las condiciones de operación de la PRS se realizaron cinéticas a escala laboratorio utilizando un volumen de 150 ml del efluente general de la industria Gütermann.

Para las pruebas se utilizó un lote de agua que presentó 10,275 UPt-Co y 4860 mg/L de DQO. Las condiciones de operación fueron las obtenidas en pruebas preliminares.

Debido a la caracterización del agua residual se decidió realizar una dilución del efluente de 1:3 y 1:5 para llevar a cabo el tratamiento. Los resultados obtenidos se muestran en la Gráfica 4.20, observando que las muestras diluidas no presentaron un efecto significativo por la presencia de enzima y peróxido, esto pudo suceder debido a que las enzimas en particular peroxidasas, tienen una especificidad por compuestos determinados, tales como los colorantes.

En este caso el efluente general de Gütermann presentó en mayor composición, detergentes, aditivos químicos y suavizantes, los cuales no sufrieron una oxidación por el tratamiento.



Gráfica 4.20 Tratamiento enzimático del efluente general de Industria Gütermann

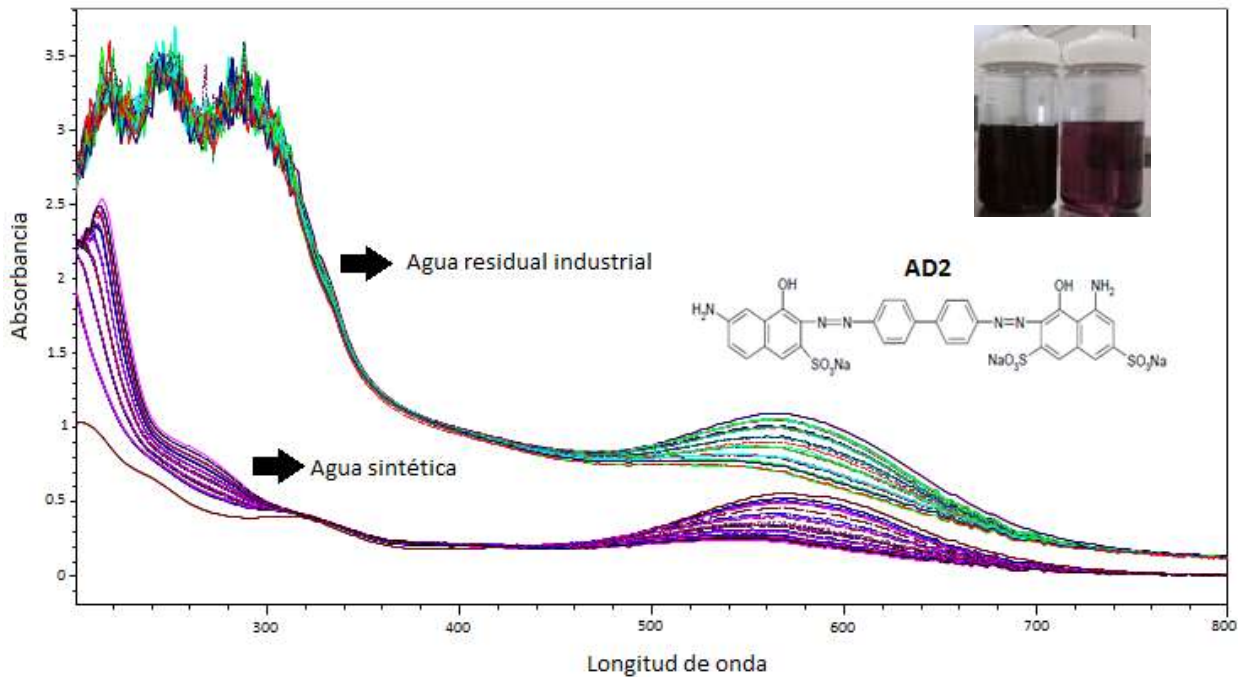
Debido a la situación antes mencionada, se decidió realizar cinéticas enzimáticas con el mismo lote de agua residual de la industria Gütermann, a la cual se le adicionó colorante en concentración de 40 mg/L, con el objetivo de evaluar la capacidad catalítica de la enzima peroxidasa en presencia de aditivos químicos, suavizantes y detergentes presentes en el efluente general. Se realizaron 2 cinéticas a la par, agua desionizada con colorante AD2 en concentración de 40 mg/L y agua residual industrial con colorante AD2 en concentración de 40 mg/L, esto con la finalidad de contar con un punto de referencia para llevar a cabo el análisis de los resultados.

En la Gráfica 4.21 se presentan los espectros obtenidos en ambas cinéticas enzimáticas con un tiempo de reacción de 200 min, cabe hacer mención que las condiciones de operación de la experimentación fueron las obtenidas en pruebas previas. De los resultados obtenidos se observa que aún en presencia de aditivos la enzima es capaz de decolorar el AD2 sin sufrir un efecto inhibitorio, teniendo el mismo comportamiento que el agua sintética, logrando eficiencias de decoloración del 50%. Teniendo velocidades de decoloración de 6.56 mg/L-h para el efluente sintético y 4.62 mg/L-h para el agua residual industrial con AD2.

Con respecto a la remoción de materia orgánica, debido a que la enzima es una proteína, aumenta la concentración de DQO, por lo que para evaluar la eficiencia de degradación es necesario realizar una filtración o centrifugación en donde la enzima quede retenida sin tener un efecto sobre la prueba. De los análisis realizados se muestran en la Tabla 4.10.

Tabla 4.10 Remoción de materia orgánica por acción enzimática

Muestra	Antes de la prueba	Después del prueba	Centrifugado 8000 rpm/5 min
Agua sintética	98 mg/L	1980 mg/L	101
Agua residual industrial	1980 mg/L	2150 mg/L	1235



Gráfica 4.21 Tratamiento enzimático del efluente general de la industria Gütermann con AD2 en concentración de 40 mg/L

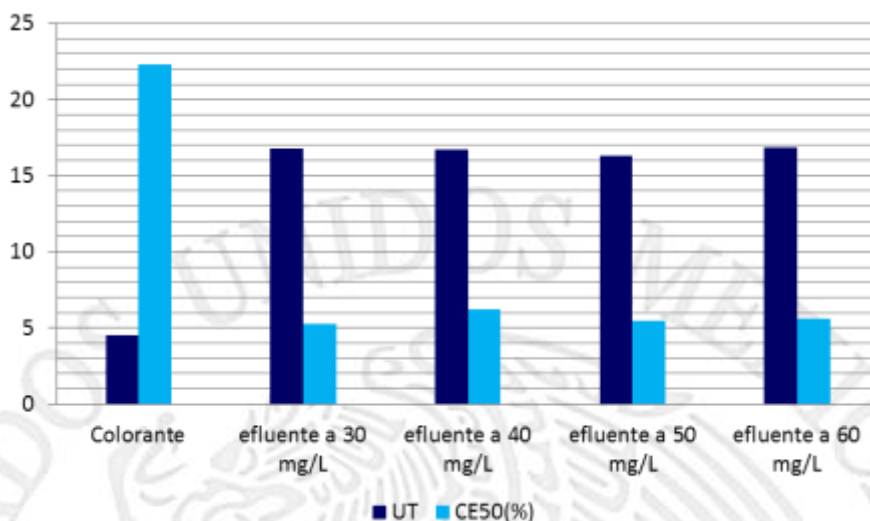
Por los resultados obtenidos se puede apreciar que no hay un porcentaje considerable de remoción de DQO, esto se puede atribuir a la generación de metabolitos, productos de la oxidación, ya que la estructura del colorante sufre una ruptura de sus enlaces cromógenos dando productos intermedios como bencidina y 4-aminobifenil. Los cuales mediante un tratamiento posterior, tal como fisicoquímico o biológico pueden llegar a eliminarse.

4.4.6 Pruebas de toxicidad

El estudio de toxicidad del influente y efluente después del tratamiento se realizó con el objetivo de evaluar si los productos de la reacción podrían ser tóxicos. En la Gráfica 4.22 se muestran los resultados de toxicidad obtenidos usando *vibrio fischeri*.

Se puede observar que el agua sin tratamiento presenta baja toxicidad de 4.4 U. Sin embargo, después del tratamiento a concentraciones de 30, 40, 50 y 60 mg/L de AD2, las unidades de toxicidad son de 17 unidades en promedio, mostrando con esto que la toxicidad aumenta después del tratamiento.

Considerando que los colorantes azo son principalmente constituidos por bencidina puede ser atribuido a la formación de metabolitos. Se conoce que típicamente los productos de degradación de colorantes azo son bencidina y 4-aminobifenil, las cuales son aminas altamente tóxicas y carcinogénicas que pueden contribuir con el aumento de toxicidad.



Gráfica 4.22 Prueba de toxicidad realizada el influente y efluente del tratamiento enzimático

4.4.7 Pruebas de COT

De las pruebas de carbón orgánico total se puede observar, que existe un aumento en cuanto a la concentración (Tabla 4.11), esto se debe principalmente a la presencia de la peroxidasa del residuo de soya, la cual es una proteína que está constituida principalmente por moléculas quirales constituidas por un átomo de carbono central contribuyendo con el aumento de la concentración. Un caso similar se observó con la remoción de DQO.

Para poder estimar las concentraciones de COT en el efluente, es necesario realizar una separación mecánica de las enzimas en la solución, mediante centrifugación o filtración.

Tabla 4.11 Resultados obtenidos de la prueba COT para el tratamiento enzimático

Muestra	COT (mg/L)
Inicio	6.74 ± 0.02
Efluente 1	258 ± 0.64
Efluente 2	263 ± 0.66
Efluente 3	423 ± 1.05
Efluente 4	254 ± 0.64

4.4 Elaboración de artículos

4.4.1 Para su publicación en una revista indexada

El presente artículo será enviado a la revista Enzyme microbial technology, para su evaluación.

Azo dye decolorisation from a textile effluent using peroxidases obtaining from an industrial soybean waste

ABSTRACT

Enzymes peroxidases obtained from an industrial waste soybean of the manufacturing process of a commercial juice were tested in the decolorisation of direct black blue dye, which is widely used in textile industry. Some factors such as pH, temperature, amount of H₂O₂ and concentration of dye were evaluated in order to determine the optimum conditions where the enzyme has the maximum catalytic activity. Experimental data showed that temperature, pH and concentration of dye in the aqueous phase are key factors that affect the rate of oxidation. The maximum decolorisation achieved for a concentration of 60 mg/L of dye under optimal conditions was 70%. The toxicity test through towards *vibrio fisheri* showed an increase of the toxicity after enzymatic oxidation of the dye. Results obtained in this study verify the viability to use peroxidases obtained from an industrial waste in the decolorisation of dye direct blue 2 dye and their potential application in industrial effluents.

KEYWORDS

Azo dyes, Decolorization, Soybean, Enzyme, Peroxidases, Oxidation

1. Introduction

Textile industry is one of the main sources of water pollution due to the volume and composition of effluents, which are typically characterized a high temperature, alkaline and colored [1]. The main pollutants in the wastewater are: high chemical oxidation demand (COD), suspended solids, mineral oils, organic compounds [2] and also significant concentrations of heavy metals such as chromium, copper, zinc, nickel and lead causing carcinogenic and genotoxic effects are present [3]. In addition, one of the most widely spread groups of dyes is the azo-dye group, which has special characteristics that make them extremely difficult to eliminate from the environment.

The environmental impact caused by this industrial sector is varied but color is the first sign of contamination observed in their effluents, finding dye concentrations from (1 g/dm³) [4] causing reduction of transparency and dissolved oxygen, factors that have a significant effect in photosynthetic function, causing changes in aquatic biota. Moreover, many of these dyes generate acute and chronic toxicity in ecosystems [5].

Azo dyes constitute the most important family of industrial dyes. They are recalcitrant and xenobiotic compounds characterized by the presence of one or more azo groups (-N=N-) [6]. It is well known that the amount of dye wasted in the effluent depends on the application type used, varying from 2% to 50% and then discharged into water bodies without adequate previous treatment [7].

Elimination of azo dyes from industrial wastewater is an important issue in wastewater treatment. Researchers all over the world have demonstrated that a single process is not enough for the efficient degradation and mineralization of the dyes and their byproducts [8,9]. Biological processes have been considered as an effective alternative for the treatment of colored effluents [10,11], but the need for acclimation, high hydraulic residence times and recalcitrant nature of some dyes as well as the use of some additives that improve the fixation of the dyes, constitute the main limitations

encountered for stable operation [12]. Physical [13], chemical [14] and advanced oxidation processes such as ozonation [15] Fenton's reagents [16] Photo Fenton [6], have shown good capacity to decolorize these effluents by chemical oxidation, but high investment and operating costs have limited their application.

Recently, some studies have been conducted successfully by using enzymes with peroxidase activity in the oxidative degradation of colored compounds when that is not possible by using conventional treatment processes like biological or physical treatments [17,18,19,20]. Since they have advantages such as their high selectivity, lower probability of inhibition caused by substances that might be toxic to microorganisms, as well as their lower cost and retention time, make this process to be more attractive than other conventional treatment methods [21,22,23,24].

Peroxidase is an enzyme, which catalyzes the oxidation of a wide range of organic and inorganic substrates by precipitation or the cleavage of the aromatic ring structure [25]. Peroxidases that have been used for treatment of aromatic pollutants and degradation of dyes include: horseradish peroxidase (HRP), lignin peroxidase (LiP), Manganese peroxidase (MnP). Additionally a wide variety of other peroxidases from different sources such as peach (*Prunus persica*), yam (*Macrorhiza Alocasia*), cassava (*Manihot utilissima*), artichoke (*Cynara scolymus L.*), sweet potato (*Ipomoea batatas ex L.Lam*), turnip (*Brassica campestris rapifera*), marrow (*Cucurbita pepo*) among others have also been used. Several investigations have reported the use of peroxidases (being the main source plants), for removal of azo dyes in aqueous phase, obtaining percentages of decolorisation from 50 to 90% using different operating conditions [17,26,27,28,29,30].

Despite the variety of sources for obtaining and application for peroxidase, there are not previous reports related to the use of an industrial waste with peroxidase activity for color removal. In fact, most of the reported works have focused on peroxidase extracted from horseradish. In the present work, the efficiency of a peroxidase obtained from a soybean industrial waste for the decolorisation of the direct blue 2 dye used in the textile industry was evaluated. The effect of different parameters like pH, temperature, reaction time, H₂O₂ dosage and dye concentration were tested in order to optimize the dye degradation.

2. Materials and Methods

2.1 Dye

The diazo dye used in this research was direct blue 2 (DB2) donated by a textile industry in México. It's molecular structure is shown in Figure 1.

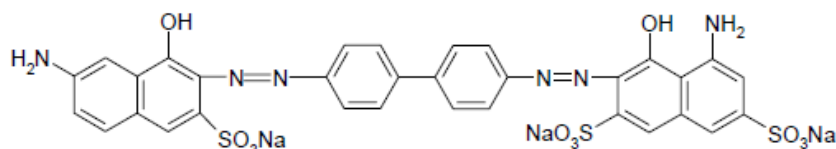


Fig. 1. Molecular structure of DB2 dye

2.2 Obtention of the enzymatic extract of waste industrial of soybean

Peroxidases were extracted from a waste generated from the processing of soybeans (OKARA) for the production of a commercial soy juice. 200 g of OKARA were homogenized in 2 L of deionized water for 15 h at 4 °C. Then the mixture was centrifugated at 10,000 rpm for 20 min at 4°C in a Centrifuge Thermo Scientific Sorval Lynx 4000. Supernatant was dialyzed with a buffer of sodium acetate/acetic acid (1/50) up to a concentration of 10 mM [31,32]. The peroxidases extraction was conducted by ion exchange chromatography using a column of 142.35 mL of total volume, diethylaminoethyl was used as cellulose anion exchanger (DEAE53)[33]. The exchanger was equilibrated with 0.2 mM phosphate buffer (pH 7.4) and then 0.01 M phosphate buffer keeping pH 7.4 at 4°C: As eluent, solution was used 100 mL of 1 M NaCl.

2.3 Determination of enzyme activity

The enzymatic activity of the WSBP (Waste Soybean Peroxidase) was determinate by using the 4-aminoantipyrine method [33], colorimetric estimation use phenol and H₂O₂ as substrates and 4-aminoantipyrine (Am-NH₂) as chromogen. Assay was performed at 25°C adding phosphate buffer (pH 7.4) that contain 0.2 M phenol, 2x10⁻³ M H₂O₂, 4.8 x 10⁻² M 4-aminoantipirine and enzymatic extract. The consumption rate was estimated measuring the absorbance of colored product at of 510 nm using a UV-Vis Spectrophotometer Agilent Technologies Cary 60. One unit of peroxidase activity represents the oxidation of 1 mol of substrate during 1 min. The enzymatic activity units are U/mL.

2.4 Dye removal tests

Experiments were carried out in order to evaluate the enzymatic degradation of the dye (DB2) in aqueous phase using WSBP. Assays were performed varying process parameters such as temperature, pH, reaction time, H₂O₂ dosage and dye concentration. Kinetics were performed in 50 mL Erlenmeyer flasks with a working volume of 30 mL. Initially the enzyme reactions were performed at 25 ° C using a DB2 dye concentration of 60 mg/L while maintaining the pH of the aqueous solution at 6.5 WSBP concentration of 15 U/mL and 200 μmol / L of H₂O₂. The reaction mixture was carried out using a magnetic stirrer at 150 rpm. To estimate the residual dye concentration in the aqueous phase a sample was taken each 5 minutes so that it was possible to determine the time required for dye removal. Subsequently a series of experiments were performed varying pH (3.5 to 7.5 units), temperature (25 to 50 °C), H₂O₂ concentration (10 to 500 μmol / L) and dye concentration (10 to 60 mg /L).

Percentage of decolorisation of the dye was assessed on the basis of changes in absorbance at λ: 576 nm, using an UV-vis spectrophotometer(Perkin-Elmer UV-25 USA). Prior to UV-Vis analysis, samples were removed from the enzymatic reactor and then centrifuged at 5,000 rpm for 5 min. Calculation to determine the dye removal percentage was made according by the following equation:

$$\text{Percentage of decolorisation: } \left[1 - \frac{C_t}{C_i} \right] \times 100$$

Where C_i is the initial concentration of the sample and C_t is the concentration at a given reaction time. To determine the color concentrations in each one of the samples a calibration curve was previously constructed.

2.5 Toxicity test

The Microtox® toxicity assays were carried out with *Vibrio fischeri* (Microtox® Azure Ambiental). The reagent is a lyophilized preparation from a specially selected strain of the marine bacteria *Vibrio fischeri* (formerly known as *Photobacterium phosphoreum*, NRRL number B-11177). Phenol was used as the reference compound in the toxicity assays (100 mg/L phenol; TU=3; EC₅₀=23mg/L). The toxicity assays were conducted on samples at the beginning and end of the kinetics to obtain the EC₅₀. Toxicity was expressed in toxicity units (TU), where TU=100/ EC₅₀.

3. Results

Peroxidase activity obtained from the industrial waste of soybean was about 2.8 U/mL after dialysis, compared with the reported values of 2.36 and 2.94 U/mL [17, 34] of the extract obtained from horseradish root, which is used as reference, no significant differences were observed. However, experimental data showed that when an anion-exchange chromatography is done, the peroxidase activity can reach up to 15 ± 5 U/mL.

3.1 Contact time effect

The decolorisation time showed a relationship with the chemical structure of the dyes. Those with simple structures and low molecular weights usually exhibited higher rates of dye removal, whereas dye removal is less effective with highly substituted and high molecular weight dyes [35,36,37].

The decolorisation efficiency of DB2 dye as a function of the enzyme contact time is given in Fig. 1, where the dye removal was $50\% \pm 1.95$ at 200 min of enzyme contact time. After this reaction time, the dye removal became negligible. Marchis *et al.*, [27] have reported that 240 min is the reaction time required to catalyze the degradation of Remazol Turquoise blue G133 by SBP. Subsequent experiments were performed for 200 min of reaction time.

3.2 Effect of pH and temperature

Enzymes have an optimum range of pH and temperature at which their activity is maximized. Nevertheless, the range of pH and temperature between the full universes of enzymes with peroxidase activity are not necessarily identical to each other [17]. Optimization studies of pH and temperature were carried out keeping constant the concentration of DB2 and reaction time: 60 mg/L and 200 min respectively. Experiments were performed varying pH between 3.0 to 7.3 and temperature 25 to 60 °C. The enzyme and peroxide concentration was 15 U/mL and 200 mol/L respectively. The assays showed that the degradation process has a strength dependence of pH of the solution (Fig. 2). The enzyme activity of WSBP increases significantly by shifting pH from 3 to 5.5. In addition, experimental data showed that at higher pH, decolorisation rates decrease.

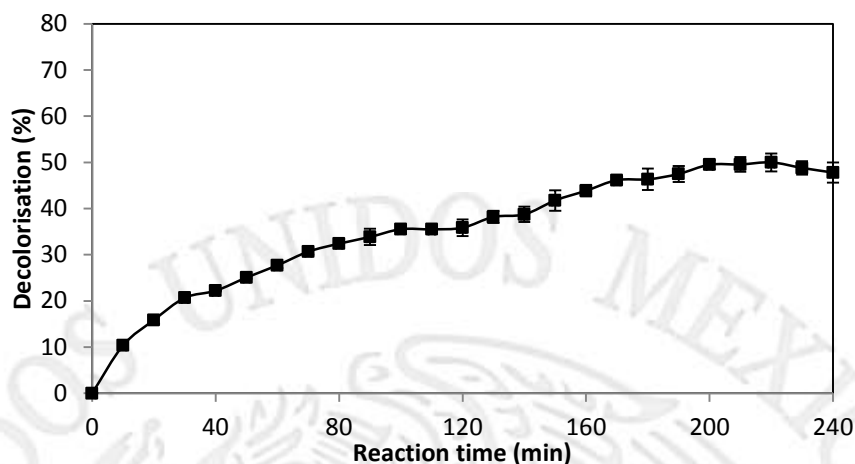


Fig. 1. The impact of time of reaction on the decolorisation of DB2 in presence of WSBP enzyme

The highest dye removal rate was found at pH 5.5, reaching up to $55\% \pm 1.5$. Previous reports from [38] have described that the optimum pH for decolorisation of the diazo dye by soybean peroxidase is at pH 4. In addition, [17] identify pH 3.9 for decolorisation of Remazol Turquoise Blue G 133. On the other hand, a few studies involving optimum temperature for a specific enzyme were found. Nevertheless, it is well known that the enzymes and proteins are extremely sensitive to higher temperatures so that they can be thermally denatured and deactivated [38]. In this work previous experiments were conducted at 25°C; nonetheless, increasing the temperature to 35°C, decolorisation rates also have enhanced to 56% as shown in Fig. 3. Nevertheless, thermal resistance of WSBP was observed, this is guaranteed by the fact that at 60 °C only 43% of decolorisation was reached. Similar data have been described previously [38] and [17]. In addition, other groups had found that WSBP is a thermally stable enzyme with a $T=90.5^{\circ}\text{C}$ at pH 8 [39]. From the results obtained and the WSBP physicochemical properties, as high temperature stability and enzyme activity in pH range 4 to 6.5 it is possible to say that this enzyme is promising to be used in industrial applications.

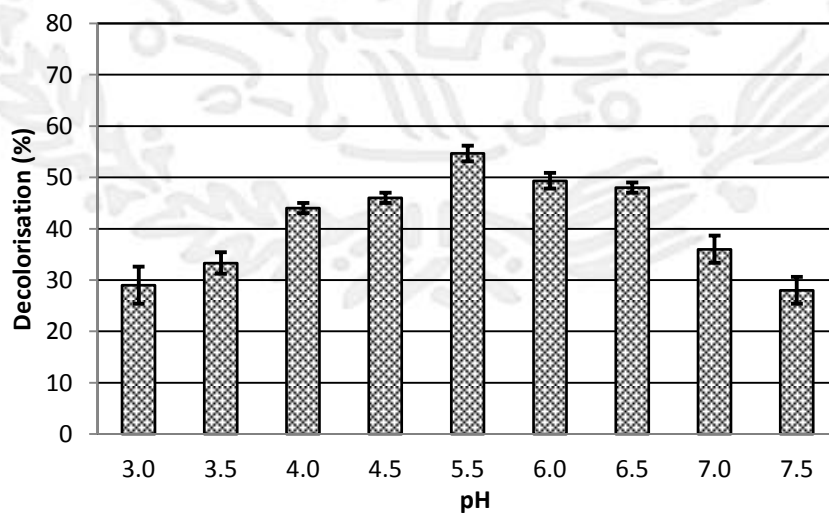


Fig. 2. Effect of pH on decolorisation of DB2 in presence of WSBP enzyme

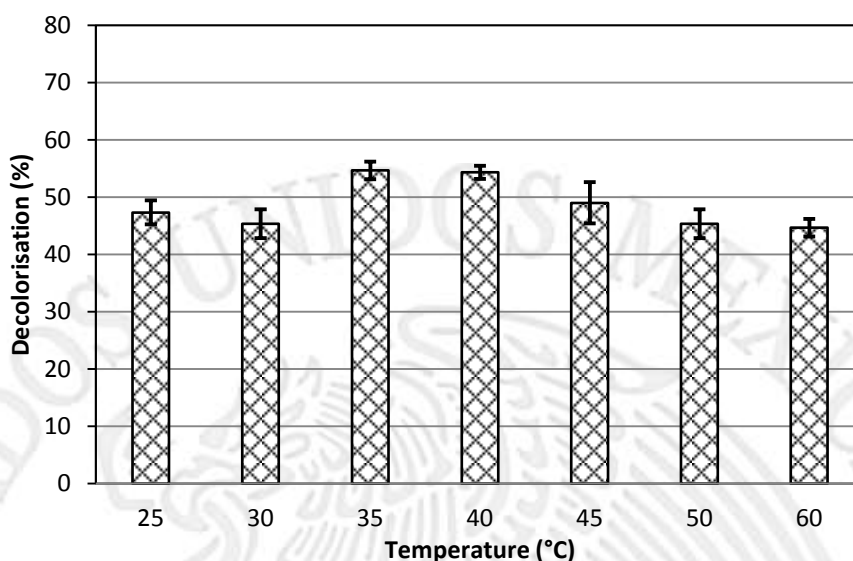


Fig. 3. Temperature effect on decolorisation of DB2 in presence of WSBP enzyme.

3.3 Effect of H_2O_2 concentration

Hydrogen peroxide acts as a co-substrate to activate the enzymatic activity of peroxidase. This promotes the catalytic cycle of peroxidases, where initially the native enzyme is oxidized to form an intermediate enzyme, which accepts the aromatic compounds to oxidize them to a free radical form. For this reason, the concentration of H_2O_2 is a key factor in the enzymatic reactions. The excess of this reagent in the reaction inhibits the enzyme activity and, when is added in low quantities, limits the reaction rate [17,26,40]. In the experiment the doses of H_2O_2 was varied between 50 to 300 $\mu\text{mol/L}$. In Fig. 4 is showed that 200 $\mu\text{mol/L}$ is the dose that provides the highest enzyme activity, achieving decolorisation of $50\% \pm 2\%$. However, the enzymatic activity at doses of 100, 150 and 250 $\mu\text{mol/L}$ shown similar behave obtaining an average of $40\% \pm 1.92$ of decolourisation. Concentrations less than 50 and greater than 250 $\mu\text{mol/L}$ showed a decrease in reaction rate. Similar results were observed [26] employing 100 $\mu\text{mol/L}$ of H_2O_2 achieving decolorisation of 57% by turnip peroxidase.

3.4 Concentration dye effect

The concentration of substrate is a key factor that affects the rate of the enzyme-catalyzed oxidation [26]. Studies were carried out at different concentrations of the dye (10 to 60 mg/L), but keeping all the parameters constant: pH 5.5, temperature 35 °C, enzyme concentration 15 U/mL, peroxide concentration 200 mol/L and reaction time 200 min. The results are shown in Fig. 5, notice that the highest percentage of decolorisation were at concentrations higher than 40 mg/L, achieving a removal of 70%, while at concentrations lower than 30 mg/L decolorisation rates were found to be low. Comparable data have been shown in studies of decolorisation by HRP they have concluded that dye concentrations lower than 30 mg/L decrease the decolorisation efficiency [17

and 26]. This is a consequence of the relationship between the concentration of enzyme and substrate in order to achieve maximum activity. If the enzyme concentration keeps constant and the substrate concentration is gradually increased, the reaction will increase until it reaches maximum enzyme activity [17]. In Fig. 6 on Uv-Vis spectra of the DB2 at 40 mg/L before and after of treatment by WSBP is shown.

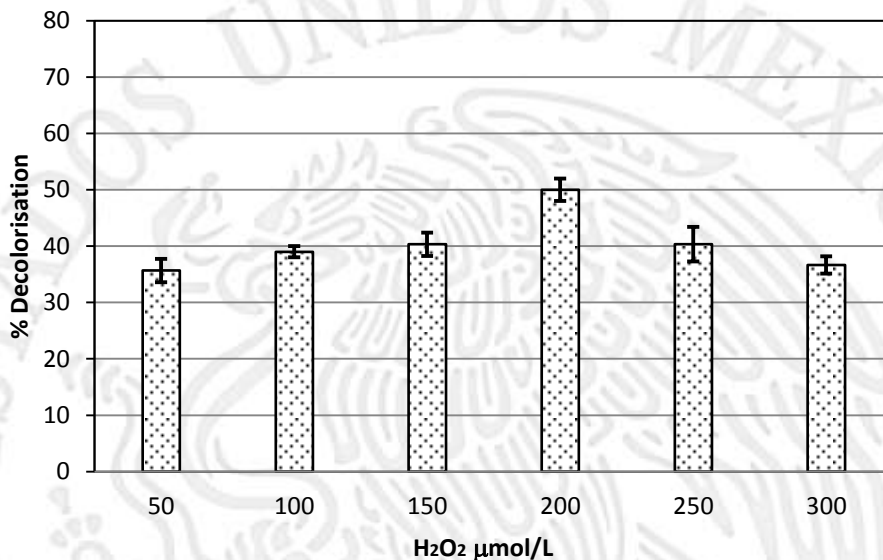


Fig. 4. Effect of H₂O₂ dose on DB2 dye decolorisation in presence of WSBP enzyme.

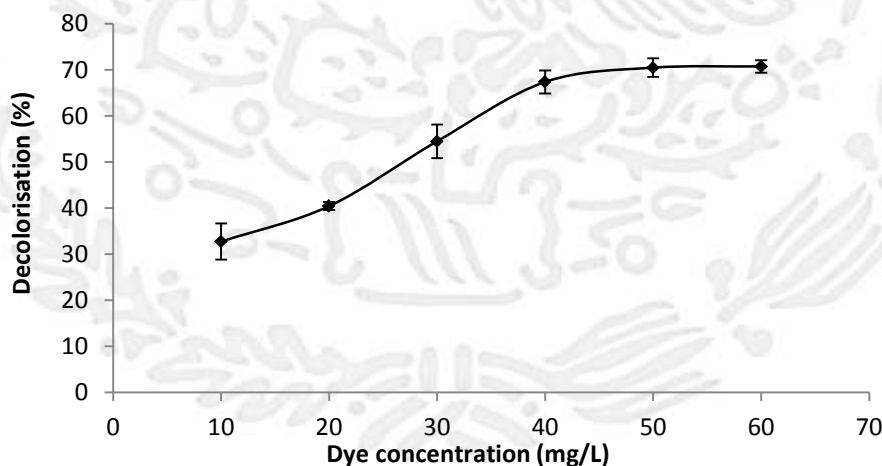


Fig. 5. Effect of the dye concentration on the decolorisation of in presence of WSBP enzyme.

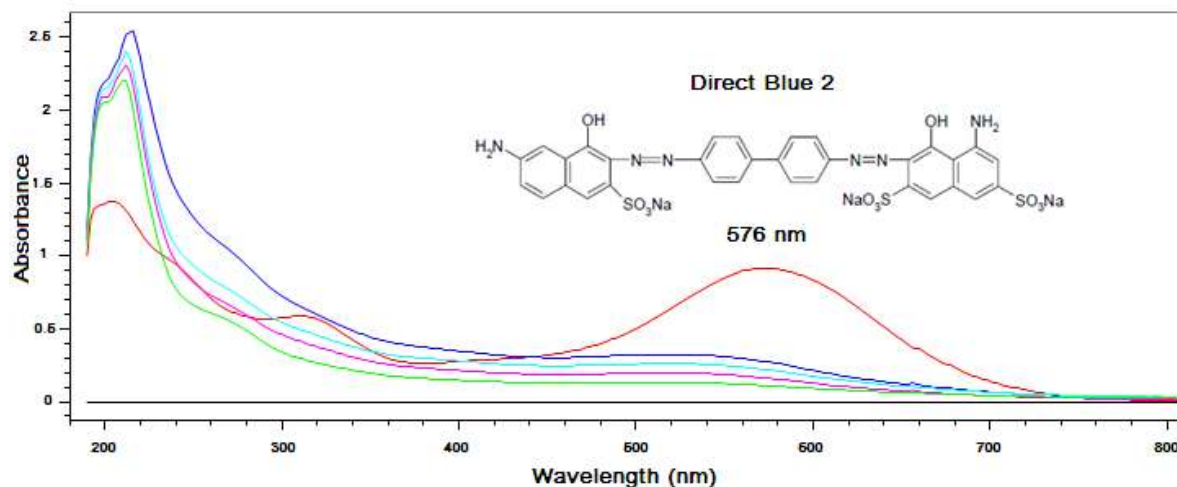


Fig. 6. Uv-Vis spectra of the DB2 at 40 mg/L before and after treatment by WSBP.

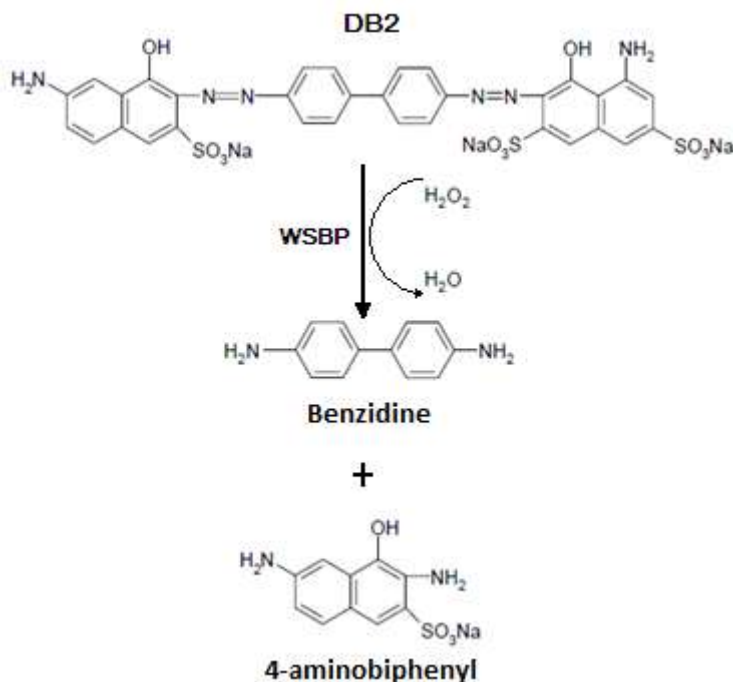
In the research, the enzyme concentration was not studied because its source is an industrial waste and maximum enzymatic activity obtained was 15 U/mL, if concentration rises, the treatment costs will increase. Previous studies reported that concentrations of 14.88 U/mL is related to 58% of decolorisation of azo dyes and increasing the concentration of the enzyme twice only an increase of 4% of decolorisation was reach [26,29].

3.5 Toxicity test

The toxicity study of the effluent after the enzymatic treatment was carried out with the purpose of evaluating whether the reaction products would be more toxic than the original dye. Table 2 shows the toxicity results obtained using *vibrio fischeri*. It can be observed that the non-treated dye shows lower toxicity of 4.4 TU. However, after treatments at concentrations of 30, 40, 50 and 60 mg/L the units of toxicity were 17 units in average. These results showed that after enzymatic treatment an increase of the toxicity was observed. Its can be attributed to the formation of metabolites that are more toxic than the parent molecule. The dye DB2 is constituted mainly by benzidine. It is known that typical products from the degradation of direct dyes are benzidine and 4-aminobiphenyl [41], which are highly toxic aromatic amines that can contribute to the increased toxicity. Scheme 1 shows the hypothetical reaction that occurs in the enzyme treatment by WSBP.

Table 2. Acude toxicity test by *vibrio fisheri*, before and after 200 min of enzymatic treatment by WSBP at concentrations of 30, 40, 50 and 60 mg/L

Sample	CE50(%)	TU
Dye	22.294	4.485
Effluent 30 mg/L	5.297	16.758
Effluent 40 mg/L	6.242	16.020
Effluent 50 mg/L	5.461	18.311
Effluent 60 mg/L	5.601	17.853



Scheme 1. Hypothetical reaction scheme summarizing the degradation of DB2.

4. Conclusions

The experimental results obtained in this research showed the effectiveness of using peroxidases obtained from an industrial waste for the removal of direct blue 2 azo dye. The assay data reveals that temperature and pH of the aqueous phase are a key factor that affects the rate of oxidation. In addition, it was observed that if dye concentration is gradually increased and the amount of enzyme is kept constant, the reaction rate can be increased up to its maximum. Operating conditions where it is possible to achieve a 70% \pm 4 of decolourisation were: pH 5.5, temperature 35°C, peroxide concentration of 200 mol/L and dye concentrations higher than 40 mg/L.

The toxicity of the dye is increased after the enzyme treatment, this can be attributed to the formation of byproducts that may be more toxic than the dye itself, but the toxicity of this effluent can be eliminated by combination with other biological processes. With all the information provided, it is concluded that the enzyme treatment for decolourisation textile dyes can be an alternative to conventional treatment processes. In addition, due to the properties presented by the enzyme as thermic resistance and a wide range of pH, It could have a promising use for industrial wastewater treatment.

5. BIBLIOGRAFÍA

[1] Srinivasan A, Viraraghavan T. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: a review. *J. Environmental Management* 2010; 91:1915-1929.

- [2] Kaushik, P., Malik, A. Fungal dye decolorization: Recent advances and future potential. *Environmental International* 2009; 35: 127-141.
- [3] World Bank Group. Pollution Prevention and Abatement: Textiles Industry. 2011 Draft Technical Back-ground Document. Environment Department, Washington, D. C.
- [4] Kaushik P., Malik A. Fungal dye decolorization: Recent advances and future potential. *Environmental International*; 35: 127-141.
- [5] Dallago RM, Smaniotto A, Oliveira LCA. Solid waste from tanneries as adsorbent for the removal of dyes in aqueous medium. *Química Nova* 2005; 28: 433-437.
- [6] Prato GD, Buitrón G. Evaluation of three reagent dosing strategies in a photo-Fenton process for the decolorization of azo dye mixtures. *Hazardous Materials* 2012; 217: 293-300.
- [7] dos Santos AB, Cervantes FJ, van Lier JB. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresour. Technol.* 2007; 98: 2369-2385.
- [8] Supaka N, Juntongjin K, Damronglerd S, Delia ML, Strehaiano P. Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. *Chemical Engineering Journal* 2004; 99: 169-176.
- [9] Buitrón G, Quezada M, Moreno J. Aerobic degradation of the azo dye acid red 151 in a sequencing batch biofilter. *Bioresource Technology* 2004; 92: 143-149.
- [10] Rai HS, Bhattacharyya MS, Singh J, Bansal TK, Vats P, Banerjee UC. Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: a review of emerging techniques with reference to biological treatment. *Crit. Rev. Environmental Science Technology* 2005; 35: 219-238.
- [11] Melgoza AR, Cruz A, Buitrón G. Anaerobic/aerobic treatment of colorants present in textile effluents. *Water science and technology* 2004; 50:149-155.
- [12] Hai FI, Yamamoto K, Fukushi K. Hybrid Treatment Systems for Dye Wastewater. *Crit. Rev. Environmental Science Technology* 2007; 37: 315-377.
- [13] Gupta VK, Suhas. Application of low-cost adsorbents for dye removal. A review. *Journal of environmental Management* 2009; 90: 2313-2342.
- [14] Verma AK, Dash RR, Bhunia P. A review on chemical coagulation-flocculation technologies for removal of colour from textile wastewater. *Environmental Management* 2012; 93: 154-168.
- [15] Muthukumar M, Selvakumar N. Studies on the effect of inorganic salts on decolouration of acid dye effluents by ozonation. *Dyes Pigments* 2004; 62: 221-228.
- [16] Gutowska A, Kaluzna CJ, Jozwiak WK. Degradation mechanism of Reactive Orange 113 dye by H₂O₂/Fe²⁺ and ozone in aqueous solution. *Dyes Pigments* 2007; 74: 41-46.

- [17] Mohan SV, Prasad KK, Rao NC, Sarma PN. Acid azo dye degradation by free and immobilized horseradish peroxidase (HRP) catalyzed process. *Chemosphere* 2005; 58: 1097–1105.
- [18] Akhtar S, Khan AA, Husain Q. Partially purified bitter melon (*Momordica charantia*) peroxidase catalyzed decolorization of textile and other industrially important dyes. *Bioresource Technology* 2005a; 96: 1804–1811.
- [19] Husain Qayyum. Potential Applications of the oxidoreductive enzymes in the decoloration and detoxification of textile and other synthetic dyes from polluted water. *Critical reviews in Biotechnology* 2006; 26: 201-221.
- [20] Matto M, Husain Q. Decolorization of direct dyes by salt fractionated turnip proteins in the presence of hydrogen peroxide and redox mediators. *Chemosphere* 2007; 69:338–345.
- [21] Z. Geng, K.J. Rao, A.S. Bassi, M. Gijzen, N. Krishnamoorthy, Investigation of biocatalytic properties of soybean seed hull peroxidase. *Catal. Today* 64 (2001) 233–238.
- [22] Kamal J.K.A., Behere D.V. Thermal and conformational stability of seed coat soybean peroxidase. *Biochemistry* 2002; 41: 9034–9042.
- [23] Kamal J.K.A., Behere D.V. Activity, stability and conformational flexibility of seed coat soybean peroxidase. *J Inorg Biochem* 2003; 94: 236-242.
- [24] Boscolo B, Laurenti E, Ghibaldi E. ESR spectroscopy investigation of the denaturation process of soybean peroxidase induced by guanidine hydrochloride, DMSO or heat, *Protein J.* 2006;25:379-390.
- [25] Hussain Q. Peroxidase mediated decolorization and remediation of wastewater containing industrial dyes: a review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2009; 9: 117–140.
- [26] Silva MC, Duarte CA, Sousa PMT, Amorim Pier PA, Arriel TJ, Batista CPM. Decolorization of the phthalocyanine dye reactive blue 21 by turnip peroxidase and assessment of its oxidation products. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2012;77: 9-14.
- [27] Marchis T, Avetta P, Bianco PA, Fabbri D, Viscardi G, Laurenti E. Oxidative degradation of Remazol Turquoise Blue G 133 by soybean peroxidase. *J Inorg Biochem.* 2011;105:321-327
- [28] Villalobos DA, Buchanan ID. Removal and aqueous phenol by *Arthromyces ramosus* peroxidase. *Environmental Engineer Science* 2002; 1: 65-73.
- [29] de Souza SM, Forgiarini E, De Souza AAU. Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP). *Journal of Hazardous Materials* 2007;147: 1073–1078.
- [30] Mohammad MA, Steevensz A, Taylor KE, Bewtra JK, and Biswas N. Soybean Peroxidase-Catalyzed Removal of an Aromatic Thiol, 2-Mercaptobenzothiazole, from Water. *Water Environ. Res.* 2010; 82: 2285-2289.

- [31] Villegas R. O., Geissler G., Silva H. A., Vergara G. E. (2003). Inmovilización de una peroxidasa de chayote y su potencial aplicación en la remoción de sustancias fenólicas en aguas contaminadas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 19 (2): 73-81.
- [32] Bhunia, A., Durani, S., & Wangikar, P. P. (2002). Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes. *Biotechnology and Bioengineering*, 72: 562–567.
- [33] Jakoby, W.B. (1971). Enzyme purification and related techniques. *Methods in Enzymology*. 22: 273-315.
- [34] Gholami BF, Hossein MA, Nasser S, Ali FM, Nabizadeh R, Alimohammadi M. Enzymatic Treatment and Detoxification of Acid Orange 7 from Textile Wastewater. *Appl Biochem Biotechnol* 2011; 165:1274–1284
- [35] Guillard C, Disdier J, Monnet C, Dussaud J, Malato S, Blanco J, et al. Solar efficiency of a new deposited titanium photocatalyst: chlorophenol, pesticide and dye removal applications. *App Catal B: Environ* 2003;46:319–32.
- [36] Chivukula M, Renganathan V, Phenolic. Azo dye oxidation by laccase from *Pyricularia oryzae*. *Appl Environ Microbiol* 1995;61:4374–7.
- [37] Chen KC, Wu JY, Liou DJ, Hwang SCJ. Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. *J Biotechnol* 2003;101:57–68.
- [38] Kalsoom U, Salman AS, Meetani MA, Rauf MA, Nawaz BH. Mechanistic study of a diazo dye degradation by Soybean Peroxidase. *Chemistry Central Journal* 2013; 7:93.
- [39] McEldoon JP, Dordick JS. Unusual thermal stability of soybean peroxidase. *Biotechnol Progress* 1996; 12:555–558.
- [40] Wu J, Bewtra J.K, Biswas N, Taylor K. J. *Chem. Eng.* 72 (1994) 881–886.

4.4.2 Para su presentación en un congreso

Este artículo se enviará para su presentación en el XXXIV Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental "Innovando para la sustentabilidad".

EVALUACIÓN DEL PROCESO FENTON EN EL TRATAMIENTO PARA LA REMOCIÓN DE COLOR Y MATERIA ORGÁNICA DE UNA AGUA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA TEXTIL

1. ANTECEDENTES

El color es el primer signo contaminante que se observa en las aguas residuales. Este es proporcionado tanto por el colorante como por los pigmentos, ambos se diferencian por sus características de solubilidad (Christie, 2003).

La industria de colorantes constituye, aproximadamente, el 6% de la producción total del sector Industrial. (Zollinguer, 2001; Herbst et al., 1997). El consumo por aplicaciones es el siguiente: Industria textil: 60%, Pinturas y tintas (pigmentos): 25% y el resto de las aplicaciones (papel, cuero, alimentos y otras) 15%.

Los colorantes son de diversos tipos y pueden ser clasificados por su estructura química, clase de aplicación o uso final. Cada tipo de colorante presenta características físicas, químicas y biológicas diferentes, que les atribuyen propiedades recalcitrantes y efectos tóxicos para el ambiente.

Los colorantes más ampliamente utilizados en la industria textil de acuerdo a sus propiedades de color, aporte de matices y alta intensidad, son los de tipo azo, los cuales constituyen la familia más importante entre los colorantes industriales. Se caracterizan por tener un grupo funcional azo, consistente en un enlace doble $-N=N-$, unido a átomos de carbono. Generalmente el grupo azo se une a dos anillos aromáticos.

La industria textil es considerada como uno de los principales generadores de grandes cantidades de aguas residuales altamente coloreadas constituidas por compuestos recalcitrantes (Amjad y Qayyum, 2007).

En México el volumen de descarga de aguas residuales de la industria textil en el 2004 fue de 64,196 m³/día, lo que representó el 0.69% del volumen de descarga proveniente de usos industriales en el país (SEMARNAT-CNA, 2004).

Los aportes de contaminantes de la industria textil incluyen agua procedente del proceso de teñido, enjuagado y agua de enfriamiento, entre otros. El efluente de enjuagado representa del 60 al 70% del consumo total de agua (EPA, 1996; IPPC, 2003).

La composición de los efluentes generados en esta industria es muy variable de acuerdo a la categoría de producción (Zeybek et al., 2007). El agua residual de este sector es típicamente alcalina y presenta concentraciones de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) que puede variar de 700 a 2000 mg/L y una demanda química de oxígeno (DQO), aproximadamente de 2 a 5 veces el valor de DBO (Kaushik y Malik, 2009).

Los efluentes de los procesos de teñido son típicamente calientes y coloreados, los principales contaminantes presentes son: sólidos suspendidos, aceites minerales, compuestos orgánicos (incluyendo fenoles y orgánicos halogenados de solventes usados en el blanqueado), los cuales son considerados compuestos xenobióticos recalcitrantes a los procesos biodegradativos. También están presentes concentraciones significativas de metales pesados (cromo, cobre, zinc, níquel o plomo) (World Bank Group, 2011). En el proceso de fabricación de la fibra natural el agua residual puede contener pesticidas y contaminantes microbiológicos como (bacterias, hongos y otros patógenos).

La problemática de los efluentes textiles no solo está asociada a la presencia de colorantes. En la industria resultan bastante notables los elevados consumos de agua 150-350 L/kg fibra, la fijación variable de los colorantes, la presencia de auxiliares químicos tóxicos (Schonenberger y Schafer, 2002; Sponza, 2006) que conducen a una serie de problemas operativos en sistemas de tratamiento tanto físicos, químicos y biológicos (Pignatello et al., 2006; Hai et al., 2007; Buitron et al., 2004; van der Zee y Villaverde, 2005).

Los datos reportados para la Zona Metropolitana del Valle de México (CAM 1998) señalan que las empresas textiles representaban el 14% de las empresas instaladas a nivel nacional, los residuos generados por dichas empresas corresponden a 1,600,901 (m³/año) de agua de las cuales el 54% (801,937 m³/año) son arrojados sin previo tratamiento.

Existen diferentes procesos de tratamiento tales como: físicos, químicos y biológicos que pueden ser aplicados para remover colorantes de las aguas residuales. Cada método tiene sus limitaciones técnicas y económicas. Se ha reportado en la literatura que el uso de un solo proceso no es eficiente para la degradación del color y la mineralización de los compuestos que se forman (Supaka et al., 2004).

Los tratamientos biológicos son los más utilizados para tratar los efluentes líquidos de la industria textil, e incluyen básicamente tratamientos aerobios que pueden ser combinados por una o más etapas de tratamiento, como sedimentación, tamizado, coagulación o cualquier otro tratamiento fisicoquímico avanzado, como ultrafiltración o adsorción (Wang et al. 2009, García-Montaña 2007, Rivas et al. 2001).

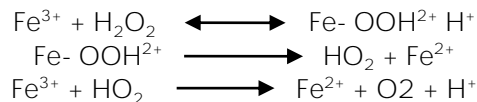
Los procesos biológicos han sido considerados como alternativas efectivas para el tratamiento de efluentes coloreados (Van der Zee y Villaverde, 2005; Pandey et al., 2007), pero la necesidad de aclimatación, los tiempos elevados de residencia y el carácter recalcitrante de algunos colorantes y auxiliares de manufactura, constituyen en la actualidad a las mayores limitantes encontradas para su operación estable (Rai et al., 2005).

El proceso físico químico Fenton es considerado uno de los más prometedores debido a su elevada eficacia y bajo costo en la remediación de aguas contaminadas con compuestos tóxicos y/o no biodegradables (Bauer et al., 1997). El proceso Fenton ha resultado efectivo para degradar compuestos alifáticos y aromáticos clorados, PCBs, nitroaromáticos, colorantes azo, clorobenceno y fenoles.

El proceso de oxidación de Fenton es un método de oxidación catalítico homogéneo que usa una mezcla de iones de Fe²⁺ y peróxido de hidrógeno en un medio ácido. Este es conocido por ser muy efectivo en la remoción de compuestos contaminantes en el agua. La principal ventaja es la completa destrucción de los contaminantes en compuestos más simples logrando la decoloración de los efluentes con bajos tiempos de reacción. El mecanismo que describe la reacción de Fenton es el siguiente (Neyens y Baeyens, 2003):



El ion ferroso inicia y cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno, resultando la generación de radicales hidroxilos. Los radicales hidroxilos pueden rápidamente y no selectivamente reaccionar con un amplio rango de contaminantes orgánicos para mineralizarlos hasta CO₂, H₂O y productos inorgánicos (Sun et al., 2009). El ion ferroso es generado lentamente entre la formación del ion férrico y el peróxido de hidrógeno, como se indica en las siguientes reacciones:



El proceso de oxidación de Fenton tiene doble ventaja, la oxidación y la coagulación, lo que reduce el contenido de color y a su vez la DQO de las aguas residuales (Kuo, 2000).

Las ventajas del método son varias: el Fe (II) es abundante y no tóxico, el peróxido de hidrógeno es fácil de manejar y ambientalmente benigno, no se forman compuestos clorados como en otras técnicas oxidantes, y no existen limitaciones de transferencia de masas por tratarse de un sistema homogéneo. El diseño de reactores para la aplicación tecnológica es bastante sencillo. En contra posición requiere la adición continua y estequiometría de Fe y H₂O₂, es decir, necesita una alta concentración de Fe.

La oxidación avanzada en el reactivo de Fenton es un método adecuado para aguas residuales resistentes a un tratamiento biológico, este método puede ser usado para tratar colorantes solubles e insolubles. Una desventaja de este método es la formación de lodos residuales y de aminas aromáticas que pueden resultar ser tóxicas.

Las condiciones de operación en las que el proceso se lleva a cabo, así como la composición del agua residual, afectan sustancialmente a la eficacia y velocidad del proceso de oxidación. Los principales parámetros que influyen en el proceso son:

- El pH donde el valor óptimo se encuentra entre 2.5 y 2.8, donde el hierro existe en solución como Fe(OH)²⁺(H₂O)₅.
- La dosis de H₂O₂ influye fundamentalmente sobre la eficacia del proceso mientras que la concentración de hierro afecta a la cinética (Pignatello et al. 2006, Parag et al. 2004, Neyens et al. 2003). Tanto la eficacia como la velocidad de reacción tienden a aumentar con la concentración de reactivos. (Arslan et al., 2009, Farias et al., 2009, García-Montaña 2007, Pignatello et al., 2006, Pérez et al., 2002, Pérez et al., 2001, Kuo 1992).
- La velocidad de oxidación aumenta con el incremento de temperatura (Zhang et al., 2005). A presión atmosférica, el rango recomendable de operación es entre 25 y 45 °C, ya que si se sobrepasa los 50 °C, ocurre una descomposición acelerada del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua (Torrades et al., 2004) y la precipitación del hierro en forma de hidróxido debido a que su constante de producto de solubilidad (K_{ps}) disminuye (Pérez et al., 2002, Pérez et al., 2001). Este aspecto es muy importante debido a que las industrias textiles tienen una temperatura elevada en su proceso de producción, por lo que no sería necesario aplicar un aporte energético extra.
- Ciertos aniones inorgánicos actúan como inhibidores de la acción de los radicales OH o forman especies no reactivas con el hierro. Algunos estudios han mencionado la disminución de la velocidad del proceso debido a la presencia en altas concentraciones de fluoruros y sulfatos (F⁻, SO₄²⁻) (Pignatello et al., 2006, Parag et al., 2004), ya que reducen la reactividad del Fe(III) a través de mecanismos de coordinación y secuestrando radicales hidroxilo; bromuros y cloruros (Br⁻, Cl⁻) (García-Montaña 2007), ya que actúan secuestrando los radicales hidroxilos; nitratos (NO₃⁻), percloratos (ClO₄⁻) e hidrogeno fosfatos (H₂PO₄⁻), ya que forman complejos insolubles con el Fe(III) (Pignatello et al., 2006, Parag et al., 2004, Neyens et al., 2003).

2. OBJETIVO

Determinar que parámetros tiene un efecto sobre la eficiencia del proceso Fenton, así como la obtención de las condiciones de operación óptimas para el tratamiento de un efluente de la industria textil.

3. METODOLOGÍA

3.1 Selección y caracterización del efluente general de la industria textil.

Se realizará una búsqueda de las industrias textiles cercanas al IMTA para obtener el agua residual que será sometida a tratamiento mediante el proceso Fenton. Una vez seleccionada se realizará una caracterización inicial.

3.2 Selección de condiciones de prueba

Para realizar la selección de las variables y sus rangos de prueba, se utilizó como referencia la investigación de 15 experimentos previos realizados en una prueba de jarras para la determinación de las mejores dosis de FeSO_4 y H_2O_2 en la decoloración y remoción de materia orgánica.

Las condiciones y variables de prueba seleccionadas son:

- Dosis de peróxido: 200 a 600 mg/L
- Dosis de sulfato ferroso: 300 a 1100 mg/L
- Agitación rápida (VAR): 180 a 200 rpm
- Tiempos de agitación rápida (TAR): 2, 5 y 8 min.
- Agitación lenta (VAL): 5 a 60 rpm
- Tiempo de agitación lenta (TAL): 30, 45 y 60 min.
- Tiempo de sedimentación (SED): 60, 90 y 120 min.

Los factores de respuesta son:

- Porcentaje (%) de remoción de color
- Porcentaje (%) de remoción de materia orgánica

Para las determinaciones analíticas se tomarán muestras al inicio y final de la prueba. De acuerdo a los resultados obtenidos, se seleccionaron dos valores de cada variable de prueba, en las cuales se obtuvieron los mayores porcentajes de decoloración y remoción de materia orgánica.

3.3 Determinación de los parámetros que tienen un efecto sobre la eficiencia del proceso Fenton, así como la obtención de las condiciones de operación óptimas.

La estimación de los efectos causados por los factores e identificación de variables que afectan significativamente en el tratamiento Fenton, así como para obtener las condiciones óptimas para la remoción de color y materia orgánica, se realizó mediante un diseño de experimentos factorial a dos niveles (2^k). El programa empleado para el análisis fue el STATGRAPHICS Centurion.

3.4 Determinación de pruebas de toxicidad.

Con la finalidad de poder determinar si los efluentes del proceso Fenton son tóxicos, debido a que el rompimiento de los colorantes azo, pueden formar compuestos recalcitrantes, se realizarán pruebas de toxicidad con la bacteria marina *Vibrio Fischeri*.

4. RESULTADOS

4.1 Selección del efluente general de la industria textil

De acuerdo a la cercanía del lugar, características del agua residual y accesibilidad de la industria para colaborar se seleccionó a la industria Gütermann, que es una empresa fabricante de hilos de coser 100% poliéster y nylon para la Industria de la Confección. Utiliza principalmente colorantes azo.

La tinción de hilos se lleva a cabo mediante la incubación de los carretes en tinas (Foto 1) con volúmenes desde 100 hasta 700 L de acuerdo a los kilogramos de hilo a teñir. Mediante un sistema automatizado se adiciona los colorantes, aditivos y suavizantes para obtener los tonos deseados en condiciones específicas.

El agua residual que se genera proviene de las descargas de los procesos; productivo y de lavado. La descarga general presenta temperaturas elevadas, altas concentraciones de colorantes, así como aditivos químicos.



Foto 1. Preparación y tinción de hilos en tinas de 100 y 700 L

4.2 Caracterización del efluente general de la industria Gutermann.

Los resultados de la caracterización del agua residual de la empresa Gutermann se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1 Caracterización del efluente general de la Industria Gütermann

Parámetro (mg/L)	Valor
DOO	9313
DBO	794
S. Sedimentables	<0.5
SST	20.3
PT	113.5
Sulfatos	1556
N-NH ₃	404

Parámetro (mg/L)	Valor
NT	471
G y A	24.3
Color verdadero (UPtCo)	2000

4.3 Pruebas preliminares

Las pruebas se realizaron utilizando un equipo de jarras. Los resultados muestran que no existe influencia de la VLR, por lo que esta variable queda fija en 200 rpm, las demás variables no mostraron un valor adecuado para definir un solo valor. En promedio se lograron porcentajes de decoloración del 96% y remoción de materia orgánica del 85%. En la tabla 2 se muestran los parámetros y sus rangos que se proponen para ser considerados en el diseño de experimentos.

Tabla 2 Factores y niveles del diseño experimental

Factores	Bajo	Alto	Centro
FeSO ₄ (mg/L)	300	900	450
H ₂ O ₂ (mg/L)	300	900	450
TAR (min)	2	8	5
VAL (rpm)	5	20	15
TAL (min)	30	60	45
SED (min)	60	120	90

Determinación de los parámetros que tienen un efecto sobre la eficiencia del proceso Fenton, así como la obtención de las condiciones de operación óptimas.

El diseño factorial a dos niveles es 2⁶, que proporciona un total de 64 pruebas, a éstas se les adicionaron 6 como centros, por lo que el total es de 70.

La calidad del agua residual que se empleó fue la siguiente: DOO de mg/L y color de UPtCo. Las fotos 2 y 3 muestran el agua residual antes y después del tratamiento con Fenton.

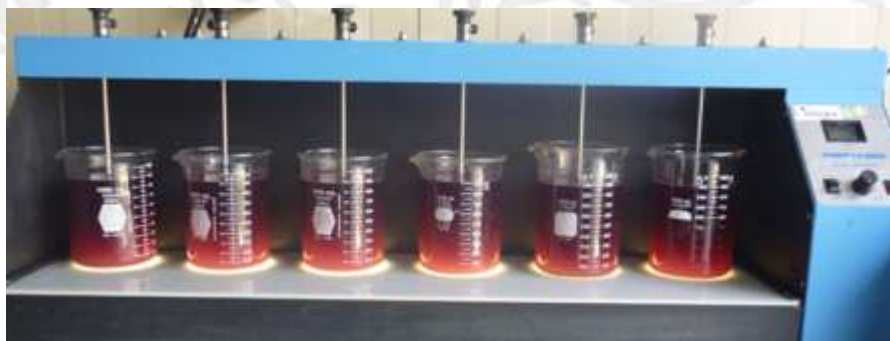


Foto 2. Inicio de la prueba Fenton

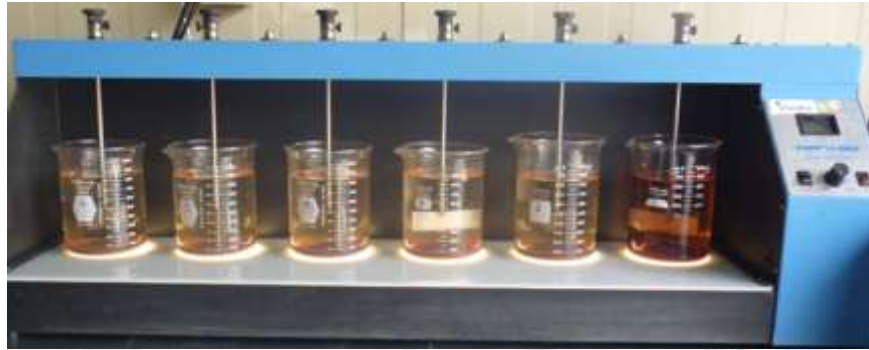


Figura 4.1 Final de la prueba Fenton

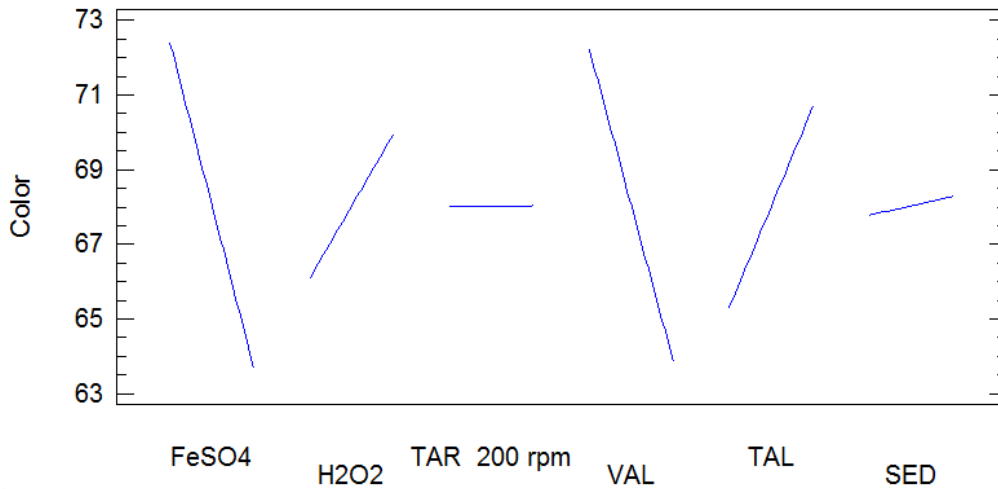
Los resultados que proporcionó el programa STATGRAPHICS Centurion son los siguientes:

Para la remoción del color y de acuerdo al análisis de varianza, las variables significativas son: concentración de FeSO_4 y VAL, además las interacciones: concentración de H_2O_2 con SED, la TAR con VAL y la TAR con TAL. Estas variables o la combinación son significativas con un nivel de confianza del 95.0% (Tabla 3).

Tabla 3 Análisis de Varianza para remoción de color

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: FeSO_4	1218.88	1	1218.88	4.68	0.0345
B: H_2O_2	239.863	1	239.863	0.92	0.3411
C:TAR 200 rpm	0.00140625	1	0.00140625	0.00	0.9982
D:VAL	1123.09	1	1123.09	4.31	0.0421
E:TAL	467.1	1	467.1	1.79	0.1856
F:SED	4.05016	1	4.05016	0.02	0.9012
BF	1184.22	1	1184.22	4.55	0.0371
CD	1882.48	1	1882.48	7.23	0.0093
CE	9469.72	1	9469.72	36.36	0.0000
Error total	15627.8	60	260.463		
Total (corr.)	31217.2	69			

En el gráfico de efectos principales (Gráfica 1) se muestra el comportamiento de cada uno de los factores en sus niveles bajos y altos, observando que ha concentraciones altas de FeSO_4 la eficiencia en la decoloración disminuye de 72.5 a 63.5%, esto puede ser atribuido a un exceso de hierro en la solución aportando color a la muestra. Un efecto similar ocurre con la VAL cuanto mayor es la velocidad de agitación la eficiencia disminuye cerca de un 10%. Mientras que para la concentración de peróxido y el TAL, el comportamiento es inverso, con los niveles altos se obtienen las mejores eficiencias de decoloración. Para poder observar de una manera más grafica los comportamientos de cada uno de los factores se presentan los gráficos de superficie en donde se muestran el efecto significativo de cada nivel en la prueba.



Gráfica 1. Efectos principales para la remoción del color

En la Figura 4.2 se presenta el gráfico de respuesta para las concentraciones de FeSO_4 y H_2O_2 . Se puede observar que los mejores resultados son obtenidos cuando las concentraciones de FeSO_4 son bajas 300 mg/L, como anteriormente se había comentado, mientras que para la concentración de H_2O_2 se requieren del nivel más alto siendo 900 mg/L, dando una relación de 1 a 3, logrando porcentajes de decoloración del 77.5%

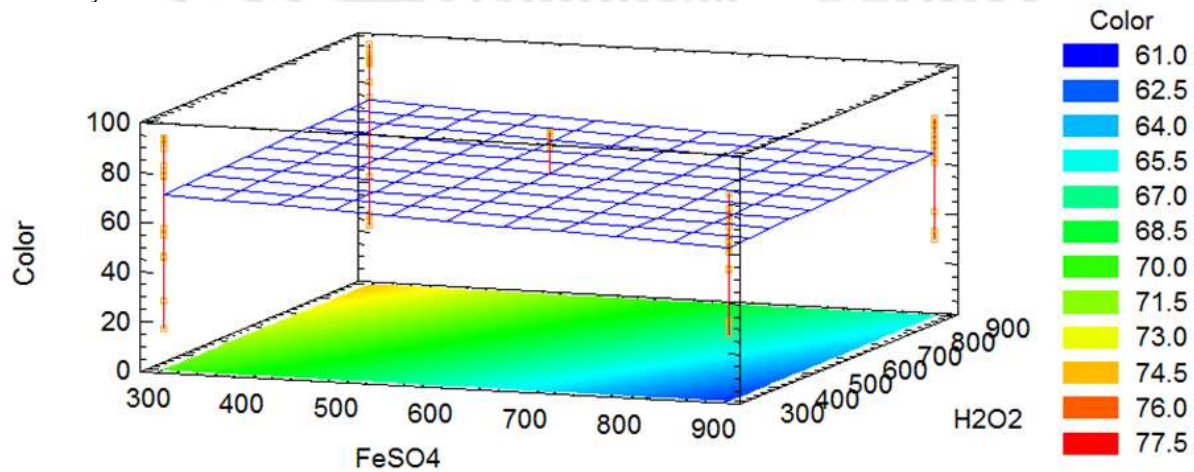


Figura 4.2 Superficie de respuesta estimada para los factores de FeSO_4 y H_2O_2

Para los factores de VAL y TAL se observa un comportamiento similar a los del FeSO_4 y H_2O_2 (Figura 4.3). Siendo la VAL 5 rpm con un TAL de 60 min, los valores que lograron un mayor porcentaje de decoloración. Si la velocidad de agitación aumenta de 5 hasta 20 rpm las eficiencias disminuyen un 16 % esto debido a la influencia que tiene la velocidad de agitación en la formación de los flóculos, si la velocidad aumenta no permite su formación, pudiendo llegar hasta su ruptura. Mientras que para los tiempos de agitación lenta se requiere al menos 60 min a una velocidad de 5 rpm para permitir la formación de flóculos y así generar una mejor sedimentabilidad. Si el tiempo decrece no permite que los flóculos puedan crecer.

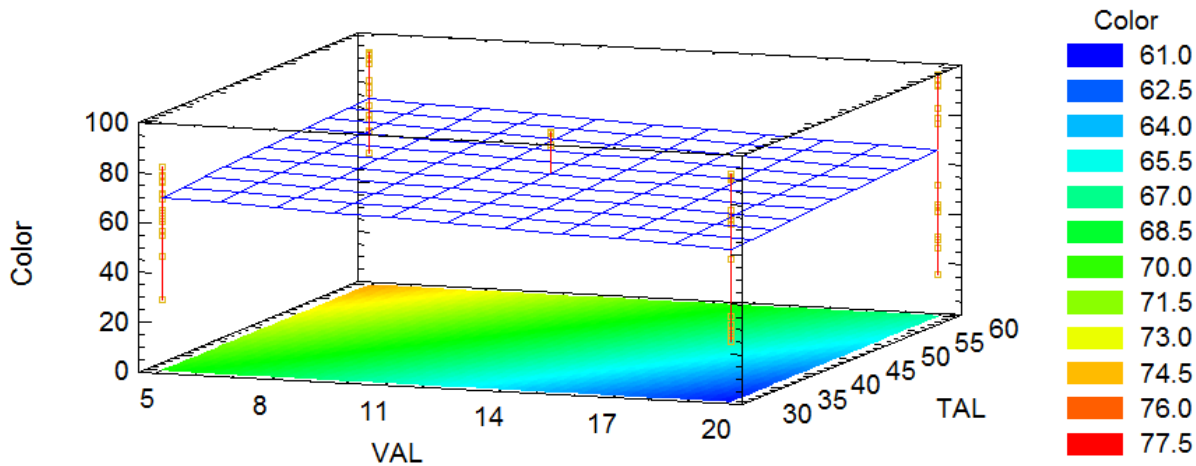


Figura 4.3 Superficie de respuesta estimada para los factores de VAL y TAL

La optimización del proceso para lograr porcentajes de decoloración del 97 se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Optimización del proceso Fenton para la remoción de color

Factor	FeSO ₄ (mg/L)	H ₂ O ₂ (mg/L)	TAR (min)	VAL (rpm)	TAL (min)	SED (min)
Óptimo	300	900	8	5	30	60

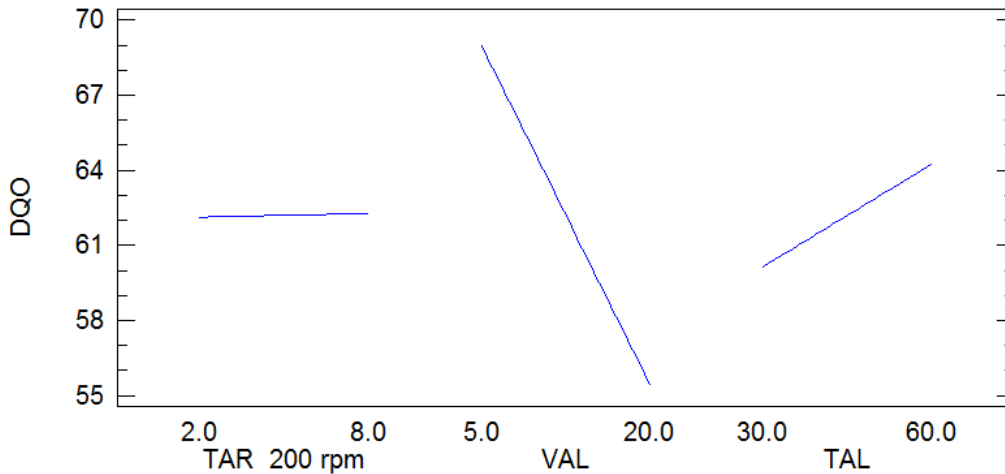
Para la remoción de materia orgánica y de acuerdo al análisis de varianza, las variables significativas son: VAL y las interacciones; TAR con TAL y VAL con TAL. Estas variables o combinaciones son significativas con un nivel de confianza del 95.0% (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis de Varianza para remoción de DQO

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
C:TAR	0.330625	1	0.330625	0.00	09697
D:VAL	2940.35	1	2940.35	12.93	0.0006
E:TAL	269.781	1	269.781	1.19	0.2802
CD	347.823	1	347.823	1.53	0.2208
CE	6666.72	1	6666.72	29.32	0.0000
DE	1046.52	1	1046.52	4.60	0.0358
Error total	14326.2	63	227.4		
Total (corr.)	25597.7	69			

En el gráfico de efectos especiales se muestra el comportamiento de cada uno de los factores en sus niveles bajos y altos (Gráfica 2). Se puede observar que el factor que tiene mayor significancia en el tratamiento es la velocidad de agitación lenta, ya que mientras menor sea este valor contribuirá con la adherencia de las partículas suspendidas para llegar a la formación de flóculos de tal tamaño que pueda sedimentar con facilidad, disminuyendo con esto los sólidos suspendidos que pueden aportar DQO, mientras que TAR y TAL no tienen un efecto significativo ya que la eficiencia de remoción se

mantiene constante en 62%. Para poder observar de una manera más grafica los comportamientos de cada uno de los factores se presentan los gráficos de superficie en donde se muestran el efecto significativo de cada nivel en la prueba.



Gráfica 2. Efectos especiales para la remoción de materia orgánica

Los parámetros óptimos para obtener el máximo porcentaje de remoción de materia orgánica estuvieron influenciados principalmente por los factores de VAL y TAL. Ya estos parámetros repercuten en la remoción de sólidos suspendidos en la solución que puedan contribuir con el aumento o en su caso remoción de DQO.

En la Figura 4.4 se muestra el efecto que tienen los factores trabajando con sus niveles bajos y altos, de acuerdo al gráfico se observa que es necesario agitar durante 60 min a una velocidad de 5 rpm para obtener las mayores eficiencias, logrando porcentajes de remoción de materia orgánica del 74.5 %. Aumentando la velocidad de agitación o disminuyendo el tiempo de agitación los porcentajes decrecen.

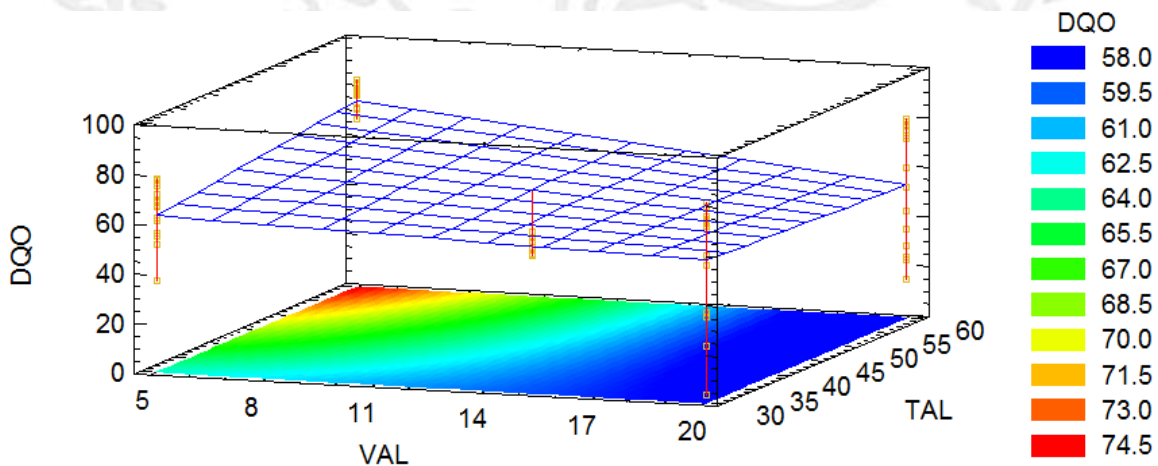


Figura 4.4 Superficie de respuesta estimada para los factores de VAL y TAL

La optimización del proceso para lograr porcentajes de remoción de materia orgánica del 82% se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Optimización del proceso Fenton para la remoción de materia orgánica

Factor	FeSO ₄ (mg/L)	H ₂ O ₂ (mg/L)	TAR (min)	VAL (rpm)	TAL (min)	SED (min)
Óptimo	300	300	2	5	60	120

4.4 Pruebas de toxicidad

Con la finalidad de establecer si el agua residual antes y después del tratamiento químico Fenton es tóxica, se realizaron pruebas de toxicidad empleando la bacteria marina *Vibrio fischeri*. Las muestras analizadas fueron colectadas al inicio y final de la prueba.

La caracterización del agua residual estudiada presentó unidades de color Pt-Co de 6337 y concentraciones de DQO de 4640 mg/L. Las dosis de reactivos empleadas para el tratamiento estuvieron en función de experimentos previamente realizados evaluando concentraciones de FeSO₄ y H₂O₂ de 300-300 y 300-900 mg/L respectivamente. Los porcentajes de decoloración estuvieron en un rango de 96.2 ± 0.4% y remoción de materia orgánica en un 85%.

La descarga de la industria Gütermann presentó 19.105 UT y una CE50% de 5.234. El efluente tratado con 300 mg/L de H₂O₂ presentó una CE50% 5.180 y 19.305 UT. Para la dosis de 900 mg/L la toxicidad aumentó a 91.575 UT y una CE50% de 1.092. Lo anterior muestra que el agua no se hace más tóxica después del tratamiento con Fenton, sin embargo, un exceso de H₂O₂ puede generar una alta toxicidad en el efluente.

5. CONCLUSIONES

- De las pruebas preliminares se estimó que para alcanzar porcentajes de decoloración del 92% y remoción de materia orgánica del 80% se requiere utilizar una relación FeSO₄:H₂O₂ de 1:1, y en el menor de los casos de 1:2.
- Para concentraciones de DQO en el agua residual mayores a 4500 mg/L la relación FeSO₄:H₂O₂ es de 1:3.
- Para optimizar el proceso de tratamiento se realizó un análisis de diseño estadístico, utilizando un diseño factorial a dos niveles y seis factores; dosis de FeSO₄ y H₂O₂, velocidad de agitación lenta (VAL), tiempo de agitación rápida (TAR) y lenta (TAL) y de sedimentación (SED).
- Del diseño experimental se obtuvo que la optimización del proceso en la decoloración del efluente general se logró trabajando con las siguientes condiciones: 300 mg/L FeSO₄, 900 mg/L H₂O₂, 8 min TAR 200 rpm, 5 rpm VAL, 30 min TAL y 60 min SED.
- Para la optimización del proceso en la remoción de materia orgánica se obtuvieron las siguientes condiciones: 300 mg/L FeSO₄, 300 mg/L H₂O₂, 2 min TAR 200 rpm, 5 rpm VAL, 60 min TAL y 120 min SED, para lograr un 82%.
- La prueba de toxicidad mostró que las UT disminuyen después del tratamiento de 19 a 5 UT trabajando con 300 mg/L de FeSO₄ y 300 mg/L de H₂O₂. Sin embargo un exceso de H₂O₂ puede generar un aumento considerable en el resultado final.
- Los resultados de carbón orgánico total muestran que una relación 1:1 de FeSO₄ y H₂O₂ proporciona una remoción del 68.8%.

- Es factible utilizar el proceso Fenton para eliminar color y materia orgánica del agua residual de la empresa Gutermann.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Arslan-Alaton I., Tureli G., Olmez-Hanci T. (2009). Treatment of azo dye production wastewaters using Photo-Fenton-like advanced oxidation processes: Optimization by response surface methodology. *Journal of photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 202, 142-153.
- Bauer R., Fallmann H. (1997). The Photo-Fenton oxidation-A cheap and efficient wastewater treatment method. *Research on chemical intermediates*, 23, 341-354.
- Buitrón, G., Quezada, M., Moreno, J., (2004). Aerobic degradation of the azo dye acid red 151 in a sequencing batch biofilter. *Bioresource Technology*, 92: 143-149.
- Christie, R. M. (2003). *La química del color*. Zaragoza (España), Editorial Acirbia, S.A.
- EPA (1996). *Best Management Practices for pollution prevention in the textile Industry*. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, USA.
- Farias J., Albizzati E. D., Alfano O. M., (2009). Kinetic study of photo-Fenton degradation of formic acid combined effects of temperature and iron concentration. *Catalysis Today*, 144, 1279-1288.
- García-Montaña J. (2007). Tesis doctoral. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for commercial reactive azo dyes removal. Departamento de Química. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Hai, F.I., Yamamoto, K., Fukushi, K., (2007). Hybrid treatment systems for dye wastewater. *Environmental Science Technology*. 37, 315-377.
- Herbst W. y Hunger K. (1997). *Industrial Organic Pigments: Production, Properties, Applications*, John Wiley & Sons, Inc., 2a edition.
- IPPC. (2003). *Integrated Pollution Prevention and control. Reference document on best available techniques for the textiles industry*. European Commission.
- Kaushik, P., Malik, A., (2009). Fungal dye decolorization: Recent advances and future potential. *Environmental International*, 35: 127-141.
- Neyens E., Baeyens J. (2003). A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *Journal of Hazardous Materials*, 98, 33-50.
- Pandey, A., Singh, P., Iyengar, L., (2007). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodegradation and Biodegradation*, 59: 73-84.
- Parag R. C., Aniruddha B. P. (2004). A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. *Advances in Environmental Research*, 8, 501-555.
- Pérez M., Torrades F., Doménech X., Peral J. (2001). Fenton and Photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water Research*, 36, 2703-2710.
- Pérez M., Torrades F., Doménech X., Peral J. (2002). Removal of organic contaminants in paper pulp treatment effluents under Fenton and Photo-Fenton conditions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 36, 63-74.
- Pignatello, J. J., Oliveros, E., MacKay, A. (2006). Advanced oxidation process for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. *Environmental Science Technology*; 31: 2399-2406.
- Rai, H.S., Bhattacharyya, M.S., Singh, J., Bansal, T.K., Vats, P., Banerjee, U.C., (2005). Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: a review of emerging

techniques with reference to biological treatment. *Crit. Rev. Environmental Science Technology*, 35: 219–238.

- Rivas F. J., Beltrán F. J., Gimeno O., Acedo B. (2001). Wet Air Oxidation of wastewater from olive oil mills. *Chemical Engineering Technology*, 24, 415-421.
- Schönberger, H., Schäfer, T., (2002) Best Available techniques in textile industry, Research Report 200 94 329 UBA-FB 000325/e, Federal Environmental Agency, Berlin Germany.
- SEMARNAT-CNA (2004). Estadísticas del Agua en México 2004, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Comisión Nacional del Agua, México.
- Supaka, N., Juntongjin, K., Damronglerd, S., Delia, M. L., Strehaiano, P. (2004). Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. *Chemical Engineering Journal*, 99(2): 169-176.
- Sun, S. P., Li, C. J., Sun, J. H., Shi, S. H., Fan, M. H. & Zhou, Q. (2009). Decolorization of an azo dye Orange G in aqueous solution by Fenton oxidation process: effect of system parameters and kinetic study. *J. Hazard. Mater.* 161(2–3), 1052–1057.
- Torrades F., García-Montaña J., Doménech X., Núñez L., García-Hortal J. A. (2004b). Decolorisation and mineralisation of homo- and hetero-bireactive dyes under Fenton and photo-Fenton conditions. *Coloration Technology*, 120, 188-194.
- Van der Zee, F.P., Villaverde, S., (2005). Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes – a short review of bioreactor studies. *Water Resource*, 39: 1425–1440.
- Wang X., Chen S., Gu X., Wang K.. (2009). Pilot study on the advanced treatment of landfill leachate using combined coagulation, fenton oxidation and biological aerated filter process. *Waste Management*, 29, 1354-1358.
- World Bank Group, (2011). Pollution Prevention and Abatement: Textiles Industry. Draft Technical Back-ground Document. Environment Department, Washington, D. C.
- Zhang H., Choi H.J., Huang C. (2005). Optimization of Fenton process for the treatment of landfill leachate. *Journal of Hazardous Materials*, 125, 166-174
- Zeybek Z. , Yuce Cetinkaya S., Alioglu F., Albaz M. (2007). Determination of optimum operating conditions for industrial dye wastewater treatment using adaptive heuristic criticism pH control. *Journal of Environmental Management*. 85: 404-414.
- Zoellinger H. (2001). *Color Chemistry: Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*. John Wiley & Sons, 3a edición.

5 CONCLUSIONES

La caracterización del agua residual de la empresa Guttermann mostró baja biodegradabilidad al presentar una relación DBO/DOO de 1:12.

Proceso Fenton

- De las pruebas preliminares se estimó que para alcanzar porcentajes de decoloración del 92% y remoción de materia orgánica del 80% se requiere utilizar una relación $\text{FeSO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$ de 1:1, y en el menor de los casos de 1:2.
- Para concentraciones de DOO en el agua residual mayores a 4500 mg/L la relación $\text{FeSO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$ es de 1:3.
- El color del agua residual tratada en promedio fue de 270 UPtCo, con un mínimo de 14 y un máximo de 1130 UPTCo.
- La DOO del agua residual tratada en promedio fue de 447 mg/L, con un mínimo de 94 y un máximo de 1165 mg/L.
- En las pruebas preliminares se observó que la presencia de ciertos aniones inorgánicos tales como: Cl^- y SO_4^- en altas concentraciones provocan una deficiencia en la decoloración y remoción de materia orgánica debido a la inhibición de los radicales OH^\cdot .
- Para optimizar el proceso de tratamiento se realizó un análisis de diseño estadístico, utilizando un diseño factorial a dos niveles y seis factores; dosis de FeSO_4 y H_2O_2 , velocidad de agitación lenta (VAL), tiempo de agitación rápida (TAR) y lenta (TAL) y de sedimentación (SED).
- Del diseño experimental se obtuvo que la optimización del proceso en la decoloración del efluente general se logró trabajando con las siguientes condiciones: 300 mg/L FeSO_4 , 900 mg/L H_2O_2 , 8 min TAR 200 rpm, 5 rpm VAL, 30 min TAL y 60 min SED.
- Para la optimización del proceso en la remoción de materia orgánica se obtuvieron las siguientes condiciones: 300 mg/L FeSO_4 , 300 mg/L H_2O_2 , 2 min TAR 200 rpm, 5 rpm VAL, 60 min TAL y 120 min SED, para lograr un 82%.
- La prueba de toxicidad mostró que un exceso de H_2O_2 puede generar un aumento considerable en las UT.
- Los resultados de carbón orgánico total muestran que una relación 1:1 de FeSO_4 y H_2O_2 proporciona una remoción del 68.8%.
- Las pruebas realizadas en el prototipo mostraron que el escalamiento del tratamiento mantiene constante los porcentajes de decoloración y de remoción de materia orgánica, ya que en promedio se obtuvieron 92 y 81% respectivamente.

Proceso enzimático

- Se estandarizó la obtención de la peroxidasa de residuo industrial.
- Se determinaron las mejores condiciones en el proceso de decoloración del AD2, resultando 5 los factores influyentes en el tratamiento: temperatura 40°C, pH 5.5, tiempo de contacto 200 min, H₂O₂ 200 mol/L y 40 mg/L de AD2.
- La velocidad de oxidación por la enzima para la decoloración del AD2 fue de 5.97 mg/L-h utilizando los parámetros óptimos.
- Se observó que la enzima puede decolorar el AD2 en presencia de aditivos químicos logrando velocidades de degradación de 4.62 mg/L-h.
- Las pruebas de toxicidad con *Vibrio fischeri* mostraron que después del tratamiento enzimático la toxicidad se incrementa, esto se puede atribuir a la formación de subproductos que pueden ser más tóxicos que el colorante.
- De acuerdo a la formulación de una reacción hipotética, se considera que los subproductos generados del tratamiento del AD2 mediante peroxidasa de soya genera principalmente 2 aminas altamente tóxicas, bencidina y 4-aminobifenil.
- El mayor porcentaje de decoloración alcanzado por el tratamiento enzimático empleando un efluente industrial fue del 50%.
- En el proceso no se observó remoción de materia orgánica, ya que al estar presente la enzima suspendida en la solución aportó DQO, para poder removerla se tiene que aplicar procesos de separación mecánica, como filtración o centrifugación.
- De acuerdo a los resultados obtenidos, el tratamiento enzimático puede fungir como un pre tratamiento para ser acoplarlo a otro sistema.
- Para determinar carbón orgánico total es necesario realizar una separación mecánica mediante centrifugación o filtración para retirar la enzima de la solución y poder realizar la estimación, ya que debido a su presencia aumenta considerablemente la concentración al final del tratamiento.
- Al comparar las alternativas de tratamiento y de acuerdo a los porcentajes de decoloración y remoción de materia orgánica, y tiempos de reacción, el proceso Fenton es más efectivo para el tratamiento de las descargas textiles.

6 BIBLIOGRAFÍA

- Aitken, M. D. (1993). Waste treatment applications of enzymes: Opportunities and obstacles. *The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal*. 52: B49–B58.
- Akhtar, S., Khan, A.A. and Husain, Q. (2005a). Partially purified bitter gourd (*Momordica charantia*) peroxidase catalyzed decolorization of textile and other industrially important dyes. *Bioresource Technology* 96: 1804–1811.
- Allegre, C., Maisseu, M., Charbit, F., Moulin, P., (2004). Coagulation–flóculoculation–decantation of dye house effluents. *Journal Hazardous Materials*; B116, 57–64.
- Aleboyeh, A., Ilya, M., Aleboyeh, H. (2009). Oxidative treatment of azo dyes in aqueous solution by potassium permanganate. *Journal Hazardous Materials*; 162, 1530-1535.
- Amjad .A. K. y Qayyum H. (2007). Decolorization and removal of textile and non-textile dyes from polluted wastewater and dyeing effluent by using patato (*Solanum tuberosum*) soluble and immobilized polyphenol oxidase. *Bioresource Technology*, 98: 1012-1019.
- APHA. (2005). *Standard Methods the Examination of Water and Wastewater*. 21a ed. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Pollution Control Federation., Washington D.C. EE UU.
- Arroyave, J., Giraldo, L., Mejía, J. (2008). Empleo del reactivo de Fenton para la degradación del colorante Tartrazina. *Revista Lasallista de investigación*; 6-1.
- Arslan-Alaton I., Tureli G., Olmez-Hanci T. (2009). Treatment of azo dye production wastewaters using Photo-Fenton-like advanced oxidation processes: Optimization by response surface methodology. *Journal of photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 202, 142-153.
- Baborova, P., Moder, M., Baldrian, P., Cajthamlova, K. and Cajthaml, T. (2006). Purification of a new manganese peroxidase of the white-rot fungus *Irpex lacteus*, and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the enzyme. *Resource Microbiology*, 157: 248–253.
- Basheer, S., Kut, O.M., Prenosil, J.E., and Bourne, J.I. (1992). Kinetics of enzymatic degradation of cyanide. *Biotechnology. Bioengineering*. 39; 629–634, 1992.
- Bauer R., Fallmann H. (1997). The Photo-Fenton oxidation-A cheap and efficient wastewater treatment method. *Research on chemical intermediates*, 23, 341-354.
- Bhunia, A., Durani, S., y Wangikar, P. P. (2002). Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes. *Biotechnology and Bioengineering*, 72: 562–567.
- Blánquez, P., Casas, N., Font, X., Gabarrell, X., Sarrà, M., Caminal, G. and Vicent, T. (2004). Mechanism of textile metal dye biotransformation by *Trametes versicolor*. *Water Research*, 38: 2166-2172.

- Buitrón, G., Quezada, M., Moreno, J., (2004). Aerobic degradation of the azo dye acid red 151 in a sequencing batch biofilter. *Bioresource Technology*, 92: 143-149.
- Calderón Alonso A. I. A., Romero G. (2003). Degradación de colorantes textiles utilizando a la peroxidasa de chayote. Tesis en curso. BUAP, Puebla.
- CAM (1998) Manual de minimización, tratamiento y disposición. Concepto de manejo de residuos peligrosos e industriales para el giro textil. Comisión Ambiental Metropolitana. México.
- Campos, R., Kandekbaeur, A., Robra, K.; Cavaco, P.; GÜbitz, G. (2001). Indigo degradation with purified laccases from *Trametes hirsuta* and *Sclerotium rolfsii*. *Journal Biotechnology*, 89: 131–139.
- Cheng, M.M., Ma, W.H., Li, J., Huang, Y.P., Zhao, J.C., (2004). Visible-light-assisted degradation of dye pollutants over Fe(III)-loaded resin in the presence of H₂O₂ at neutral pH values. *Environmental Science Technology*, 38: 1569–1575.
- Christian, V., Shrivastava, R., Shukla, D., Modi, H.A., y Vyas, B.R. (2005). Degradation of xenobiotic compounds by lignin-degrading white-rot fungi: Enzymology and mechanisms involved. *Indian Journal. Exp. Biol*, 43: 301–312.
- Christie, R. M. (2003). *La química del color*. Zaragoza (España), Editorial Acribia, S.A.
- Claus, H., Faber, G., and König, H. (2002). Redox-mediated decolorization of synthetic dyes by fungal laccases. *Applied Microbiol. Biotechnology*. 59: 672–678.
- Cruz, A., Buitrón, G., Ilangovan, K. (1996). Desarrollo de tecnología para el tratamiento de aguas residuales de la industria textil. En X Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Febrero. Toluca, México
- Delee, W., O'Neill, C., Hawkes, F.R., Pinheiro, H.M., (1998). Anaerobic treatment of textile effluents: a review. *Journal Chemistry Technol. Biotechnology*. 73: 323–335.
- Domènech X., Jardim W. F., Litter M. I. (2001). Procesos avanzados de oxidación para la eliminación de contaminantes. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), 3–26.
- Duran, N., and Esposito, E. (2000). Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: A review. *Applied Catalysis. B: Environmental*. 28: 83–99.
- Duran, N., Rosa, M. A., D' Annibale, A., and Gianfreda, L. (2002) Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on different supports: A review. *Enzyme Microbiology. Technology* 31: 907–931, 2002.

- Eibes, G., Lu-Chau, T., Feijoo, G., Moreira, M.T. and Lema, J.M. (2005). Complete degradation of anthracene by manganese peroxidase in organic solvent mixtures. *Enzyme Microbiology. Technology* 37: 365–372.
- EPA (1996). Best Management Practices for pollution prevention in the textile Industry. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, USA.
- EPA (1997). Profile of Textile Industry; Environmental Protection Agency; EUU.
- Farias J., Albizzati E. D., Alfano O. M., (2009). Kinetic study of photo-Fenton degradation of formic acid combined effects of temperature and iron concentration. *Catalysis Today*, 144, 1279-1288.
- Feijoo C. G., Lema R., J. M. y Moreira V. M. (2003). Procedimiento de degradación de compuestos orgánicos presentes en efluentes industriales mediante reactores enzimáticos y su aplicación en la decoloración de tintes industriales. Universidad de Santiago de Compostela. Solicitud de patente.
- Filiz A., Catalkaya, E., Kargi, F. (2008). Advanced Oxidation of Direct Red (DR 28) by Fenton Treatment. *Environmental Engineering Science*; 25- 10.
- Forgacs, E., Cserhati, T., Oros, G., (2004). Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environmental. Int.* 30: 953–971.
- García-Montaña J. (2007). Tesis doctoral. Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for commercial reactive azo dyes removal. Departamento de Química. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Gomes, A., Gonclaves, I., de Pinho, M., (2005). The role of adsorption on nanofiltration of azo dyes. *Journal of Membrane Science*. 255, 157-165.
- Guaratini, C. C. I. y Zanoni, M. V. B. (2000). Textile dyes. *Química Nova* 23(1), 71-78.
- Gudelj, M., Fruhwirth, G.O., Paar, A., Lottspeich, F., Robra, K.H., Cavaco- Paulo, A. and Guebitz, G.M. (2002). A catalase-peroxidase from a newly isolated thermoalkaliphilic *Bacillus* sp. with potential for the treatment of textile bleaching effluents. *Extremophiles*. 5: 423–429.
- Gupta V. K. y Suhas (2009). Application of low-cost adsorbents for dye removal. A review. *Journal of environmental Management*. 90: 2313-2342.
- Hai, F.I., Yamamoto, K., Fukushi, K., (2007). Hybrid treatment systems for dye wastewater. *Environmental. Science Technology*. 37, 315–377.
- Hessel C., Allegre C., Maisseu M., Charbit F., Moulin P. (2007). Guidelines and legislation for dye house effluents. *Journal Environmental Management*, 83: 171-180.
- Herbst W. y Hunger K. (1997). *Industrial Organic Pigments: Production, Properties, Applications*, John Wiley & Sons, Inc., 2a edition.

- Hunger, K., (2003). Industrial dyes: Chemistry, Properties, Applications. Wiley-VCH Weinheim; Cambridge.
- Husain, Qayyum (2006). Potential Applications of the oxidoreductive enzymes in the decoloration and detoxification of textile and other synthetic dyes from polluted water. *Critical reviews in Biotechnology*. 26: 201-221.
- INEGI (2011). La Industria textil y del vestido en México; Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática, México.
- IPPC. (2003). Integrated Pollution Prevention and control. Reference document on best available techniques for the textiles industry. European Commission.
- Jakoby, W.B. (1971). Enzyme purification and related techniques. *Methods in Enzymology*. 273-315.
- **Kabdasli, I., Arslan** -Alaton, I., Vardar B., Tunay, O. (2007). Comparison of electrocoagulation, coagulation and the Fenton process for the treatment of reactive dyebath effluent. *Water Science & Technology* 55:10: 125-134.
- Kalme, S.D., Parshetti, G.K., Jadhav, S.U. and Govindwar, S.P. (2007). Biodegradation of benzidine based dye Direct Blue 6 by *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112. *Bioresource Technology* 98: 1405–1410.
- Kalsoom U, Salman AS, Meetani MA, Rauf MA, Nawaz BH. Mechanistic study of a diazo dye degradation by Soybean Peroxidase. *Chemistry Central Journal* 2013; 7:93.
- Kaushik, P., Malik, A., (2009). Fungal dye decolorization: Recent advances and future potential. *Environmental. Internacional*, 35: 127-141.
- Kim, S. J., y Shoda, M. (1999). Purification and characterization of a novel peroxidase from *Geotrichium candidum* Dec I involved in decolorization of dyes. *Applied Environmental Microbiology*, 65: 1029–1035.
- Kuo G. W. (1992). Decolorizing dye wastewater with Fenton's reagent. *Water Research*, 26, 881-886.
- Lapertot M., Ebrahimi S., Dazio S., Rubinelli A., Pulgarin C. (2007). Photo-Fenton and biological integrated process for degradation of mixture of pesticides. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 187, 40-40.
- Lee, C. Y. y Pennesi, A. P. (1984). Isolation and further characterization of a heat resistant peroxidase isoenzymes from cauliflower. *Journal Food Science*, 4 (6).1616-1617.
- Lee, J. W., Choi, S.-P., Thiruvengkatachari, R., Shim, W.-G., Moon, H., (2006). Evaluation of the performance of adsorption and coagulation processes for the maximum removal of reactive dyes. *Dyes Pigments* 69: 196–203.

- Li, G., Wang, N., Liu, B., Zhang, X. (2009). Decolorization of azo dye Orange II by ferrate (IV)-hypochlorite liquid mixture, potassium ferrate (VI) and potassium permanganate. *Desalination*, 249, 936-941.
- López-Ayala, S. (2004). Degradación de un colorante diazo mediante procesos de oxidación química y biológica. Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental. Programa de Maestría y Doctorado Ambiental. Universidad Nacional Autónoma de México: 91. México, D.F.
- Maddhinni V. L., Hima B.V., y Anjaneyulu Y. (2006). Degradation of azo dye with horse radish peroxidase (HRP). *Journal Indian Inst. Science*. 86: 507–514.
- Marchis T, Avetta P, Bianco PA, Fabbri D, Viscardi G, Laurenti E. Oxidative degradation of Remazol Turquoise Blue G 133 by soybean peroxidase. *J Inorg Biochem*. 2011;105:321-327
- Matto, M., and Husain, Q. (2007). Decolorization of direct dyes by salt fractionated turnip proteins in the presence of hydrogen peroxide and redox mediators. *Chemosphere* 69(2): 338–345.
- McEldoon JP, Dordick JS. Unusual thermal stability of soybean peroxidase. *Biotechnol Progress* 1996; 12:555–558.
- McMullan, G., Meehan, C., Conneely, A., Kirby, N., Robinson, T., Nigam, P., Banat, I. M., Marchant, R. and Smyth, W. F. (2001) Microbial decolorization and degradation of textile dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 56: 81-87.
- Melgoza R. Ma., Cruz A. y Buitrón G. (2004). Anaerobic/aerobic treatment of colorants present in textile effluents. *Water Science and Technology*. 50(2): 149-155.
- **Metcalf y Eddy. (2003). "Wastewater Engineering. Treatment, Disposal, Reuse". Ed. Mc Graw Hill, 4a. Ed. EEUU.**
- Meric, S., Kaptan, D., Tunay, C., (2003). Removal of color and COD from a mixture of four reactive azo dyes using Fenton oxidation process. *Journal Environmental Science Health Part A-Toxic/Hazard. Subst. Environ. Engineering* 38: 2241–2250.
- Mielgo, I., López, C., Moreira, M. T. Feijoo, G. y Lema, J. M. (2003). Oxidation degradation of azo dyes by manganese peroxidase under optimized conditions. *Biotechnology*. 19: 325-331.
- Mishra, A., Bajpai, M., Pandey, S., (2006). Removal of dyes by biodegradable flocculants: a lab scale investigation. *Sep. Science Technology*. 41: 583–593.
- Moeller G. y Garzón M. (2006). Decoloración y reducción de toxicidad de efluentes de la industria química de colorantes y pigmentos. Informe, primera etapa; Instituto Mexicano de Tecnología del Agua, Jiutepec, México.
- Mohan, S.V., Prasad, K.K., Rao, N.C. y Sarma, P.N. (2005). Acid azo dye degradation by free and immobilized horseradish peroxidase (HRP) catalyzed process. *Chemosphere*. 58: 1097–1105.

- Mohsina H. y Khalil R. (2009). Potential applications of peroxidases. *Food Chemistry*, 115: 1177-1186
- Neyens E., Baeyens J. (2003). A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *Journal of Hazardous Materials*, 98, 33-50.
- NOM-001-SEMARNAT-1996. Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales. *Diario Oficial de la Federación*.
- Ollikka, P., Alhomaki, K., Lepparen, V.M., Glumoff, T., Rajola, T. y Suominen, Y. (1993). Decolorization of azo, triphenyl methane, heterocyclic and polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied Environmental Microbiology*. 59: 4010-4016.
- O'Neill C., Hawkes F. R., Hawkes D. L., Lourenço N. D., Pinheiro H. M y Delée, W. (1999). Colour in textile effluents-sources, measurement, discharge contents, and simulation: A review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74: 1009-1018.
- Pandey, A., Singh, P., Iyengar, L., (2007). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodegradation and Biodegradation*, 59: 73-84.
- Papadopoulou, A., Fatta, D., Loizidou, M. (2007). Development and optimization of dark fenton oxidation for the treatment of textile wastewater with high organic load. *Journal Hazardous Materials*; 146: 558-563.
- Parag R. C., Aniruddha B. P. (2004). A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. *Advances in Environmental Research*, 8, 501-555.
- Park, C., Lee, B., Han, E.J., Lee, J. and Kim, S. (2006). Decolorization of Acid Black 52 by fungal immobilization. *Enzyme Microbiology Technology* 39: 371-374.
- Park, C., Lee, M., Lee, B., Kim, S.W., Chase, H.A., Lee, J. and Kim, S. (2007). Biodegradation and biosorption for decolorization of synthetic dyes by *Funalia troglia*. *Biochemical Engineering Journal*. 36: 59-65.
- Pérez M., Torrades F., Doménech X., Peral J. (2001). Fenton and Photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water Research*, 36, 2703-2710.
- Pérez M., Torrades F., Doménech X., Peral J. (2002). Removal of organic contaminants in paper pulp treatment effluents under Fenton and Photo-Fenton conditions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 36, 63-74.
- Pignatello, J. J., Oliveros, E., MacKay, A. (2006). Advanced oxidation process for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. *Environmental Science Technology*; 31: 2399-2406.

- Pramparo, L. (2008). Study of a torus bioreactor for the enzymatic elimination of phenol. Tesis: Universitat Rovira I Virgili.
- Rai, H.S., Bhattacharyya, M.S., Singh, J., Bansal, T.K., Vats, P., Banerjee, U.C., (2005). Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: a review of emerging techniques with reference to biological treatment. *Crit. Rev. Environmental Science Technology*, 35: 219–238.
- Razo-Flores, E., Donlon, B., Field, J., Lettinga, G., (1996). The effect of granular sludge on the strategies to obviate the problem of biological persistence. *Journal Biotechnology*, 94:101-123.
- Rivas F. J., Beltrán F. J., Gimeno O., Acedo B. (2001). Wet Air Oxidation of wastewater from olive oil mills. *Chemical Engineering Technology*. 24, 415-421.
- Robinson T, McMullan G, Marchant R, Nigam P. (2001). Remediation of dye in textile effluents: A critical review on current treatment technologies with proposed alternative. *Bioresearch Technology*. 77: 247-255.
- Rodríguez M. (2003). Tesis doctoral. Fenton and UV-vis based advanced oxidation processes in wastewater treatment: Degradation, mineralization and biodegradability enhancement. Departamento de ingeniería química y metalúrgica. Universidad de Barcelona.
- Rodríguez C., S., Domínguez, A. y Sanroman, A. (2002). Production of manganese-dependent peroxidase in a new solid-state bioreactor by *Phanerochaete chrysosporium* grown on wood shavings: application to the decolorization of synthetic dyes. *Folia Microbiology*. 47: 417–421.
- Rodríguez, L., Tudela, S., J., B. y García C., F. (2002). Extracto de alcachofa (*Cynara scolymus*, L.) y su empleo en la descontaminación de medios contaminados con fenoles, aminas aromáticas, haluros orgánicos y/o metales pesados. Patente 2 167 277. España.
- SAGARPA, (2009). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. Boletín de Agricultura. México D. F.
- Saldaña, F.P., Sandoval, M.J.C., López, L.R. y Salcedo, S.E., (2001). Utilización de un índice de diversidad para determinar la calidad del agua en sistemas loticos. *Ingeniería Hidráulica de México*, 16(2): 57-66.
- Schönberger, H., Schäfer, T., (2002) Best Available techniques in textile industry, Research Report 200 94 329 UBA-FB 000325/e, Federal Environmental Agency, Berlin Germany.
- SEMARNAT-CNA (2004). Estadísticas del Agua en México 2004, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Comisión Nacional del Agua, México.
- SEMARNAT-CONAGUA (2011). Estadísticas del Agua en México 2011, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Comisión Nacional del Agua, México.

- Shaffiqu, T.S., Roy, J.J., Nair, R.A. and Abraham, T.E. (2002). Degradation of textile dyes mediated by plant peroxidases. *Applied Biochemical Biotechnol.* 102–103: 315–326.
- Shi, B.Y., Li, G.H., Wang, D.S., Feng, C.H., Tang, H.X., (2007). Removal of direct dyes by coagulation: the performance of preformed polymeric aluminum species. *Journal Hazardous. Material.* 143: 567–574.
- Siddique, M. H., St. Pierre, C. C., Biswas, N., Bewtra, J. K., & Taylor, K. E. (1993). Immobilized enzyme catalyzed removal of 4-chlorophenol from aqueous solutions. *Water Research.* 27: 883–890.
- Supaka, N., Juntongjin, K., Damronglerd, S., Delia, M. L., Strehaiano, P. (2004). Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. *Chemical Engineering Journal.* 99(2): 169-176.
- Soares, O.S.G.P., O' rfa~o, J.J.M., Portela, D., Vieira, A., Pereira, M.F.R., (2006). Ozonation of textile effluents and dye solutions under continuous operation: Influence of operating parameters. *Journal. Hazardous. Material.* 137: 1664–1673.
- Stolz, A. (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 56: 69-80.
- Sun, S. P., Li, C. J., Sun, J. H., Shi, S. H., Fan, M. H. & Zhou, Q. (2009). Decolorization of an azo dye Orange G in aqueous solution by Fenton oxidation process: effect of system parameters and kinetic study. *J. Hazard. Mater.* 161(2–3), 1052–1057.
- Sundrarajan, M., Vishnu, G., Joseph, K., (2007). Ozonation of light-shaded exhausted reactive dye bath for reuse. *Dyes Pigments* 75: 273–278.
- Tan, N., (2001) Integrated and sequential anaerobic/aerobic biodegradation of azo dyes. PhD thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands.
- Torrades F., García-Montaño J., Doménech X., Núñez L., García-Hortal J. A. (2004b). Decolorisation and mineralisation of homo- and hetero-bireactive dyes under Fenton and photo-Fenton conditions. *Coloration Technology*, 120, 188-194.
- Van der Zee, F.P., Villaverde, S., (2005). Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes – a short review of bioreactor studies. *Water Resource*, 39: 1425–1440.
- van der Zee, F., Cervantes, F., (2009) Impact and application of electron shuttles on the redox (bio) transformation of contaminants: A review. *Biotechnology Advantages*, 27: 256-277.
- Verma, P. y Madamwar, D. (2002). Decolorization of synthetic textile dyes by lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Folia Microbiology.* 47: 283–286.
- Villalobos D. A. y Buchanan I. D. (2002). Removal and aqueous phenol by *Arthromyces ramosus* peroxidase. *Environmental Engineer Science.* 1: 65-73.

- Villegas R. O., Geissler G., Silva H. A., Vergara G. E. (2003). Inmovilización de una peroxidasa de chayote y su potencial aplicación en la remoción de sustancias fenólicas en aguas contaminadas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 19 (2): 73-81.
- Vogelpohl A., Kim S. M.(2004). Advanced Oxidation Processes (AOPs) in wastewater treatment. *Journal Industrial Engineering Chemistry*, 10, 33-40.
- Wagner . y Nicell J. A. (2002). Detoxification of phenolic solutions with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide. *Water Resource*.36:4041 -4052
- Wang, M., Li, H., Wu, J., Huo, Y., Guo, G., Cao, F., (2006a). Flóculoculant for purification of printing and dyeing wastewater. *Univ Shanghai Normal*.
- Wang X., Chen S., Gu X., Wang K.. (2009). Pilot study on the advanced treatment of landfill leachate using combined coagulation, fenton oxidation and biological aerated filter process. *Waste Management*, 29, 1354-1358.
- Weisburger, J. H. (2002) Comments on the history and importance of aromatic and heterocyclic amines in publichealth. *Mutation Research*, 506-507: 9-20.
- World Bank Group, (2011). Pollution Prevention and Abatement: Textiles Industry. Draft Technical Back-ground Document. Environment Department, Washington, D. C.
- Wu, J., Doan, H., Upreti, S., (2008b). Decolorization of aqueous textile reactive dye by ozone. *Chemicals Engineering*. 142, 156–160.
- Wu, H., Fan M., Li, C., Peng, M., Sheng, L., Pan, Q., Song, G. (2010). Kinetic studies on the degradation of crystal violet by the Fenton oxidation process. *Water Science & Technology*- 62.1.
- Yesilada O, Asma D, Cing S. (2003). Decolorization of textile dyes by fungal pellets. *Process Biochemical*. 38: 933-938.
-
- Yu, G., Wen, X., Li, R. and Qian, Y. (2006). In vitro degradation of a reactive azo dye by crude ligninolytic enzymes from nonimmersed liquid culture of *Phanerochaete chrysosporium*. *Process Biochemistry* 41: 1987–1993.
- Yue, Q.Y., Gao, B.Y., Wang, Y., Zhang, H., Sun, X., Wang, S.G., Gu, R.R., (2008). Synthesis of polyamine flóculoculants and their potential use in treating dye wastewater. *Journal Hazardous. Material*. 152: 221–227.
- Zhang H., Choi H.J., Huang C. (2005). Optimization of Fenton process for the treatment of landfill leachate. *Journal of Hazardous Materials*, 125, 166-174
- Zhang, Y., Ma, C., Ye, F., Kong, Y., Li, H. (2009). Treatment of wastewater of paper mill with integrated membrane process. *Desalination*, 236,349-356.

- Zhao, X., Lu, Phillips, D., Hwang, H. y Hardin, I. (2006). Study of biodegradation products from azo dyes in fungal degradation by capillary electrophoresis/electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 1159: 217-224.
- Zhao, X., Lu, Phillips, D., Hwang, H. y Hardin, I. (2006). Study of biodegradation products from azo dyes in fungal degradation by capillary electrophoresis/electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 1159: 217-224.
- Zeybek Z. , Yuce Cetinkaya S., Alioglu F., Alpbaz M. (2007). Determination of optimum operating conditions for industrial dye wastewater treatment using adaptive heuristic criticism pH control. *Journal of Environmental Management*. 85: 404-414.
- Zia, MA. (2002). Standardization of conditions for glucose estimation using indigenously purified enzymes. Thesis de Maestria. Department of Agriculture (Biochemistry). University of Agriculture, Faisalabad.
- Zoollinger H. (2001). *Color Chemistry: Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*. John Wiley & Sons, 3a edición.