



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



Facultad de Biología

Facultad de Ingeniería Civil

Facultad de Ingeniería Química

**Programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería
Ambiental**

Biosorción de Rojo Remazol sobre semilla de guayaba modificada y
su degradación por *Phanerochaete chrysosporium*

Tesis para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

Que presenta la:

Biol. Mónica Martínez Montes

Director de Tesis:

Doctor en Ingeniería Raúl Cortés Martínez

Y co-directora de Tesis:

M.C. Rosenda Aguilar Aguilar

Morelia, Michoacán; Agosto 2015

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores, Raúl Cortés Martínez y Rosenda Aguilar Aguilar por ofrecerme su apoyo y paciencia a lo largo del trabajo.

A los miembros de la mesa Gabriel Martínez Herrera, Ruth Alfaro Cuevas Villanueva y Ma. del Carmen Chávez Parga por su constante participación en las evaluaciones y por sus comentarios que sirvieron para enriquecer el trabajo.

Al Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Al Laboratorio de Investigación y Servicios en Microbiología Acuática de la Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Al Laboratorio de Espectrofotometría de Absorción Atómica del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Al Departamento de Ingeniería Bioquímica y al Dr. Juan Jáuregui Rincón de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por proporcionar la cepa con el hongo para realizar la investigación.

A la empresa textil T-ANNA, S.A. de C.V. del municipio de Zinapécuaro, Michoacán por proporcionarnos el colorante Rojo Remazol Int R-GB utilizado en el presente trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por aceptarme dentro de la beca que permitió mi desarrollo profesional dentro de la maestría.

A la Comisión Nacional Forestal de Michoacán, por su apoyo en los últimos días de la maestría.

A mi familia por estar siempre tan unidos y mostrándome su apoyo incondicional; a Eduardo Ponce por estar siempre conmigo.

A mis amigos, por sus tan buenas explicaciones y los buenos ratos que pasamos juntos a lo largo de la maestría.

DEDICATORIA



A mis padres

ÍNDICE

ÍNDICE	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE GRÁFICAS	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT	vi
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2. JUSTIFICACIÓN.....	1
CAPÍTULO 3. HIPÓTESIS	2
CAPÍTULO 4. OBJETIVOS.....	3
4.1. Objetivo general	3
4.2. Objetivos particulares.....	3
CAPÍTULO 5. MARCO TEÓRICO	4
5.1. El agua.....	4
5.2. Contaminación del agua.....	4
5.3. Colorantes	5
5.3.1. Colorantes textiles	6
5.3.2. Colorantes azoicos.....	7
5.3.3. Propiedades del colorante Rojo Remazol Int R-GB.....	8
5.4. Agua con color, problemática	9
5.5. Tratamientos aplicados al agua con color	10
5.6. Adsorción	11
5.6.1. Biosorción	13
5.7. Cinética de sorción	13
5.8. Mecanismos de remoción.....	14
5.9. Proceso de adsorción.....	15
5.10. Modelos cinéticos de procesos de adsorción.....	15
5.10.1. Modelo cinético de primer orden (Lagergren)	16
5.10.2. Modelo cinético de Elovich.....	16

5.10.3. Modelo cinético de pseudo-segundo orden	17
5.11. Equilibrio de adsorción	18
5.12. Modelos de isothermas de adsorción	19
5.12.1. Isotherma de Freundlich.....	20
5.12.2. Isotherma de Langmuir	21
5.12.3. Isotherma de Langmuir-Freundlich.....	21
5.13. Factores que influyen el proceso de biosorción	22
5.13.1. Temperatura.....	22
5.13.2. pH	23
5.13.3. Sitios de unión	23
5.13.4. Dosis de biosorbente.....	23
5.13.5. Tamaño de partícula	23
5.13.6. Velocidad de agitación	24
5.13.7. Pre tratamiento del biosorbente.....	24
5.14. Biosorbentes lignocelulósicos	25
5.14.1. Lignina	26
5.14.2. Celulosa.....	27
5.14.3. Hemicelulosa.....	28
5.15. Biodegradación de lignina y celulosa.....	29
5.15.1. <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	31
CAPÍTULO 6. ANTECEDENTES	36
6.1. Uso de biosorbentes en la remoción de colorantes.....	36
6.2. Semilla de guayaba como biosorbente	37
6.3. Modificación ácida del biosorbente	39
6.4. Hongos usados en la degradación de colorantes	39
CAPÍTULO 7. METODOLOGÍA.....	41
7.1. Obtención del biosorbente.....	42
7.2. Modificación del biosorbente.....	42
7.2.1. Modificación física del biosorbente	42
7.2.2. Modificación química del biosorbente	42
7.3. Caracterización del biosorbente	43

7.4. Espectroscopía de infrarrojo.....	43
7.5. Microscopía electrónica de barrido	43
7.6. Cinética de biosorción.....	44
7.7. Efecto de la dosis de biosorbente	45
7.8. Efecto del pH.....	46
7.9. Isotermas de biosorción.....	46
7.10. Caracterización de biomasa fúngica.....	47
7.10.1. Medios de cultivo	47
7.10.2. Obtención de inóculos	47
7.11. Preparación de la semilla como sustrato	47
7.12. Degradación del colorante Rojo Remazol Int R-GB en cultivo sólido	48
7.13. Materiales, equipos y reactivos	50
CAPÍTULO 8. RESULTADOS	51
8.1. Espectroscopia de Infrarrojo	51
8.1.1. Espectroscopia infrarroja de semilla natural.....	51
8.1.2. Espectroscopia infrarroja de semilla modificada y natural.....	53
8.1.3. Espectroscopia infrarroja de semilla modificada y con el colorante RR.....	55
8.2. Microscopía electrónica de barrido	56
8.3. Cinética de biosorción.....	61
8.3.1. Modelos cinéticos.....	62
8.3.1.1. Modelos cinéticos para semilla natural	62
8.3.1.2. Modelos cinéticos para semilla modificada	64
8.3.1.3. Parámetros de modelos cinéticos para semilla modificada	65
8.4. Dosis de biosorbente.....	67
8.5. Efecto de pH.....	68
8.6. Isotermas de adsorción.....	69
8.6.1. Modelos de isotermas.....	71
8.6.1.1. Modelos de <i>isoterma</i> 25 °C.....	71
8.6.1.2. Modelos de <i>isoterma</i> 30 °C.....	72
8.6.1.3. Modelos de <i>isoterma</i> 40 °C.....	74
8.6.1.4. Parámetros de modelos isotérmicos	75

8.7. <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	76
8.7.1. Cinética de crecimiento del hongo sobre semilla de guayaba	76
CAPÍTULO 9. CONCLUSIONES	84
CAPÍTULO 10. RECOMENDACIONES	85
LITERATURA CITADA.....	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. a) Estructura química y b) presentación comercial del colorante Rojo Remazol Int R-GB.....	9
Figura 2. Procesos de transporte en adsorción mediante adsorbentes microporosos (Cortés-Martínez, 2007).	15
Figura 3. Clasificación de las isotermas de biosorción: I) Langmuir, II) BET, III y V) Freundlich, IV) Gibbs, VI) Escalonada.	19
Figura 4. Modelos frecuentes de isotermas de adsorción.	19
Figura 5. Estructura compleja de la lignina. a) monómeros de la lignina y tipo de lignina, que forman, b) simplificación de la estructura de la lignina (adaptada de Adler, 1977).....	27
Figura 6. Estructura de la celulosa.	28
Figura 7. Mecanismos de reacción de LiP y MnP en la degradación de la lignina (modificado de Kesrten y Cullen, 2007).	35
Figura 8. Diagrama de bloques de la fase experimental.....	41
Figura 9. a) Semilla natural triturada y tamizada para la modificación física. b) Semilla en contacto con H ₂ SO ₄ , para su modificación química.....	42
Figura 10. Equipo utilizado en la medición en la espectroscopía a) Presurización de las muestras con bromuro de potasio. b) espectrofotómetro FTIR marca Bruker® Modelo Tensor 27.	43
Figura 11. a) Metalización de las muestras a través de un baño con cobre. b) Equipo utilizado para la caracterización, equipo JSPM-5200 Scanning Microscope, Marca: JEOL, Microanálisis (detector): Modelo JEOL JSM-7600F FEG-SEM.....	44
Figura 12. Semilla de guayaba en agitación en contacto con el colorante.	45
Figura 13. Potenciómetro (Hanna pH meter)	46
Figura 14. Obtención de inóculos de <i>P. chrysosporium</i> a) Medición del medio 1cm ² b) Inoculación del medio extraído en PDA.	47
Figura 15. Semilla modificada, natural y con colorante RR a) en el ambiente estéril previo a la inoculación b) semilla inoculada colocada a temperatura de 35°C.	49

Figura 16. Espectroscopia de la semilla de guayaba natural (SN).	51
Figura 17. Espectroscopia de SN (línea azul) y SM (línea negra).	55
Figura 18. Espectroscopia de SM (línea negra) y SMRR (línea rosa)	56
Figura 19. MEB de semilla de guayaba. Las imágenes a y b pertenecen a SN a 500x y la imagen c corresponde a la SN a 1000x. La SM se ve representada por las imágenes d, e (500x) y f (1000x).	57
Figura 20. Mapeo realizado sobre la SM para determinar la presencia de distintos elementos. En a se observa el mapeo general de los elementos a 1000x, b) Mapeo de Carbono 1000x, c) Mapeo de oxígeno, d) Mapeo de Silicio, y e) Mapeo de Azufre.....	57
Figura 21. Elementos presentes en SN (a) y SM (b).	58
Figura 22. Imágenes de MEB obtenidas para la SM con a) 500x, b) 1000x y c) 2500x y la SMRR con d) 500x, e)1000x y f) 2500x.	59
Figura 23. Elementos mayoritarios encontrados en la superficie de SMRR.	60
Figura 24. Crecimiento final del hongo a las 216 h sobre a) semilla natural (SN), b) modificada (SM) y c) con colorante RR (SMRR).....	79
Figura 25. Desarrollo del hongo <i>P.chrysosporium</i> sobre la semilla de guayaba con colorante RR.a) hongo a tiempo cero; b) hongo al día dos; c) hongo al día cuatro; d) hongo al día seis; e)hongo al día nueve.....	80
Figura 26. Imágenes de MEB de la semilla de guayaba: a) SM (x2500), b) SMRR (x2500) y c) SMRR en contacto con el hongo (x2000)	81
Figura 27. Comparación visual de la SMRR a) antes del contacto con el hongo y b) después del contacto con el hongo con tamaño de partícula de 250 μm	82
Figura 28. Comparación de la SMRR antes (a) y después (b) del contacto con el hongo. ..	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los colorantes (Austin, 1992).....	5
Tabla 2. Grupos auxócromos (Austin, 1992).	6
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>P. chrysosporium</i>	31
Tabla 4. Propiedades biológicas de <i>P. chrysosporium</i> (Kullman y Matsumura, 1996; Hawari y cols., 1999; Cameron y cols., 2000; Reddy y Gold, 2000).	32
Tabla 5. Ejemplos de materiales de desecho agrícola que han sido utilizados en la remoción de colorantes (Sharma, 2011).	37
Tabla 6. Reportes de colorantes degradados por <i>P. chrysosporium</i> (Banat y cols., 1996). .	40
Tabla 7. Materiales, reactivos y equipos utilizados en el trabajo.	50
Tabla 8. Bandas de absorción de FTIR para la semilla de guayaba natural (modificada de Vazquéz-Guerrero, 2014).	52
Tabla 9. Parámetros cinéticos.	66
Tabla 10. Parámetros obtenidos para los distintos modelos.	76

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Cinética de adsorción del colorante RR con 1 g de biosorbente, el punto azul indica el tiempo de equilibrio (360 minutos) con 96 % de remoción.....	61
Gráfica 2. Ajuste a los modelos cinéticos para semilla natural.	63
Gráfica 3. Ajuste a los modelos cinéticos para la semilla modificada.	65
Gráfica 4. Efecto de la cantidad de biosorbente sobre la remoción de RR.	67
Gráfica 5. Efecto de pH en la remoción de RR 20 mg/L.	69
Gráfica 6. Valores de q_e y C_e obtenidos para isoterma 40 °C con pH 8 (línea roja con guiones), para la isoterma 30 °C con pH 8 (línea azul continua) y para la isoterma 25°C con pH de 6 (línea verde punteada).....	70
Gráfica 7. Ajuste a los modelos isotérmicos para la isoterma a 25 °C con pH de 6.....	72
Gráfica 8. Ajuste a los modelos isotérmicos para la isoterma 30°C con pH de 9.	73
Gráfica 9. Ajuste los modelos de isotermas para isoterma 40 °C con pH de 9.	74
Gráfica 10. Crecimiento de <i>P. chrysosporium</i> sobre semilla de guayaba, durante 216 horas.	78

RESUMEN

A pesar de que los colorantes son uno de los desechos más difíciles de tratar, son altamente utilizados. En la industria textil, la concentración de colorante en el agua residual va desde 100 hasta 500 mg/L. Dentro de los métodos existentes para tratar el agua con color se encuentra la adsorción, la cual es considerada una de las mejores técnicas debido a su bajo costo, simplicidad de diseño, alta eficiencia de descontaminación y la habilidad de tratar aguas con altos niveles de concentración de colorantes. El uso de desechos agrícolas en la adsorción está teniendo mucho auge en la remoción de contaminantes.

La semilla de guayaba, la cual representa el 4% del peso total de la guayaba, está constituida en su mayoría por celulosa y lignina. Anteriormente, ha sido utilizada exitosamente en la remoción de contaminantes en soluciones acuosas tales como tartracina, colorante azul No. 1, rojo No. 6, cromo VI, fluoruros, entre otros.

Con la finalidad de no cambiar el contaminante de un medio líquido a un medio sólido, se trabajó con el hongo *Phanerochaete chrysosporium*, el cual ha sido utilizado anteriormente por su capacidad de degradar distintos compuestos lignocelulósicos y otros compuestos orgánicos, como los colorantes de tipo azo.

En el presente trabajo se evaluó la capacidad de remoción del colorante Rojo Remazol Int R-GB (RR) por parte de la semilla de guayaba natural (SM) y modificada (SM) con ácido sulfúrico (H_2SO_4), realizando la caracterización del material, cinéticas de adsorción, experimentos de dosis de semilla, influencia de pH e isothermas de adsorción, con la finalidad de encontrar los parámetros para la óptima remoción del colorante. Posterior al trabajo de remoción de soluciones acuosas se trabajó en sólido para degradar el colorante de la semilla con el hongo *P. chrysosporium*.

Se encontró remoción del colorante de hasta 96% en 6 horas con SM y de 70% en 4 horas con SN, con dosis óptima de biosorbente de 1 g a pH de 6. Se encontró, que la adsorción en el sistema semilla-colorante se ve beneficiada en altas temperaturas y esta no presenta alta sensibilidad en la modificación de pH. Por otro lado, se encontró que el hongo presenta crecimiento únicamente sobre la semilla que contiene el colorante RR, mostrando una disminución del color después de estar en contacto con el mismo.

Palabras clave: Semilla, guayaba, colorante, Rojo Remazol, *Phanerochaete chrysosporium*.

ABSTRACT

Even though dyes are one of the hardest wastes to remove from water, they are very used all over the world. In the textile industry, the concentration of dyes in wastewater is from 100 to 500 mg/L. Within the different methods to remove dyes from water is included the adsorption. Adsorption is considered one of the best techniques because its low cost, is simple in design, it has high decontamination efficiency and the ability to treat water with high levels of pollutants. Nowadays, the use of agricultural wastes in adsorption is having a big peak in pollutants removal.

Guava seed, which represent 4% of total guava weight, it's made, in its majority, from lignin and cellulose. The guava seed has been used in the removal of different pollutants in water solutions such as tartrazine, Blue No. 1, Red No. 6, Cr VI, fluoride, etc.

With the purpose of not only changing the pollutant from aqua solution to a solid medium, the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*, that has been used for its ability of degrade different lignocellulosic compounds and other organic compounds, as azo dyes.

Material characterization, sorption kinetics, seed doses, pH influence and sorption isotherms were made to evaluate the natural guava seed (SN) and modified guava seed (SM) ability of removing Red Remazol Int R-GB (RR). After this, the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* was used to degrade the dye RR contained in the SM.

A 96% dye removal was found after 6 hours of contact with SM, and 70% removal after 4 hours of contact with SN. The optimal dose was 1 g. The system seed-dye is very influenced by temperature, finding greatest removal at high temperatures. And this system is not influenced by pH changes. In the other hand, the basidiomycete has the ability of growing only on the SM, showing a reduction of color after being in contact with the fungus.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El agua no se encuentra 100% disponible para nuestro uso, ya que 97% del agua de la Tierra es agua salada (Manahan, 2007). El agua dulce constituye aproximadamente el 3% y de éste la mayor parte se encuentra en forma de hielo y nieve (Dickson, 2008).

A pesar de ser muy escasa, su contaminación parece inevitable. La contaminación por causas antropogénicas, se debe fundamentalmente al vertido sobre las mismas de efluentes cargados de contaminantes, dando lugar a la contaminación física, biológica y química del agua (Ruza, 1993), esta última se clasifica como orgánica o inorgánica. Dentro de los contaminantes químicos orgánicos se encuentran los colorantes.

Químicamente los colorantes son sustancias orgánicas con una estructura molecular no saturada, casi siempre con anillos aromáticos (Austin, 1992), esto los hace electrónicamente inestables y por eso absorben energía a determinada longitud de onda. Los colorantes imparten color a una variedad infinita de materiales y pueden dividirse en tintes (colorantes) y pigmentos. Los tintes son solubles en el medio en el cual son aplicados, la consecuencia principal de esto es que tienden a absorber la luz y no a dispersarla; por otro lado los pigmentos son insolubles en el medio de aplicación, por lo que absorben y dispersan la luz (Harpreet y cols., 2005; Salinas, 2011).

Los colorantes cada día son más usados en la industria, por lo que se ha optado por el uso de diferentes compuestos sintéticos y/o naturales para colorear los productos. Los colorantes naturales, son extraídos de la naturaleza y por otro lado, los colorantes sintéticos se obtienen mediante procesos químicos en las industrias (Badui, 1999).

Entre los desechos en el agua residual de las industrias, los colorantes son uno de los problemas más difíciles de tratar. Se sabe que existen más de 100 000 colorantes con una producción de aproximadamente 7×10^5 toneladas por año (Meyer, 1981; Zollinger, 1987). La concentración de colorantes en el agua residual de las empresas textiles puede variar de 100 a 500 mg/L (Gonzales y cols., 2008).

INTRODUCCIÓN

Dentro de los muchos tratamientos existentes para tratar el agua con color se encuentra la adsorción, la cual se considera que es superior a otras técnicas debido a su bajo costo, simplicidad de diseño, alta eficiencia de descontaminación y la habilidad de tratar aguas con altos niveles de concentración de colorantes (Ponnusami y cols., 2007).

La biosorción surge como una alternativa para buscar materiales adsorbentes que sean económicos y de fácil aplicación. Es un proceso biológico de control ambiental el cual consiste en la remoción de contaminantes basado en la propiedad de ciertos tipos de biomasa viva o muerta, a través de fenómenos físicos y químicos (Obelholser y McGarrity, 1992).

La semilla de guayaba contiene en su mayoría celulosa y lignina (Bourgeois y cols., 1988), por lo que para su degradación a través de métodos naturales se toman en cuenta mecanismos capaces de degradar dichos componentes.

La biodegradación de los componentes celulíticos y lignolíticos es comúnmente entendida como un proceso enzimático. Muchos hongos celulíticos y lignolíticos hacen uso de una gran cantidad de hidrolasas que son capaces de producir monosacáridos en grandes cantidades.

CAPÍTULO 2. JUSTIFICACIÓN

El trabajo de investigación queda plenamente justificado debido a que actualmente las técnicas aplicadas para el tratamiento de aguas con color pueden presentar algunas limitaciones en su uso, por lo que se está optando por la búsqueda de adsorbentes que disminuyan costos, que sean de simple diseño y, que presenten bajo costo y alta eficiencia de adsorción. Y los adsorbentes de desechos agrícolas han demostrado ser adsorbentes capaces, cumpliendo con dichas características. De igual forma, la degradación del colorante permite que el contaminante sea eliminado del adsorbente, evitando así la acumulación del contaminante en un medio sólido.

CAPÍTULO 3. HIPÓTESIS

Al modificar la semilla de guayaba con ácido sulfúrico, se aumenta la capacidad de retención del colorante Rojo Remazol Int R-GB; así mismo, el hongo *Phanerochaete chrysosporium* es capaz de degradar el colorante contenido en la semilla de guayaba modificada.

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Estudiar la biosorción del colorante Rojo Remazol Int R-GB (RR) sobre la semilla de guayaba modificada con ácido, y estimar posteriormente la degradación del colorante por el hongo *Phanerochaete chrysosporium* sobre el sistema semilla modificada-colorante.

4.2. Objetivos particulares

- Evaluar la cinética de biosorción del colorante RR, en dos condiciones: con semilla de guayaba natural y con semilla modificada con ácido sulfúrico (H_2SO_4).
- Evaluar la dosis de biosorbente necesaria para la óptima remoción del colorante RR.
- Evaluar la influencia del pH en el proceso de adsorción del RR con semilla de guayaba modificada con H_2SO_4 .
- Determinar los parámetros de equilibrio del proceso de remoción del colorante RR con semilla natural y modificada con H_2SO_4 .
- Establecer la cinética de crecimiento del hongo *Phanerochaete chrysosporium* en semilla natural, modificada y modificada conteniendo el colorante RR.
- Determinar la existencia de degradación del colorante por parte del hongo sobre la semilla de guayaba conteniendo el colorante RR.

CAPÍTULO 5. MARCO TEÓRICO

5.1. El agua

El agua es un disolvente excelente para varias sustancias, incluyendo las sales, ácidos, bases y sustancias que tienen átomos de H, O y N capaces de formar enlaces de hidrógeno. En consecuencia, es el disolvente en los fluidos biológicos como la sangre y la orina; actúa desgastando a los minerales y transportándolos disueltos por la geósfera; transporta los nutrientes a las raíces de las plantas en el suelo, y tiene muchos usos industriales. El agua en forma líquida tiene una tensión superficial muy alta, como en las gotas de lluvia. Por su transparencia a la luz visible y a la fracción de la radiación ultravioleta de mayor longitud de onda, permite que ocurra la fotosíntesis en las algas suspendidas bajo la superficie del agua (Manahan, 2007).

5.2. Contaminación del agua

La contaminación del agua por causas antropogénicas, se debe fundamentalmente al vertido de efluentes cargados de contaminantes como sólidos disueltos y en suspensión, materias orgánicas biodegradables, nitratos y fosfatos, aceites y petróleo, metales pesados, gérmenes patógenos, calor y otros, dando lugar a la contaminación física, química y bacteriológica (Ruza, 1993). De acuerdo a su naturaleza podemos clasificar a los contaminantes en biológicos, químicos y físicos:

- *Contaminantes biológicos*: organismos que causan enfermedades, entre las cuales destacan tifoidea, salmonelosis, disentería, cólera y helmintiasis. Los agentes que las causan entran al agua a través de las heces fecales de humanos o de animales.
- *Contaminantes químicos*: provienen de los drenados de minas, desechos solubilizados de la agricultura, derrames de petróleo, plaguicidas, aguas residuales municipales, desechos industriales y compuestos radiactivos. Algunos son desechados directamente, otros se forman por la reacción de diversos compuestos en el agua y, por último, una pequeña fracción se forma durante el tratamiento del agua

residual, cómo pueden ser los compuestos organoclorados. Pueden ser de origen natural o antropogénico.

- * *Contaminantes físicos*: son alteraciones de las propiedades físicas del agua, tales como temperatura, color, etc. (Jiménez, 2002).

5.3. Colorantes

Químicamente los colorantes son sustancias orgánicas solubles en medios ácidos, básicos o neutros, que poseen una estructura molecular no saturada, casi siempre con anillos aromáticos (Austin, 1992), es decir, son electrónicamente inestables y por eso absorben energía a determinada longitud de onda. Los colorantes imparten color a una variedad infinita de materiales (descritos técnicamente como sustratos) y pueden dividirse en tintes (comúnmente llamados colorantes) y pigmentos. Los tintes son solubles en el medio en el cual son aplicados, la consecuencia principal de esto es que tienden a absorber la luz y no a dispersarla; por otro lado los pigmentos son insolubles en el medio de aplicación, por lo que absorben y dispersan la luz (Harpreet y cols., 2005; Salinas, 2011).

Los tintes y los pigmentos, constan de una estructura que produce color, ya que altera las bandas de absorción en el espectro visible (380 a 780 nm de longitud de onda) denominado *grupo cromóforo*, el cual es la base del método de clasificación de los colorantes. En la Tabla 1 se mencionan algunos grupos.

Tabla 1. Clasificación de los colorantes (Austin, 1992)

Grupo	Estructura
Nitroso	-NO o =N-OH
Nitro	-NO ₂ o =NOOH
Azoico	-N=N-
Etilénico	=C=C=
Carbonilo	=C=O
Carbono-Nitrógeno	=C=NH y -CH=N
Carbono-Azufre	=C=S y =C-S-S=

Unido a la estructura del colorante se encuentra otro grupo, denominado *grupo auxócromo*, que le confiere la solubilidad del colorante y en la mayoría de los casos, causa la adherencia de éste al material que colorea ya sea al formar una combinación química con la sustancia que tiñe, o bien, uniéndose a ésta físicamente (Austin, 1992); en la Tabla 2 se presentan los principales grupos auxócromos.

Tabla 2. Grupos auxócromos (Austin, 1992).

Grupo	Estructura
Amina	-NH ₂ y -NR ₂
Hidroxil	-OH
Carboxil	-COOH
Sulfónicos	-SO ₃ H

5.3.1. Colorantes textiles

Los colorantes son usados en una amplia rama de las industrias, tal es el caso de las industrias textiles, donde día a día son utilizadas toneladas de colorantes.

En la industria textil, comúnmente después de un proceso típico de teñido, permanece una gran variedad de sustancias químicas contaminantes, entre ellas los colorantes que no se fijan a las fibras textiles (Tuesta y cols., 2005).

La presencia de incluso bajas concentraciones de colorantes en el efluente es altamente visible (Nigam y cols., 2000). Existen cerca de 100, 000 colorantes comercialmente disponibles con más de 7×10^5 toneladas de colorantes producidas anualmente, de las cuales entre el 5-10% participa en la descarga del efluente (Meyer, 1981; Zollinger, 1987). Debido a su estructura química, los colorantes son resistentes a deteriorarse con la luz, agua y sustancias químicas diversas (Poots y McKay, 1976). Muchos colorantes son difíciles de decolorar debido a su compleja estructura y su origen sintético. De acuerdo a su naturaleza química existen colorantes ácidos, básicos, azo, diazo, de antroquinona y de complejos metálicos.

5.3.2. Colorantes azoicos

Entre las clases de colorantes que son empleados comúnmente en las industrias son los colorantes tipo azoicos, antraquinona, sulfúricos y trifenilmetano. Sin embargo, es importante mencionar que la gran mayoría de los colorantes comúnmente usados en la industria son del tipo *azoicos* (Forgacs y cols., 2004).

Los colorantes azoicos son la clase más amplia y versátil, debido a su facilidad de síntesis y a su gran variedad de aplicaciones, conforman más del 50% de los colorantes utilizados en el mercado, (Forgacs y cols., 2004) lo cual indica que también son la clase de colorantes que se encuentran en mayor proporción en el agua residual industrial.

La representación química simplificada de los colorantes tipo azoico es: $R_1-N=N-R_2$, donde R_1 y R_2 representan grupos orgánicos y $-N=N-$ al grupo azoico. Los colorantes azoicos se han cuestionado reiteradamente, debido a que muchos colorantes de esta familia han demostrado ser cancerígenos en experimentos con animales. Una diferencia fundamental es que los colorantes cancerígenos son poco polares, solubles en grasas, y atraviesan con cierta facilidad la barrera intestinal, incorporándose al organismo. En cambio, los colorantes autorizados, que son muy polares y solubles en agua, no se absorben (Calvo, 2013).

Los colorantes azoicos son muy coloridos debido al enlace $-N=N-$ entre anillos aromáticos, el cual extiende la conjugación en los sistemas π dando por resultado una fuerte absorción en la región visible. Se han preparado compuestos azoicos de casi cualquier color con diversos sustituyentes en los anillos aromáticos.

Los colorantes azoicos fueron los primeros agentes sintéticos de colores firmes, que se emplearon para teñir lana, algodón y alimentos, gracias a esto poseen un gran campo de aplicación en la industria, sin embargo su única desventaja, es que en su mayoría se encuentran en tonalidades rojas (Salinas, 2011).

Existen aproximadamente 300 tipos diferentes de colorantes azoicos (Zollinger, 1987), que como característica particular han sido identificados como compuestos problemáticos, ya

que son altamente solubles y no son fácilmente degradados en medio aerobio. Ejemplo de colorantes azoicos son el azul brillante remazol, rojo remazol, cristal violeta, rojo congo, naranja ácido 7, carmín índigo, negro reactivo 5, entre muchos otros (Vandevivere y cols., 1998).

Los colorantes azoicos son conocidos por ser recalcitrantes y altamente tóxicos. La presencia de estos colorantes y sus metabolitos en efluentes industriales mal tratados causa reducción de la penetración de la luz solar a los cuerpos de agua, lo cual provoca a su vez disminución de la actividad fotosintética, una disminución el oxígeno disuelto y afección a la calidad del agua; además de los efectos tóxicos que se tienen sobre la flora y la fauna, causando problemas ambientales alrededor del mundo (Vandevivere y cols., 1998).

5.3.3. Propiedades del colorante Rojo Remazol Int R-GB

El colorante Rojo Remazol Int R-GB (RR) es un colorante tipo azoico, debido a la presencia del doble enlace entre Nitrógenos, su estructura (Figura 1a) sugiere la presencia del grupo auxócromo sulfónico ($-\text{SO}_3\text{H}$) (Jadhav y cols., 2011). Este colorante es el resultado de la unión de dos colorantes reactivos aniónicos, bifuncionales de tipo monoazo. Su máxima absorbancia en espectrofotómetro se observa en la longitud de 521 nm (Toh y cols., 2003)

Éste colorante es altamente utilizado en la industria textil, sobre todo en la tinción del algodón.

En su forma comercial (Figura 1b) se presenta como polvo color café rojizo, el cual al ponerse en contacto con el agua toma una tonalidad rojo intenso.

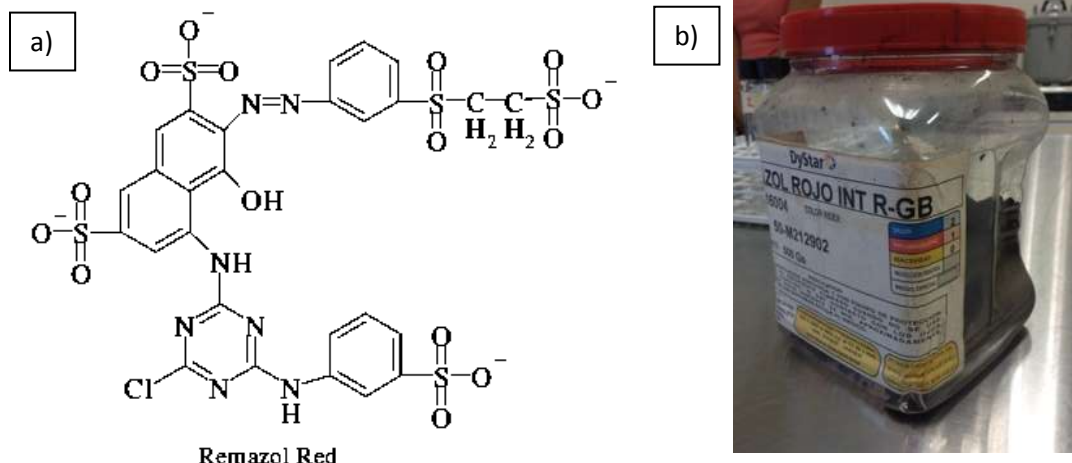


Figura 1. a) Estructura química y b) presentación comercial del colorante Rojo Remazol Int R-GB.

5.4. Agua con color, problemática

Entre los desechos en el agua residual de las industrias, los colorantes son uno de los problemas más difíciles de tratar. Esto debido a que usualmente son de origen sintético y una estructura compleja con anillos aromáticos lo cual los hace más estables y más difíciles de ser biodegradados. Esta reportado que existen más de 100 000 colorantes en el mercado con una producción de aproximadamente 7×10^5 toneladas por año (Meyer, 1981; Zollinger, 1987).

En la industria textil, el color es aplicado directamente sobre las fibras durante el proceso de tinción, pero no todo el colorante aplicado queda retenido en ellas. Alrededor del 30% de los colorantes sintéticos consumidos en procesos textiles quedan remanentes en las aguas (Lizama y cols., 2002). La concentración de colorantes en el agua residual de las empresas textiles puede variar de 100 a 500 mg/L (Gonzales y cols., 2008).

La contaminación del agua por colorantes es un problema mundial, particularmente en la industria textil, de flores, de alimentos y de medicinas donde grandes cantidades son descargadas en el proceso de tinción. Además del impacto visual que los colorantes tienen sobre el medio, éstos afectan en la transparencia y solubilidad de gases en los cuerpos de agua, presentan una elevada carga orgánica, alta persistencia, algunos suelen ser tóxicos y presentan una elevada demanda bioquímica de oxígeno. Por otro lado, su efecto principal

sobre la vida acuática tiene que ver con la limitación en la actividad fotosintética y en la toxicidad sobre algunos animales por la presencia de compuestos aromáticos, halógenos o metales. La mayoría de los colorantes son tóxicos y posiblemente cancerígenos al ser fabricados con benceno, por ejemplo. Por esta razón, se han buscado diferentes formas para la remoción de estos contaminantes. Sin embargo, debido a su diversa y compleja naturaleza reactiva, la estabilidad química de los colorantes los convierte en compuestos difíciles de tratar (Ho, 2006; Hormaza y Suárez, 2009; Banat y cols., 1996).

5.5. Tratamientos aplicados al agua con color

Los tratamientos de aguas con color comprenden tres métodos fundamentales: *biológicos*, *químicos* y *físicos* (Che, 2011).

Diversas tecnologías han sido desarrolladas y probadas en sistemas de tratamiento de efluentes industriales coloreados. En general, los tratamientos biológicos no son eficientes para tratar grandes volúmenes de efluentes, mientras que los procedimientos fisicoquímicos han sido comúnmente usados.

De igual forma, ambos tratamientos (biológicos y fisicoquímicos) presentan algunas limitaciones en su uso como la generación de lodos, elevado costo de operación y de reactivos y posible generación de subproductos solubles usualmente más tóxicos, por lo que su uso es limitado. Existe entonces una justificada necesidad de búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento que sean económicas y técnicamente competitivas. Entre los procesos fisicoquímicos usados se encuentran:

- *Floculación*. La floculación es un proceso químico mediante el cual, con la adición de sustancias llamadas *floculantes*, se aglutinan las partículas coloidales presentes en el agua para formar agregados que puedan ser eficientemente removidos en procesos de separación subsecuentes como la sedimentación, flotación y la filtración granular. Es un paso del proceso de potabilización de aguas de origen superficial y del tratamiento de aguas servidas domésticas, industriales y de la

minería. Para que ocurra una floculación eficiente, la suspensión debe ser desestabilizada.

- *Precipitación.* Reacción que ocurre cuando una sustancia insoluble se forma en la disolución debido a una reacción química o a que la disolución ha sido *sobresaturada* por algún compuesto, esto es, que no acepta más soluto y que al no poder ser disuelto, dicho soluto forma el precipitado. En la mayoría de los casos, el precipitado (el sólido formado) baja al fondo de la disolución, aunque esto depende de la densidad del precipitado: si el precipitado es más denso que el resto de la disolución, desciende. Si es menos denso, flota, y si tiene una densidad similar, se queda en suspensión.
- *Oxidación química avanzada.* En estos procesos los compuestos orgánicos pueden ser completamente mineralizados a dióxido de carbono y agua, debido principalmente a la formación de radicales hidroxilo. Estos radicales son capaces de oxidar compuestos orgánicos principalmente por abstracción de oxígeno o por adición electrofílica a dobles enlaces generándose radicales orgánicos libres (R^\bullet) que reaccionan a su vez con moléculas de oxígeno formando un peroxi-radical, iniciándose una serie de reacciones de degradación oxidativa que pueden conducir a la completa mineralización de los contaminantes. En el caso de los microorganismos, los radicales atacan la doble capa lipídica, generando reacciones de peroxidación lipídica letales para el microorganismo.
- *Adsorción.*

5.6. Adsorción

Dentro de los muchos tratamientos existentes para tratar el agua con color se encuentra la adsorción, la cual se considera que es superior a otras técnicas debido a su bajo costo, simplicidad de diseño, alta eficiencia en la descontaminación y habilidad para tratar aguas con altos niveles de concentración de colorantes (Ponnusami y cols., 2007).

La adsorción es un proceso de separación que se basa en la capacidad que tienen ciertos sólidos para remover en forma preferencial componentes líquidos (o gaseosos) de una corriente. Las moléculas del agua contaminante, se acumulan en la superficie del material

MARCO TEÓRICO

sólido. Al medio adsorbente sólido se le llama con frecuencia *adsorbente*, mientras que al líquido adsorbido se le llama *adsorbato*.

El proceso actual de adsorción se clasifica como *adsorción física* o *adsorción química*. En la adsorción física, las moléculas del líquido se adhieren a la superficie del adsorbente sólido como resultado de las fuerzas atractivas intermoleculares entre ellas fuerzas de van der Waals. La ventaja de la adsorción física se apoya en el hecho de que la adsorción es reversible. La adsorción química, por otro lado, es el resultado de la interacción entre el *adsorbente* y el *adsorbato*, en donde median enlaces químicos, tales como los covalentes o los iónicos, la fuerza de unión asociada con este tipo de adsorción es mucho más fuerte que para la adsorción física. El proceso de adsorción química es irreversible. (Wark, 2010).

Esta unión se produce en la superficie del gránulo y en sus poros. El uso del término *sorción* se debe a la dificultad de diferenciar la adsorción física de la adsorción química, y se emplea para describir el mecanismo por el cual la materia orgánica se adhiere a la parte sólida. El equilibrio se alcanza cuando se igualan las tasas de sorción y desorción, momento en el que se agota la capacidad de adsorción del material. La capacidad teórica de adsorción de un determinado contaminante se puede determinar calculando su isoterma de adsorción. De igual forma, una isoterma se puede interpretar como la cantidad de adsorbato que puede retener un adsorbente en función de las características y de la concentración del adsorbato, y de la temperatura. En general, la cantidad de materia adsorbida se determina como función de la concentración a temperatura constante (Ros, 2011).

Los adsorbentes más utilizados son: *gel de sílice*, *alúmina*, *resinas orgánicas* y *carbón activado (granular y polvo)*; sin embargo, el uso de estos recurso para la remoción a gran escala resulta ser costoso y en algunos casos se suelen presentar problemas en la regeneración del material.

En este marco de referencia, la adsorción con carbón activado ha mostrado ser la estrategia más promisoría, sin embargo, su elevado costo restringe su implementación a gran escala; de allí que es necesaria la exploración de materiales alternativos, con propiedades similares, de origen natural, fácil adquisición y por tanto mínimo valor económico. (Hormaza y Suárez, 2009). Algunos materiales de origen biológico cumplen con dichas características,

razón por la cual la biosorción ha surgido como un proceso alternativo, económico y de bajo impacto ambiental.

5.6.1. Biosorción

La biosorción se refiere al proceso biológico de control ambiental el cual consiste en la remoción de contaminantes, basado en la propiedad de diferentes tipos de biomasa viva o muerta, para absorber a través de fenómenos físicos y químicos como adsorción, intercambio iónico o procesos metabólicos un contaminante. Se les considera métodos precisos y selectivos que requieren de pocos minutos de tratamiento (Obelholser y McGarrity, 1992).

Este proceso involucra una fase sólida (biosorbente) y una fase líquida (solvente) que contiene las especies disueltas que van a ser bioadsorbidas. La gran afinidad del biosorbente por las especies del sorbato hacen que este último sea atraído hacia el sólido para enlazarse por diferentes mecanismos. Este proceso continúa hasta que se establece un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato enlazado al sólido. La afinidad del biosorbente por el sorbato determinará su distribución entre las fases sólida y líquida (Tenorio, 2006). Un tiempo corto de contacto con la biomasa sugiere que la adsorción en la superficie externa del biosorbente es el principal mecanismo de retención (Modak y Natarajan, 1995).

5.7. Cinética de sorción

La cinética de adsorción describe la velocidad de retención del sorbato, lo cual controla el tiempo de residencia de éste en la interface sólido-disolución y además su conocimiento permite predecir la velocidad de remoción en el efluente, las cuales se determinan por experimentación y no pueden ser inferidas en ningún caso (Hidalgo-Vázquez, 2010). Generalmente presentado por atracción electro-química y no por procesos mecánicos, las fuerzas moleculares en la superficie del adsorbente se encuentran en un estado de insaturación. Dependiendo de la estructura del adsorbente se presentan dos tipos de mecanismos de difusión, difusión externa (película líquida) y difusión interna (poro o

superficial), en algunos casos uno de los mecanismos domina en el proceso y algunas veces ambos compiten o cooperan entre ellos. El mecanismo dominante depende del sistema adsorbato-adsorbente en cuestión, así como de las condiciones del proceso tales como la temperatura y la concentración (Cortés-Martínez, 2007).

5.8. Mecanismos de remoción

Según la naturaleza del enlace de adsorción se tiene diferentes tipos de mecanismos, donde la mayor parte de los fenómenos se llevan a cabo de forma simultánea:

Adsorción por intercambio iónico. En este proceso el adsorbato y el adsorbente se atraen por fuerzas electrostáticas. Los iones del adsorbato se concentran en la superficie del adsorbente, con cargas eléctricas de signo contrario a los iones del soluto, siempre uno con mayor carga que otro pues es un factor determinante en el proceso, porque el de mayor carga será adsorbido, así mismo el tamaño particular también influye.

Adsorción por fuerzas de Van der Waals. También llamada adsorción física o fisisorción, el adsorbato está unida por fuerzas físicas o de dispersión; es decir con movilidad de interfase. Usado en la mayoría con sustancias orgánicas en agua, en este proceso el adsorbato conserva la naturaleza química, pero el proceso se considera de naturaleza física. Este proceso suele verse beneficiado a temperaturas bajas.

Adsorción química. Llamado adsorción activa o quimisorción. Se lleva a cabo cuando hay interacción química entre adsorbato y adsorbente. Esta fuerza de interacción es con enlaces químicos en centros activos del adsorbente, pues sufre transformaciones en su naturaleza química. Este proceso suele verse beneficiado a temperaturas altas.

Debido a que la remoción de contaminantes por biomasa se da por diferentes tipos de sorción, ésta se ve afectada por varios factores físicos y químicos. Dentro de los factores de interés se encuentra el efecto del pH, la temperatura, el tiempo de equilibrio, la concentración de la sustancia de interés y la presencia de otros iones en disolución (Patterson, 1991).

5.9. Proceso de adsorción

El proceso de adsorción se presenta en 4 etapas cinéticas principales, Figura 2 (Cortés-Martínez, 2007; López-Leal, 2009):

1. Transferencia o desplazamiento del adsorbato o soluto, de la fase líquida hacia la película que rodea el adsorbente.
2. El transporte a través de la película fija o capa superficial del líquido en el exterior del adsorbente.
3. Difusión del adsorbato dentro de los poros del adsorbente, bajo efectos de gradiente de concentración, y se lleva a cabo de dos formas: difusión del líquido dentro del poro (intraparticular) y/o en sitios activos a lo largo de la superficie de las paredes del poro (homogénea).
4. El último paso es la adsorción del soluto en la superficie interna del adsorbente, sobre los sitios activos por acomplejamiento, interacción iónica o precipitación.

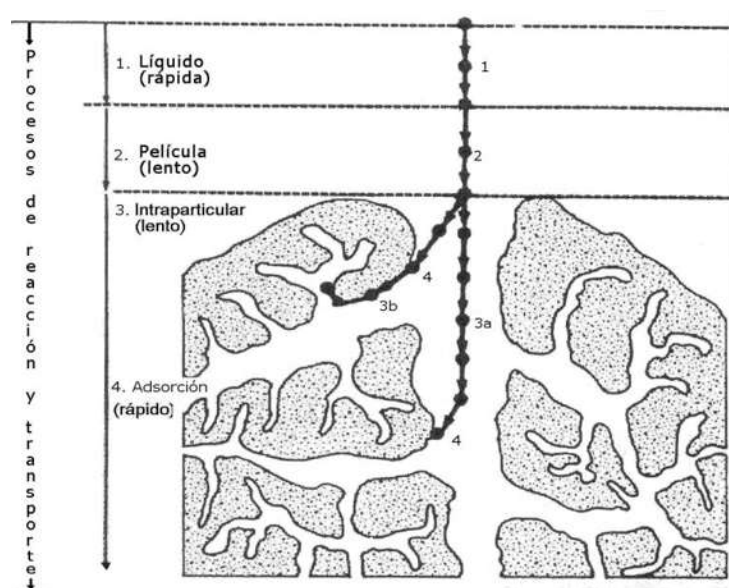


Figura 2. Procesos de transporte en adsorción mediante adsorbentes microporosos (Cortés-Martínez, 2007).

5.10. Modelos cinéticos de procesos de adsorción

Hoy en día se utilizan varios modelos matemáticos empíricos, para determinar los parámetros cinéticos del sistema adsorbato-adsorbente, algunos de éstos modelos son: Lagergren, Elovich y de Pseudo segundo orden.

5.10.1. Modelo cinético de primer orden (Lagergren)

En varios casos las cinéticas han sido descritas por medio de la ecuación de primer orden de Lagergren (Qiu y cols., 2009), ésta fue la primera ecuación de velocidad para el sistema de adsorción de líquido/sólido basado en la capacidad del sólido; y es una de las ecuaciones más utilizadas, representando la tasa de adsorción de un soluto en el adsorbente en una solución líquida (Özer y cols., 2004); la cual se basa principalmente en la capacidad de adsorción del sólido (adsorbente) sobre su superficie. Y a cada ion se le asigna un sitio de adsorción del material adsorbente, mediante la siguiente ecuación:

$$qt = qe(1 - e^{(-kLt)})$$

Donde:

- **qt**= concentración de soluto removido al tiempo por cantidad de adsorbente (mg/g).
- **qe**=concentración de soluto removido en el equilibrio por cantidad de adsorbente (mg/g).
- **KL**= es una constante de velocidad en el equilibrio de pseudo primer orden (h-1).
- **t**= es el tiempo en minutos.

5.10.2. Modelo cinético de Elovich

El modelo de Elovich o ecuación de Roginsky-Zeldovich, es utilizada comúnmente para determinar la cinética de quimisorción de gases sobre sólidos. Sin embargo, se ha utilizado para describir la sorción de contaminantes en soluciones acuosas y se expresa de la siguiente manera (Qiu y col., 2009):

$$qt = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln t$$

Donde:

- **qt**= es la concentración de soluto adsorbido al tiempo t (mg/g).
- **α** = es la velocidad de sorción inicial y se expresa como mg/g min.

- β = es una constante de desorción, expresada en g/mg.
- t = es el tiempo en minutos.

Ésta ecuación ha sido simplificada por Chien y Clayton (Ho, 2006) dando la siguiente ecuación:

$$qt = \alpha + 2.303\beta \ln t$$

5.10.3. Modelo cinético de pseudo-segundo orden

La ecuación de pseudo-segundo orden ha sido considerada como uno de los modelos más apropiados para explicar diferentes sistemas de adsorción. Ho y McKay (2002) derivaron la ecuación de este modelo tomando en cuenta que la velocidad de reacción de pseudo-segundo orden depende de la cantidad de ion metálico divalente, colorantes, herbicidas, aceites y sustancias orgánicas de soluciones acuosas en la superficie del sorbente y de la cantidad del ion metálico o colorante según sea el adsorbato, sorbido en el equilibrio. La sorción en el equilibrio, q_e es una función de la temperatura, de la concentración inicial del adsorbato, la cantidad de sorbente y la naturaleza de la interacción entre soluto y sorbente. La expresión de velocidad para la sorción está descrita por la siguiente ecuación de forma lineal:

$$\frac{t}{qt} = \frac{1}{K_2 qe^2} + \frac{t}{qe}$$

Donde:

- qt = es la concentración del ion adsorbido a un tiempo dado, t (mg/g).
- K_2 = es la constante de velocidad de adsorción de segundo orden (g/mg h).
- qe = es la concentración del ion adsorbido en el equilibrio (mg/g).

Si el modelo lineal representa un ajuste con un coeficiente de correlación r^2 cercano a 1, lo más probable es que sea descrito como quimisorción.

5.11. Equilibrio de adsorción

Dentro del proceso de adsorción, el resultado es la remoción de un adsorbato de una solución y su concentración en la superficie de un sólido, por lo que la cantidad de adsorbato remanente en la solución se encuentra en equilibrio con la cantidad que se concentra en dicha superficie. . El *coeficiente de distribución* es una medida de la posición del equilibrio en el proceso de adsorción, y puede ser en función de la concentración de soluto, la concentración y naturaleza de otros solutos presentes, la naturaleza de la solución y algunos otros factores.

Se conoce como isoterma de adsorción a la relación entre la cantidad de adsorbato removido por unidad de peso de adsorbente (q_e), con la función de la concentración de adsorbato remanente en la solución en el equilibrio (C_e) a una temperatura fija (Cortés-Martínez, 2007; Flores-Vásquez, 2001; Mustafa-Yagub, 2012). La modelación de equilibrio de biosorción o de la capacidad de biosorción consiste en representar el estado de equilibrio que determinan las concentraciones de adsorbato en la solución y sobre el material adsorbente; es decir, la modelación consiste en buscar una relación de los valores q_e y C_e .

Se han desarrollado varios modelos para describir estas relaciones. En la figura 3 se muestran los modelos o ecuaciones más utilizados Langmuir y Freundlich, Gibbs, BET (Brunauer-Emmett-Teller), donde el eje de las y se refiere a q_t (mg de color/ g de semilla) y el eje de las x al tiempo (Flores-Vásquez, 2001; Mustafa-Yagub, 2012).

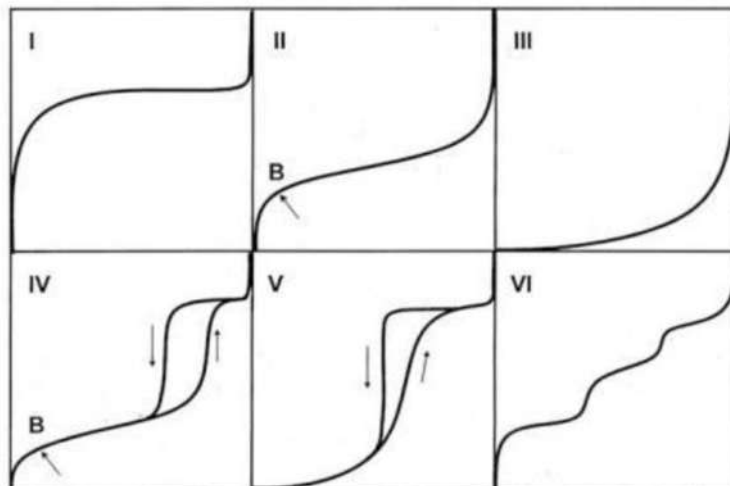


Figura 3. Clasificación de las isothermas de biosorción: I) Langmuir, II) BET, III y V) Freundlich, IV) Gibbs, VI) Escalonada.

5.12. Modelos de isothermas de adsorción

Existen varios modelos que se han desarrollado para describir las isothermas de adsorción, Figura 4, donde C_s representa q_e y C_m representa C_e (Aguilar-Ávila, 2010).

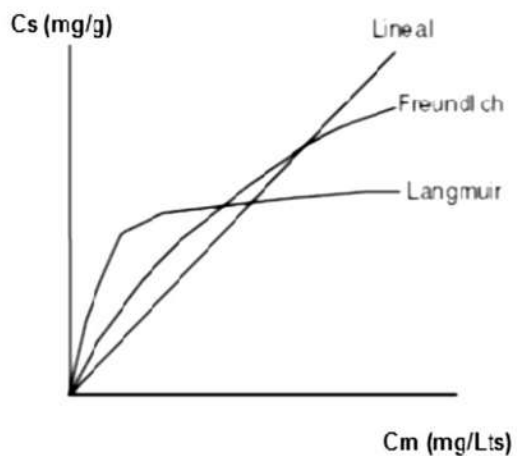


Figura 4. Modelos frecuentes de isothermas de adsorción.

5.12.1. Isoterma de Freundlich

Resulta ser de las primeras propuestas para relacionar la cantidad adsorbida con la concentración del material en la solución (Martín, 2008).

$$M = Kc^{1/n}$$

Donde:

- m= masa adsorbida por unidad de masa de adsorbente.
- K y n= constante.

La Isoterma de Freundlich, es el modelo más utilizado como modelo de isoterma no lineal, ya que ha demostrado ser termodinámicamente riguroso, supone que la superficie del adsorbente es heterogénea y que las posiciones de adsorción tienen distintas afinidades, en primer lugar se ocupan las posiciones de mayor afinidad y posteriormente se van ocupando el resto, por lo que se lleva a cabo la formación de múltiples capas.

Este modelo no permite representar el caso de adsorción competitiva cuando la molécula específica está en presencia de otras sustancias, ni tampoco se ajusta si se tiene una alta concentración de adsorbato (Salinas, 2011). La ecuación es:

$$q_e = K_F C_e^{1/n_F}$$

Donde:

- q_e = concentración de soluto adsorbido por unidad en peso de adsorbente (mg/g)
- K_F = constante de Freundlich (mg/g)·(L/mg)^{1/n}
- n_F = intensidad de adsorción del adsorbato por el adsorbente.
- C_e = es la concentración del soluto en equilibrio (mg/L)

K_F y $1/n_F$, son coeficientes obtenidos empíricamente y son constantes características del adsorbente y del adsorbato.

5.12.2. Isotherma de Langmuir

Es más acertada para la interpretación de los datos que la de Freundlich.

$$m = \frac{Kc}{1 + kc}$$

- **m**=masa
- **K**=constante
- **c**= concentración

La isoterma de Langmuir, es la ecuación de isoterma más ampliamente usada para modelaren el equilibrio, la cual es, válida para sorción en monocapa sobre una superficie de un número finito de sitios idénticos. El modelo de Langmuir se ha modificado al igual que la de Freundlich quedando la siguiente ecuación para la isoterma de Langmuir:

$$q_e = \frac{q_{e \max} b C_e}{1 + b C_e}$$

Donde:

- **qe**= concentración de soluto adsorbido por unidad en peso de adsorbente (mg/g)
- **KF**= constante de Freundlich (mg/g)·(L/mg)^{1/n}
- **nF**= intensidad de adsorción del adsorbato por el adsorbente.
- **Ce**= es la concentración del soluto en equilibrio (mg/L)

KF y **1/nF**, son coeficientes obtenidos empíricamente y son constantes características del adsorbente y del adsorbato.

5.12.3. Isotherma de Langmuir-Freundlich

Este modelo describe una adsorción fuerte sobre superficies heterogéneas. A bajas concentraciones del adsorbato se reduce la isoterma de Freundlich, mientras que a altas concentraciones de adsorbato predice una capacidad de adsorción en monocapas

característica de la isoterma de Langmuir. La ecuación que representa al modelo es la siguiente (Torres-Pérez, 2007).

$$q_e = \frac{q_m b C_e^{1/n}}{1 + b C_e^{1/n}}$$

Donde:

- q_e = cantidad de ion retenido en el biosorbente (mg/g)
- C_e = concentración del soluto en equilibrio (mg/L)
- K_{LF} , a_{LF} y n_{LF} = son constantes empíricas

5.13. Factores que influyen el proceso de biosorción

La eliminación de los contaminantes en agua por adsorción depende de su interacción con el sorbente, soluto y el ambiente que rodea el proceso, el cual puede verse afectado por la temperatura, pH, sitios de unión, concentración de biomasa, tamaño de partícula, velocidad de agitación y pretratamientos físicos o químicos.

5.13.1. Temperatura

La temperatura es uno de los factores que más influyen en procesos de sorción. El efecto de la temperatura sobre la biosorción depende del calor de adsorción (cambio de entalpía). Cuando la adsorción es de tipo físico, el calor de adsorción es negativo por lo que indica que la reacción es exotérmica y se favorece a bajas temperaturas. Por el contrario, cuando la adsorción es de tipo químico, el calor de adsorción es positivo, indicando que el proceso es endotérmico y se ve favorecido por las altas temperaturas (Tenorio-Rivas, 2006). En la aplicación práctica del proceso de biosorción es frecuente el uso de un rango estrecho de temperatura, en el que la influencia de la misma es pequeña comparada con la de otros factores que intervienen en el proceso (Martín-Lara, 2008).

5.13.2. pH

El valor del pH de la fase acuosa es el factor más importante tanto en la biosorción de cationes como de aniones, siendo el efecto distinto en ambos casos. La biosorción de cationes puede estar favorecida para valores de pH superiores a 4.5, mientras que la biosorción de aniones se encuentra entre valores de 1.5 a 4 (Tenorio-Rivas, 2006; Lito y cols., 2012).

5.13.3. Sitios de unión

En el biosorbente se identifican diferentes grupos químicos que contribuyen al proceso de retención; entre los que se pueden citar los hidroxilos, carbonilo, carboxilo, sulfhidrilo, tioéter, sulfonato, amina, imina, amida, imidazol, fosfonato, y fosfodiéster (Tenorio-Rivas, 2006). Es importante tener en cuenta los siguientes factores: cantidad de sitios en el material, accesibilidad del sitio, estado químico del sitio (disponibilidad), afinidad entre el sitio y el adsorbato (fuerza de unión).

5.13.4. Dosis de biosorbente

Cantidades mayores de adsorbente generan un decremento en la cantidad de sorbato por unidad de peso del biosorbente, incrementando la eficiencia de remoción. El corto tiempo de contacto con la biomasa sugiere que la adsorción en la superficie externa del biosorbente es el principal mecanismo de retención.

5.13.5. Tamaño de partícula

El efecto del tamaño de partícula lo evaluaron Soumen y colaboradores en el 2004. Quienes establecieron que la capacidad de adsorción aumenta con la disminución de tamaño; esto es debido a una mayor área de superficie disponible.

5.13.6. Velocidad de agitación

Mayores velocidades de agitación mejoran la tasa de remoción del sorbato, minimizando la resistencia a la transferencia de masa, pero puede causar daño físico a la estructura del biosorbente (Moon-Park y cols., 2010).

5.13.7. Pre tratamiento del biosorbente

La biomasa o biosorbente puede ser usada en su estado natural o modificada, para mejorar la eficiencia de adsorción (Cañizales-Villanueva, 2000). De manera general varios autores señalan que el material es previamente molido, extruido y/o secado, para posteriormente se puede modificarse de manera química. En general, se conocen dos tipos de pretratamientos: los físicos y los químicos, éstos últimos seguidos por un lavado para eliminar los reactivos empleados.

Tratamiento físico

En la literatura se reportan diferentes tipos de modificaciones físicas al biosorbente: irradiación gamma, tratamiento térmico, liofilización, etc. Dentro de estos métodos se prefiere la reducción del tamaño de la partícula, debido a que es muy simple, barata y consiste en cortar, moler o triturar el biosorbente (Park y cols., 2010; Lugo-Lugo, 2008). Para los procesos de biosorción tipo lote, la reducción del tamaño de partícula incrementa la eficiencia de remoción del metal al aumentar el área superficial (área de contacto).

En general, se puede mencionar que la modificación física de un biosorbente es menos efectiva que la modificación química (Park y cols., 2010).

Tratamiento químico

Existen diversas modificaciones químicas al biosorbente tales como:

- Realce de los sitios de unión (aminación del grupo hidroxilo, carboxilación del grupo amino, etc.).
- Eliminación de posibles grupos inhibitorios (descarboxilación, deaminación).

- Inserción de polímeros (por radiación, reacciones fotoquímicas o iniciación química).
- Pretratamientos o lavados con ácidos, álcalis, solventes orgánicos y otros químicos.

Entre diversos métodos de modificación química, el lavado químico se prefiere debido a su simplicidad y eficiencia (Park y cols., 2010).

La presencia o ausencia de algunos grupos químicos expuestos en la superficie afecta las interacciones del biosorbente con el contaminante o compuesto de interés. La mayoría de las veces se puede aumentar el carácter hidrófobo o hidrofílico adicionando grupos superficiales. Se ha demostrado que en el tratamiento de residuos agrícolas con determinados ácidos a temperaturas no demasiado elevadas, consigue un aumento considerable de la capacidad de biosorción ya que dicho tratamiento introduce grupos ácidos extras por formación de grupos éster en el biosorbente.

Es importante remarcar que diferentes agentes de activación pueden mejorar las propiedades de adsorción para plantas y desechos de frutas, entre ellos: KOH, ZnCl₂, H₂SO₄, H₃PO₄, HNO₃ y CO₂. A efecto de tener ventajas operativas y ambientales, debe considerarse la facilidad de eliminación del agente activador después del proceso de remoción (Moreno-Virgen, 2012).

5.14. Biosorbentes lignocelulósicos

Los residuos lignocelulósicos tienen capacidades de adsorción comparables con otros adsorbentes naturales y tienen las ventajas de tener un costo muy bajo, una amplia disponibilidad, un manejo sencillo y representa un valor agregado en el manejo de actividades económicas que produzcan estos residuos (Salah, 2011).

En general, los residuos lignocelulósicos empleados como biosorbentes pueden ser modificados por varios métodos químicos para incrementar la capacidad de sorción, al actuar principalmente en los grupos funcionales carboxilo e hidroxilo. (Salah, 2011).

5.14.1. Lignina

El término lignina es derivado de la palabra en latín “lignum”, la cual significa madera. Fue introducido por Anselme Payen en dos publicaciones en 1838 para representar sustancias con de celulosa en las paredes celulares de las plantas lignificadas. La lignina es altamente distribuida en la naturaleza, siendo el segundo polímero (después de la celulosa) natural más abundante. A pesar de la importancia de su estructura, más de 150 años de investigación química no han logrado revelar su organización química *exacta* (Leonowicz, 1999).

Se sabe que la molécula de lignina presenta un elevado peso molecular, que resulta de la unión de varios ácidos y alcoholes fenilpropílicos (cumarílico, coniferílico y sinapílico). La base estructural es el fenilpropano, teniendo ligado al anillo bencénico un número variable de grupos hidroxilos y metoxilos, por lo que tiene radicales químicos definidos unidos a enlaces carbono-carbono (C-C) y enlaces éter (C-O-C). El acoplamiento aleatorio de estos radicales da origen a una estructura tridimensional, polímero amorfo, característico de la lignina.

La lignina es el polímero natural más complejo en relación a su estructura y heterogeneidad. Por esta razón no es posible describir una estructura definida; sin embargo, se han propuesto numerosos modelos que representan su estructura, como el que se muestra en la Figura 5. El intercambio iónico es uno de los mecanismos que juega el rol más importante en la biosorción con lignina (Martín-Lara, 2008; Taiz y Zeiger, 2006).

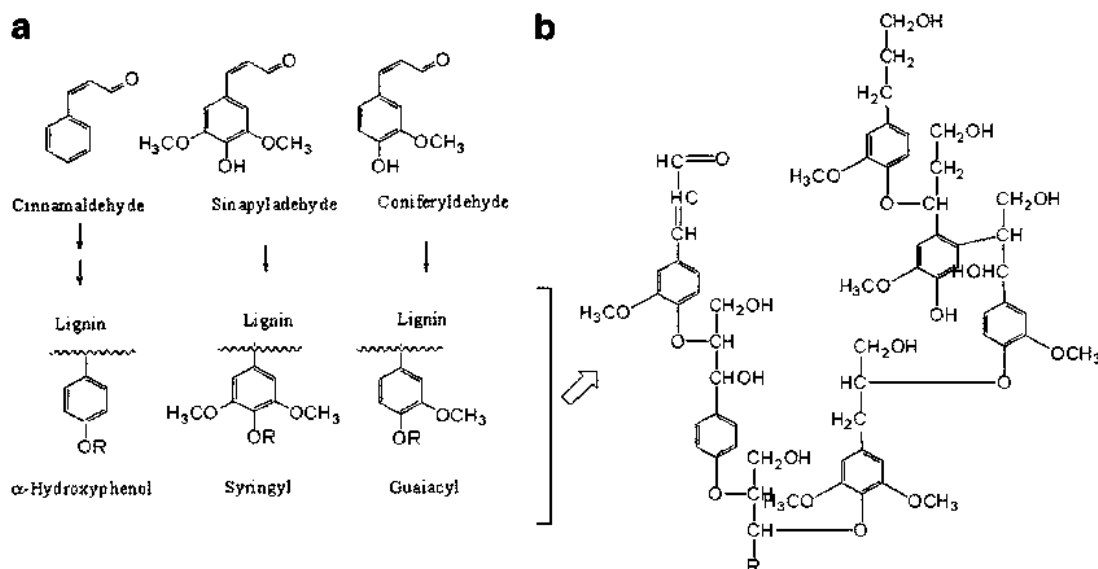


Figura 5. Estructura compleja de la lignina. a) monómeros de la lignina y tipo de lignina, que forman, b) simplificación de la estructura de la lignina (adaptada de Adler, 1977).

5.14.2. Celulosa

De todos los polisacáridos de la naturaleza, la celulosa parece ser el más abundante. En nuestro planeta se forma anualmente en enormes cantidades, como resultado de la fotosíntesis, y es el principal componente de la pared celular en todas las maderas, pajas, pastos, fibra liberianas, y semillas.

Al analizar la celulosa de algodón, la forma más pura de celulosa, se observa que tiene 44% de carbono, 6.22% de hidrógeno y 49.34% de oxígeno. Esta composición corresponde a la fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_x$. La evidencia experimental demuestra que el peso molecular de la celulosa es mucho mayor que el 162 requerido por la fórmula anterior, la que generalmente se modifica al leerse $(C_6H_{10}O_5)_x$ $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Figura 6). Muchas determinaciones individuales de peso molecular y muchos otros datos experimentales indican que el valor de n o x es muy grande, están a menudo comprendiendo entre 1000 y 5000 dependiendo de la forma de cómo se aisló, trató y purificó la celulosa y también de cómo se hicieron las determinaciones. Al número de veces (es decir, n o x) que la unidad de

$C_6H_{10}O_5$ se repite, a menudo se le llama *grado de polimerización (GP)*. La unión de dos unidades de glucosa da como resultado un disacárido llamado *Celobiosa*. A su vez, la aglomeración de varias unidades de celobiosa forma una estructura polimerizada conocida como celulosa.

Frecuentemente, el peso molecular está comprendido entre 163 000 y 810 000 g/mol, pero puede caer debajo de estas cifras o estar bastante por encima. Algunos investigadores afirman que el valor de n o x es superior a 10 000, lo cual llevaría su peso molecular a más de 1 620 000 g/mol; todas éstas cifras son promedio (Timell, 1953).

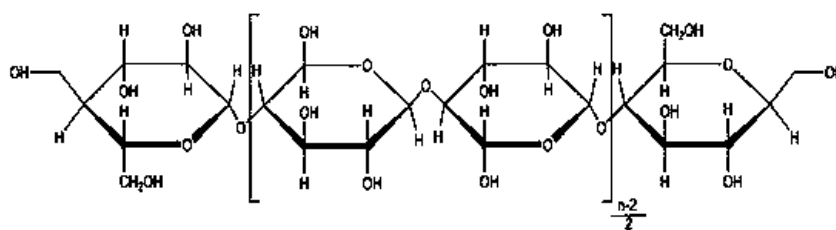


Figura 6. Estructura de la celulosa.

La semilla de guayaba está constituida en gran parte por celulosa (31.4%) y lignina (40.2%) (Bourgeois, y cols., 1988), por lo que para su degradación a través de métodos naturales se toman en cuenta mecanismos capaces de degradar dichos componentes.

5.14.3. Hemicelulosa

Se trata de una sustancia amorfa heteropolisacárida, es decir compuesta de varios polisacáridos tales como manosa, galactosa, arabinosa, xilosa y en algunos casos ramnosa y los ácidos 4-O-metilglucurónico, D-galacturónico y D-glucurónico. Comprende entre el 15 y 30 % de la sustancia de la pared celular y se encuentran en unión con celulosa. Son compuestos solubles en agua y soluciones alcalinas. Las moléculas de hemicelulosa son cadenas al igual que la celulosa, sin embargo, el grado de polimerización es menor (González-Pimentel, 2005).

5.15. Biodegradación de lignina y celulosa

La biodegradación de los componentes celulíticos y lignolíticos es comúnmente entendida como un proceso enzimático. Debido a la complejidad de la biomasa lignocelulósica, los procesos que son usados para su pre-tratamiento son encontrados en la naturaleza. Sin embargo, los métodos termoquímicos para la destrucción del material lignocelulósico requieren grandes cantidades de energía, son perjudiciales para la naturaleza por la producción de químicos tóxicos debido a la producción de cadenas de etanol (Ward y Singh, 2002). Es por eso que es necesario la búsqueda y el desarrollo de tecnologías para la degradación de estos compuestos con procesos biológicos.

Muchos hongos celulíticos y lignolíticos emplean las enzimas hidrolasas para despolimerizar y obtener los monosacáridos estructurales. Sin embargo, la lignina presenta resistencia a la ruptura hidrolítica de este tipo. Es por eso que, entre otros, la búsqueda de la biotransformación de la lignocelulosa ha tomado largo tiempo en desarrollarse (Leonowicz, 1999).

Solo un pequeño grupo de hongos son conocidos por su capacidad de degradar completamente lignina y los demás polímeros que se encuentran en la naturaleza como celulosa y hemicelulosa a dióxido de carbono; producen peróxidasas y oxidasas no específicas que degradan los polímeros carbonatados de la pared celular. Este grupo de hongos es conocido como “*hongos de pudrición blanca*” (*White rot fungi*), y se encuentran habitando comúnmente en los bosques donde está el desecho foliar y arbóreo. Tienen una gran aplicación biotecnológica en bioremediación y en la industria del papel y textiles (Vares y cols., 1994). De manera general, los procesos de degradación de compuestos lignocelulósicos se pueden dividir en:

Pudrición blanda. Ocurre cuando el daño causado por el microorganismo es muy superficial. La madera pierde fuerza mecánica y se torna húmeda y esponjosa. Es causada por Ascomycetes y Deuteromycetes, e inicialmente puede caracterizarse por cadenas de cavidades longitudinales con puntos cónicos en la capa de la pared (Montoya, 2008). Alrededor de las hifas se genera una destrucción localizada de la celulosa, formando una

cavidad en la pared secundaria. Algunos de los hongos causantes de este tipo de pudrición son *Chaetomium globosum* y *Daldinia concéntrica* (Moore, 1998)

Pudrición café. Es causada principalmente por basidiomicetes, los cuales degradan las hemicelulosa y la celulosa despolimerizada (Luley, 2006). Los carbohidratos son removidos, pero la lignina es modificada solamente hasta cierto límite (Rayner y Boddy, 1988). La madera toma un color café oscuro debido a la degradación de la celulosa que es de color blanco, quedando el color café de la lignina residual. La descomposición de la celulosa ocurre a cierta distancia de la hifa, mediante un sistema celulítico difusible y un proceso no enzimático mediado por peróxido de hidrogeno e iones de manganeso. Este grupo de hongos representa solo el 7% de los basidiomycetes causantes de pudrición en la madera (Martínez y cols., 1996). Entre los hongos que causan la pudrición café esta *Fomitopsis pinicola*, *Poria placenta*, *Tyromyces palustres* y *Gloeophyllum trabeum* (Maarkham, 1998).

Pudrición blanca. Ocurre cuando los microorganismos que atacan la madera degradan profunda y completamente los compuestos lignocelulósicos. Los hongos de la pudrición blanca están implicados en la degradación de la mayoría de las estructuras químicas que componen la madera incluyendo la celulosa, aunque la lignina es el principal compuesto degradado (Rayner y Boddy, 1988). Por tal razón la madera toma una apariencia blanquecina, húmeda, blanda, rugosa y en las etapas avanzadas la madera se debilita notablemente (Martínez, 2002). La apariencia de la madera con pudrición blanca es fibrosa, debido a que parte de la celulosa permanece intacta hasta las etapas tardías del proceso.

Generalmente es menos fibrosa en maderas duras que en maderas blandas (arboles de coníferas), debido a las fibras cortas que poseen las maderas duras. Usualmente la madera se vuelve blanquecina debido al blanqueamiento producido por la oxidación y a la pérdida de lignina, la cual es de un tono ligeramente café. El color y la textura dependen del hongo causante de la pudrición (Worrall y cols., 2005).

Algunos hongos lignocelulósicos son *Pleurotus pulmonaris*, *Pleurotus sapidis*, *Phanerochaete chrysosporium* (Orth y cols., 1993) *Phlebia radiata* (Hatakka y cols., 2003) y *Phlebia tremellosa* (Vares y cols., 1994).

Entre éstos hongos lignocelulósicos, *P. chrysosporium* es considerado un modelo debido a que produce más enzimas lignocelulíticas que otros hongos.

5.15.1. *Phanerochaete chrysosporium*

P. chrysosporium es miembro del phylum Basidiomycota (Tabla 3). Es un descomponedor de madera, y puede ser encontrado en bosques templados dentro de América del Norte, Europa e Irán (Burdshall, 1985). Tiene la capacidad de crecer a 40 °C, produce numerosas esporas asexuales y peróxidasas degradadoras de lignina para degradar lignina selectivamente (Kirk, 1976).

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *P. chrysosporium*.

Reino	Fungí
Familia	Agaricaceae
Sub división	Basidiomiceto
Género	<i>Phanerochaete</i>
Especie	<i>chrysosporium</i>

Metabólicamente, puede producir numerosos metabolitos secundarios capaces de degradar varios compuestos orgánicos (Tabla 4) entre los que se encuentran los colorantes tipo azo. Éstos últimos no son típicamente degradados en condiciones aerobias, sin embargo, bajo condiciones anaerobias, las ligaduras pueden ser reducidas hasta formar aminas aromáticas, las cuales presentan menor intensidad de color (Cripps y cols., 1990).

Tabla 4. Propiedades biológicas de *P. chrysosporium* (Kullman y Matsumura, 1996; Hawari y cols., 1999; Cameron y cols., 2000; Reddy y Gold, 2000).

<i>P. chrysosporium</i>	
Degrada	Produce
Ligninas alcalinas de pino y aserrín.	Lignina peróxidasa
Pulpa y papel molido en agua residual.	Manganeso peróxidasa
Alcohol veratrilico y su éter metilo.	Glioxal oxidasa (C ₂ H ₂ O ₂)
Decolora el agua residual textil.	Peroxidasas
Tolueno, Triclorofenol, Pentaclorofenol.	Xilanasa
Rojo Congo, amaranto, atrazina.	Celulasas
Colorantes azoicos.	Succinimidas
DDT, benceno, tolueno, xileno	Aril-alcohol deshidrogenasa
Ácidos húmicos	Agente solubilizante de carbón.

El basidiomiceto *Phanerochaete chrysosporium* ha sido uno de los hongos más estudiados de éste grupo y ha servido como modelo para estudios en la degradación, y la mayor parte del conocimiento que se tiene de la degradación de la lignina es gracias a este hongo. La degradación de lignina se debe a la secreción de dos peroxidasas, *lignina peroxidasa (LiP)* y *manganeso peroxidasa (MnP)*. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que este tipo de hongo secreta una combinación de lacasa con LiP y MnP, la cual es más común que solo LiP y MnP por separado (Eggert, 1997; Martínez, 2004).

El genoma de *P. chrysosporium* tiene codificados diez LiPs y cinco MnPs (Martínez, 2004), y para inducir la apropiada producción de peroxidasas degradadoras de lignina (LDPs) necesita la composición adecuada de nutrientes y temperatura del medio.

En cultivos sumergidos puede producir LiPs, las cuales dependen del carbono, nitrógeno o sulfuro disponibles. LiPs son hemoglobulinas monoméricas que existen en al menos ocho isoformas y cuyos valores de pH óptimo oscilan desde 3.2 hasta 4.2; sus pesos moleculares varían de 38 a 46 kDa (Renganathan y cols., 1986; Leisola y cols., 1987; Kirk y Farrell, 1987; Gold y cols., 1989).

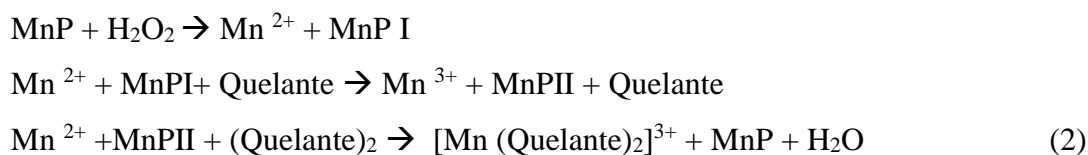
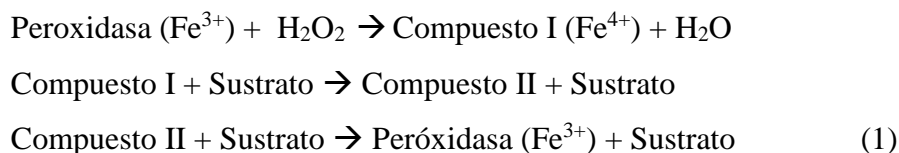
En cultivos ricos en carbono y nitrógeno, éste organismo también produce MnPs (Kuwahara y cols., 1984; Huynh y Crawford, 1985; Hatakka, 1994; Palma y cols., 1997) y múltiples oxidadasas.

MARCO TEÓRICO

Prácticamente, un sistema que sea capaz de inducir la formación de LiPs, MnPs y H₂O₂ tiene mayor posibilidad de producir una óptima degradación de lignina por parte de *P. chrysosporium* (Gold y cols., 1989; Kirk y Farrel, 1987).

Además de enzimas lignocelulósicas *P. chrysosporium* secreta otras enzimas que degradan compuestos orgánicos. Consecuentemente, el organismo puede degradar muchas sustancias tóxicas como los pesticidas, hidrocarburos poliaromáticos, y otros compuestos aromáticos halogenados, etc. (Kullman y Matsumura, 1996; Hawari y cols., 1999; Cameron y cols., 2000; Reddy y Gold, 2000).

Las LDPs usan peróxido de hidrogeno en la oxidación de las sustancias durante la reacción de deslignificación. Estas enzimas usan un compuesto monomérico, el alcohol veratrilico (VA), como un inductor de la reacción catalítica. La actividad de la enzima se describe mediante los pasos siguientes:



En general, en las reacciones de LDPs, el H₂O₂ oxida a la enzima férrica en dos electrones para dar el Compuesto I intermedio; el Compuesto I oxida al sustrato aromático para dar el Compuesto II (una enzima de un electrón oxidado intermediario), el cual, otra vez, oxida sustratos aromáticos para regresar a la enzima a su estado en reposo (Figura 7). También cataliza la hidroxilación de los grupos bencilo metileno, oxidación de alcoholes bencilos a sus correspondientes aldehídos o cetona, y oxidación de fenoles. LiP cataliza la reacción para la unión de anillos aromáticos no fenólicos dentro de la lignina (Tien y Kirk, 1984; Leisola y cols., 1985; Kersten y cols., 1985; Umezawa y Higuchi, 1989).

Entre los compuestos orgánicos monoméricos, los metoxibenzenos (anisol) son los sustratos de la oxidación por LiP, MnP y lacasa. Cuando el anisol no puede ser oxidado, los tetrameroxibenzenos (TMBs) son oxidados por LiP (Kersten, 1990).

La variedad de reacciones químicas llevadas a cabo revela el complejo mecanismo de degradación de la lignina. El mecanismo de degradación sugiere que la despolimerización de la lignina es una reacción con radical, donde el número de cationes radicales son generados durante la oxidación compleja de la lignina. Estos radicales subsecuentemente sirven como sustratos para LDPs. LiP actúa en la oxidación de unidades de fenilpropano no fenólicas, las cuales guían a la deconstrucción de polímeros de la lignina. Esta enzima oxida el centro de la reacción del radical arilo que conlleva muchas reacciones no enzimáticas, incluyendo la separación de C-C y C-O (Hammel y cols., 1985; Kirk y Farrel, 1987).

A diferencia de las LiP, las MnP, actúan en la oxidación de Mn^{2+} a Mn^{3+} en la presencia de H_2O_2 . Kuwahara y cols., en 1984 detectaron una peroxidasa dependiente de manganeso, la cual era capaz de oxidar Mn^{2+} a Mn^{3+} y otros muchos sustratos. Los MnPs catalizan el manganeso mediante la oxidación de la lignina y compuestos fenólicos con bajo potencial redox. Primero el Mn^{2+} es oxidado por los compuestos MnPI y MnPII, generando Mn^{3+} . Mn^{3+} es entonces estabilizado por una quelación con ácidos orgánicos como el oxalato y malonato producido por las células fúngicas, y difundidos de la superficie de la enzima como un compuesto de Mn^{3+} , el cual oxida las sustancias orgánicas (Glenn y cols., 1986; Gold y cols., 1989; Tuor y cols., 1992; Wariishi y cols., 1992). El nivel fisiológico del oxalato en cultivos de *P. chrysosporium* simula la actividad del manganeso peroxidasa. Bono y colaboradores en 1990 reportaron que en presencia de acetato de sodio, el MnP no tiene efecto en la oxidación de VA, pero en su lugar un buffer de lactato ayuda a la oxidación de compuestos, indicando que se requiere lactato para crear un complejo con Mn^{2+} . La oxidación de Mn^{2+} -lactato por un oxido da un incremento de H_2O_2 y Mn^{3+} , los cuales pueden acelerar las reacciones catalíticas de MnP (Archibald y Fridovich, 1982; Wariishi y cols., 1992).

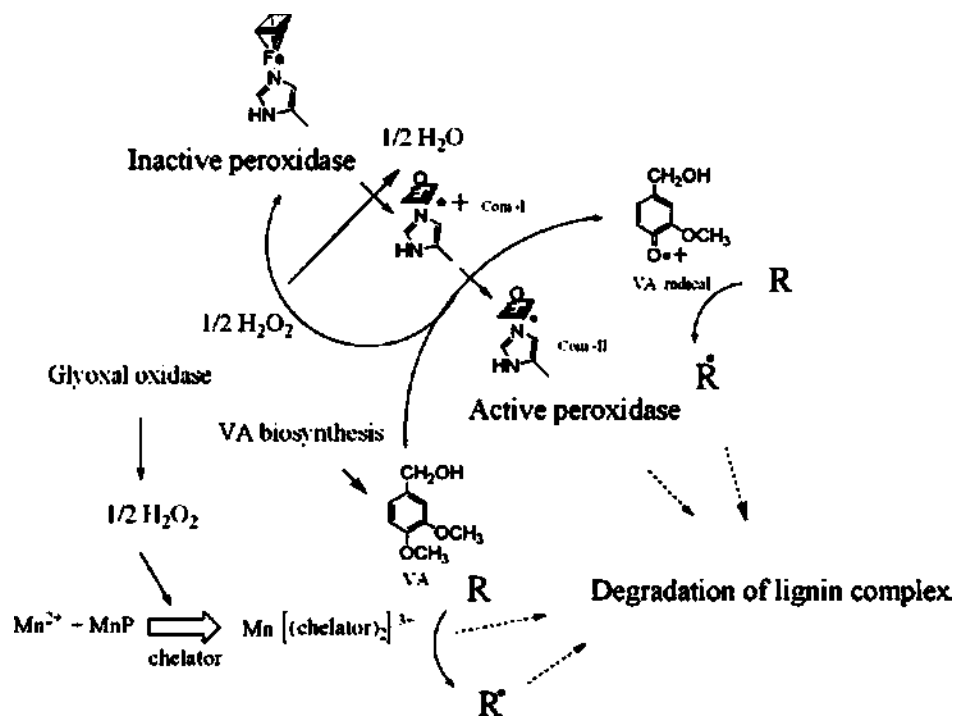


Figura 7. Mecanismos de reacción de LiP y MnP en la degradación de la lignina (modificado de Kesrten y Cullen, 2007).

En la Figura 7 el Compuesto I oxida sustancias aromáticas como VA por un electrón, dando el Compuesto II, una enzima intermediaria oxidada de un electrón, la cual oxida otra vez sustancias aromáticas para regresar a la enzima a su estado de reposo. En la reacción de MnP, el Mn^{2+} es oxidado por los compuestos MnPI y MnPII, generando Mn^{3+} . Después el Mn^{3+} estabilizado por los quelantes y difundido de la superficie de las enzimas como un complejo Mn^{3+} que oxida sustancias orgánicas.

CAPÍTULO 6. ANTECEDENTES

6.1. Uso de biosorbentes en la remoción de colorantes

Como los colorantes que se encuentran en el agua residual no pueden ser removidos o decolorados eficientemente por métodos tradicionales, la adsorción usando materiales económicos y eficientes ha sido considerada como un método simple y económico para la remoción de los colorantes sintéticos tanto de aguas naturales como residuales. La adsorción se caracteriza por la gran variedad de materiales que pueden ser usados para retener el contaminante y por su gran capacidad de remoción (Forgacs y cols., 2004)

Los laboratorios están contribuyendo en la búsqueda de materiales más económicos para el proceso de adsorción, ya que el costo es actualmente un parámetro importante para la comparación de estos materiales. Algunos productos de desecho de las obras industriales y de agricultura, materiales naturales y los biosorbentes representan una alternativa potencialmente económica de sorbentes alternativos. Muchos de ellos han sido probados y propuestos para la remoción de colorantes (Sharma, 2011).

Algunos ejemplos de los materiales de desecho agrícola que han sido utilizados en la remoción de colorantes se muestran a continuación en la Tabla 5.

ANTECEDENTES

Tabla 5. Ejemplos de materiales de desecho agrícola que han sido utilizados en la remoción de colorantes (Sharma, 2011).

Material	Colorante	Investigador(es)
Cáscara de arroz	Carmín índigo	Lakshmi y cols., 2009
Carbón activado	Amarillo ácido No. 36	Malik, 2003
Carbón activado	Azul 80	Choy y cols. 2000
Carbón activado	Rojo 114	Choy y cols. 2000
Carbón activado	Amarillo 117	Choy y cols. 2000
Caña de azúcar	Azul de metileno	Mane y cols., 2007; Raghuvanshi y cols., 2004
Fly ashes	Azul de metileno	Janoš y cols. 2003
	Rodamina B	Janoš y cols. 2003
	Amarillo ácido 23	Albanis y cols., 2003
	Naranja ácido	Albanis y cols., 2003
	Verde brillante	Mane y cols., 2007
Cáscara de naranja	Azul de metileno	Annadurai y cols., 2002
	Rodamina B	Annadurai y cols., 2002
	Violeta básico 10	Annadurai y cols., 2002
Medula de plátano	Rojo directo 28	Annadurai y cols., 2002
	Rojo congo	Annadurai y cols., 2002
	Violeta de metil	Annadurai y cols., 2002
	Negro amida 10B	Annadurai y cols., 2002

6.2. Semilla de guayaba como biosorbente

El uso del desecho agrícola como biosorbente es prometedor debido a su abundancia y su bajo costo. (Foo y cols., 2011).

Psidium guajava, perteneciente a la familia Myrtaceae, mejor conocida como guayaba, es una fruta importante considerada como nativa de México y se extiende a lo largo de Sur América, Europa, África, Asia e India. Crece en zonas tropicales y subtropicales del mundo, adaptándose a diferentes condiciones climáticas pero prefiere climas secos. Es de rápido crecimiento y es cosechada durante todo el año (Pérez y cols., 2008).

Es un árbol pequeño con una corteza delgada, lisa y desigual. Las hojas son opuestas, miden de 5 a 15 cm. de largo, y su lámina oval tiene venas pronunciadas. Las flores son poco llamativas, solitarias, con pétalos blancos de aproximadamente 2 cm de largo, y presenta estambres numerosos. La fruta es carnosa, amarilla, de forma ovoide de

ANTECEDENTES

aproximadamente 5 cm de diámetro, con un mesocarpio color rosado con numerosas semillas blancas, las cuales corresponden a un 4% del peso total del fruto (Pérez y cols., 2008; Elizalde-González y Hernández-Montoya, 2008).

Se estima que México es, después de India, el segundo líder mundial de la producción de guayaba con una producción de 127×10^9 toneladas por año (Salunkhe y Kadam, 1995).

Michoacán ocupa el primer lugar a nivel nacional en producción de guayaba, con una cosecha de 131 mil 093 toneladas, cuyo valor en el mercado, podría alcanzar los 547 millones 378 mil pesos, de acuerdo con el reporte del Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) de nuestro país. En la entidad, son 31 municipios los que producen el fruto, entre ellos, destacan: Jungapeo, Benito Juárez, Zitácuaro, Susupuato, Taretan, Ario de Rosales, Tuxpan, Nuevo Urecho, Uruapan y Tuzantla. En particular, Jungapeo es el municipio líder en la producción de guayaba, con 43 mil 470 toneladas, las cuales, si se vendieran en su totalidad en el mercado, alcanzarían un valor cercano a los 165 millones 186 mil pesos. El segundo lugar lo ocupa Benito Juárez con una producción anual valorada en 131 millones 983 mil pesos, mientras que el tercero y cuarto sitio, son para Zitácuaro y Susupuato, con 113 millones 413 mil pesos y 28 millones 797 mil pesos, respectivamente (SEDRU, 2012).

La piel de la guayaba es comúnmente desechada, al igual que las semillas, mientras que la carne blanda del centro es usada como alimento, preparación de jugos y preparación de mermeladas o jaleas. Este producto genera un monto significativo de desecho agrícola por lo que darle otro uso podría, en gran medida, reducir la masa de desecho y su impacto en el medio ambiente. (Foo y cols., 2011). Las semillas y las hojas poseen valor medicinal y son usadas por tradición para tratar numerosas enfermedades (Elizalde-González y Hernández-Montoya, 2008).

Las semillas representan aproximadamente el 4% de la fruta fresca (Rahman y Saad, 2003) y consisten en 31.4% de celulosa, 14.3% hemicelulosa, 40.2% de lignina, 6.96% de compuestos solubles, 6.51% de humedad y una cantidad insignificante de cenizas (Bourgeois, y cols., 1988).

La guayaba ha sido utilizada en el proceso de adsorción, ejemplo de esto es el uso de hojas pulverizadas, el cual se ha reportado que tienen la capacidad de remover azul de metileno de soluciones acuosas. Por otro lado, la semilla de guayaba ha sido utilizada en la adsorción de distintos contaminantes como flúor, arsénico y cromo (Elizalde-González y Hernández-Montoya, 2008; Ponnusami y cols., 2007).

6.3. Modificación ácida del biosorbente

La modificación química de los biosorbente ha sido utilizada anteriormente para la adsorción de diferentes contaminantes, como lo son los colorantes y los metales pesados; Özer y cols. (2004, 2006) utilizaron como biosorbente salvado de trigo modificado con ácido sulfúrico para eliminar Cr (VI) (2004), Cr (II) (2004) y Cd (II) (2006) en soluciones acuosas.

6.4. Hongos usados en la degradación de colorantes

La remoción de colorantes de los efluentes industriales es un área de investigación que está recibiendo mucha atención actualmente. A pesar de que existen muchos métodos para el tratamiento de aguas residuales, no todos son efectivos para la eliminación de colorantes del agua. El uso de tratamientos biológicos empleando microorganismos como bacterias y hongos bajo condiciones aerobias y anaerobias se han estado investigando. La eliminación y degradación del colorante bajo condiciones aerobias es deseable ya que se llega a una completa mineralización, sin embargo, bajo condiciones anaerobias se liberan aminas aromáticas que son tóxicas.

Una total degradación de los colorantes azo, diazo y colorantes reactivos se ha observado con el uso de varios microorganismos (Nigam y cols., 2000).

El uso de biomasa fúngica para la remoción de contaminantes tales como los colorantes ha sido muy documentado, por ejemplo, en el 2000 Nigam y cols. (2000) utilizaron cepas de *P. chrysosporium* y *C. versicolor* para evaluar la degradación de colorantes tipo azo de uso industrial que habían sido previamente adsorbidos con residuos agrícolas.

ANTECEDENTES

P. chrysosporium, es un claro ejemplo de un hongo capaz de remover el color a través de la degradación de moléculas poliméricas, por lo que es sujeto de una intensa investigación relacionada con la degradación de compuestos recalcitrantes, xenobióticos, incluidos los colorantes azoicos y heterocíclicos como el naranja II, Rojo Congo, Azul B, etc. (Banat y cols., 1996). A continuación en la Tabla 6 se observan algunos de los colorantes que *P. chrysosporium* es capaz de degradar.

Tabla 6. Reportes de colorantes degradados por *P. chrysosporium* (Banat y cols., 1996).

Colorante y concentración	Porcentaje de remoción/ tiempo	Referencia
Amaranto (67 mg/L)	90% / 3 días	Chao y Lee (1994)
Naranja G (67 mg/L)	90% / 3 días	Chao y Lee (1994)
Colorantes tipo azo	23-48% / 15 días	Spadaro y cols. (1992)
Sulfonados azoicos (200mg/L)	Más de 40% / 21 días	Paszczynski y cols. (1992)
Poliaromáticos azo (200mg/L)	45-98% 10 días	Paszczynski y Creawford (1991)
Naranja II (57 µg)	100% (24 h)	Cripps y cols. (1990)
Rojo congo (76 µg)	93% (24 h)	Cripps y cols. (1990)
B-411 polimérico(200mg/L)	Desconocido (8 días)	Glenn y Gold (1983)
R-481 polimérico (200 mg/L)	Desconocido (6 días)	Glenn y Gold (1983)
Y-606 polimérico	Desconocido (14 días)	Glenn y Gold (1983)

*En todos los casos el mecanismo de remoción fue debido a la lignina peroxidasa y al sistema Mn-dependiente peroxidasa.

CAPÍTULO 7. METODOLOGÍA

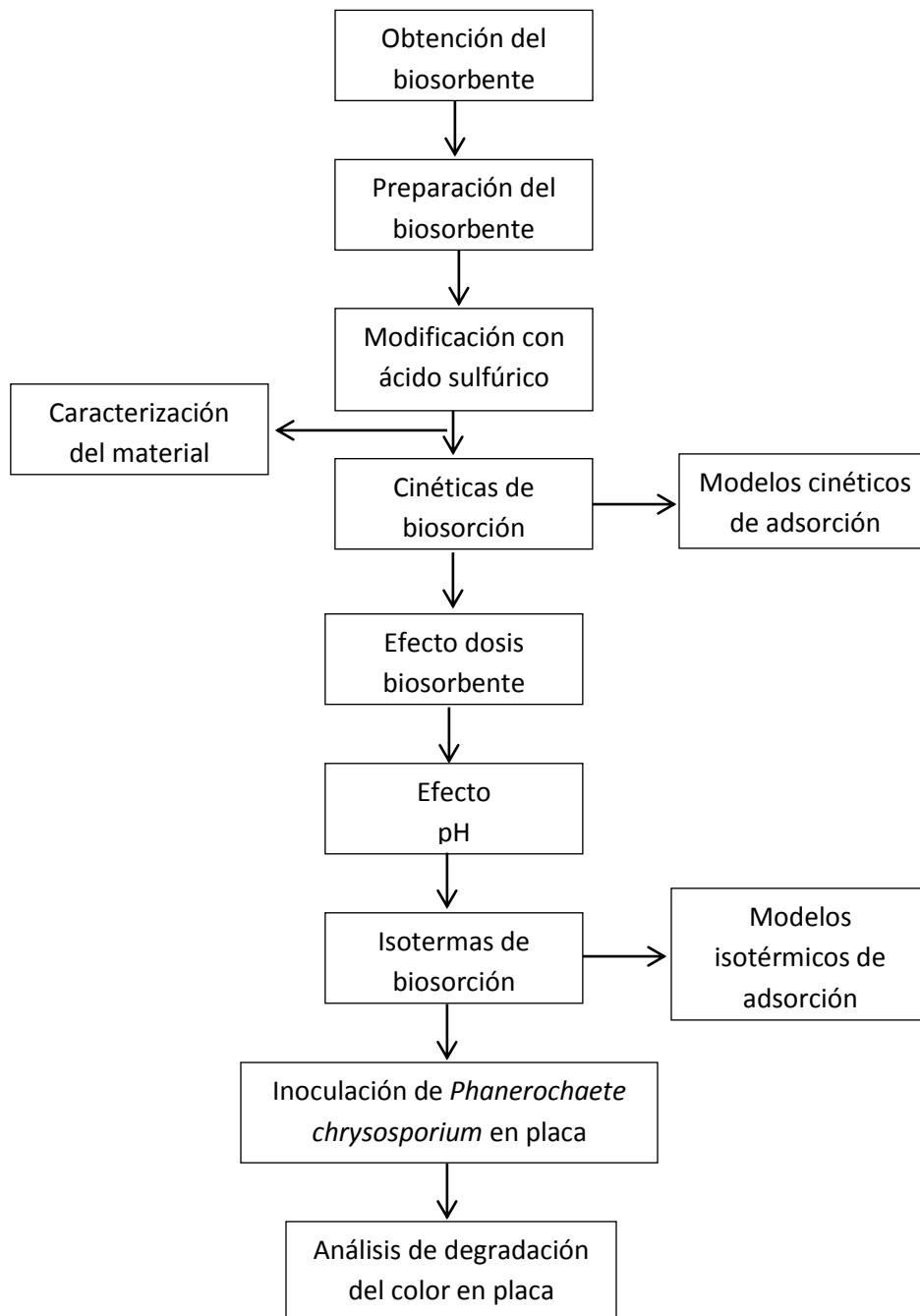


Figura 8. Diagrama de bloques de la fase experimental.

7.1. Obtención del biosorbente

Se visitaron fábricas de ates y mermeladas de la ciudad de Morelia para la recolección de semillas de guayaba, las cuales se consideran como desecho en dichos establecimientos.

7.2. Modificación del biosorbente

7.2.1. Modificación física del biosorbente

La semilla fue lavada con agua corriente para remover residuos de pulpa, y posteriormente con agua destilada para asegurar su limpieza. Después se secó, trituro y tamizó hasta obtener un tamaño aproximado de 1 mm (Figura 9a).

7.2.2. Modificación química del biosorbente

La biomasa fue sometida a tratamiento ácido con el fin de protonar completamente a la semilla de guayaba y aumentar la capacidad de retención del colorante, humedeciendo y agitando con una solución 1M de ácido sulfúrico (H_2SO_4). En la Figura 9b se muestra la semilla previa a ser sometida a contacto con el ácido.

Para ello, se pesaron 5 g de semilla y se colocaron en 200 mL de solución 1M de H_2SO_4 , posteriormente se agitó durante 4 horas (modificado de Martín-Lara, 2012). La semilla se lavó cinco veces con agua destilada y se secó por 12 horas a temperatura de $40^{\circ}C$.

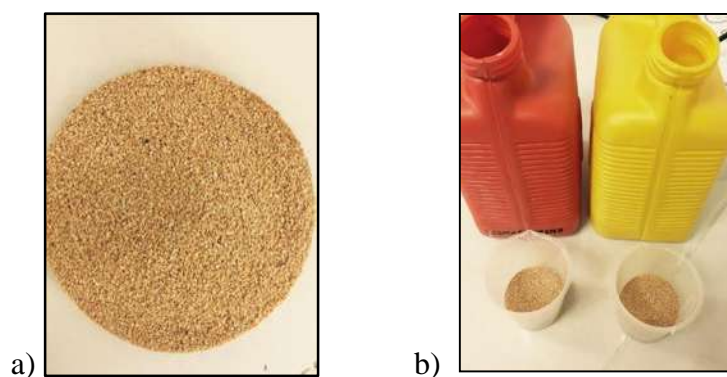


Figura 9. a) Semilla natural triturada y tamizada para la modificación física. b) Semilla en contacto con H_2SO_4 , para su modificación química.

7.3. Caracterización del biosorbente

La caracterización del biosorbente se realizó a través de Espectroscopía de infrarrojo y de Microscopía electrónica de barrido, las cuales son explicadas a continuación.

7.4. Espectroscopía de infrarrojo

La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), se utilizó para determinar los principales grupos funcionales en el material biosorbente, antes y después de su retención de adsorbatos; con el propósito de determinar los grupos funcionales involucrados en la retención del anión (Marín-Rangel, 2011; Martín-Lara, 2008). Se obtuvieron en el proceso tres muestras: 1) Semilla natural (SN), 2) Semilla modificada o tratada con H_2SO_4 (SM), y 3) Semilla modificada después de la cinética con Rojo Remazol Int (SMRR). Las muestras fueron analizadas en un espectrofotómetro FTIR marca Bruker® Modelo Tensor 27 (Figura 10). El rango de longitud de onda empleado fue el comprendido entre 200 y 4000 cm^{-1} .



Figura 10. Equipo utilizado en la medición en la espectroscopía a) Presurización de las muestras con bromuro de potasio. b) espectrofotómetro FTIR marca Bruker® Modelo Tensor 27.

7.5. Microscopía electrónica de barrido

El análisis se realizó mediante un microscopio de barrido de alto vacío (MEB) para determinar la morfología superficial del material (SN, SM y SMRR), para localizar posibles sitios de unión y con la intención de conocer los elementos presentes en la estructura del material a trabajar (Marín-Rangel, 2011; Grágeda y Montesinos, 2011).

METODOLOGÍA

Las ventajas del uso de MEB son la alta resolución ($\sim 100 \text{ \AA}$), la gran profundidad de campo que le da apariencia tridimensional a las imágenes y la sencilla preparación de las muestras. Para llevar a cabo esta caracterización se utilizó un equipo JSPM-5200 Scanning Microscope, Marca: JEOL, Microanálisis (detector): Modelo JEOL JSM-7600F FEG-SEM (Figura 11), que se encuentra en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Metalúrgicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Previo al análisis las muestras fueron trituradas y tamizadas hasta obtener un tamaño de partícula menor a $250 \mu\text{m}$, posteriormente se secaron durante 4 horas a 80°C , para después ser dejadas en un desecador antes de ser llevadas al baño con cobre para metalizar las muestras para el análisis.

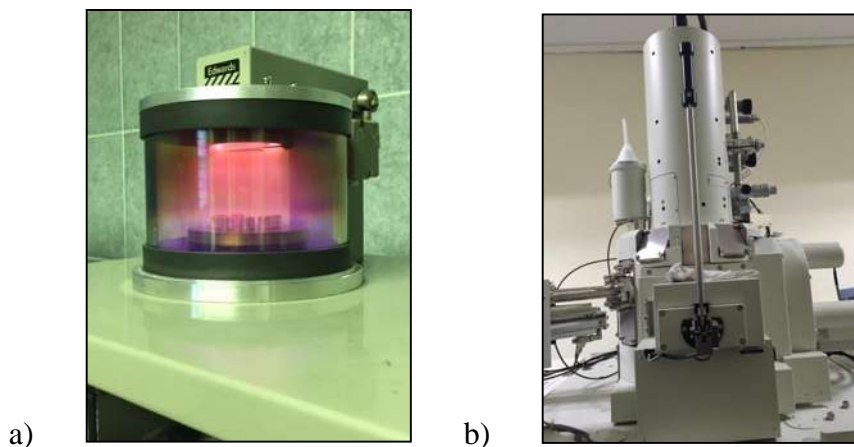


Figura 11. a) Metalización de las muestras a través de un baño con cobre. b) Equipo utilizado para la caracterización, equipo JSPM-5200 Scanning Microscope, Marca: JEOL, Microanálisis (detector): Modelo JEOL JSM-7600F FEG-SEM

7.6. Cinética de biosorción

Durante el trabajo de investigación se utilizó colorante Rojo Remazol Int R-GB (RR) proporcionado por la empresa T-ANNA, S.A. de C.V. del municipio de Zinapécuaro, Michoacán.

Para determinar la cinética de biosorción del colorante se realizaron experimentos de contacto, con la semilla modificada y soluciones con el colorante RR durante 420 minutos, tomando mediciones cada 15 minutos hasta alcanzar una hora, y posteriormente cada 30

min. Esto permitió determinar el tiempo en el cual se alcanza el equilibrio, dicho procedimiento se realizó de la siguiente manera:

Se colocó 1 g de biosorbente, con 10 mL de solución a una concentración de 20 mg/L de RR, colocadas en recipientes de plástico iniciando la medición a los 0 minutos y con intervalos de 15 minutos, se llevó a agitación durante 300 minutos a 120 rpm a temperatura ambiente. Como se observa en la Figura 12.

Una vez transcurrido el tiempo de contacto deseado, se separó la fase líquida del biosorbente para su análisis espectrofotométrico a 520 nm (Akyol y cols., 2004; Nigam y cols., 2000). Los datos experimentales obtenidos en la cinética de biosorción fueron ajustados a los modelos empíricos de Lagergren, Elovich y de Pseudo-Segundo orden.



Figura 12. Semilla de guayaba en agitación en contacto con el colorante.

7.7. Efecto de la dosis de biosorbente

Para determinar si existe algún efecto de la dosis de biosorbente (semilla de guayaba) se realizaron experimentos de contacto con el colorante 20 mg/L a diferentes concentraciones de semilla (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.2, 1.3, 1.4 y 1.5g). Se pesaron las diferentes dosis de semilla y se colocaron frascos de plástico, a continuación se les agregó solución con el colorante a 20 mg/L, se colocaron los frascos en agitación durante el tiempo de equilibrio logrado en la cinética.

Con el espectrofotómetro se determinaron las concentraciones de las diferentes soluciones para así determinar la dosis mediante la cual se obtiene una mejor remoción del colorante.

7.8. Efecto del pH

Se pesó la semilla y se colocó en frascos de plástico, donde se agregaron 10 mL de la solución con los colorantes a 20 mg/L con diferentes valores de pH (3, 4, 5, 6,7, 8, 9 y 10). Los frascos se colocaron en agitación a de 120 rpm a temperatura ambiente (25°C). Al término del tiempo de contacto se separó la fase líquida por decantación y se midió con ayuda del espectrofotómetro.

El valor de pH se ajustó con ácido clorhídrico (HCl) 1M y con hidróxido de sodio (NaOH) 1M, y fue medido con ayuda del potenciómetro Hanna pH meter (Figura 13).



Figura 13. Potenciómetro (Hanna pH meter)

7.9. Isotermas de biosorción

Para obtener las isotermas de biosorción de colorantes se hicieron experimentos de contacto con semilla de guayaba modificada y el colorante, por separado, a diferentes concentraciones (de 10 a 300 mg/L) y a diferente temperatura (25°C, 35°C y 40°C). Se colocó la semilla en frascos y se agregó la solución con el colorante, poniéndose en agitación a 120 rpm. Al término del tiempo de contacto se separaron las muestras y se analizaron por medio del espectrofotómetro. Los datos experimentales de isotermas se ajustaron a diferentes modelos isotérmicos.

7.10. Caracterización de biomasa fúngica

7.10.1. Medios de cultivo

Durante toda la investigación fue usada la cepa de *Phanerochaete chrysosporium* proporcionada por el Departamento de Ingeniería Bioquímica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

El hongo se mantuvo en medio de cultivo PDA (papa dextrosa) a 35°C para su conservación y para ser utilizado durante los experimentos posteriores.

7.10.2. Obtención de inóculos

Para todos los experimentos realizados se utilizaron inóculos de micelio provenientes de colonias en crecimiento activo sembradas en el medio dextrosa papa incubados por diez días a 35 °C. Para ello, los inóculos se tomaron del borde de la colonia con un tamaño aproximado de 1 cm², tal como se observa en la Figura 14.

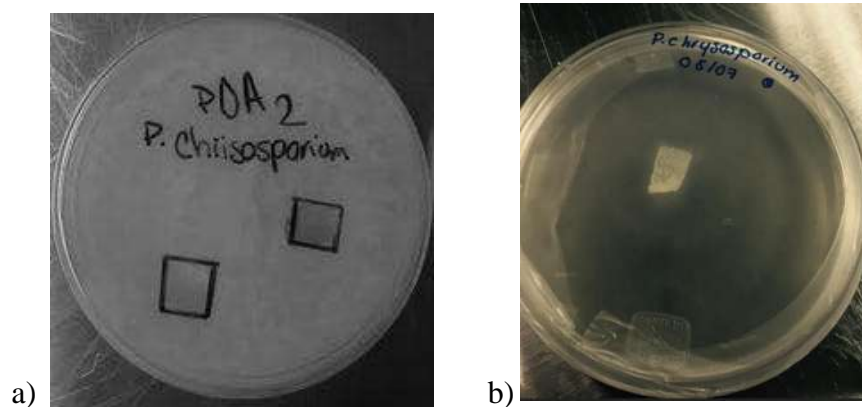


Figura 14. Obtención de inóculos de *P. chrysosporium* a) Medición del medio 1cm² b) Inoculación del medio extraído en PDA.

7.11. Preparación de la semilla como sustrato

La semilla se secó a temperatura ambiente hasta que ya no mostrara restos de humedad; posteriormente se pesaron 25 g de semilla natural, de semilla modificada y de semilla con colorante RR.

La semilla fue colocada para esterilización en autoclave a 121°C durante 20 minutos. Seguido a la esterilización se colocó la semilla, por separado, en cajas de Petri previamente etiquetadas y se dejó enfriar. Después de aproximadamente 10 minutos, se agregaron 10 mL de agua destilada estéril a cada caja de Petri, cuidando de que cada caja tuviera las mismas condiciones de humedad. Una vez humedecida la semilla se inoculó con 1 cm² de hongo. Las semillas se colocaron a temperatura de 35°C y a oscuridad.

Las mediciones de diámetro fueron realizadas cada 24 horas posteriores a su inoculación.

7.12. Degradación del colorante Rojo Remazol Int R-GB en cultivo sólido

Se colocaron 25 g de semilla de guayaba natural, modificada y con colorante, previamente esterilizada, en cajas de Petri por separado (Figura 15a). Posteriormente a cada caja se añadió un círculo de aproximadamente 1 cm de diámetro de medio PDA con hongo *P. chrysosporium*, crecido previamente como se describe en la sección de obtención de inóculos.

Para medir la cinética de crecimiento del hongo sobre los distintos sustratos, se inoculó el hongo y se realizaron mediciones cada 24 horas.

Posteriormente, para analizar la pérdida de color debida al hongo sobre la semilla, se realizaron análisis tanto visuales como de IR. Los experimentos fueron realizados por triplicado (Figura 15b).

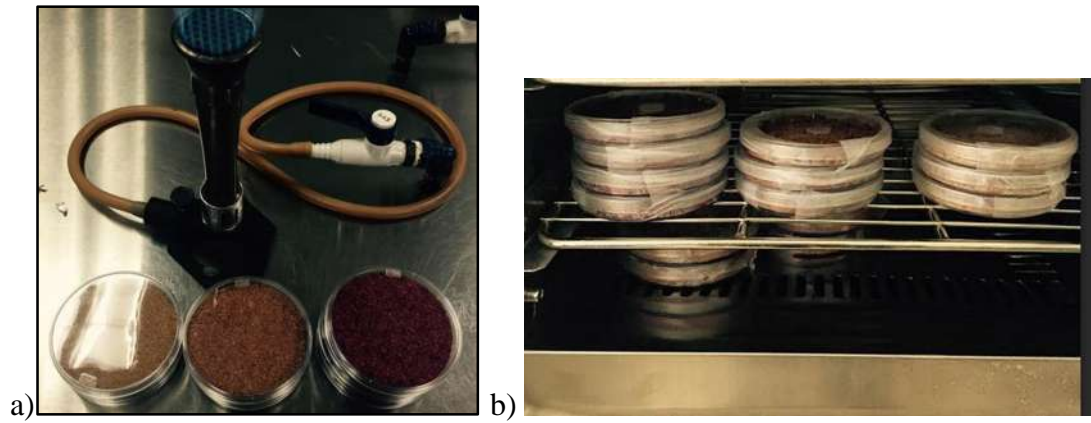


Figura 15. Semilla modificada, natural y con colorante RR a) en el ambiente estéril previo a la inoculación b) semilla inoculada colocada a temperatura de 35°C.

7.13. Materiales, equipos y reactivos

En la tabla siguiente se muestran los materiales, equipos y reactivos utilizados en el transcurso del presente trabajo.

Tabla 7. Materiales, reactivos y equipos utilizados en el trabajo.

MATERIALES	REACTIVOS
Probeta (1 L, 500 mL)	Ácido Sulfúrico (H ₂ SO ₄) concentrado.
Cronometro	Agua destilada
Micropipetas (10mL, 100-1000 µL, 10-100 µL)	Metanol
Cajas de petri desechables	Ácido Clorhídrico (HCl) 1M
Cajas de petri de cristal	Hidróxido de Sodio (NaOH) 1M
Matraz aforado (500 mL y 1 L)	Caldo Papa Dextrosa
Sacabocados (1 cm ²)	Agar Papa Dextrosa (PDA)
Pisetas	Colorante Rojo Remazol Int R-GB
Balanza analítica	
Pipeta graduada (5 mL y 10 mL)	
Parrilla magnética	EQUIPOS
Tamiz (1mm, 0.5 mm y 20 µm)	Espectrofotómetro UV-visible
Espátula	Espectrofotómetro IR
Vaso de precipitado (250mL, 500mL y 1L)	Microscopio de barrido de alto vacio (MEB)
Matraz (250 mL, 500 mL y 1 L)	Potenciómetro Thermo Scientific
Frascos de plástico de 25 mL	Autoclave
Molino	Horno (40°C, 35 °C y 28 °C)
Garrafas (1 y 2 L)	Centrifuga
MATERIAL BIOLÓGICO	Termo-baño
Semilla de guayaba	Agitador orbital <i>Kitlab</i>
Hongo <i>P. chrysosporium</i>	

CAPÍTULO 8. RESULTADOS

8.1. Espectroscopia de Infrarrojo

8.1.1. Espectroscopia infrarroja de semilla natural

En la Figura 16 se observa la FTIR obtenida de la semilla natural sin haber tenido contacto con el colorante, donde se aprecia la presencia de distintos grupos funcionales. Por otro lado, en la Tabla 8 se muestran los distintos grupos funcionales que han sido reconocidos para las longitudes de onda (cm^{-1}) encontradas en las muestras.

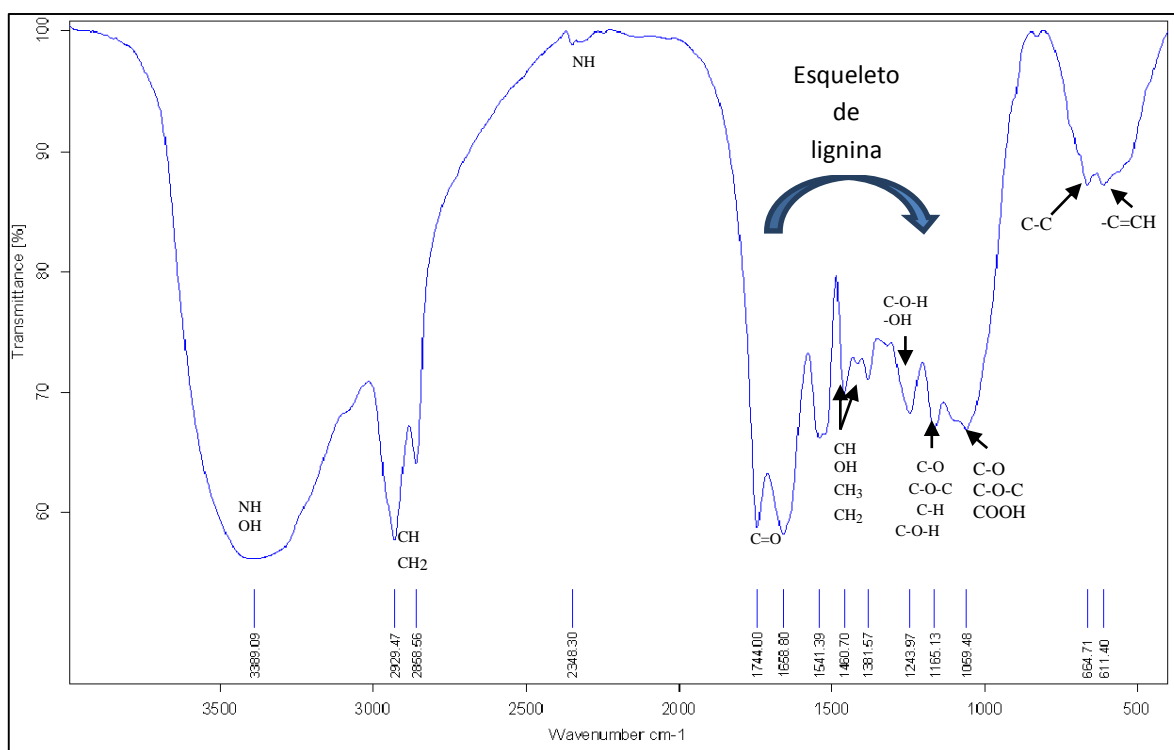


Figura 16. Espectroscopia de la semilla de guayaba natural (SN).

RESULTADOS

Tabla 8. Bandas de absorción de FTIR para la semilla de guayaba natural (modificada de Vazqu ez-Guerrero, 2014).

Semilla de guayaba natural.					
No. de onda cm ⁻¹	Rango de onda cm ⁻¹	Enlace	Grupo funcional	Compuesto químico	Presencia en la semilla
611.4	611	-C=CH	-		
664.71	667	O=C=O C-C C-Hn	-	Bióxido de carbono Grupos aromáticos	Esqueleto carbonado
1059.48	1025-1075	C-O C-O-C COOH	éster o éter Carboxilo	Grupos aromáticos ácidos Carboxílicos	Lignina
1165.13	1080-1160	C-O C-O-C C-H C-O-H	éster o éter	Compuestos aromáticos Aldehído	Presencia en celulosa Polisacáridos y Carbohidratos simples.
1243.97	1210-1360 1400-1250	C-O-H O-H NO ₂		Aldehídos fenólicos Grupos aromáticos	Pectina y celulosa
1381.57 1460.7	1340-1460 1400-1250	CH OH C-H ₃ C-H ₂ NO ₂	Hidroxilo Metilo Metileno	Alcoholes, Aldehídos Alifáticos Grupos aromáticos	Lignina y celulosa
1541.39	1300-1600 1500-1650	NO ₂		Compuestos heterocíclicos	Lignina y celulosa
1658.8	1640-1730	C=O	Carbonilo	Carbonato aldehído, cetona, carboxilato, aromático (Ciclo de 5 miembros)	Hemicelulosa y Lignina
1744.0	1615-1765				
2348.3	2340-2357	N-H	Ion amonio	Aminas y Amidas Grupos aromáticos	Celulosa y lignina
2858.56 2929.47	2850-2920	CH CH ₂	Metileno	Aldehídos Metileno alifáticos	-
3389.09	3310-3400	OH N-H	Hidroxilo Ion amonio	Alcoholes y fenoles Aminas y Amidas	Pectina, celulosa y lignina.

Debido a que los componentes de la semilla consisten principalmente de celulosa, hemicelulosas, lignina y extractivos (grasas, ceras, etc.), los principales grupos funcionales encontrados fueron: carboxílico (presente en hemicelulosa, pectina y lignina), fenólicos (lignina y extractivos) y en cierta medida hidroxílicos (celulosa, hemicelulosa, lignina, extractos y pectina) y los grupos carbonilo (lignina, pectina) (Wahab y cols., 2010; Tandy y cols., 2010; Alvarado-Jiménez, 2010; Contreras y cols., 2011).

La estructura general de la lignina y sus subproductos han sido ilustrados por Chen y Chang en 1985, quienes mencionan una compleja composición de unidades de fenilpropano conectados vía diferentes cadenas de C-C o C-O-C, las cuales se observan en el rango de longitud de onda de 1059.48–1243.97 cm^{-1} . De las bandas 1600 al 1450 cm^{-1} se encuentran los enlaces principales de los grupos aromáticos del esqueleto de la lignina (Zhijia y Benhua, 2013).

El mecanismo de biosorción de compuestos lignocelulósicos son el intercambio de iones y la formación de iones complejos de las especies químicas de la solución.

8.1.2. Espectroscopia infrarroja de semilla modificada y natural

En la Figura 17 se observa la comparación entre los FTIR de la semilla natural y la semilla modificada. Es evidente la coincidencia entre los grupos funcionales encontrados en ambos espectros, esto se debe a la prevalencia de los grupos funcionales presentes en la semilla (celulosa, hemicelulosas y lignina).

Sin embargo, la intensidad de la señal que se aprecia es distinta, se observa que al momento de ser modificada la semilla hay un incremento en la transmitancia por arriba del 60%, lo que demuestra la interacción de los grupos funcionales con el ácido sulfúrico. Esto se debe a que el desplazamiento de un ion por otro genera prácticamente el mismo espectro (Stuart, 2004). Moon-Park y cols., en el 2010 mencionan que el lavado de la biomasa (modificación) con H_2SO_4 únicamente reemplaza los iones presentes en la biomasa por iones hidrogeno H^+ y iones sulfato SO_4^- .

La espectroscopia ha sido utilizada como un método para describir los componentes de una solución. En el caso del ácido sulfúrico, las frecuencias para las especies iónicas son generalmente aceptadas son 1040 cm^{-1} para HSO_4^- y 980 cm^{-1} para SO_4^{2-} . Las frecuencias relacionadas para la especies disociadas no son fáciles de definir (Sanders, 1984). Lo cual se hace evidente en el espectro de la Figura 17, donde en la zona alrededor de 1000 cm^{-1} existe una notable disminución de la transmitancia.

RESULTADOS

Resultados similares se observan en experimentos realizados por Reyes-Valdés (2013), donde la semilla de guayaba al ser modificada con surfactante presenta los mismos grupos funcionales que la semilla natural, pero valores menores en la transmitancia.

La diferencia entre la semilla modificada y la semilla natural, puede deberse a la remoción de grupos pertenecientes a hemicelulosas de la semilla. La mayor diferencia entre la celulosa y la hemicelulosa es que ésta última presenta ramas con cadenas cortas conteniendo diferentes azúcares. Estos monosacáridos incluyen pentosas (xilosa, ramnosa y arabinosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y ácidos úronicos (Kumar y cols., 2009). La hemicelulosa es conocida como una vestidura de las microfibrillas de celulosa en la pared celular vegetal, formando una barrera de acceso a las enzimas hidrolíticas. La remoción de esta hemicelulosa de las microfibrillas se cree causa la exposición de la celulosa e incrementa la hidrólisis enzimática de la misma (Yang y Wyman, 2004). El pretratamiento con ácido es un método selectivo en la fragmentación de la hemicelulosa. Y ambos, la celulosa y la hemicelulosa, pueden ser hidrolizadas en tratamientos ácidos (Zhijia y Benhua, 2013).

RESULTADOS

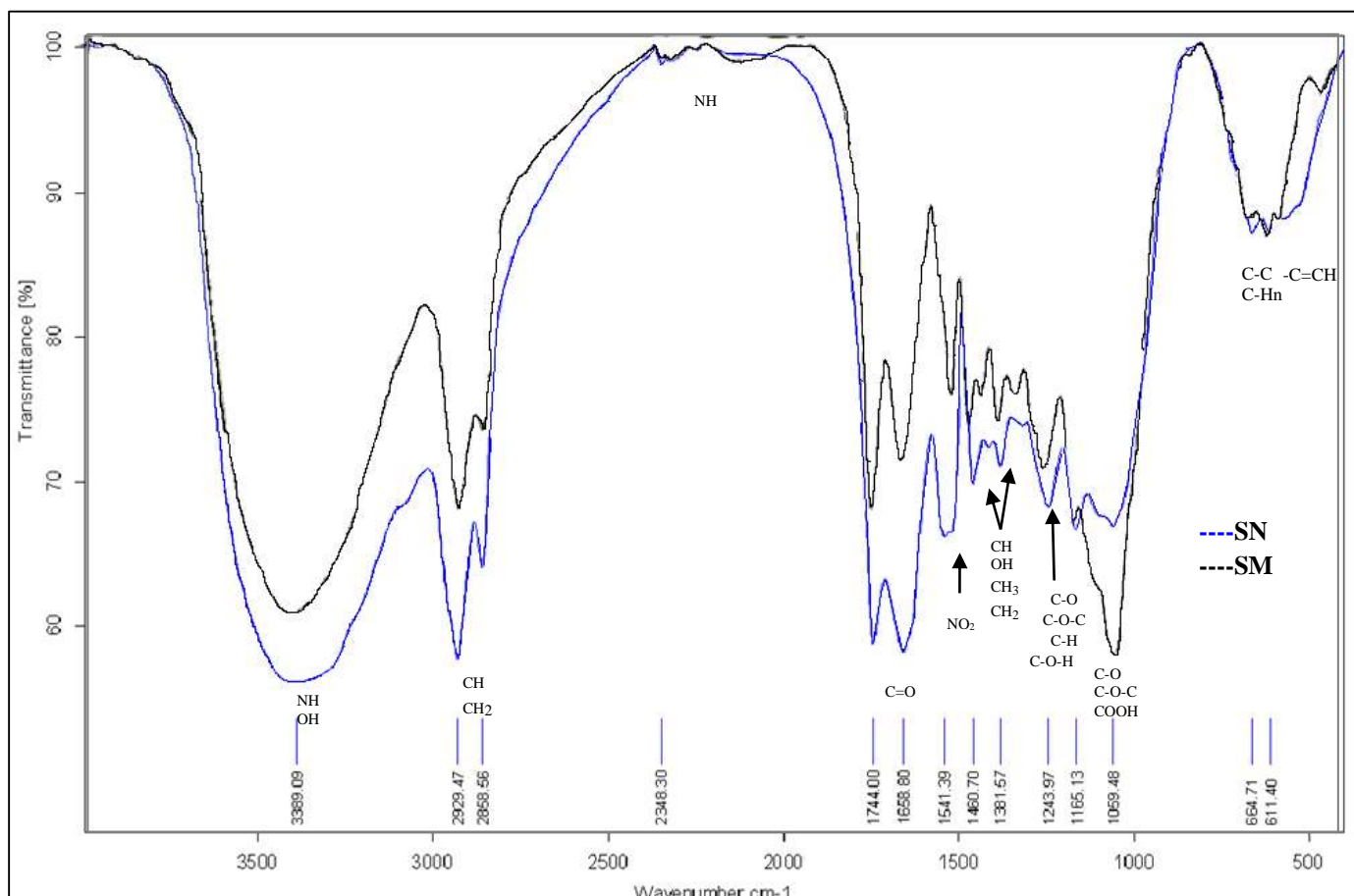


Figura 17. Espectroscopia de SN (línea azul) y SM (línea negra).

8.1.3. Espectroscopia infrarroja de semilla modificada y con el colorante RR

En la Figura 18 se muestra la comparación de la semilla modificada antes y después de haber estado en contacto con el RR. Se observa una disminución en la transmitancia de la semilla después del contacto con el colorante, esto puede ser debido a la saturación de grupos funcionales implicados en la retención del color en la semilla.

Donde se logran observar más cambios es en la longitud de onda 3417.68 cm^{-1} , la cual está relacionada con la presencia de grupos hidroxilos y ion amonio, donde no se obtiene diferencia en el número de las bandas, sino en la intensidad de las mismas. Por lo que puede decirse que el proceso de adsorción involucra uniones del colorante RR con grupos funcionales (Ainane y cols., 2014).

RESULTADOS

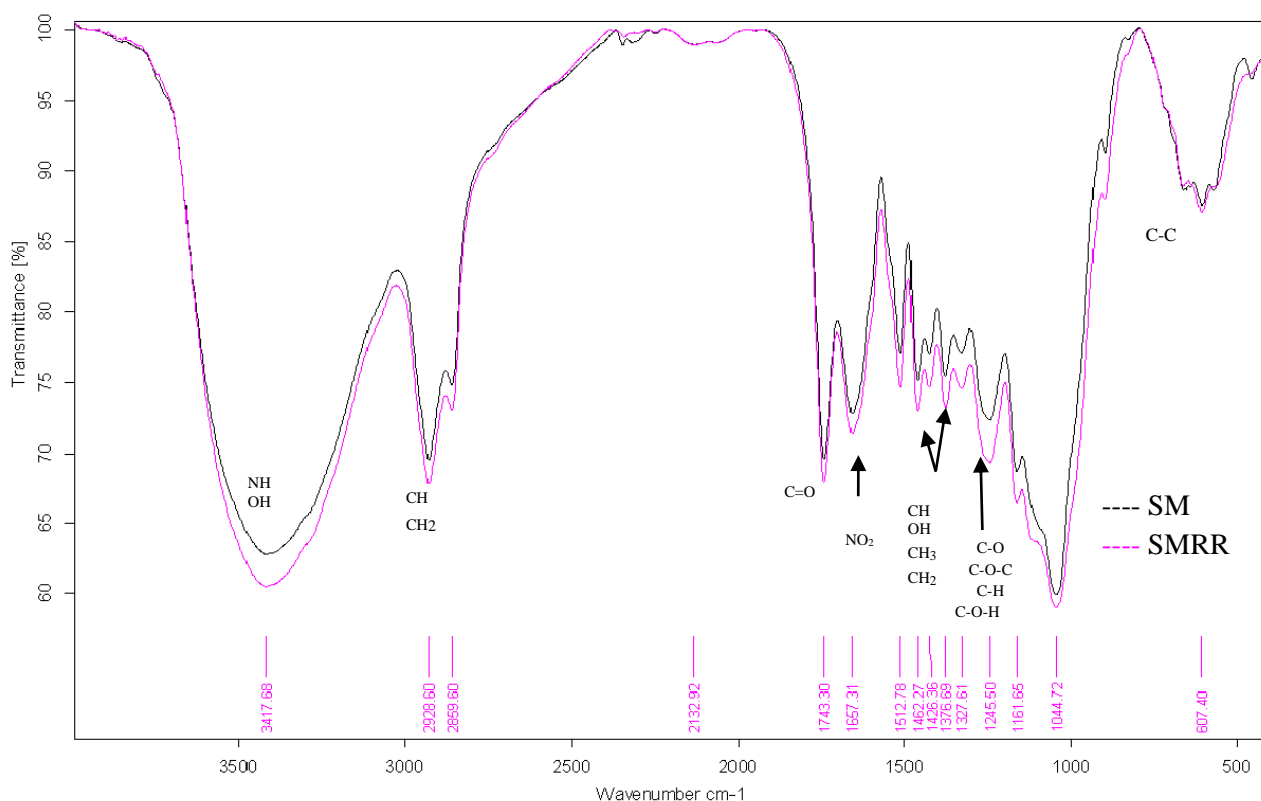


Figura 18. Espectroscopia de SM (línea negra) y SMRR (línea rosa)

8.2. Microscopía electrónica de barrido

A continuación en la Figura 19, se observan comparaciones de fotografías de microscopía electrónica de barrido entre la semilla natural (SN) y la semilla modificada (SM). Se realizaron con el objetivo de determinar diferencias estructurales originadas por la modificación con el ácido sulfúrico (H₂SO₄). En el caso de la SN se observa una superficie más lisa y definida, y la presencia de gránulos ovalados con la superficie igualmente lisa. Por el contrario, la muestra de SM presenta una superficie rugosa, con alguna aparición de superficies planas, sin embargo la rugosidad de la muestra predomina, esto debido a la modificación química que se llevó a cabo.

RESULTADOS

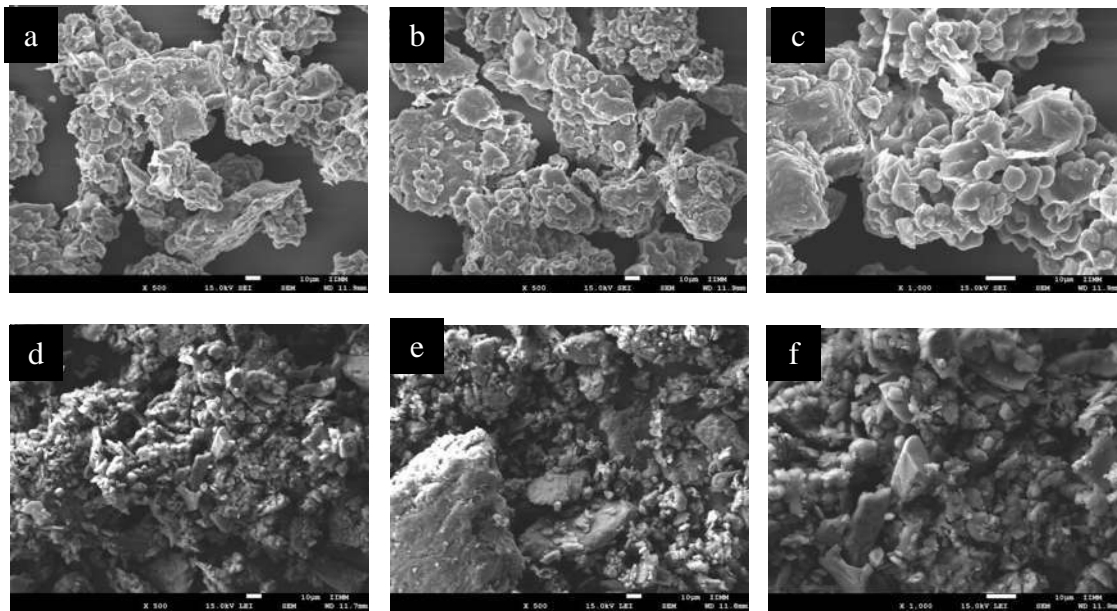


Figura 19. MEB de semilla de guayaba. Las imágenes a y b pertenecen a SN a 500x y la imagen c corresponde a la SN a 1000x. La SM se ve representada por las imágenes d, e (500x) y f (1000x).

Por otro lado, la microscopía electrónica permite el observar la presencia de los distintos elementos presentes en la muestra. En la Figura 20 se presentan los elementos que se observaron en mayor cantidad sobre la superficie de la SM.

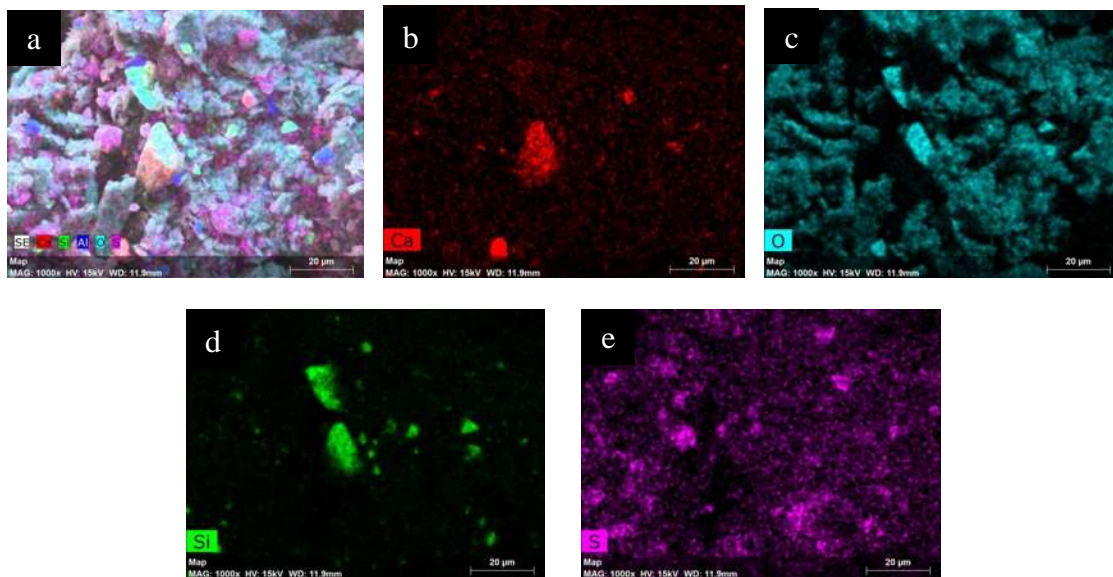
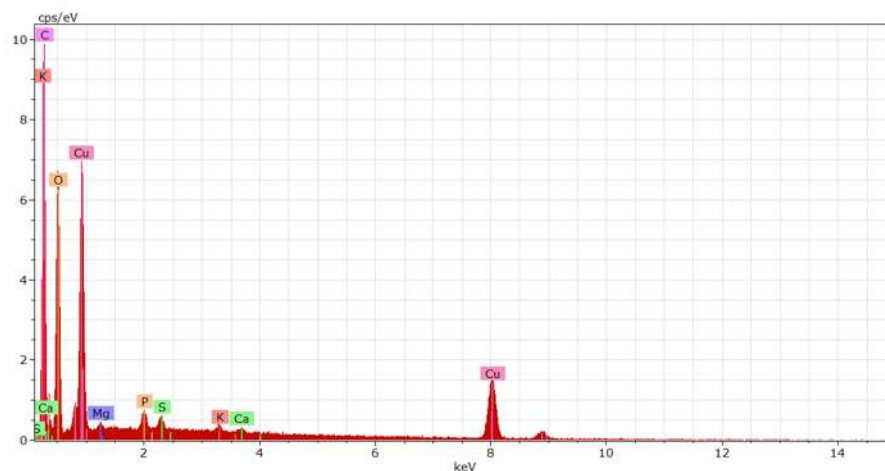


Figura 20. Mapeo realizado sobre la SM para determinar la presencia de distintos elementos. En a se observa el mapeo general de los elementos a 1000x, b) Mapeo de Carbono 1000x, c) Mapeo de oxígeno, d) Mapeo de Silicio, y e) Mapeo de Azufre.

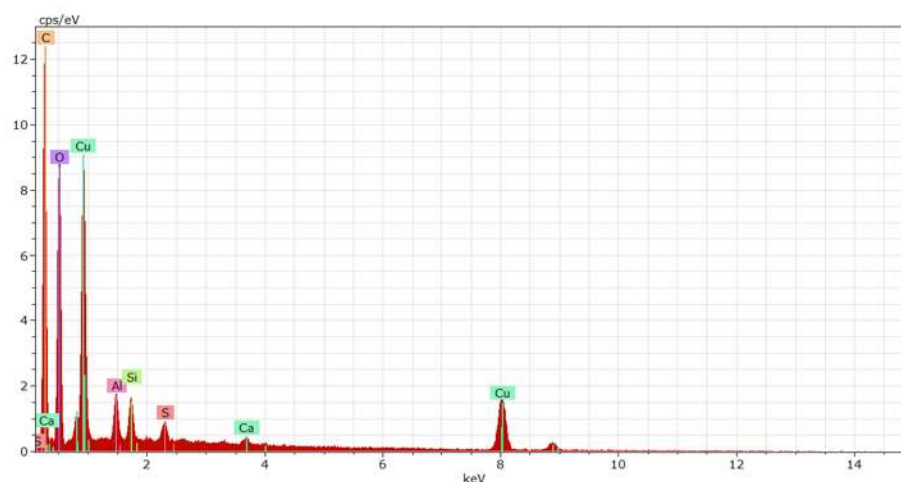
RESULTADOS

En la Figura 21 se muestra el microanálisis realizado para la SN y SM, donde se observa de forma precisa la presencia y abundancia de los elementos presentes; se observa que en la SN los elementos que se encuentran en mayor cantidad son en Carbono, Oxígeno, Azufre, Fósforo, Potasio, Calcio y Magnesio. Por otro lado, la SM muestra los mismos elementos con la adición de aluminio, silicio y un incremento en la presencia de azufre. La presencia de Cu que se observa en las Gráficas es debida a la metalización realizada con dicho elemento.



Elemento	Peso (%)
Carbón	46,76093
Oxígeno	50,81861
Azufre	0,470801
Fósforo	0,632929
Potasio	0,50341
Calcio	0,52466
Magnesio	0,288663
Total	100

a



Elemento	Peso (%)
Carbón	47,29024
Oxígeno	48,1665
Silicio	1,514382
Azufre	0,742783
Calcio	0,639524
Total	100

b

Figura 21. Elementos presentes en SN (a) y SM (b).

Posteriormente, se realizó el análisis de MEB sobre la SMRR para así intentar determinar la presencia del colorante en la superficie de la SM, en la Figura 22 se muestran los resultados obtenidos.

RESULTADOS

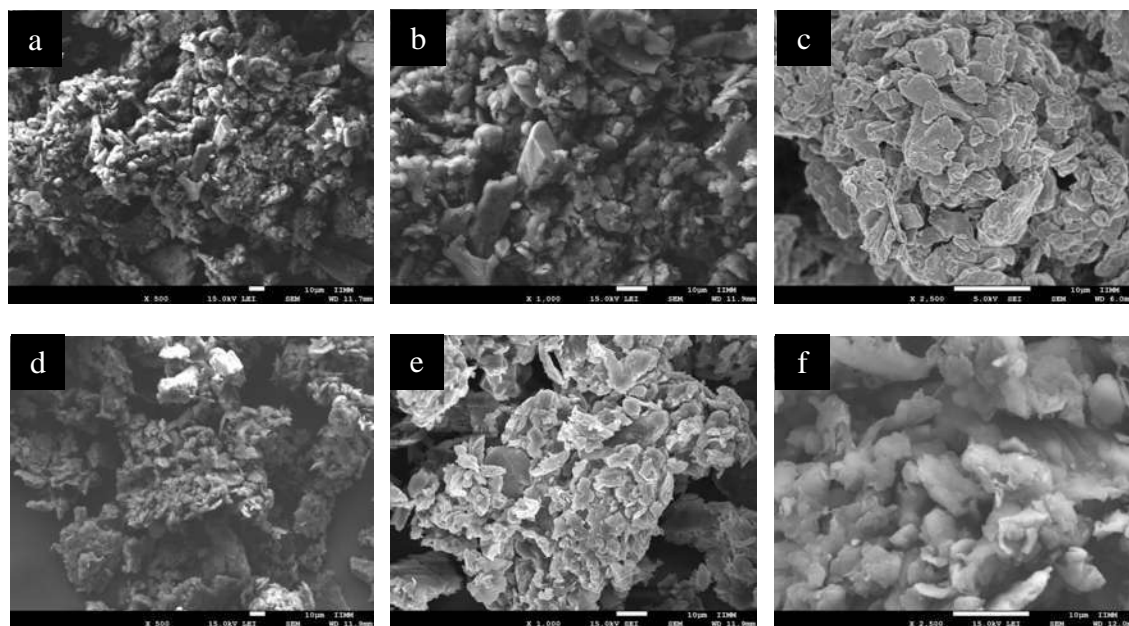
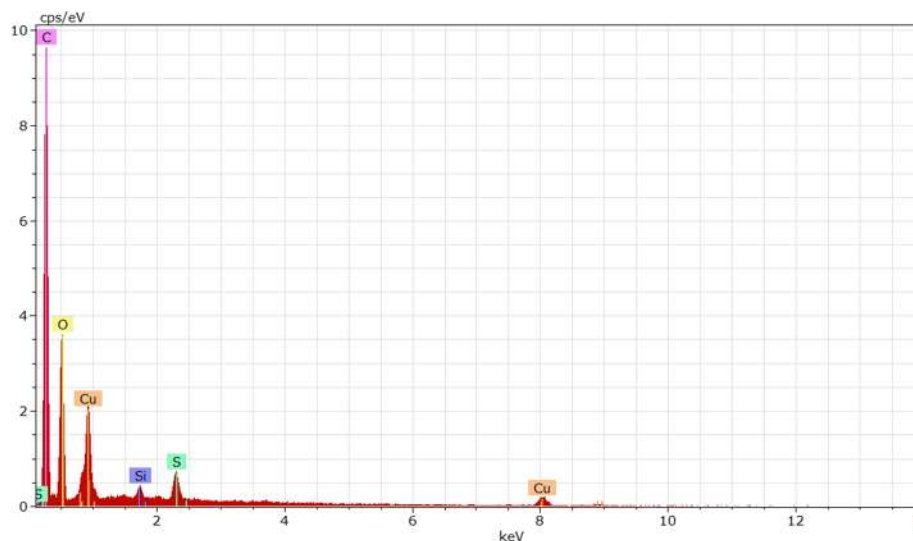


Figura 22. Imágenes de MEB obtenidas para la SM con a) 500x, b) 1000x y c) 2500x y la SMRR con d) 500x, e)1000x y f) 2500x.

En la Figura 22 se aprecia la diferencia que existe en la superficie de la SM y la SMRR; se observa que la superficie de la SMRR pareciera mas lisa que la de la SM, lo que podría deberse al recubrimiento de sitios activos por parte del RR.

Para reconocer los elementos mayoritarios sobre la SMRR, se realizó el microanálisis de los elementos presentes, los cuales se observan en la Figura 23:

RESULTADOS



Elemento	Peso (%)
Carbono	58,77054
Oxigeno	38,94838
Azufre	1,767317
Silicio	0,513763
Total	100

Figura 23. Elementos mayoritarios encontrados en la superficie de SMRR.

En la Figura 23, se observa la presencia de Carbono, Oxígeno y Silicio; de igual forma, se observa un incremento de Azufre, el cual aumenta después del contacto con el RR, esto puede deberse a que el colorante presenta dicho elemento en su estructura, al presentar el grupo sulfónico en su estructura, como se observa en la Figura 1a.

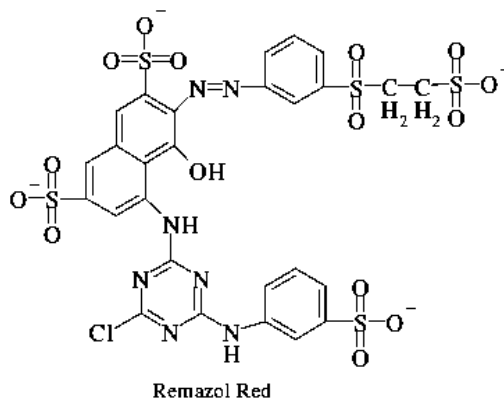
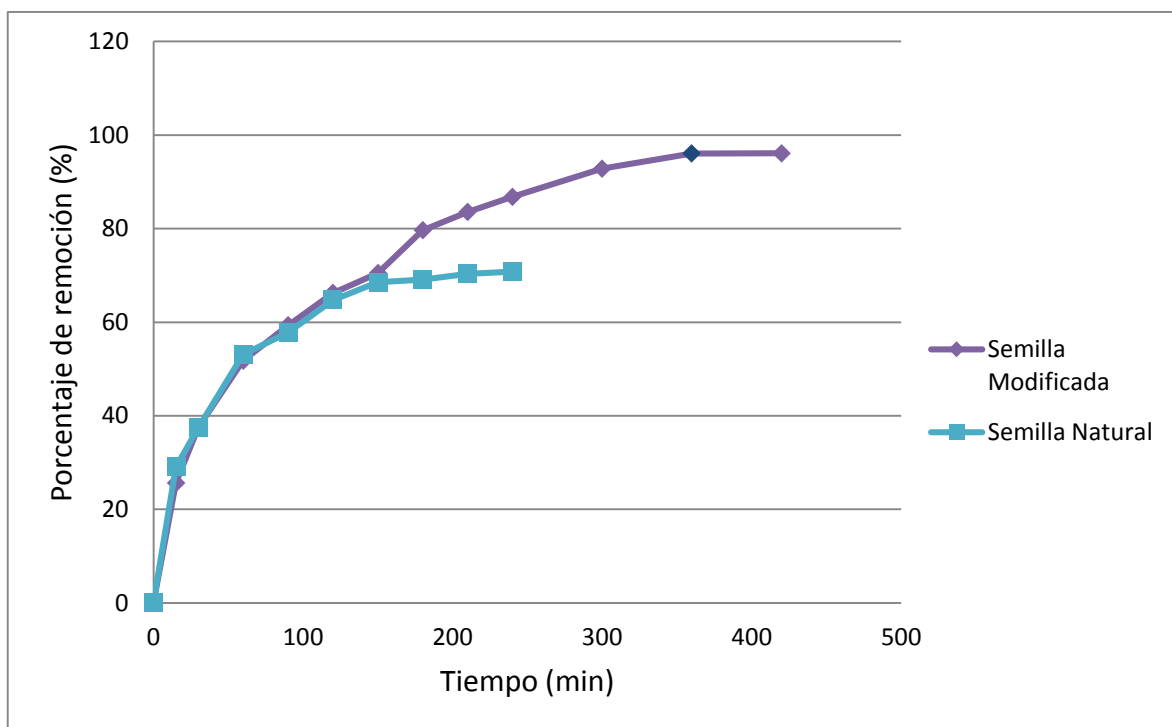


Figura 1a. Estructura química del Colorante RR.

8.3. Cinética de biosorción

Los resultados obtenidos en los experimentos de contacto de la semilla natural y la semilla modificada con el colorante (por separado) se muestran en la Gráfica 1.



Gráfica 1. Cinética de adsorción del colorante RR con 1 g de biosorbente, el punto azul indica el tiempo de equilibrio (360 minutos) con 96 % de remoción.

En la grafica anterior, se observa un incremento de la remoción conforme se aumenta el tiempo de contacto. En la semilla modificada con H_2SO_4 se aprecia que el tiempo en el que se alcanza el equilibrio es a los 360 minutos (punto azul en la línea), donde se obtiene remoción de hasta el 96% del colorante; posterior a este tiempo la remoción del colorante RR no es significativamente mayor con respecto a las anteriores.

De igual forma, se observa que la semilla natural presenta remoción de colorante, sin embargo, esta remoción es menor a la obtenida con la semilla modificada, llegando a los 240 minutos con 70 % de remoción.

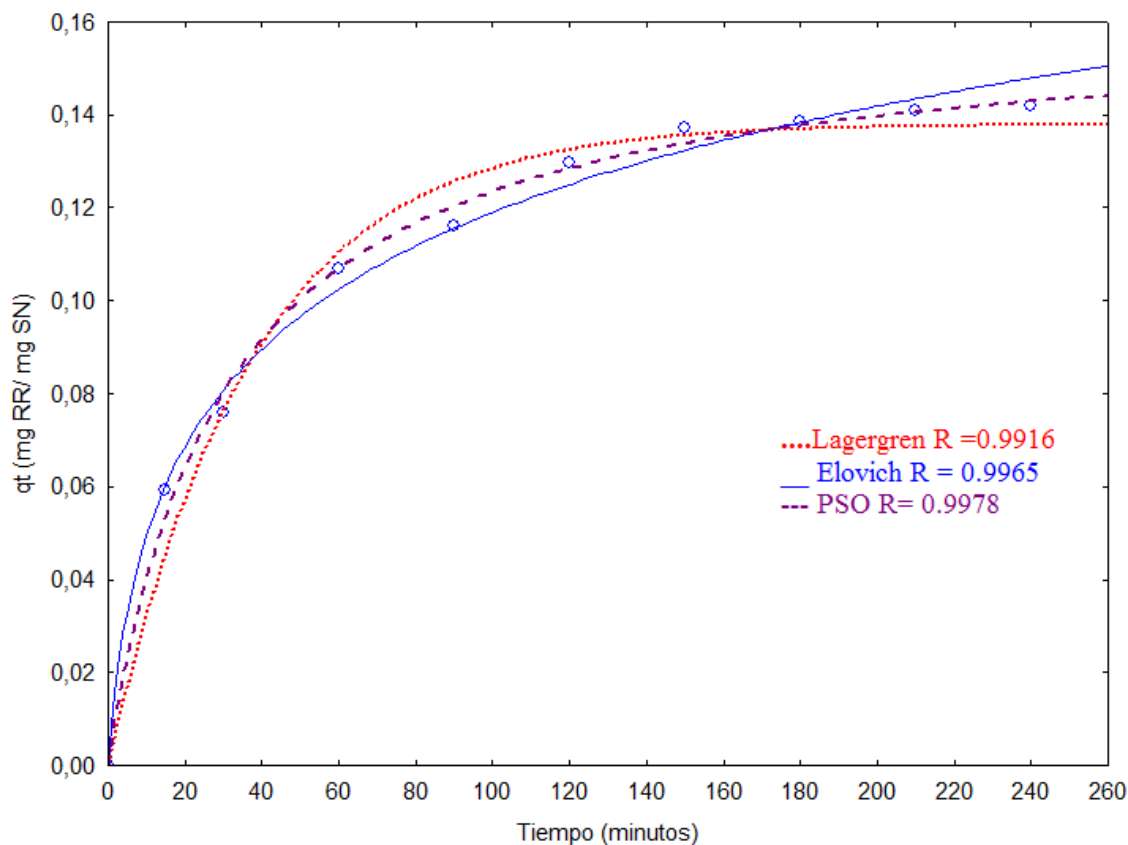
La guayaba ha sido usada anteriormente para la remoción de colorantes tipo azoicos; Martínez-Montes en el 2013 utilizó la semilla de guayaba para la remoción de otro colorante tipo azoico (Rojo N°6) obteniendo 87.8% de remoción a los 90 minutos; de igual forma ha sido utilizada para la formación de carbón activado en la remoción de colorantes tipo azoico.

8.3.1. Modelos cinéticos

Los resultados obtenidos para la cinética con el colorante RR se ajustaron a tres distintos modelos cinéticos Lagergren, Elovich y Pseudo segundo orden, esto para determinar qué modelo puede explicar mejor el comportamiento del sistema adsorbato-adsorbente (semilla-colorante) que se ha estado trabajando.

8.3.1.1. Modelos cinéticos para semilla natural

A continuación, en la Gráfica 2, se aprecia que los tres modelos Elovich, Lagergren y PSO, pueden adecuarse correctamente al sistema semilla natural-colorante. Observándose que para el modelo de Elovich se alcanzó una correlación de 0.9965, para Lagergren de 0.9916, y para PSO de 0.9978.



Gráfica 2. Ajuste a los modelos cinéticos para semilla natural.

El modelo de Elovich o ecuación de primer grado Roginsky-Zeldovich, involucra una variación de la energía de quimisorción con respecto a la cantidad de superficie recubierta y ha sido utilizada para la descripción de sistemas altamente heterogéneos, donde se exhiben diferentes energías de activación (Ho y Mckay, 2002).

El modelo de Lagergren o modelo de pseudo-primer orden, menciona que la adsorción se lleva a cabo en la superficie del adsorbente.

El modelo de PSO se basa en que el paso limitante de la velocidad se debe a una sorción química o quimisorción, la cual involucra fuerzas de valencia a través de intercambio iónico o que comparten electrones el adsorbente con el adsorbato, como fuerzas covalentes (Ho y McKay, 2002).

La adecuación a los tres modelos puede decir que, teóricamente, el sistema semilla natural-colorante presenta sitios donde la unión del colorante se debe a quimisorción, y sitios donde se realiza en la superficie por uniones de Van der Waals.

8.3.1.2. Modelos cinéticos para semilla modificada

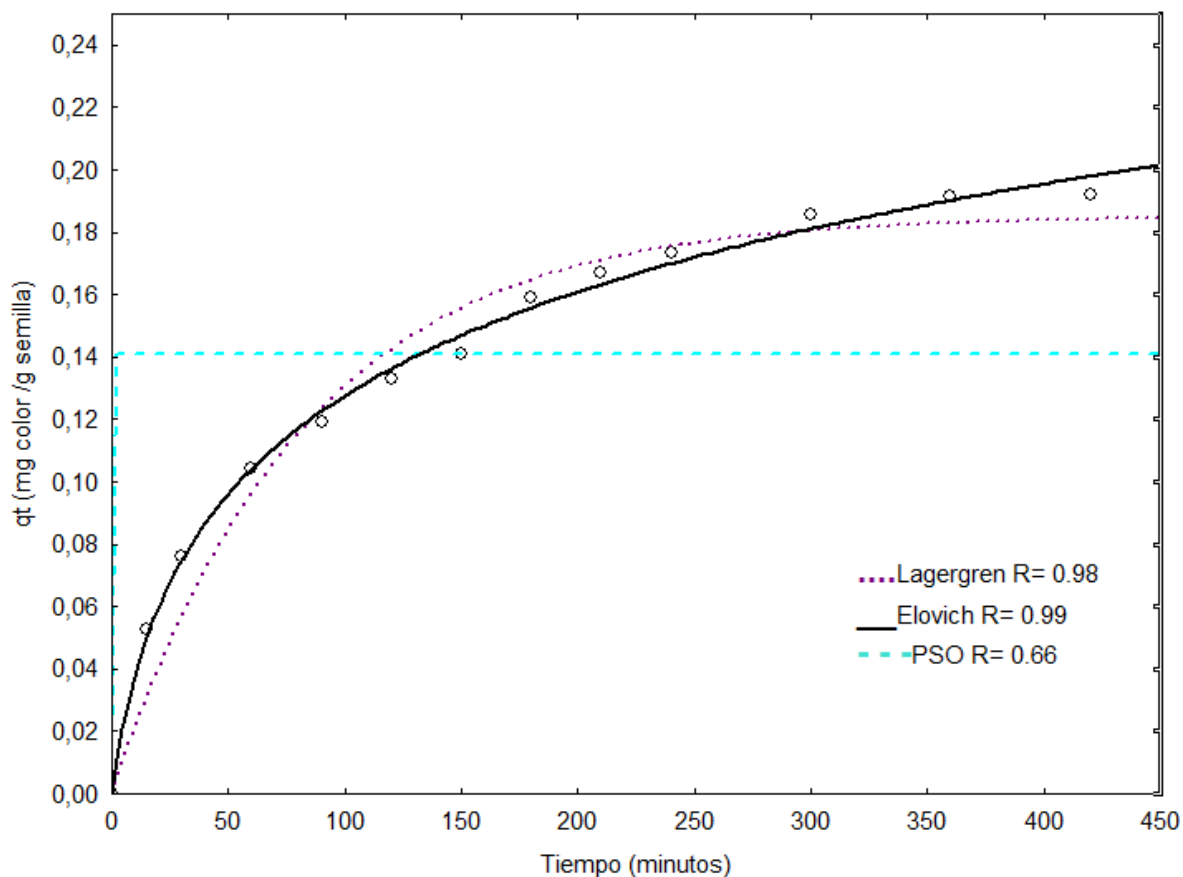
En la Gráfica 3 se observan los resultados obtenidos para cada modelo, donde se observa que el modelo al que más se ajusta la cinética obtenida es al de Elovich con una correlación de 0.99, pudiéndose ajustar de igual forma al modelo de Lagergren con una correlación de 0.98; pero no al modelo de PSO, donde se presentó una correlación de 0.66.

El modelo de Elovich o ecuación de Roginsky-Zeldovich, involucra una variación de la energía de quimisorción con respecto a la cantidad de superficie recubierta y ha sido utilizada adecuadamente en sistemas altamente heterogéneos (Ho y McKay, 2002).

En la quimisorción, el mecanismo consiste en una producción de sitios activos al contacto con el adsorbato, seguido de una decaída casi espontánea de dichos sitios; resultando en una concentración inicial de sitios estables cuya etapa es marcada por una cantidad de soluto que se adsorbe casi instantáneamente. A partir de este punto, ocurre una adsorción lenta, con una desaparición bimolecular de sitios y el correspondiente declive exponencial en la velocidad de adsorción (Low, 1960).

Los modelos de cinética de primer orden, como el modelo de Lagergren, comúnmente describen reacciones en la interfase partícula-solución. Es común encontrarse con cinéticas “bifásicas”, es decir, con una velocidad rápida de reacción seguida por una más lenta. Varios investigadores han interpretado dicho comportamiento como reacciones en dos tipos de sitios: sitios externos rápidamente accesibles y sitios internos difícilmente accesibles (Sparks, 1999).

Por lo anterior se puede deducir, teóricamente, que la semilla de guayaba podría presentar una superficie heterogénea donde la sorción del colorante RR es debida principalmente por quimisorción.



Gráfica 3. Ajuste a los modelos cinéticos para la semilla modificada.

8.3.1.3. Parámetros de modelos cinéticos para semilla modificada

A continuación, en la Tabla 9, se muestran los parámetros cinéticos obtenidos de los modelos de Elovich, Lagergren y PSO para la semilla natural y para la semilla modificada.

RESULTADOS

Tabla 9. Parámetros cinéticos.

Modelos cinéticos	Parámetros	Semilla modificada	Semilla natural
Elovich	α	0.00566mg/g	0,01124 mg/g
	β	19,49040g*mg	29,7209 g*mg
	R	0.99	0.9965
Lagergren	q_e	0,1853 mg/g	0,1380 mg/g
	K_L	0,0122min ⁻¹	0,0269 min ⁻¹
	R	0.98	0.9916
PSO	K	1.6572x10 ¹¹ g/mg h	0,0515 g/mg h
	q_e	0.2823mg/g	0,3216 mg/g
	R	0.66	0.9978

Como se observa en la Gráfica 2, el modelo a que más se ajustó la cinética de la *semilla natural* fue el modelo de Pseudo segundo orden (PSO) con una correlación de 0.9978, sin embargo el sistema bien podría ser explicado con el modelo Lagergren con correlación de 0.9916 y el de Elovich con correlación de 0.9965. El modelo de Lagergren presenta dos constantes “ K_L ” que es una constante de velocidad de adsorción y “ q_e ” que es la concentración del colorante adsorbido al equilibrio, medido en mg de colorante por g de semilla (mg/g).

Por otro lado, el modelo que más se ajustó la cinética de la *semilla modificada* fue al modelo de Elovich con una correlación de 0.99, aunque bien, también se podría ajustar al modelo de Lagergren con correlación de 0.98. El modelo de Elovich presenta dos constantes de velocidad “ α ” y “ β ”, donde α es la velocidad de sorción inicial y esta es expresada en mg/g*min y β es la constante de desorción expresada en g/mg. Para este sistema se obtuvo un valor de α de 0.00566mg/g y β de 19,490 g*mg; mientras que para la semilla natural fue de 0,01124 mg/g y 29,7209 g*mg, lo que nos dice que la semilla natural tiene una velocidad de sorción inicial mayor a la semilla modificada, sin embargo su velocidad de desorción es mayor.

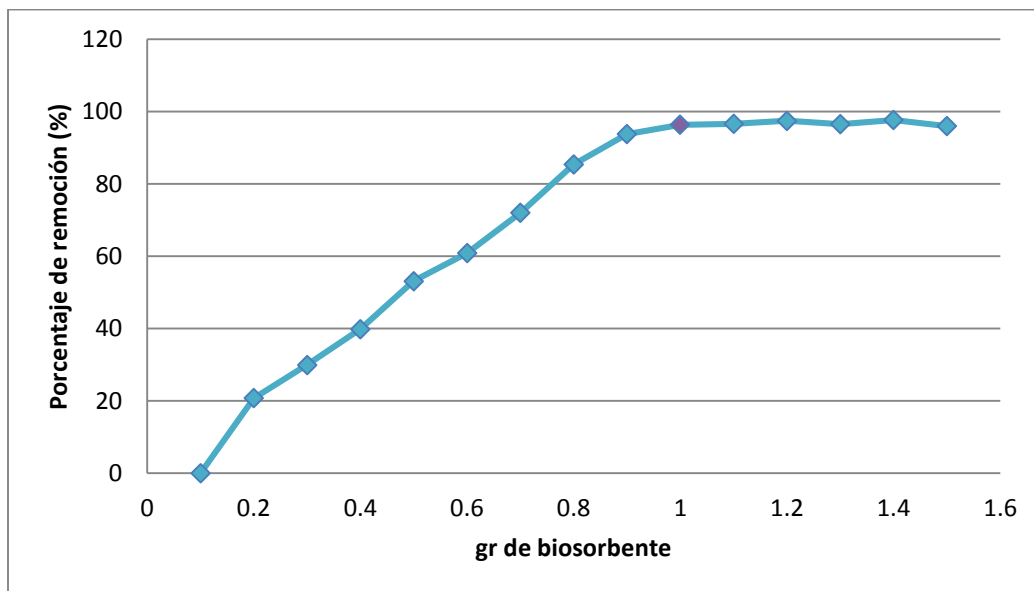
RESULTADOS

Por otro lado, el *modelo de Lagergren*, presenta las constantes “ q_e ” y “ K_L ”, donde q_e es la concentración del soluto removido en el equilibrio por cantidad de adsorbente, y esta se expresa en mg/g; y la constante K_L que es la constante de velocidad en el equilibrio (h-1). Para la semilla modificada se obtuvo una q_e de 0.1853 mg/g, mientras que para la semilla natural se obtuvo 0,1380 mg/g, siendo ligeramente menor la cantidad de colorante retenido por la semilla natural que con la modificada, esto claramente se puede observar en las Gráfica 1.

El *modelo de PSO* presenta de igual forma dos constantes “ q_e ” y “ K ”, donde q_e es la concentración del soluto adsorbido en el equilibrio y K es una constante de velocidad de adsorción. Para la semilla natural se obtuvo un valor de q_e de 0.3216 mg/g, mientras que para la semilla modificada fue de 0.2823mg/g, sin embargo, éste modelo no presenta buena correlación con la semilla modificada, por lo que no sería correcta una comparación.

8.4. Dosis de biosorbente

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para la dosis de biosorbente (Gráfica 4).



Gráfica 4. Efecto de la cantidad de biosorbente sobre la remoción de RR.

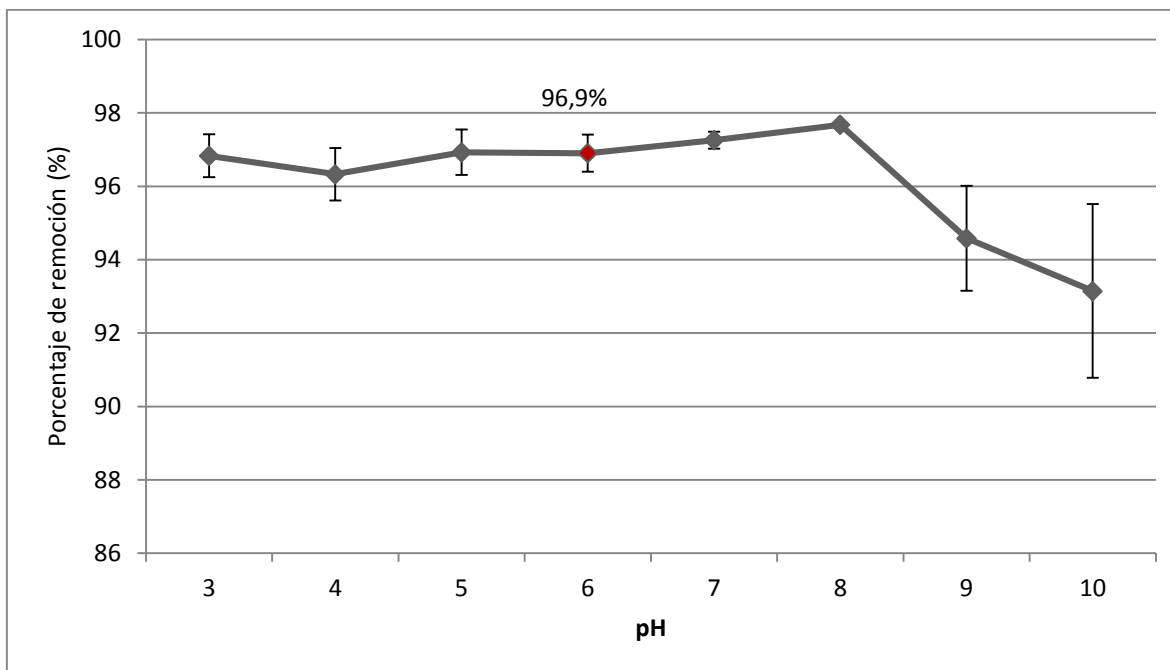
Tal como se observa en la Gráfica 4, el aumento en la adsorción del colorante muestra una relación lineal con respecto al aumento de la concentración de semilla, hasta que se llega a 1 g y posterior a esto se observa un ligero decremento en la remoción del colorante. Lo anterior puede atribuirse a un aumento en la superficie de contacto y una mayor cantidad de sitios activos donde el colorante puede ser retenido, sin embargo, al aumentar de 1 g no se observa más remoción a pesar de que aumentan los sitios activos, esto puede deberse a los componentes del biosorbente como la celulosa y la pectina, los cuales provocan un efecto de viscosidad encapsulando el agua restante. (Abdullah- Liew, 2005; Osorio, 2011).

8.5. Efecto de pH

El efecto del pH es un factor importante en los procesos de adsorción de cationes y aniones, debido a que la modificación de la semilla fue realizada con H_2SO_4 , se esperaría una protonación del adsorbente y, modo contrario, el colorante presenta carga negativa en su estructura. Por lo que, el efecto del pH puede llegar a ser significativo.

En la Gráfica 5 se observa una remoción de aproximadamente 90% que permanece contante a pH menores de 8, por otro lado, al incrementar el pH de 8 se observa un decremento en la remoción, En trabajos similares, donde se adsorben colorantes azoicos se presenta un comportamiento similar, utilizando como adsorbente biomasa de *Opuntia Leptocaulis*, donde se presenta una mayor adsorción a pH ácido de 3 (Liñan y cols., 2010); con semilla de guayaba en el 2013 se encontró de igual forma, que al trabajar con pH ácidos la remoción del colorante rojo azoico era mejor, obteniéndose hasta el 74.4% de remoción (Martínez- Montes, 2013).

Es importante mencionar que el pH del colorante con concentración de 20 mg/L es de 6, por lo que se seguirá usando este valor de pH.



Gráfica 5. Efecto de pH en la remoción de RR 20 mg/L.

Como se observa, casos no hubo una remoción significativa a pH 8, a pesar de que a estos valores de pH los grupos amina de la semilla de guayaba ya deberían estar protonados, esto puede ser debido a la presencia de otros grupos funcionales como el carboxilo, el cual podría estar cargado negativamente causando repulsión hacia el colorante cargados negativamente. El valor pKa de los grupos carboxilo esta normalmente entre 3.6 y 4.5, por lo que los grupos carboxilo tendrán carga negativa a pH mayores a 4 (Romero-González y cols., 2001; Vijayaraghavan y cols., 2006).

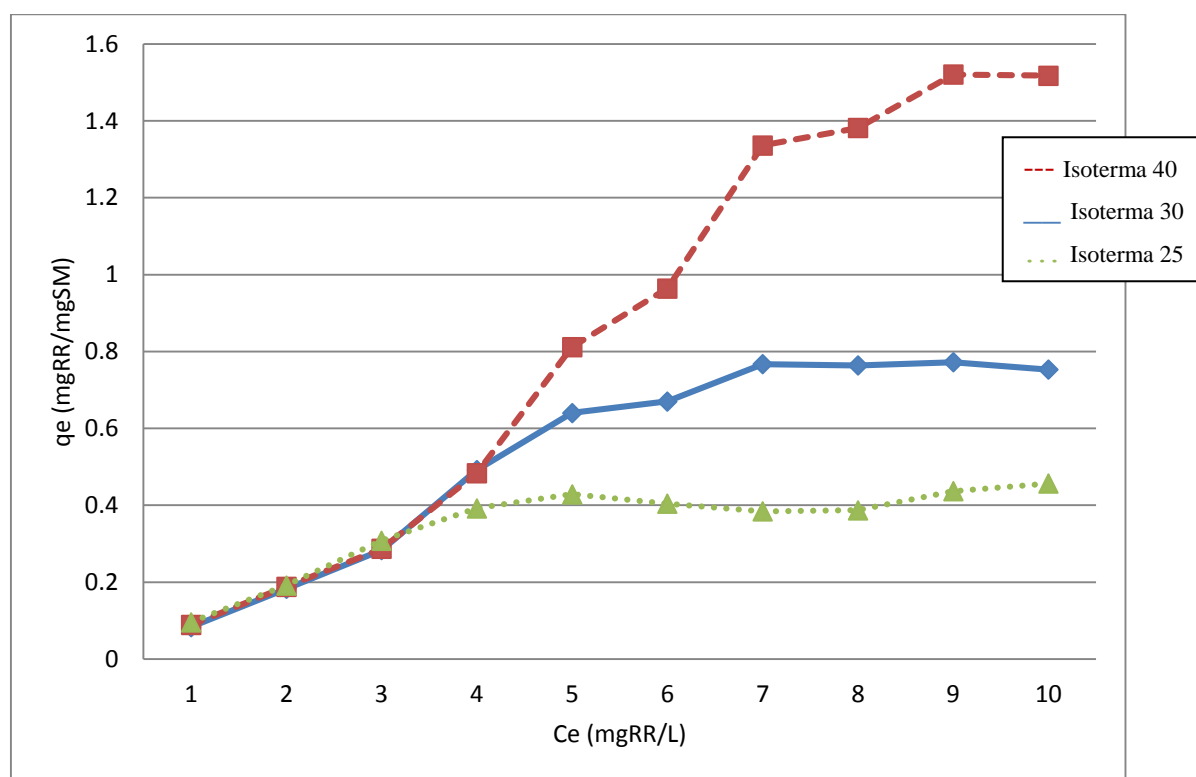
8.6. Isotermas de adsorción

En la Gráfica 6 se observan los resultados de las isotermas realizadas, donde se trabajó con diferentes concentraciones de colorante (10, 20, 30, 50, 80, 100, 150, 200, 250 y 300 mg/L). La línea verde muestra la isoterma llevada a cabo a temperatura ambiente (25 °C) con el pH original de la solución del colorante RR 20 mg/L (pH 6), a la cual se le nombrará *isoterma 25 °C*; la línea azul muestra los resultados obtenidos con pH de 9 y temperatura de 30 °C, *isoterma 30 °C*; y la línea roja muestra los resultados obtenidos al trabajar con pH de 9 con temperatura de 40 °C. En la Gráfica 6 se observa que al aumentar la *isoterma 40*

RESULTADOS

$^{\circ}\text{C}$ y el pH a 9 se presenta mayor capacidad de adsorción por parte de la semilla (q_e), con valores de 1.51 mg /g, valores de 0.75 mg/g para la *isoterma 30 $^{\circ}\text{C}$* y, 0.45 mg/g para *isoterma 25 $^{\circ}\text{C}$* . La concentración en equilibrio o concentración final del colorante (C_e) fue de 152.48 mg/L para la semilla *isoterma 40 $^{\circ}\text{C}$* , 204.25 mg/L para la *isoterma 30 $^{\circ}\text{C}$* y 259.85 mg/L para de 25 $^{\circ}\text{C}$, lo que indica que existe una mayor cantidad de colorante remanente en el líquido en la trabajando con pH 6 a 25 $^{\circ}\text{C}$.

Lo anterior se debe a que la temperatura es un factor altamente influyente en los procesos de adsorción. Cuando la adsorción es de tipo físico, se favorece a bajas temperaturas. Por el contrario, cuando la adsorción es de tipo químico, tal es el caso del sistema, el calor de adsorción es positivo, indicando que el proceso es endotérmico y se ve favorecido por las altas temperaturas (Tenorio-Rivas, 2006).



Gráfica 6. Valores de q_e y C_e obtenidos para isoterma 40 $^{\circ}\text{C}$ con pH 8 (línea roja con guiones), para la isoterma 30 $^{\circ}\text{C}$ con pH 8 (línea azul continua) y para la isoterma 25 $^{\circ}\text{C}$ con pH de 6 (línea verde punteada).

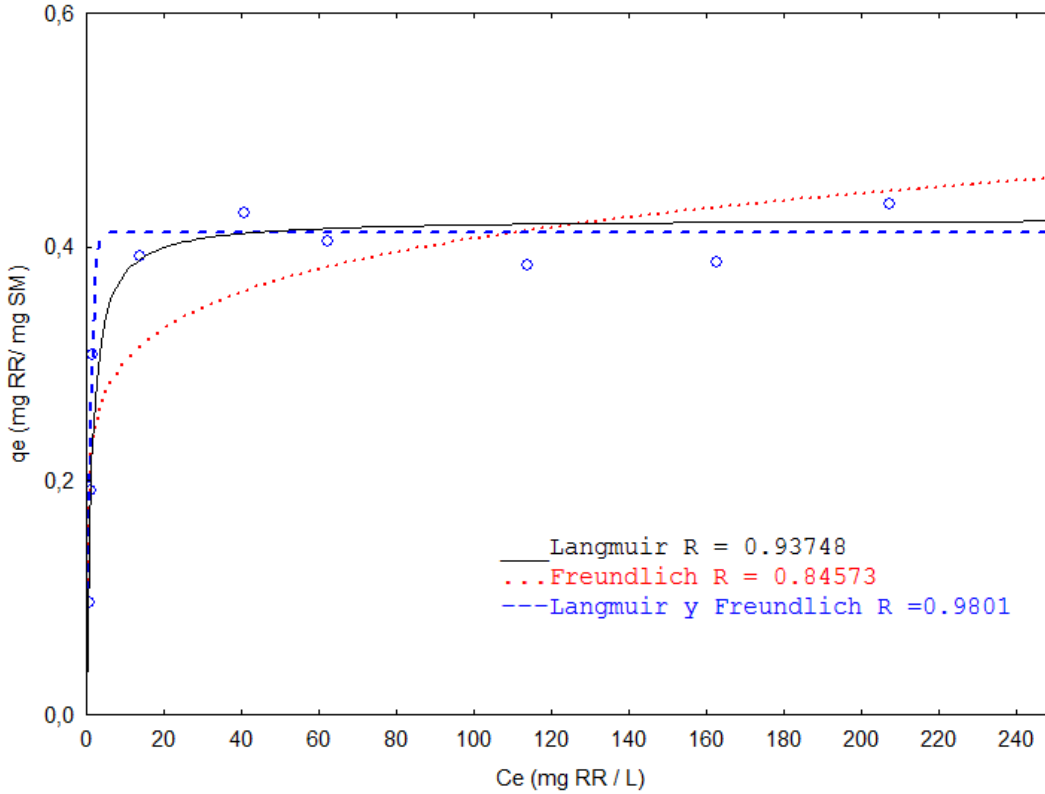
8.6.1. Modelos de isotermas

Para las tres isotermas trabajadas, *isoterma 40°C*, *isoterma 30°C* e *isoterma 25 °C*, se adecuaron los resultados obtenidos, a los modelos empíricos de Langmuir, Freundlich y Langmuir-Freundlich.

8.6.1.1. Modelos de *isoterma 25 °C*

En la Gráfica 7 se observa una alta relación con el modelo empírico de Langmuir-Freundlich, con una correlación de 0.9801. Éste modelo sugiere heterogeneidad de la energía de adsorción. A bajas concentraciones del adsorbato se reduce la isoterma de Freundlich, el cual es modelo más utilizado como modelo no lineal, supone que la superficie del adsorbente es heterogénea y que las posiciones de adsorción tienen distintas afinidades, en primer lugar se ocupan las posiciones de mayor afinidad y posteriormente se van ocupando el resto, por lo que se lleva a cabo la formación de múltiples capas; mientras que a altas concentraciones de adsorbato predice una capacidad de adsorción en monocapas sobre una superficie de un número finito de sitios idénticos característica de la isoterma de Langmuir.

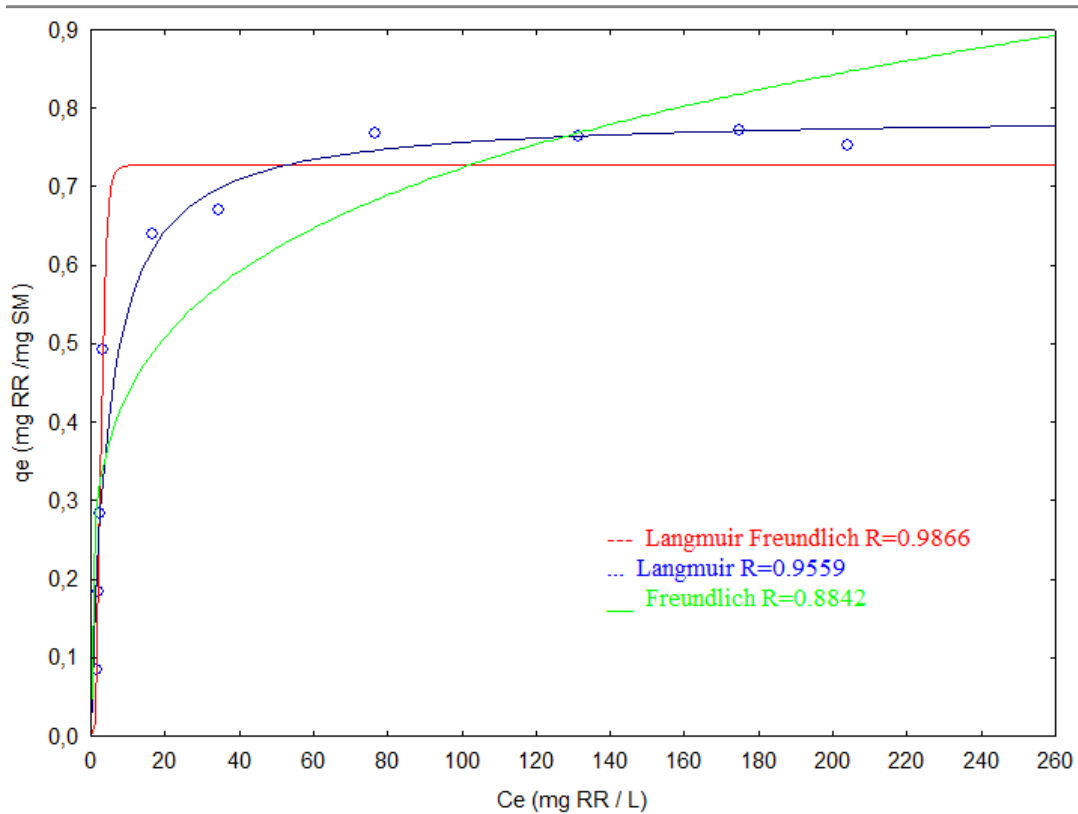
Por lo que, teóricamente el sistema *Isoterma 25 °C* presenta una adsorción heterogénea, donde existen diferentes tipos de sitios donde el color puede ser retenido.



Gráfica 7. Ajuste a los modelos isotérmicos para la isoterma a 25 °C con pH de 6.

8.6.1.2. Modelos de isoterma 30 °C

Se ajustaron los resultados obtenidos de la isoterma anterior a los distintos modelos isotérmicos que se han estado trabajando, Langmuir, Freundlich y Langmuir-Freundlich. A continuación, en la Gráfica 8 se muestran los resultados obtenidos donde se observa que la isoterma de 30 °C presenta mayor ajuste al modelo cinético de Langmuir-Freundlich, presentando una correlación de 0.9866, aunque bien podría ajustarse al modelo de Langmuir, donde se obtuvo correlación de 0.9559.



Gráfica 8. Ajuste a los modelos isotérmicos para la isoterma 30°C con pH de 9.

El modelo de Langmuir-Freundlich sugiere heterogeneidad de la energía de adsorción. A bajas concentraciones del adsorbato se reduce la isoterma de Freundlich, el cual es modelo más utilizado como modelo no lineal, supone que la superficie del adsorbente es heterogénea y que las posiciones de adsorción tienen distintas afinidades, en primer lugar se ocupan las posiciones de mayor afinidad y posteriormente se van ocupando el resto, por lo que se lleva a cabo la formación de múltiples capas; mientras que a altas concentraciones de adsorbato predice una capacidad de adsorción en monocapas sobre una superficie de un número finito de sitios idénticos característica de la isoterma de Langmuir.

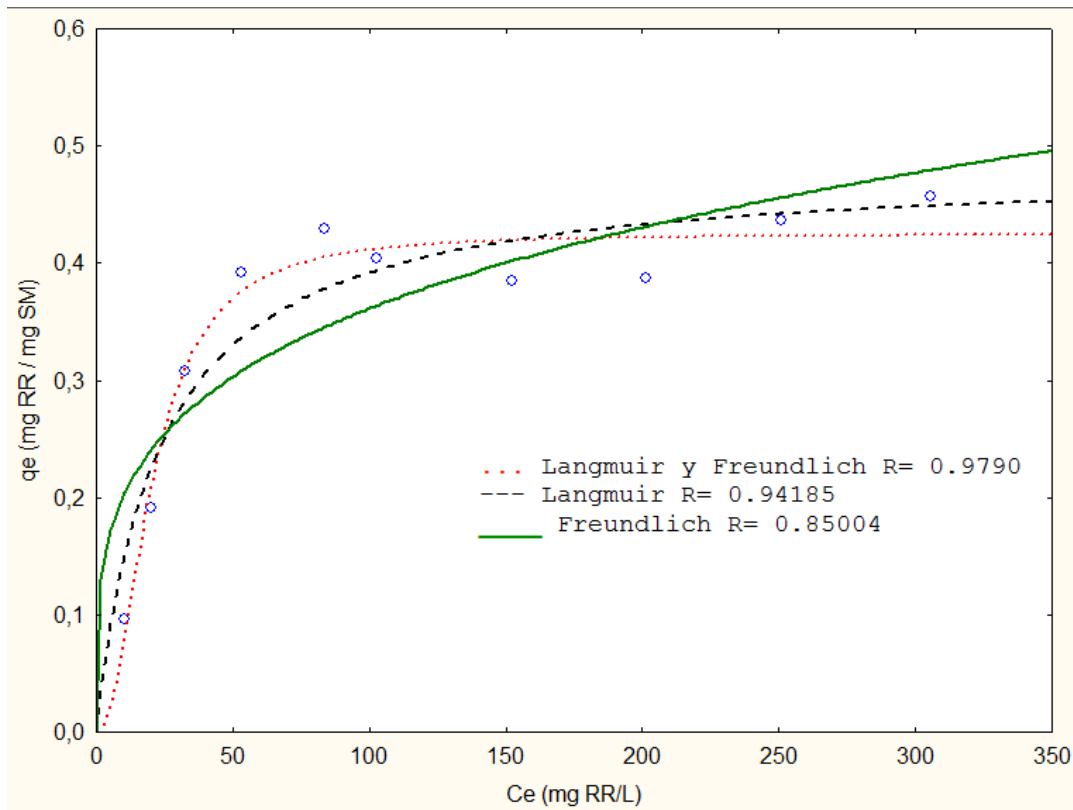
Por otro lado, el modelo de Langmuir asume que la energía de adsorción de cada molécula es la misma e independiente de la superficie que se cubre. La sorción se produce solamente en determinados lugares y no tiene una interacción entre las moléculas retenidas (Slejko, 1985).

Debido a lo anterior, es posible decir que, teóricamente, la retención del RR por parte de la SM a temperaturas de 30 °C y pH de 9 se da de forma heterogénea, debido a la presencia de distintos sitios de adsorción con distintas energías de adsorción.

8.6.1.3. Modelos de isoterma 40 °C

En la Gráfica 9 se observa de igual forma, la adecuación a los tres modelos mencionados. Para este caso, con temperatura de 40 °C y pH de 9 se observa una mayor correlación con el modelo de Langmuir-Freundlich, con una correlación de 0.9715, el cual como se menciona anteriormente, se trata de un modelo que describe uniones de tipo heterogéneas, con diferentes energías de adsorción.

Por lo tanto, se puede sugerir que la *Isoterma 40 °C* se trata de una isoterma de tipo heterogénea donde existen diferentes tipos de unión del colorante a la semilla de guayaba modificada.



Gráfica 9. Ajuste los modelos de isoterma para isoterma 40 °C con pH de 9.

8.6.1.4. Parámetros de modelos isotérmicos

En la Tabla 10 se colocan los parámetros de cada uno de los modelos analizados. Como se explicó anteriormente ambos sistemas presentan una mayor correlación con el modelo de Lagmuir-Freundlich, el cual explica una adsorción heterogénea. Éste modelo presenta tres parámetros “K”, “n” y “a”, las cuales son constantes empíricas del modelo.

El modelo de Freundlich presenta dos constantes, “K” $((\text{mg/g}) \cdot (\text{L/mg})^{1/n})$ y “n” que mide la intensidad de adsorción del adsorbato por el adsorbente. Comparando ésta última constante se observa que en la *Isoterma 25 °C* se obtiene una mayor intensidad de adsorción con un valor de 7.6837, a diferencia de la *Isoterma 30 °C* y la *isoterma 40 °C*, donde se obtienen valores de 4.55 y 3.37, respectivamente. Sin embargo, las cinéticas no presentan buena correlación con éste modelo.

El modelo de Lagmuir presenta dos constantes “ q_0 ” y “b”, donde q_0 se refiere a la capacidad máxima de adsorción y se mide en mg de adsorbato por g de adsorbente (mg/g), y b indica la afinidad por los sitios activos de unión. En la Tabla 9 se observa una mayor capacidad de adsorción para la *Isoterma 40 °C* comparado con las otras dos isothermas, presentando un valor de 1.6778 mg/g, mientras que para la *Isoterma 25 °C* y la *Isoterma 30 °C* se obtiene una capacidad máxima de 0.424 y 0.7913 mg/g, respectivamente. Correspondiendo lo anterior, con lo observado en la Gráfica 6, donde se observa que la capacidad de retención de colorante (q_e) aumenta conforme se aumenta la temperatura, obteniendo valores de 1.51 mg/g para la *isoterma 40 °C*, 0.7531 para la *Isoterma 30 °C* y 0.45 mg/g para *isoterma 25 °C*.

Tabla 10. Parámetros obtenidos para los distintos modelos.

Modelos	Parámetros	Isoterma 25 °C	Isoterma 30 °C	Isoterma 40 °C
Isoterma				
Freundlich	K	0.2236	0.2636	0.3875
	n	7.6837	4.5596	3.3727
	R	0.8457	0.8842	0.8500
Langmuir	q _o	0.4240 mg/g	0.7913 mg/g	1.611 mg/g
	b	0.8127	0.2168	0.1510
	R	0.9374	0.9559	0.9454
Langmuir-Freundlich	K	0.0006	0.0049	0.0106
	n	2.1424	4.9535	3.5335
	a	0.0486	0.3646	0.2490
	R	0.9801	0.9866	0.9795

8.7. *Phanerochaete chrysosporium*

8.7.1. Cinética de crecimiento del hongo sobre semilla de guayaba

P.chrysosporium es un hongo que ha sido utilizado para la degradación de colorantes tipo azo. Chao y Lee (1994), Spadaro y cols. (1992), Cripps y cols. (1990) y, Glenn y Gold (1983) son solo algunos ejemplos de investigadores que han realizado experimentos exitosos en la remoción de colorantes utilizando este hongo.

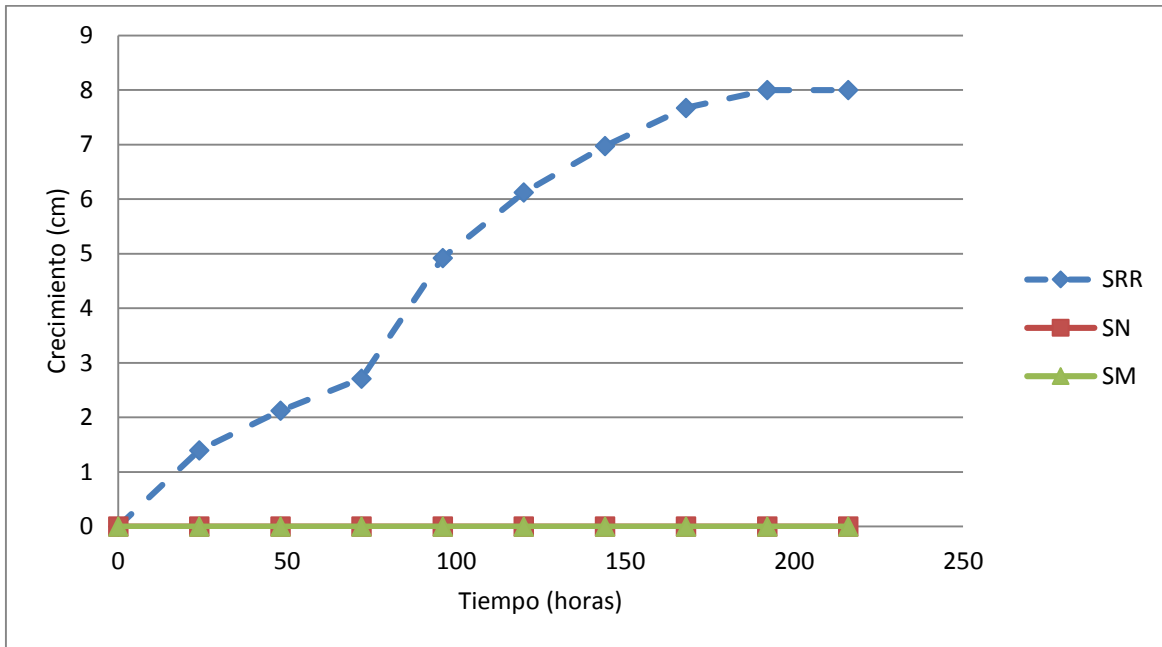
En la Gráfica 10 se observa la curva de crecimiento obtenida después de 216 horas (9 días) de incubación del hongo *P. chrysosporium* sobre SN, SM y SMRR teniendo las mismas condiciones de humedad, temperatura y oscuridad. Se observa que el hongo no creció sobre la semilla natural y en la semilla modificada con ácido sulfúrico durante todo el periodo de incubación a 35 °C. Por otro lado, al inocular el hongo sobre la SMRR el crecimiento es observable desde las primeras horas de contacto.

RESULTADOS

La línea azul con guiones representa el diámetro de crecimiento del hongo en centímetros sobre la SMRR. Es notorio que este sustrato favoreció el crecimiento del hongo de forma constante hasta el final de las mediciones; ello es, hasta que el diámetro de crecimiento igualó el límite de la placa a las 216 horas.

El crecimiento limitado sobre la semilla de guayaba natural y la semilla de guayaba modificada puede deberse a que la semilla de guayaba, al igual que las de otras plantas, presentan antraquinonas, flavonoides, terpenoides las cuales representan sustancias con actividad antimicrobiana de acuerdo a Nundkumar y Ojewole, en el 2002.

De igual forma las semillas presentan proteínas que inhiben el crecimiento de hongos y bacterias; esto es usualmente utilizado como un mecanismo de defensa, para proteger a la planta o semilla de agentes fitopatógenos (Selitrennikoff, 2001, Stephan, 2012). Tales péptidos antimicrobianos (AMPs) son pequeñas proteínas de 20 a 50 aminoácidos de largo, y en algunos organismos constituyen la primera barrera de protección ante organismos patógenos. Estos péptidos son compuestos que actúan en un amplio rango de mecanismos de defensa fisiológica, desarrollado para contrarrestar el crecimiento de bacterias, hongos y virus. Estas moléculas incluso han sido utilizadas en la creación de numerosos antibióticos. Estas proteínas se han clasificado en grupos y familias dependiendo de su función y sus similitudes estructurales (Pelegriini y Franco, 2005).



Gráfica 10. Crecimiento de *P. chrysosporium* sobre semilla de guayaba, durante 216 horas.

De forma visual, los resultados de la Gráfica 10 son mostrados en la Figura 24. Es notorio el crecimiento del hongo *P. chrysosporium* sobre la semilla modificada con colorante RR en el periodo de 216 horas, en comparación con la semilla natural y la semilla modificada. Es importante mencionar que todas las cepas se mantuvieron en las mismas condiciones de luz, humedad y temperatura de 35 °C.

RESULTADOS

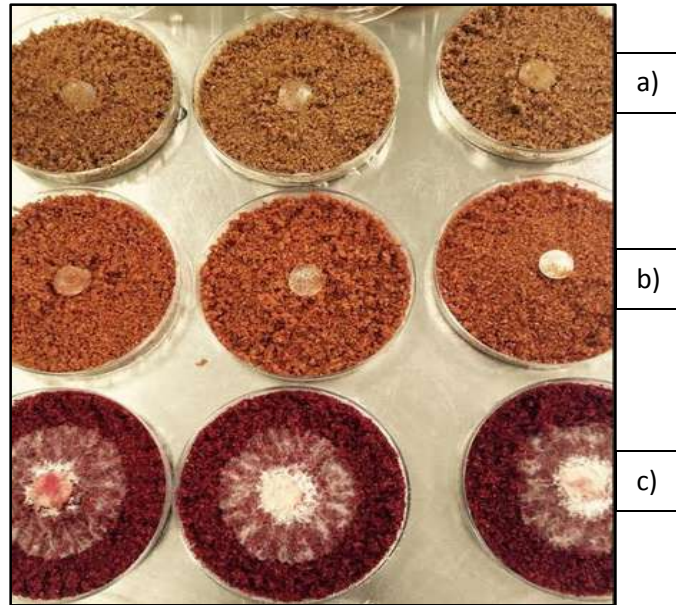


Figura 24. Crecimiento final del hongo a las 216 h sobre a) semilla natural (SN), b) modificada (SM) y c) con colorante RR (SMRR).

En la Figura 24a, se muestra la semilla natural y en la Figura 24b, la semilla modificada; en ambos sustratos se observa la falta de crecimiento del hongo, debido probablemente a la actividad antimicrobiana de la semilla, ya mencionada. Es evidente que el colorante representa una fuente de nutrientes que le permite crecer al hongo (Figura 24 c).

En la Figura 25, se muestra el desarrollo en el intervalo de 216 h del hongo sobre la semilla con colorante Rojo Remazol Int R-GB (RR). En la Figura 25a se observa el hongo al ser inoculado; representa el tiempo cero control donde aún no hay crecimiento. En la Figura 25b se observa el crecimiento obtenido después de 48 h de incubación; en la Figura 25c se muestra el crecimiento logrado a los 96 h; en la 25d el crecimiento obtenido a las 144 h, donde se observa que el hongo está próximo a alcanzar los límites de la placa; y por último, en la Figura 25e se observa como el micelio tocó las paredes de la caja de petri después de las 216 horas o 9 días de contacto con la semilla de guayaba modificada conteniendo el colorante RR (SMRR).

RESULTADOS

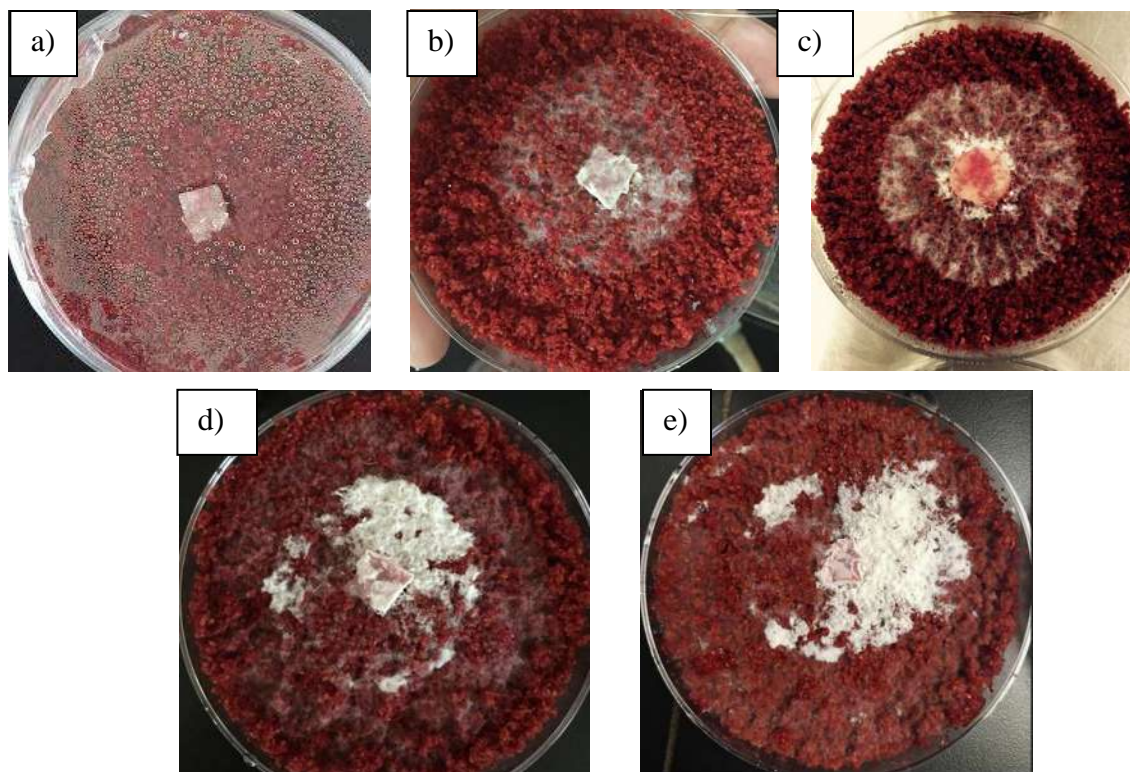


Figura 25. Desarrollo del hongo *P.chrysosporium* sobre la semilla de guayaba con colorante RR.a) hongo a tiempo cero; b) hongo al día dos; c) hongo al día cuatro; d) hongo al día seis; e)hongo al día nueve.

Singh y Chan, describieron en el 2008 que *P. chrysosporium* responde rápidamente creciendo o inhibiéndose, en función de la presencia de nutrientes en el medio de cultivo, metales, detergentes, materiales lingocelulósicos, etc. En el caso del colorante Rojo Remazol Int R-GB adsorbido en la semilla de guayaba modificada, el hongo presentó una disposición al crecimiento notoria. Ello puede deberse a que el colorante representó una buena fuente de carbono y nitrógeno, y a la vez que la cubierta del colorante generó una superficie que aisló a las posibles proteínas antimicrobianas presentes en la semilla natural y modificada.

La Figura 26 muestra fotografías de microscopía de barrido electrónico donde se aprecia que la superficie de la semilla modificada que tiene en su superficie al colorante y sobre la cual se inoculó el hongo en cuestión (Figura 26b); La SMRR presenta más regularidad superficial, a diferencia de la semilla modificada sin colorante, también inoculada con el hongo (Figura 26a), la cual muestra rugosidad en su superficie. Es importante mencionar

RESULTADOS

que ambas fotografías se realizaron antes del contacto con *P. chrysosporium* por lo cual no se observa crecimiento de micelio.

En la Figura 26c la microscopía electrónica de barrido nos permitió observar el crecimiento del hongo sobre la superficie de la SMRR, lo cual es indicativo de que el colorante le está representando una fuente nutricional importante. Es decir, el hongo sí está degradando el colorante.

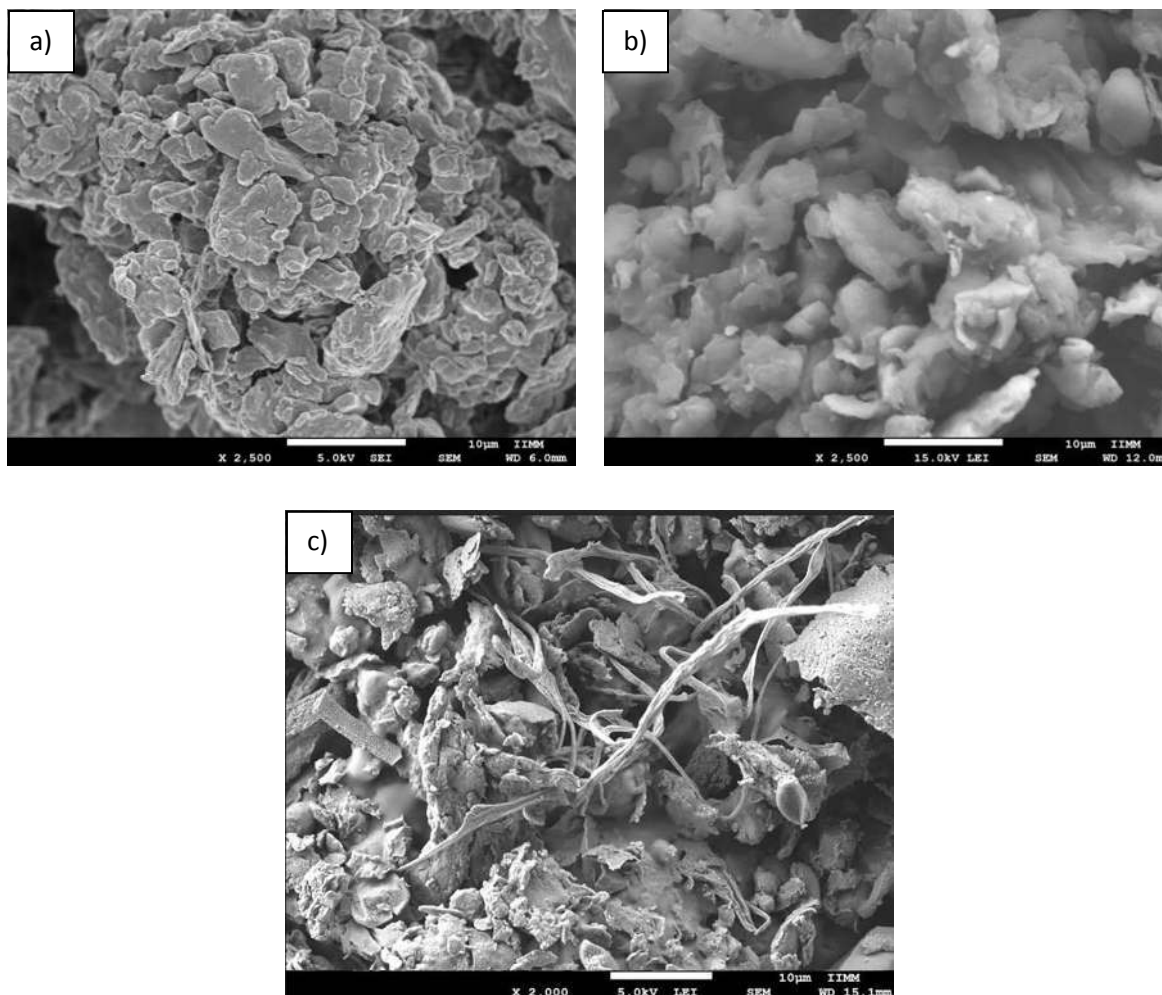


Figura 26. Imágenes de MEB de la semilla de guayaba: a) SM (x2500), b) SMRR (x2500) y c) SMRR en contacto con el hongo (x2000)

Después de que el hongo *P. chrysosporium* alcanzara los límites de crecimiento sobre la placa, esto es, después de diez días de incubación a 35 °C, se realizó una comparación visual de la semilla con colorante seca antes y después del contacto con el hongo *P.*

RESULTADOS

chryso sporium. El resultado se muestra en la Figura 27, donde la semilla con colorante (SMRR), sin hongo (27a) fue triturada hasta 250 μm de diámetro, al igual que la semilla con colorante con hongo (27b). Se aprecia en el caso de la semilla donde creció el hongo, que el color disminuye en intensidad pasando a ser rosa claro. Es importante señalar que este comparativo visual no pudo ser cuantificado por espectrofotometría debido a que el colorante no pudo extraerse con agua, acetona, alcohol etílico, etanol, éter etílico, hexano o cloroformo ni a temperatura ambiente ni incrementando la temperatura al punto de ebullición de cada sustancia.

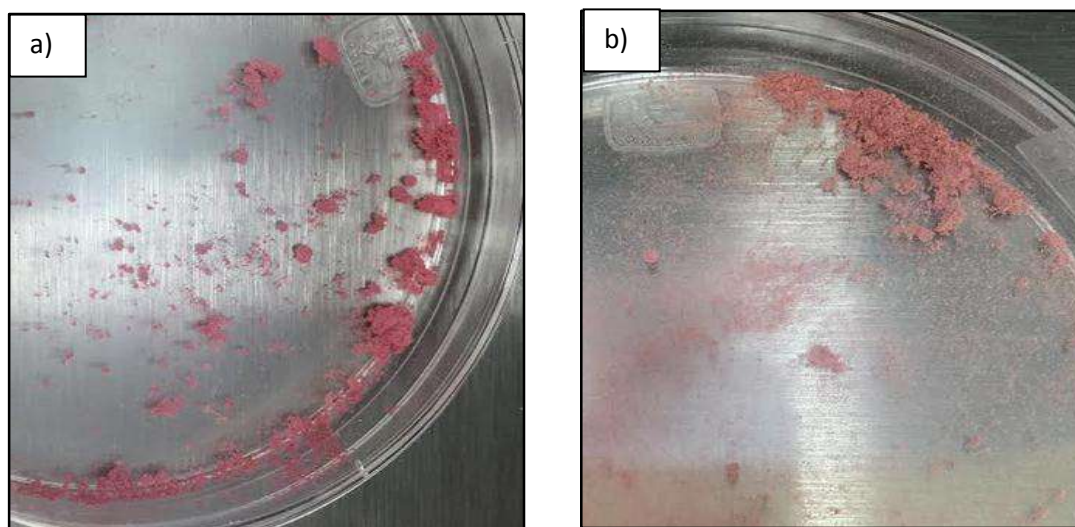


Figura 27. Comparación visual de la SMRR a) antes del contacto con el hongo y b) después del contacto con el hongo con tamaño de partícula de 250 μm .

En la Figura 28 se presenta el comparativo del microanálisis obtenido para la SMRR antes (Figura 28a) y después (Figura 28b) del contacto con el hongo. El microanálisis muestra la presencia de Carbono, Oxígeno, Nitrógeno y Fosforo, los cuales son elementos que se encuentran de forma natural en los compuestos orgánicos, sin embargo, se encuentra la presencia de Azufre, el cual se encuentra presente en el colorante RR.

RESULTADOS

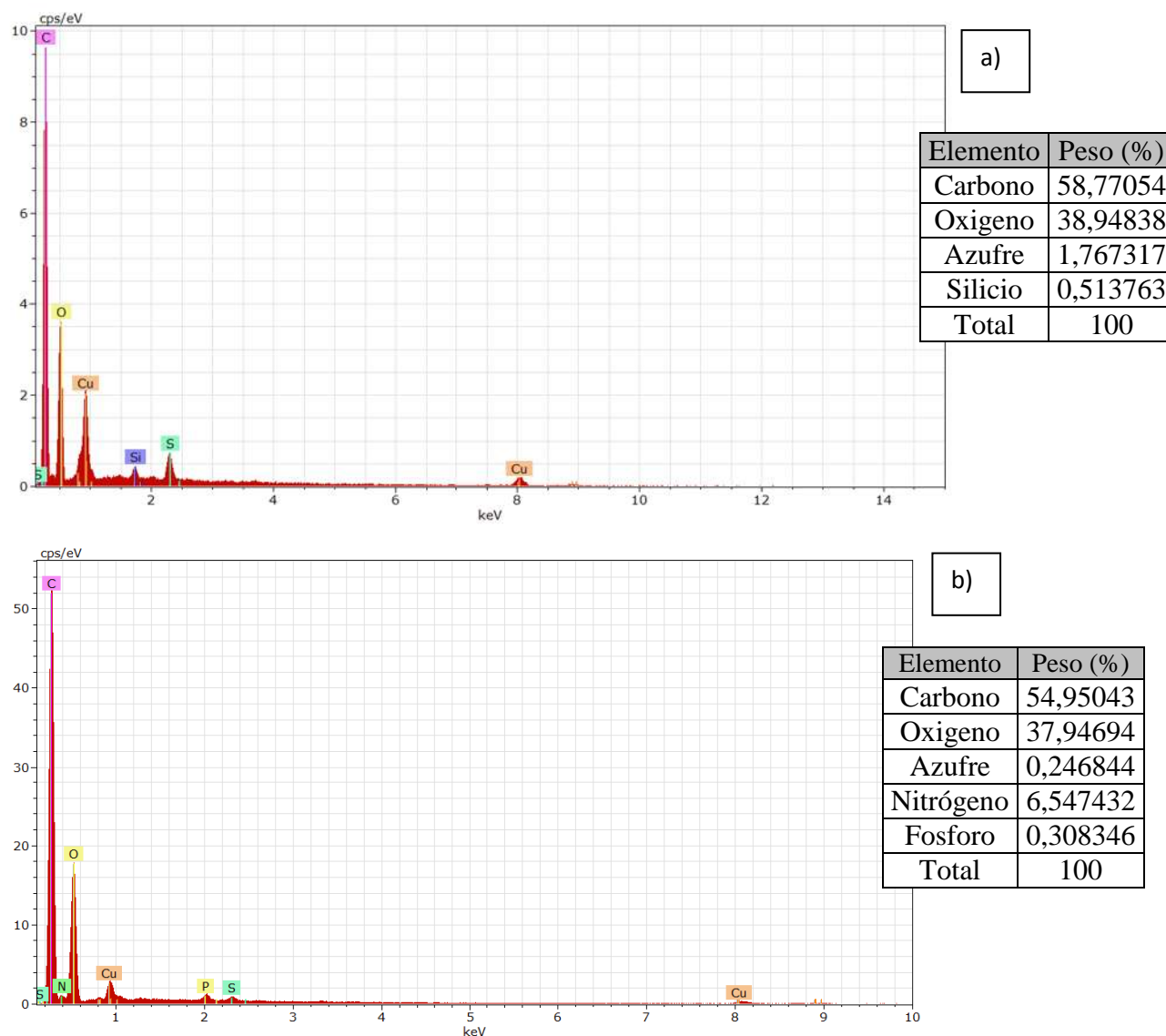


Figura 28. Comparación de la SMRR antes (a) y después (b) del contacto con el hongo.

En un comparativo con la SMRR antes y después del contacto del hongo, se observa principalmente la disminución de los niveles de azufre después del contacto con el hongo, el cual pasa de un porcentaje de peso de 1.76 a 0.24. Lo anterior puede deberse a la acción metabólica del hongo sobre el colorante, ya que el RR actúa como fuente nutrientes para *P. chrysosporium*. En experimentos realizados anteriormente, se ha encontrado que la habilidad del hongo para degradar contaminantes depende de la presencia de nutrientes, tales como nitrógeno, carbono, carbohidratos o sulfuro (Haemmerlic y cols., 1986; Hammel y cols., 1986; Jeffies y cols., 1981; Banat y cols., 1996).

CAPÍTULO 9. CONCLUSIONES

- Se acepta la hipótesis planteada en este trabajo, ya que se comprobó que la SM es capaz de adsorber mayor cantidad de colorante comparada con la semilla natural. Además, se concluye que el hongo *Phanerochaete chrysosporium* es capaz de degradar el colorante contenido en la semilla de guayaba modificada.
- La caracterización del material muestra la presencia de distintos grupos funcionales presentes en la celulosa, lignina, hemicelulosa y pectina, los cuales, con la modificación ácida del material disminuyen, influyendo positivamente a la retención del RR.
- Los parámetros de los modelos cinéticos sugieren que los sistemas SN-colorante y SMRR llevan a cabo una quimisorción, lo cual se corroboró con la caracterización de la superficie del adsorbente.
- Se observó que la dosis de adsorbente es un factor importante en la adsorción del RR sobre la SM, ya que al aumentarse la dosis la adsorción del RR incremento igualmente.
- El pH de la solución no afecta significativamente la adsorción en el sistema SMRR en un amplio intervalo de pH.
- El resultado de los modelos isotérmicos indican la presencia de una adsorción de tipo heterogénea en el sistema SMRR, donde el colorante se une a distintos grupos funcionales presentes en la semilla: carboxílo, fenólicos, hidroxílicos y carbonilo.
- Así mismo en las isothermas se concluyó que la adsorción se ve beneficiada por las altas temperaturas encontrando valores de adsorción máxima (q_e) de 1.51 g/mg a 40 °C.
- Se observó que bajo las condiciones de crecimiento de este trabajo, el hongo crece adecuadamente sobre la SMRR, lo cual implica que la degradación es un efecto factible. Se observa también que el hongo no crece en SN y SM, lo cual indica que el RR favorece el crecimiento, ya que puede representar una fuente de nutrientes.

CAPÍTULO 10. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos, se recomienda lo siguiente:

- Evaluar la remoción del colorante RR a través de SM en una planta tipo piloto.
- Evaluar la degradación del RR a través de *P. chrysosporium* en diferentes medios.
- Evaluar la degradación del colorante con diferentes tipos de hongos.
- Establecer diferentes métodos para la determinación de la degradación del colorante RR sobre la SM.

LITERATURA CITADA

- Abdullah Liewt A. G., Mohd Salleh M. A., Siti Mazlina, M. K., y Wagiran R. (2005). **Azo dye retiro por adsorción a partir de biomasa residuos bagazo de caña.** *Revista Internacional de Ingeniería y Tecnología.* 2, (1): 8-13.
- Adler, E. (1977) **Lignin chemistry—past, present and future.** *Wood Sci Technol.* (11): 169–218.
- Aguilar-Ávila, D.S. (2010). **Uso de residuos de Naranja (*Citrus sinensis*) y tamarindo (*Tamarindus indica*) como biosorbentes en la remoción de cadmio, plomo y zinc de aguas contaminadas.** *Tesis de Licenciatura*, Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Ainane T. Khammour F., Talbi M., Elkouali. (2014). **A Novel Bio-adsorbent of Mint Waste for Dyes Remediation in Aqueous Environments: Study and Modeling of Isotherms for Removal of Methylene Blue.** *ISSN: 0970-020 X. 2014*, Vol. 30, No. (3): Pg. 1183-1189
- Akyol A., Yatmaz H. C., Bayramoglu M. (2004). **Photocatalytic decolorization of Remazol Red RR in aqueous ZnO suspensions.** *Applied Catalysis B: Environmental.* 54 2004 19–24.
- Alvarado Jiménez Montolla , Jesús.. (2011). **Structural modification of extracted lignin from iow rank for manufacturing of synthetic Woods.** *Revista Tecnura*, 15 (28): 68-82.
- Archibald F.S., Fridovich I. (1982). **The scavenging of superoxide radical by manganous complexes: in vitro.** *Arch Biochem Biophys.* (214):452–463
- Austin G. T. (1992). **Manual de Procesos Químicos en la Industria.** Ed. McGraw-Hill. 1ª Edición en Español. México, (39): 899-923.
- Badui, S. (1999). **Química de los Alimentos.** Longman de México Editores. México. 648 p.
- Banat, I.M., Nigam, P., Singh, D., Marchant, R., (1996). **Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review.** *Bioresour. Technol.* (58): 217-227.
- Bourgeois P., Aurore G.S., Jacqueline A., y H. Joseph. (1988). **Processing Guava seeds: Kerneloil and abrasive shell powder.** *Cahiers Agric.* (7): 105–109.

LITERATURA CITADA

- Burdsall, H. H. Jr (1985) **A Contribution to the Taxonomy of the Genus Phanerochaete (Corticaceae, Aphyllophorales)**. *Mycological Memoir*. No. 10. J. Cramer, Braunschweig.
- Calvo M. (2013). **Colorantes artificiales**. [en línea]. Consultado el 4 de Septiembre del 2013. Disponible en <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/aditivos/colorartif.html>
- Cameron M. D., Timofeevski S., Aust S. D. (2000) **Enzymology of Phanerochaete chrysosporium with respect to the degradation of recalcitrant compounds and xenobiotics**. *Appl Microbiol Biotechnol* (54): 751–758
- Cañizares-Villanueva, R. O. (2000). **Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana**. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. (42):131-143.
- Chao W.L., Lee S.L. (1994). **Decoloration of azo dyes by three white-rot fungi: influence of carbon source**. *World J Microbiol Biotechnol* (10): 556 – 9.
- Che Galicia Gamaliel, (2011). **Remoción de un Colorante de los Efluentes de la Industria Textil Mediante Adsorción en una Zeolita Natural**. *Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias (Ingeniería Química)*. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Chen C.I., Chang H. M. (1985) Chemistry of lignin biodegradation. In: Higuchi T (ed) **Biosynthesis and biodegradation of wood components**. *Academic, New York*, pp 535–556.
- Contreras Q., Héctor J., Trujillo P. Hugo A. (2010). **Espectroscopia ATR-FTIR de Celulosa: Aspecto Instrumental y Tratamiento Matemático de Espectros**. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, e-Gnosis*, Vol.8 (9): 1665-5745.
- Cortés-Martínez Raúl. (2007). **Efecto de la modificación de una zeolita natural mexicana en la sorción de cadmio y 4-clorofenol**. *Tesis Doctorado en Ingeniería en Ciencias del Agua. Facultad de Ingeniería*. Universidad Autónoma del Estado de México Centro Interamericano de Recursos del Agua. Toluca, Estado de México, México. 182 pp.
- Cripps C., Bumpus J. A., Aust S. D. (1990). **Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by Phanerochaete chrysosporium**. *Applied and environmental microbiology*. 56 (4) :1114.
- Dickson, Thomas R. (2008). **Química: un enfoque ecológico**. *Editorial Limusa*. México, D.F. 406pp.
- Eggert C., Temp U., Eriksson K. (1997). **Laccase is essential for lignin degradation by the white-rot fungus Pycnoporus cinnabarinus**. *Federation of European Biochemical Societies*. FEBS Letters 407 (1997) 89-92

LITERATURA CITADA

- Elizalde-Gonzalez, Maria P., Hernandez-Montoya, Virginia. (2008). **Guava seed as an adsorbent and as a precursor of carbon for the adsorption of acid dyes.**
- Flores Vásquez, J. L., et al. (2001). **Biorremediación de metales tóxicos en efluentes mineros aplicando biosorción.** *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias GeoGráficas.* (7):4.
- Foo L. P. Y., Tee C. Z., Raimy N. R., Hassell D. G. Lee L. Y. (2011). **Potential Malaysia agricultural waste materials for the biosorption of cadmium (II) from aqueous solution.** *Clean Techn Environ Policy.* (14): 273–280.
- Forgacs E., Cserha'ti T., Oros G. (2004). **Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review.** *Environment International* (30): 953– 971.
- Glenn, J. K., Gold, M. H. (1983). **Decolorization of several polymeric dyes by the lignin-degrading Basidio-mycete Phanerochaete chrysosporium.** *Appl. Environ. Microbiol.*, (45): 1741-1747.
- Glenn J.K., Akileswaran L., Gold M.H. (1986). **Mn(II) oxidation is the principal function of the extracellular Mn-peroxidase from Phanerochaete chrysosporium.** *Arch Biochem Biophys* (251): 688–696
- Gold MH, Wariishi H, Valli K (1989) **Extracellular peroxidases involved in lignin degradation by Phanerochaete chrysosporium.** In: Whitaker JR, Sonnet PF (eds) **Biocatalysis in agricultural biotechnology.** *ACS Symposium Series 389.* American Chemical Society, Washington, pp 127–140
- Gonzales L. V., Escamilla Eleazar M. (2008). **Biodegradación anaerobia de colorantes azoicos textiles usando carbón activado.** *Biotecnología.* 12 (3):35.
- González-Pimentel Mario Roberto. (2005). **Determinación de la composición química de la madera del pino ocote (Pinus oocarpa Schiede ex Schltdl) procedente de plantación en Cucanjá, Tucurú, Alta Verapaz.** *Tesis de Licenciatura.* Facultad de Ingeniería Química. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 111 pp.
- Grágeda Z. Mario y Montesinos Susana. (2011). **Aplicaciones de microscopia electrónica de barrido y análisis de fractura de una aleación de Cu-Al.** *Programa de Doctorado en Ciencias de la Ingeniería de los Materiales.* Facultad de ciencias físicas y matemáticas, Universidad de Chile. <http://cabierta.uchile.cl/revista>. Consulta Enero 2013.
- Haemmerli, S. D., M. S. A. Leisola, D. Sanglard, and A. Fiechter. (1986). **Oxidation of benzo[a]pyrene by extracellular ligninases of Phanerochaete chrysosporium: veratryl alcohol and stability of ligninase.** *J. Biol. Chem.* (261):6900-6903. 12.

LITERATURA CITADA

- Hammel K.E., Tien M., Kalyanaraman B., Kirk T.K. (1985) **Mechanism of oxidative C α -C β cleavage of a lignin model dimer by Phanerochaete chrysosporium ligninase.** *J Biol Chem* (260):8348–8353
- Hammel, K. E., B. Kalyanaraman, and T. K. Kirk. (1986). **Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons and dibenzo[p]- dioxins by Phanerochaete chrysosporium ligninase.** *J. Biol. Chem.* (261): 16948-16952.
- Harpreet S. R., Mani S. B., Jadeep S., Y.K. B., Purva V., U.C. Banerjee. (2005). **Removal of dyes from the effluent of textile and dye stuff manufacturing industry: a review of emerging techniques with reference to biological treatment.** *Critical Reviews in Environmental Science and Technology.* 35, (3): 219-238.
- Hatakka A, Lundell T, Hofrichter M, Maijala P (2003) **Manganese peroxidase and its role in the degradation of wood lignin.** In: Mansfield SD, Saddler JN (eds) **Applications of enzymes to lignocellulosics.** *ACS Symposium Series 855.* American Chemical Society, Washington, DC, pp 230–243
- Hatakka A. (1994) **Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation.** *FEMS Microbiol. Rev* (13): 125–135
- Hawari, J., Halasz, A., Beaudet, S., Paquet, L., Ampleman, G., Thiboutot, S., (1999). **Biotransformation of 2,4,6-trinitrotoluene with Phanerochaete chrysosporium in agitated cultures at pH 4.5.** *Applied Environmental Microbiology* (65): 2977–2986
- Hidalgo Vázquez Aura R. (2010). **Biosorción de plomo y cadmio mediante el aprovechamiento de residuos de madera (aserrín de pino) y extractos de algas marinas (alginato de calcio).** *Tesis Licenciatura.* Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 80 pp.
- Ho Y.S. (2006). **Review of second-order models for adsorption systems.** *Journal of Hazardous Materials,* (136): 682-684.
- Ho, Y. S. y McKay, G. (2002). **Application of kinetics models to the sorption of copper (II) on to peat.** *Adsorption Science and Technology.* 20 (8), 797- 815.
- Hormaza, Angelina y Suarez García, Edgar. (2009). **Estudio del proceso de biosorción de dos colorantes estructuralmente diferentes sobre residuos avícolas.** *Rev. Soc. Quím. Perú.* (75): 3, p.329-338.
- Huynh V. B., Crawford R. L. (1985) **Novel extracellular enzymes (ligninases) of Phanerochaete chrysosporium.** *FEMS Microbiol Lett.* (28): 119–123
- Ince H.N., Estefan M.I. (1977). **Boldon J.R..** *Journal Adv. Oxid. Technol* 2 (3): 442-448.
- Jadhav S. B., Phugare S. S., Patil P. S., Jadhav J.P. (2011). **Biochemical degradation pathway of textile dye Remazol red and subsequent toxicological evaluation by**

LITERATURA CITADA

- cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies.** *International Biodeterioration & Biodegradation* (65) 733-743
- Jeffries, T. W., S. Choi, and T. K. Kirk. (1981). **Nutritional regulation of lignin degradation by Phanerochaete chrysosporium.** *Appl. Environ. Microbiol.* (42):290-296.
- Jiménez, C.B.E. (2002). **Contaminación Ambiental en México.** Editorial LIMUSA. México. pp. 33-42.
- Kersten P., Cullen D. (2007). **Extracellular oxidative systems of the lignin-degrading Basidiomycete Phanerochaete chrysosporium.** *Fungal Genet Biol* (44): 77–87.
- Kersten P.J. (1990). **Glyoxal oxidase of Phanerochaete chrysosporium; its characterization and activation by lignin peroxidase.** *Proc Natl Acad Sci USA.* (87): 2936–2940.
- Kersten P.J., Tien M., Kalyanaraman B., Kirk T.K. (1985) **The ligninase of Phanerochaete chrysosporium generates cation radicals from methoxybenzenes.** *J Biol Chem* (260):2609–2612
- Kirk T. K., Farrell R. L. (1987). **Enzymatic ‘combustion’: the microbial degradation of lignin.** *Ann Rev Microbiol* (41): 465–505.
- Kullman, S.W., Matsumura, F., 1996. **Metabolic pathways utilized by Phanerochaete chrysosporium for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan.** *Applied Environmental Microbiology* (62): 593– 600.
- Kumar P., Barrett D. M., Delwiche M. J., Stroeve P. (2009). **Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production.** *Ind. Eng. Chem. Res.*, Article ASAP.DOI: 10.1021/ie801542g.
- Kuwahara M., Glenn J.K., Morgan M.A., Gold M.H. (1984). **Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of Phanerochaete chrysosporium.** *FEBS Lett* (169): 247–250.
- Leisola M. S. A., Kozulic B., Meussdoerfer F., Fiechter A. (1987). **Homology among multiple extracellular peroxidases from Phanerochaete chrysosporium.** *J Biol Chem* (262): 419–424.
- Leisola M.S.A., Fiechter A. (1985). **Ligninase production in agitated conditions by Phanerochaete chrysosporium.** *FEMS Microbiol Lett.* (29):33–36.
- Leonowicz, A., Matuszewska, A., Luterek, J., Ziegenhagen, D., Wojtas´ -Wasilewska, M., Cho, N-S., Hofrichter, M., and Rogalski J. (1999). **Biodegradation of lignin by white rot fungi.** *Fungal Genetics and Biology.* (27): 175–185.

LITERATURA CITADA

- Liñán M.A., Garza T. M. T., Chávez G. K. A., Montalvo H. T. J., García G. N. A. (2010). **Biosorción de plomo, rojo congo y azul de metileno con las biomásas opuntia leptocaulis, residuos de malta y agave.** *Revista Salud Pública y Nutrición*. Edición Especial (10): 6
- Lito Patricia F., Aniceto José P. S. y Silva Carlos M.(2012). **Removal of anionic pollutants from waters and wastewaters and materials perspective for their selective sorption.***Water Air Soil Pollution*, DOI 10.1007/s11270-012-1346-7.
- Lizama C., Freer J., Baeza J., Mansilla H. D. (2002). **Optimized photodegradation of reactive blue 19 on TiO₂ suspension.** *Catalysis Today. Journal of Hazardous Material*. (79): 235-246.
- López Leal M. A. (2009). **Aprovechamiento de los residuos del procesamiento de la Madera (aserrín de pino) para tratamiento de aguas contaminadas con arsénico.** *Tesis Licenciatura*. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 64 pp.
- Low, M.J.D. (1960). **Kinetics of Chemisorption of Gases on Solids.** *Chemical Reviews*, (60): 267-312.
- Lugo-Lugo, E., Barrera-E., C. Ureña-Nuñez, F. Balderas-Hernández, P. y Sánchez-Mendieta, V. (2008). **Biosorción de Cr (VI) en una cáscara de naranja (Citrus sp): Efecto del pretratamiento e irradiación.** *Memorias del VII congreso Internacional, XII Congreso Nacional, III Congreso Regional de Ciencias Ambientales*. Ciudad Obregón, Sonora, México.
- Luley, C. (2006) **Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos.** *Sociedad Internacional de Arboricultura*. (Página en línea). Disponible en: <http://www.isahispana.com/treecare/articles/decay-fungy.aspx> (Consultado el 15/09/2014).
- Maarkham, P. (1998). **Occlusions of septal pores in filamentous fungi.** *Mycological Research*. (98): 1089-1106.
- Manahan S. E. (2007). **Introducción a la Química Ambiental.** *Editorial Reverté*. 1ª Ed. UNAM. México D.F. 725 pp.
- Marín Rangel Vania Marylin. (2011). **Biosorción de arsénico (V) en biomasa de *Trichoderma atroviride* Cultivada sobre residuos de limón criollo (*Citrus aurantifolia* var. *swingle*).** *Tesis Maestría Ciencias Biológicas*. Facultad de Químico Farmacobiología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México. 86 pp.
- Martín Lara María A. (2008). **Caracterización y aplicación de biomasa residual a la eliminación de metales pesados.** *Tesis Doctoral en Ciencia y Tecnología del Medio Ambiente*. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. 424pp.

LITERATURA CITADA

- Martinez D., Larrondo L., Putnam N., Sollewijn M., Huang H., Chapman J., Helfenbein, Ramaiya P., Detter J., Larimer J., Coutinho P., Henrissat B., Berka R., Cullen D., Rokhsar D. (2004). **Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78.** *Nature Publishing Group.* (10): 1038-967.
- Martinez, A. (2002). **Molecular Biology and structure-function of lignin-degradin heme peroxidases.** *Enzyme Microb Technol.* (30): 425-444.
- Martínez, M., Bockle B., Camarero S., Guillen F., Martínez A. (1996). **MnP isoenzymes produced by two *Pleurotus* species in liquid culture and during wheat-straw solid-state fermentation.** *Enzymes for pulp and paper processing.* ACS. Washington. USA. En: Jeffries, T., Viikari, L. (eds.) p.p 183-196.
- Martínez-Montes M. **Aprovechamiento de la semilla de guayaba para la remoción de colorantes en agua.** (2013). *Tesis para obtener el grado de bióloga.* Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán, México.
- Martín-Lara M.A., Blázquez G., Ronda A., Rodríguez I.L., Calero M. (2012). **Multiple biosorption-desorption cycles in a fixed-bed column for Pb(II) removal by acid-treated olive stone.** *Journal of Industrial and Engineering Chemistry.* (18): 1006–1012.
- Meyer, U., (1981). **Biodegradation of synthetic organic colorants. Microbial degradation of xenobiotic and recalcitrant compounds.** In: Leisinger, T., Cook, A.M., Hunter, R.,
- Modak J. M. y K. A. Natarajan. (1995). **Biosorption of metal using non living biomass.** *Minerals and Metallurgical Processing.* pp. 189-196.
- Moon-Park, J. Donghee Park, Y. Yeoung-Sang, Y. (2010). **The past, present, and future trends of biosorption.** *Biotechnology and bioprocess engineering,* (15): 86-102.
- Moore, D. (1998). **Fungal Morphogenesis.** *Cambridge University Press.* New York, United States of America.
- Moreno Virgen Ma. del Rosario, Tovar Gómez Rigoberto . (2012). **“Applications of Activated Carbons Obtained from Lignocellulosic Materials for the Wastewater Treatment”.** *Selected Works of Adrian Bonilla-Petriciolet,* (4): 57-75.
- Mustafa T. Yagub & Tushar Kanti Sen y H. M. Ang. (2012). **Equilibrium, Kinetics, and Thermodynamics of Methylene Blue Adsorption by Pine Tree Leaves.** *Water Air Soil Pollution,* (223): 5267–5282.
- Nigam, P., Armour, G., Banat, I.M., Singh, D., Marchant, R., (2000). **Physical removal of textile dyes and solid state fermentation of dye adsorbed agricultural residues.** *Bioresour. Technol.* (72): 219-226.

LITERATURA CITADA

- Nundkumar N., Ojewole J. A. (2002). **Studies on the antiplasmodial properties of some South African medicinal plants used as antimalarial remedies in Zulu folk medicine.** *Methods Find Exp Clin Pharmacol* (24): 397-401.
- Obelholser K. y J. McGarrity. (1992). **Interaction of metals and protons with algae. III: Marine algae, with emphasis on lead and aluminum.** *Environmental Science and Technology*. 26(3): 496-502.
- Orth AB, Royse D. J., Tien M.(1993). **Ubiquity of lignin degrading peroxidases among various wood-degrading fungi.** *Appl Environ Microbiol* (59): 4017–4023.
- Osorio Echavarría J., Vidal Benavides A. I., Quintero Díaz J. C. (2011). **Decolorization of textile wastewater using the white rot fungi *anamorph R1* of *Bjerkandera sp.*** *Rev. Fac. Ing.* (57): 85-93.
- Özer A, D. Özer. (2004) **The adsorption of Cr(VI) on sulphuric acid-treated wheat bran, Environ. Technol.** (25): 689–697.
- Özer A, D. Özer. (2004) **The adsorption of copper (II) ions on to dehydrated wheat bran (DWB): determination of the equilibrium and thermodynamic parameters.** *Process Biochem.* (39): 2183– 2191.
- Özer A., H. B. Princiç, (2006) **The adsorption of Cd(II) ions on sulphuric acid treated wheat bran, J. Hazard. Mater.** (137): 849–855.
- Palma J.M., Pastori G.M., Bueno P., Distefano S., del Río L.A. (1997). **Purification and properties of cytosolic copper, zinc superoxide dismutase from watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.) cotyledons.** *Free Radical Res* (26): 83–91.
- Park, D., Yun, Y-S., Park J.M. (2010). **The past, present, and future trends of biosorption.** *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, (15): 86-102.
- Patterson J. W. (1991). **Industrial Wastewater Treatment Technology.** Stoneham, Butterworth Publishers. p. 37-49.
- Pelegri P. B., Franco OL. (2005) **Plant gamma-thionins: novel insights on the mechanism of action of a multi-functional class of defense proteins.** *Int J Biochem Cell Biol.* (37): 2239–53.
- Pérez G. R. M., Mitchell S., Vargas S.R., (2008). **Psidium guajava: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology.** (117): 1–27.
- Ponnusami, V.; Madhuram, R.; Krithika, V.; Srivastava, S.N. (2007). **Guava (*Psidium guajava*) leaf powder: Novel adsorbent for removal of methylene blue from aqueous solutions.** *Journal of Hazardous Materials.* (152): 276–286.
- Poots, V.J.P., McKay, J.J., 1976a. **The removal of acid dye from effluent using natural adsorbents - I Peat.** *Water Res.* (10): 1061-1066.

LITERATURA CITADA

- Qiu, H., Lv, L., Pan B-C, Zhang, Q-J., Zhang, W-M., Zhang, Q-X. (2009). **Critical review in adsorption kinetic models.** *Journal of Zhejiang University Science A*, 10(5): 716-724.
- Rahman, I.A.B. Saad. (2003). **Utilization of guavaseeds as a source of activated carbon for removal of methylene blue from aqueous solution.** *Malaysian J. Chem.*, (5): 8-14.
- Rayner, ADM., Boddy., L. (1988). **Fungal Descomposition of Wood Its Biology and Ecology.** *John Wiley and Sons LTD.* Inglaterra. 587p.
- Reddy G. V. B., Gold M. H. (2000) **Degradation of pentachlorophenol by Phanerochaete chrysosporium: intermediates and reactions involved.** *Microbiology.* (146): 405-413.
- Renganathan V., Miki K., Gold M. H. (1986) **Role of molecular oxygen in lignin peroxidase reactions.** *Arch Biochem Biophys* (246): 155-161.
- Reyes-Valdés. E. (2013). **Remoción del colorante azul directo 71 mediante el uso de semillas de guayaba modificadas con surfactante.** *Tesis para obtener el título de Químico Farmacobiólogo.* Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.
- Romero-Gonzalez M. E., Williams C. J., Gardiner P. H. E. (2001). **Study of the mechanisms of cadmium biosorption by dealginated seaweed waste.** *Environmental Science and Technology*, (35): 3025e30.
- Ros Moreno, Antonio. (2011). **El agua. Tratamientos (1/2).** *Mailxmail*, cursos para compartir lo que sabes.
- Ruza Tarro Felipe. (1993). **Tratado universal del medio ambiente.** *Editorial Rezza Editores.* España. (Primera edición) León, Guanajuato.
- Salah Benyoucef y Moussa Amrani. (2011). **Removal of phosphorus from aqueous solutions using chemically modified sawdust of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Miller): Kinetics and isotherm studies.** *Environmentalist*, (31): 200-207.
- Salinas H. C. (2011). **Evaluación de la sorción de un colorante de uso alimenticio con un material zeolítica acondicionado con sales de hierro.** *Tesis para obtener el título Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental.* División de Estudios de Investigación. Instituto Tecnológico de Toluca. Edo. México, México.
- Salunkhe, D. K., Kadam, S.S., (1995). **Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition Storage and Processing.** *Marcel Dekker inc*, New York.
- Sanders J. S. (1984). **Modeling Organics in Aqueous Sulfuric Acid Solutions.** *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* (24): 942-948.

LITERATURA CITADA

- SEDRO. (2012). **Secretaría de Desarrollo Rural Gobierno del Estado (2012-2015)**. Michoacán se consolida como el principal productor nacional de guayaba.
- Selitrennikoff C. P. (2001) **Antifungal proteins**. *Appl Environ Microbiol* (67): 2883–94.
- Sharma, P., Kaur H., Sharma M., Sahore V. (2011). **A review on applicability of naturally available adsorbents for the removal of hazardous dyes from aqueous waste**. *Environ Monit Assess.*, (183): 151–195.
- Slejko, F. L. (1985). **Adsorption Technology: A step-step approach to process evaluation and application**. *Marcel Dekker inc*. New York and Basel.
- Soumen Dey, Saswati Goswami y Uday Chand Ghosh. (2004). **Hydrous ferric oxide (HFO) – a scavenger for fluoride from contaminated water**. *Water, Air, and Soil Pollution*, (158): 311–323.
- Spadaro T., Gold M. H., Renganathan V. (1992). **Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium***. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(8): 2397.
- Sparks, D.L. (1999). **Soil physical chemistry**. *Editorial CRC Press*. 2ª edición. EUA
- Stephan T. L. Vitor R. J., Mendes F. R., Farias P. W., Nascimento D. A. P., Lacorte S. J., Nascimento S. O., Lima D. M., Gomes V. E., Campos D. S. Luiz F. O., Oliveira S. M. (2012). **Antimicrobial activity of recombinant Pg-AMP1, a glycine-rich peptide from guava seeds**. *SciVerse ScienceDirect.Pptides* (37)294–300.
- Stuart, B. (2004). **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**, *John Wiley and sons*.
- Taiz L., Zeiger E. (2006). **Fisiología vegetal**. *Universitat Jaume I*. p. 549. ISBN 9788480216012. Consultado el 24 de mayo de 2012.
- Tandy Susan, Healey John R., Nason Mark A., y et al. (2010). **FT-IR as an alternative method for measuring chemical properties during composting**. *Bioresource Technology*. (101): 5431-5436.
- Tenorio-Rivas G. (2006). **Caracterización de la biosorción de cromo con hueso de aceituna**. *Tesis de doctoral*. Facultad de ciencias. Universidad de Granada.
- Tien M., Kirk T.K. (1984). **Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization, and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase**. *Proc Natl Acad Sci USA*. (81): 2280–2284
- Timell T. E. (1953). **Molecular Weight of native celluloses**. *Svensk Papperstidn*.

LITERATURA CITADA

- Toh Yi-Chin, Yen Jocelyn Jia Lin, Obbard Jeffrey Philip, Ting Yen-Peng. (2003). **Decolourisation of azo dyes by white-rot fungi (WRF) isolated in Singapore.** *Enzyme and Microbial Technology*. (33): 569–575.
- Torres-Pérez J. (2007). **Regeneración de Zeolita Modificada y Material Carbonoso después de su saturación con un colorante azoico tóxico (Remazol Amarillo).**
- Tuesta E. G., Vivas M., Sun R., Gutarra A. (2005). **Modificación química de arcillas y su aplicación en la retención de colorantes.** *Rev. Soc. Quím. Perú*, 2005, (71): 26-36.
- Tuor U., Wariishi H., Schoemaker H.E., Gold M.H. (1992) **Oxidation of phenolic arylglycerol- β -aryl ether lignin model compounds by manganese peroxidase from Phanerochaete chrysosporium: oxidative cleavage of *ana*-carbonyl model compound.** *Biochemistry* (31): 4986–4995.
- Umezawa T., Higuchi T. (1989) **Cleavages of aromatic ring and beta-O-4 bond of synthetic lignin (DHP) by lignin peroxidase.** *FEBS Lett* (242):325–329.
- Vandevivere, P.C., Bianchi, R., Verstraete, W., (1998). **Review: treatment and reuse of wastewater from the textile wet-processing industry: review of emerging technologies.** *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* (72): 289-302.
- Vares T, Niemenmaa O, Hatakka A (1994) **Secretion of ligninolytic enzymes and mineralization of C-ring-labelled synthetic lignin by three Phlebia tremellosa Strains.** *Appl Environ Microbiol* (60): 569–575.
- Vázquez-Guerrero A. (2014). **Efecto de iones competitivos en la biosorción de fluoruros con aserrín de pino (Pinus Michoacana) modificado con cloruro de aluminio.** *Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en ingeniería ambiental.* Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia. Michoacán México.
- Vijayaraghavan K, Palanivelu K, Velan M. (2006). **Treatment of nickel containing electroplating effluents with Sargassum wightii biomass.** *Process Biochemistry*. (41): 853-9.
- Wahab Mohamed Ali, Jellali Salah y Jedidi Naceur. (2010). **Amonium biosorption onto sawdust: FTIR analysis, kinetics and adsorption isotherms modeling.** *Bioresource Technology*, (101): 5070-5075.
- Ward PO, Singh A (2002) **Bioethanol technology: developments and perspectives.** *Advan. Appl. Microbiol.* (51): 53–80.
- Wariishi H., Valli K., Gold M.H. (1992). **Manganese (II) oxidation by manganese peroxidase from the basidiomycetes Phanerochaete chrysosporium. Kinetic mechanism and role of chelators.** *J Biol Chem* (26):23688–23695.
- Wark Warner Davis, (2010). **Air Pollution: Its Origin and Control.** Guernsey, GY, United Kingdom. *Editorial The Book Depository.* pp. 84.

LITERATURA CITADA

- Worrall, J.J., Lee, T.D. & Harrington, T.C. (2005) **Forest dynamics and agents that initiate and expand canopy gaps in *Picea–Abies* forests of Crawford Notch, New Hampshire, USA.** *Journal of Ecology*, (93), 178–190.
- Yang B, Wyman CE. (2004). **Effect of xylan and lignin removal by batch and flow through pretreatment on the enzymatic digestibility of corn stover cellulose.** *Biotechnol. Bioeng.* (86): 88-95.
- Zhijia Liu and Benhua Fei. (2013). **Characteristics of Moso Bamboo with Chemical Pretreatment.** DOI: 10.5772/55379.
- Zollinger, H., 1987. **Colour Chemistry-Synthesis, Properties of Organic Dyes and Pigments.** *VCH Publishers*, New York, pp. 92-100.