

**CARBONES ACTIVADOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA: Aplicación en la
degradación de compuestos fenólicos procedentes de aguas residuales de
la industria metalúrgica de Nobsa–Boyacá**

Manuel Alexander Monroy Fonseca

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS
POSGRADO CIENCIAS- MICROBIOLOGIA
BOGOTA D.C.
2010**

CARBONES ACTIVADOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA: Aplicación en la degradación de compuestos fenólicos procedentes de aguas residuales de la industria metalúrgica de Nobsa–Boyacá

Tesis de Maestría

Presentada por

Manuel Alexander Monroy Fonseca

Biólogo.

Director

Juan Carlos Moreno P.

Dr. Ciencias Químicas

Universidad de Los Andes

Codirector

Dra. Liliana Giraldo G.

Universidad Nacional de Colombia

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS

MAESTRIA CIENCIAS-MICROBIOLOGIA

BOGOTA D.C.

2010

NOTA DE ACEPTACIÓN

La presente tesis fue sustentada y aprobada para el grado de Maestría en Microbiología, el 25 de Enero de 2010.

En constancia firman:



Jurado: María Consuelo Díaz Baez
Departamento de Ingeniería Ambiental
Universidad Nacional de Colombia



Jurado: Gabriel Pinilla
Departamento de Biología
Universidad Nacional de Colombia

A la memoria de

**Manuel José Monroy mi padre.
Juan Alfonso Monroy mi hermano.**

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

A Dios y a la Virgen de la O de Morca por darme la fuerza necesaria para no desfallecer en los momentos adversos a lo largo de esta Maestría y poder culminar satisfactoriamente esta meta.

Al Doctor Juan Carlos Moreno por apoyarme desde el inicio de este largo camino, por su amistad, orientación y paciencia en el desarrollo de este trabajo.

A la Doctora Liliana Giraldo por generar un espacio de comprensión, paciencia, amabilidad y ternura durante el proceso de aprendizaje a lo largo de este proyecto.

A la Doctora Martha Fontanilla por creer en mí, por su valiosa colaboración, amistad, cariño, enseñanzas de vida y conocimiento que me transmitió, que muy seguramente siempre recordare a lo largo de mi vida, le estuve, lo estoy y le estaré infinitamente agradecido.

A Socorro Prieto por ser esa persona con tantas virtudes profesionales como personales en la que siempre encontraba una palabra de apoyo para no desfallecer, la que me vio crecer como persona y a la que siempre será mi amiga
MIL Y MIL GRACIAS.

A mi mami Mireya Fonseca, por ser la piedra angular de todos mis sueños y metas, gracias por creer tanto en mi y apoyarme cada día en las locuras en que meto, la quiero mucho.

A Sandra Milena Carrillo, por ser tan comprensiva, apoyarme incondicionalmente y brindarme su amor que fue y será el complemento ideal de mi vida.

A mi hermana Sujeth, Manuel y Valerie mis sobrinos que los quiero mucho.

A mi compadre.....

A Giovanni Rodríguez por su brindarme su valiosa amistad, por compartir tantas cosas y ayudarme en otras tantas, gracias AMIGO, porque conocidos hay muchos, amigos hay pocos, siempre voy a estar con usted cuando me necesite.

A la Doctora Adriana y Carolina Rueda por su colaboración con la determinación taxonómica de los aislados.

A la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia Tunja y en especial a Biología por colaborarme tanto muchísimas gracias.

A la Universidad de los Andes por valiosa colaboración.

A la Fundación Juan Pablo Gutiérrez Cáceres y a la Universidad Nacional de Colombia por brindarme la oportunidad de formar parte de su gran familia porque sin la ayuda de ellos este sueño no hubiese sido una realidad.

Finalmente agradezco a todas las personas que conocí a lo largo de esta Maestría porque de cada una de ellas me llevo el mejor recuerdo. GRACIAS.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	16
2. JUSTIFICACIÓN	20
3. OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVO GENERAL	23
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	23
4. MARCO TEORICO	24
4.1 FENOL	25
4.1.1 Fuentes naturales de los fenoles	26
4.1.2 Toxicidad de los fenoles	27
4.1.3 Efectos tóxicos en los seres vivos	28
4.1.4 Comportamiento en el medio ambiente	29
4.2 CARBÓN ACTIVADO	29
4.2.1 Estructura y Propiedades de los carbones activados	30
4.2.1.1 Preparación	32
4.2.1.2 Activación física	33
4.2.1.3 Activación química	33
4.3 ADSORCIÓN DE FENOL POR CARBÓN ACTIVADO	34
4.3.1 Factores en la adsorción de fenol por carbón activado	34
4.3.2 Principales variables de la eficiencia en el proceso de adsorción por carbón activado	35
4.4 MODELOS DE ADSORCIÓN	36
4.4.1 Modelo de Langmuir	37
4.4.2 Modelo de Freundlich	38
4.4.3 Modelo de Prausnitz- Radke	39
4.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS CARBONES ACTIVADOS	40

4.5.1 Porosidad.....	40
4.5.2 Teoría de Dubinin Raduskevich	42
4.5.3 Calorimetría de inmersión y caracterización de sólidos.....	43
4.6 BIORREMEDIACIÓN	46
4.6.1 Tratamiento de fenoles por biorremediación.....	47
5. METODOLOGÍA	52
5.1 UBICACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO	52
5.2 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.....	54
5.3 RECUPERACIÓN DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES DE FENOL NATIVAS DE LA EMPRESA ACERÍAS PAZ DEL RÍO S.A.	55
5.4 DETERMINACIÓN MICROBIANA.....	56
5.5 ISOTERMAS DE ADSORCIÓN DE CARBONES ACTIVADOS.....	56
5.6 ISOTERMAS DE EQUILIBRIO	57
5.7 INMOVILIZACIÓN DE LAS CEPAS SOBRE EL CARBÓN ACTIVADO.....	57
5.8 MICROSCOPIA DE BARRIDO ELECTRÓNICO	58
5.9 ENSAYOS DE BIODEGRADACIÓN DE FENOL.....	59
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
6.1 CURVA DE CALIBRACIÓN.....	61
6.2 AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS	62
6.3 INMOVILIZACIÓN MICROBIANA SOBRE CARBONES ACTIVADOS GRANULAR Y PELETIZADO	63
6.4 CARACTERIZACIÓN TEXTURAL DE LOS CARBONES	67
6.5 ADSORCIÓN DE FENOL	70
6.6 ADSORCIÓN DE FENOL MEDIANTE CARBÓN ACTIVADO CON MICROORGANISMOS ADHERIDOS A SU SUPERFICIE.	73
7. CONCLUSIONES	75
8. RECOMENDACIONES	77
ANEXOS1	78
9. BIBLIOGRAFÍA	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Molécula de Fenol.....	25
Figura 2. Curva de especiación para fenol.....	34
Figura 3. Ruta de Degradación (vía Catecol) de compuestos aromáticos	49
Figura 4. Proceso general de obtención de energía mediante oxidoreducción de compuestos.....	51
Figura 5. Mapa de la ubicación de la zona de recolección.....	53
de muestras zona de estudio.	53
Figura 6. Vertimiento 14 Coquería Vista de la salida del efluente	55
Figura 7. Fotografía del Microscopio barrido electrónico.....	59
Universidad Nacional de Colombia	59
Figura 8. Equipo de Espectrofotometría UV VIS GENESYS	59
Figura 10. Curva de Calibración para Fenol.....	61
Figura11. Coloración del medio por Crecimiento Microbiano	62
Figura 12. Crecimiento Microbiano.....	62
Figura13. Micrografía del carbón activado granular antes de la adhesión de microorganismos	65
Figura 14. Adhesión de colonias sobre carbón activado granular (CAG).....	65
Figura 15. Micrografía de Carbón Activado Peletizado sin ser colonizado por microorganismos	66
Figura 16. Carbon activado peletizado con aparente poco formacion.....	67
de colonias	67
Figura 17. Isotermas de Adsorción en Nitrógeno a 77K para carbones	68

solos y asociados a microorganismos.....	68
Figura 18. Isotermas de Adsorción en fenol para carbones activados	70
Figura 19. Isotermas de Adsorción en fenol para carbones activados asociados a microorganismos	71
Figura 20. Remoción de fenol por Microorganismos	73
Figura 21. Degradación de Fenol mediada por los sistemas carbón activado microorganismos	74

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización Físico-Químico de las aguas residuales industriales de la empresa Acerías Paz del Río S.A.....	19
Tabla2. Toxicidad de los fenoles.....	27
Tabla3. Compuestos Fenólicos mas tóxicos.....	28
Tabla4. Características Texturales de los Carbones.....	69
Tabla 5. Modelos Langmuir y Freundlich en solución de fenol para carbones activados y asociados a microorganismos	72

RESUMEN

La necesidad de desarrollar diferentes alternativas para ayudar en la descontaminación de cuerpos hídricos ha conllevado a la implementación de diferentes procesos entre los que se cuenta el carbón activado y la biorremediación. La primera es una excelente alternativa por sus extraordinarias características adsorbentes y su relativamente bajo costo de producción, sin embargo, presenta una desventaja en el tiempo ya que su capacidad de remoción disminuye debido a la saturación de sus poros. La segunda es una valiosa herramienta que la naturaleza brinda para el mismo fin y que en la mayoría de plantas de tratamiento de aguas utilizan debido a su eficiencia, la posible desventaja es el control de las variables que necesiten para su metabolismo.

El objetivo del presente trabajo fue unir los dos sistemas, el carbón activado - microorganismos, evaluándolos por separado y con su posible asociación. Los tipos de carbón activado evaluados fueron de origen mineral americano (CAG) y de origen brasilero lignocelulósico (CAP). Los microorganismos fueron aislados de aguas residuales industriales fenólicas de la industria metalúrgica de Nobsa – Boyacá.

Se trabajó con concentraciones 50, 100, 200, 300, 500 y 1000 mg/L de fenol para determinar su remoción en solución. Se observaron remociones entre 95 y 99% en 3 días. Por otro lado se determinó, usando el método BET, el área superficial mostró áreas de 1440 m²/g y 1151 m²/g para los carbones activados Peletizado y granular respectivamente, mientras que para carbones peletizados y granular asociados a microorganismos 1327 m²/g y 1144 m²/g. Por otro lado se calculó por medio de la ecuación de Dubinin Radushkevich el volumen de microporo y volumen total del poro, la cual mostró 0.500 cm³/g, 0,588 cm³/g para carbón Peletizado y asociado con microorganismos 0,434 cm³/g y 0,587 cm³/g para microporo y volumen total de respectivamente; para el carbón granular 0,380 cm³/g y 0,432

cm³/g para microporo y volumen total de poro y asociado a microorganismos 0,379 cm³/g para microporo y 0,508 cm³/g para volumen total de poro.

Los microorganismos aislados de aguas residuales industriales fenólicas corresponden a una bacteria del género *Klebsiella sp.* y un hongo del género *Penicillium sp.*, los cuales están reportados como degradadores de fenol pero no están reportados como colonizadores de carbones activados.

Se observó que los microorganismos adheridos sobre la superficie de los carbones activados reducen la concentración de fenol en solución comparada con carbones y microorganismos por separado. Por otra parte se concluyó que los microorganismos son capaces de modificar la superficie de los carbones y esta modificación se debe posiblemente a los mecanismos de anclaje (exopolisacáridos) los cuales penetran hasta los mesoporos y microporos.

Finalmente se concluye mediante las isotermas de adsorción que los microorganismos asociados a los carbones activados son una muy buena alternativa en para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con fenol, ya que se posibilita la continua remoción de fenol en el tiempo, porque los microorganismos al utilizar el fenol como fuente de carbono a través de los carbones activados en su proceso natural de adsorción hace que en primera instancia se produzca una adsorción y por otra parte se realice una catálisis por medio de los microorganismos haciendo que el sistema presente una continua degradación de fenol sin que se sature el sistema.

Palabras claves: *Microorganismos, fenol, carbón activado, biofilm, adsorción, microporosidad, mesoporosidad y volumen total de poro, degradación, aguas residuales industriales fenólicas, Klebsiella sp. Penicillium sp. industria metalúrgica.*

ABSTRACT

The need to develop alternatives to assist in the decontamination of water bodies has led to the implementation of different processes including activated carbon is counted and bioremediation. The first is an excellent alternative adsorbents for its unique characteristics and its relatively low production cost, however, presents a disadvantage in the time since the removal capacity decreases due to saturation of its pores. The second is a valuable tool that nature provides for the same purpose and that most water treatment plants used due to its efficiency, the possible disadvantage is the control of variables required for their metabolism.

The aim of this work was to link the two systems, activated carbon - microorganisms, evaluated separately and their possible association. The types of activated carbon of mineral origin evaluated were American (CAG) and Brazilian origin lignocellulose (CAP). The organisms were isolated phenolic industrial wastewater in the metallurgical industry of Nobsa-Boyacá.

We worked with concentrations 50, 100, 200, 300, 500 and 1000 mg / L of phenol to determine their removal in solution. Removals were observed between 95 and 99% in 3 days. On the other hand was determined using the BET method, the surface area m^2 / g showed de1440 areas 1151 m^2 / g for pelletizing and granular activated carbons, respectively, while that for coals pelleted and granular microorganisms associated with 1327 m^2 / g and 1144 m^2 / g . On the other hand was calculated by the equation Radushkevic Dubinin micropore volume and total pore volume, which was 0.500 cm^3 / g , 0.588 cm^3 / g for pelletizing coal and associated with microorganisms 0.434 cm^3 / g 0.587 cm^3 / g for micropore and total volume respectively, for granular coal 0.380 cm^3 / g 0.432 cm^3 / g for the micropore and total pore volume and micro-organisms associated with 0.379 cm^3 / g for the micropore and 0.508 cm^3 / g for total pore volume.

The microorganisms isolated from industrial wastewater phenolics corresponding

to bacteria of the genus *Klebsiella* sp. and a fungus called *Penicillium* sp. , Which are reported as degraders of phenol but not reported as colonizers of activated carbons.

It was noted that the microorganisms adhered to the surface of activated carbons reduce the concentration of phenol in solution compared with charcoal and microorganisms separately. Moreover, it was concluded that microorganisms are capable of modifying the surface of the coals and this change is possibly due to anchoring mechanisms (exopolysaccharides) which penetrate the mesopores and micropores.

Finally it was concluded by the adsorption isotherms that microorganisms associated with the activated carbons are a very good alternative for the treatment of wastewater contaminated with phenol, since it enables the continuous removal of phenol in time, because the organisms to use phenol as carbon source over the activated carbon adsorption process of natural causes in the first instance there is a second adsorption and catalysis takes place by means of micro-organisms causing the system present a continuous degradation of phenol without saturating the system.

Keywords: Microorganisms, phenol, activated carbon, biofilm, adsorption, microporosity, mesoporosity and total pore volume, degradation, phenolic industrial wastewater, *Klebsiella* sp. *Penicillium* sp. metallurgical industry.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso vital para el desarrollo cotidiano y social del hombre. El aumento de la población y con ello su industrialización ha llevado a una demanda del recurso hídrico para satisfacer las necesidades de esta población. Dichos procesos de desarrollo y sostenimiento han conducido en parte al deterioro de los cuerpos hídricos que se usan en los diferentes campos de desarrollo, con ello alterando no solo la calidad de las aguas sino perturbando la fauna y flora que les rodea.

Colombia es un país de gran riqueza hídrica y no se escapa a los problemas que acosan al mundo en cuanto a contaminación de agua se refiere, los cuales radican en los pocos esfuerzos que se hacen en implementar sistemas eficaces para el tratamiento de las aguas residuales generadas por industrias y ciudades. Estas aguas finalmente son vertidas a los ríos sin ningún tratamiento, alterando negativamente su dinámica poblacional. Casos como los ríos Magdalena y Cauca los cuales transportan toneladas de desechos que son aportados por los diferentes departamentos a lo largo de su trayectoria y que son vertidos finalmente al Océano Atlántico, son un ejemplo claro de esta problemática (Suárez & Monroy, 2004).

Un caso particular de contaminación de ríos se presenta en el departamento de Boyacá, donde se debe tratar de controlar los principales factores causantes de la disminución en cantidad y calidad de los cuerpos hídricos por la acción antrópica sobre el cauce de los ríos que pasan por los municipios del departamento (Suárez & Monroy, 2004).

Dentro de los ríos principales del departamento de Boyacá y que presentan mayor deterioro se encuentra el río Chicamocha, especialmente en su cuenca alta, la cual se localiza en el sector central del departamento de Boyacá, en un área de 2200Km² y que comprende territorios de 21 municipios (Suárez, 2003).

El río Chicamocha y sus afluentes principales como los son Jordán, Vega, Tuta, Sotaquirà, Chiticuy, situados por encima de los 2490 m.s.n.m., aguas arriba de la localidad de Vado Castro, soportan demandas para diversos usos y sufren impactos significativos de las actividades domesticas, industriales y agrícolas, (Bautista *et al.*, 2005) de los municipios por donde atraviesa su cauce como son principalmente, Tunja, Paipa, Duitama, Sogamoso, Nobsa, entre otros.

Uno de los contaminantes que pueden alterar el comportamiento de los cuerpos hídricos y de interés sanitario y ambiental es el fenol, un importante compuesto, ya que su presencia a bajas concentraciones (0.2 mg/l, como lo estipula el decreto 1594/84 de la normatividad Colombiana para aguas) puede generar un efecto negativo sobre los diferentes procesos biológicos, además de ser reconocido como tóxico carcinógeno (Dabrowski *et al.*, 2005).

Los derivados del fenol que se encuentran en las aguas residuales generadas en los diferentes procesos de empresas metalúrgicas principalmente en el departamento de Boyacá, son vertidos a los cauces del río Chicamocha con concentraciones promedio de 25 mg/L sin presentar un tratamiento previo a su vertimiento. Sin embargo las Corporaciones Autónomas Regionales en conjunto con algunas empresas y Universidades han dimensionado el problema, lo cual ha llevado a trabajar conjuntamente a fin de generar alternativas para disminuir el impacto negativo ejercido sobre los diferentes ecosistemas alterados aledaños a sus fábricas.

ACERIAS PAZ DEL RÍO S.A. situada dentro de la jurisdicción de los municipios de Nobsa y Corrales, ubicados en las cuencas alta y media del Río Chicamocha (Acerías Paz del Río ,2002), ha generado espacios para dichos estudios, y en especial para tratar sus aguas con fenol, los cuales se enfocan al desarrollo de proyectos biotecnológicos para su tratamiento.

Dentro de la empresa ACERIAS PAZ DEL RIO S.A. se localizan 7 vertimientos industriales, dentro de los cuales 3 puntos resultan de interés particular para el desarrollo de este estudio. Los 3 vertimientos son los puntos 14, 15 y 16

(nomenclatura interna de la empresa) correspondientes a procesos de coquería y alto horno.

La empresa ACERIAS PAZ DEL RIO. S.A. contrató los servicios del laboratorio DAPHNIA LTDA para realizar la caracterización físico química de sus aguas residuales industriales; los resultados se muestran en la Tabla 1.

Las concentraciones de fenol presente en los efluentes de origen industrial de la empresa ACERIAS PAZ DEL RÌO S.A. se encuentran por encima de los valores máximos permitidos por el decreto 1594/84 del Ministerio del Medio Ambiente, vertiéndose al cauce de río Chicamocha sin previo tratamiento. Esto representa una amenaza directa contra el medio ambiente e indirectamente como riesgo de salubridad pública, ya que estas aguas son utilizadas cauce abajo por agricultores que se sirven de las aguas del Rió Chicamocha para riego de sus cultivos. Luego sus cosechas se venden en los mercados de los municipios aledaños, incrementándose de esta manera los riesgos de enfermedades.

Este trabajo se realiza tomando como punto de partida aguas generadas en la empresa siderúrgica Acerías Paz del Río S.A. con el propósito de observar la eficiencia de materiales carbonosos combinados con microorganismos en la biodegradación de aguas fenólicas generadas en la empresa

Por tal razón se hace necesario evaluar un sistema de tratamiento óptimo que sea capaz de remover las concentraciones de fenol presentes en los efluentes generados dentro de la empresa con el fin de mitigar los impactos negativos sobre el medio ambiente y de esta forma contribuir a la recuperación de la cuenca del Rió Chicamocha, así como disminuir problemas de salubridad pública relacionado a contaminación de cosechas.

Tabla 1. Caracterización Físico-Químico de las aguas residuales industriales de la empresa Acerías Paz del Río S.A. en promedio

Parámetros	Unidades	Art.74 Decreto 1594/84	Laboratorio DAPHNIA LTDA						
			Vertimientos Industriales						
			1	6	10	13	14	15	16
			Automotores talleres	Laminación 1100	Laminación 710	Acería	Coquería	Coquería	Alto Horno
Aceites y grasas	mg/l	*	1,19	0,96	0,74	0,58	6,2	2,77	30,9
Acidez Total	mg/l CaCO ₃	*	6,91	2,74	3,97	2,96	<0,2	11,6	<0,2
Alcalinidad Total	mg/l CaCO ₃	*	99,1	1,93	56	76,7	156	72	95,9
Cadmio	mg/l Cd	0,1	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Cianuros	mg/l CN	1	<0,01	0,02	<0,01	0,04	0,1	2,55	5,85
Cloruros	mg/l Cl	*	16,4	13	12,2	8,68	560	211	37,5
Cobre	mg/l Cu	3	0,01	0,02	0,03	0,02	0,01	0,03	0,01
Cromo Hexavalente	mg/l Cr + 6	0,5	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
DBO	mg/l O ₂	*	11	3	6	57	168	79	13
DQO	mg/l O ₃	*	61	23	20	63	540	200	64
Dureza Total	mg/l CaCO ₃	*	51,4	265	63,4	84	102	68,9	147
Fenoles Totales	mg/l	0,2	0,004	<0,002	<0,002	<0,002	53,63	15,19	1,69
Hierro	mg/l Fe	0,3	0,2	0,48	0,96	1,95	2,65	1,72	0,58
Mercurio	mg/l Hg	0,02	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0
Nitrógeno Amoniacal	mg/l N-NH ₄	*	7,54	5,99	1,09	1,23	7,61	2,93	1,77
Nitratos	mg/l N-NH ₃	*	0,05	0,19	0,07	0,08	0,09	0,13	0,17
Nitritos	mg/l N-NH ₂	*	<0,006	0,09	<0,006	0,009	0,02	0,028	0,016
Ortofosfatos	mg/l P	*	0,9	0,44	0,16	0,14	0,32	0,41	0,02
Plomo	mg/l Pb	0,5	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Sólidos Sedimentables	mg/l	*	0,1	0,3	0,7	1,1	0,2	<0,1	<0,01
Sólidos Suspendidos	mg/l	*	2	2	10	35	40	34	11
Sulfatos	mg/l SO ₄	*	17,2	58,1	12,6	33,2	146	54,7	248
Sulfuros	mg/l S	*	2	<1,0	<1,0	1,3	51,4	38,5	18,4
Tensoactivos	mg/l	0,5	1,09	<0,2	<0,2	<0,2	1,9	0,62	0,34
Turbiedad	N.T.U	*	6,8	5,6	12,4	23,6	64,7	32,9	18,3
Zinc	mg/l Zn	*	0,03	0,07	0,08	0,11	0,08	0,68	0,1

Fuente: ACERIAS PAZ DEL RIO S.A 2007

2. JUSTIFICACIÓN

Con el advenimiento de la industrialización y el aumento de la población se han incrementado las necesidades de agua, cada vez con mejor y mayor calidad. A su vez los requerimientos han emergido principalmente para agua potable, e higiene personal, pesquería, agricultura (irrigación), producción industrial, enfriamiento en plantas de abastecimiento de energía eléctrica y actividades de recreación, tales como pesca y natación. Paralelamente a estos usos las aguas se han considerado como el mejor medio para limpiar, dispersar, transportar y disponer los residuos de las actividades humanas.

Para los países en vías de desarrollo, la contaminación por el vertimiento de las aguas residuales municipales y los desechos industriales y agrícolas representa un lastre a su desarrollo económico. Cada uso del agua, incluyendo la descarga de residuos, posee una carga específica que es aproximadamente predecible en lo que tiene que ver con los impactos sobre la calidad del ambiente acuático (García *et al.*, 2000 on line)

En la mayoría de las ciudades de Colombia los ríos presentan actualmente un estado deplorable en cuanto a la calidad del recurso se refiere, ya que solamente un 16% de los municipios cuentan con sistemas de tratamiento de aguas residuales (IDEAM, 2002). En el departamento de Boyacá las plantas de tratamiento en funcionamiento son pocas, o porque no se han terminado o simplemente porque las administraciones de turno en sus planes de ordenamiento territorial no lo han consagrado. Si se pudiera hacer una valoración real de todos los daños que sufren las comunidades, ecosistemas, sistemas de producción y consumo por los impactos de la contaminación, se obtendría una realidad muy desalentadora y la atención sería diferente (IDEAM, 2002).

Uno de los compuestos de interés lo constituyen los compuestos fenólicos, los cuales están considerados como agentes contaminantes; concentraciones por encima de 0,2 mg/L resultan tóxicos para el desarrollo de la vida en cuerpos de agua según el Decreto 1594, de la Normatividad Ambiental vigente para vertimientos en Colombia. De esta su control resulta de vital importancia, ya que se presentan en el suelo y en agua, como resultado de la degradación de los plaguicidas u otros compuestos que han sido aplicados intencionalmente al suelo y/o agua relacionados con emisiones en procesos de manufactura, producción de energía (Rubio, *et al.*, 2000) y en algunos de los procesos industriales del departamento, especialmente en la metalúrgica y la minera.

Diversos procesos se han estudiado a nivel nacional e internacional y otros se han aplicado para la remoción de estos contaminantes de los efluentes industriales. Existen métodos electroquímicos (Monterrosa y Vanegas, 2000) los cuales son apropiados para concentraciones iniciales de fenol que pueden llegar hasta 4000 ppm; métodos biológicos (Gómez y González, 1998; Ortiz y Parra, 2000 por mencionar algunos) cuya concentración inicial de fenol permisible varía de acuerdo con el microorganismo (pertenecientes al género *Pseudomona* principalmente), aunque este valor puede estar entre 1 ppm y 4000 ppm. Otro método estudiado es la oxidación química (Gómez y González, 1998; Guarín y Román, 1997) el cual, dependiendo del agente oxidante, se puede utilizar para un amplio intervalo de concentraciones iniciales de fenol. Finalmente la adsorción por carbón activado (Ramírez y Villa, 1993) y adsorción con resinas de intercambio iónico y membranas (Namane & Hellal 2006) son una buena alternativa para el tratamiento (Nair *et al.*, 2008, Wang *et al.*, 2008, Richard *et al.*, 2009).

Por otro lado se han realizado varios trabajos con el fin de evaluar diferentes alternativas de adsorción, preferiblemente a bajo costo, tales como tratamientos con ceniza de tusa de mazorca, cáscara del fruto del albaricoque, capas de la semilla de caucho y cáscara de caucho, entre otros (Danis *et al.*, 1998, Srivastava *et al.*, 1995). Estos nuevos adsorbentes preparados de materiales carbonosos se

han evaluado y comparado con los estándar de carbón de palo, mostrando porcentajes superiores al 45% generando una alternativa para remoción de fenoles a bajo costo (U.S\$ 0.1/Kg) (Jain & Gupta, 2004).

Asociados al carbón activado se han incorporado microorganismos con capacidad de transformar un compuesto tóxico en sustancias menos tóxicas (Biorremediación) (Tumbas *et al.*, 1998, Nair, *et al.*, 2005, Pazarlioglu & Telefoncu, 2004, Sobecka, *et al.*, 2004, Pai, *et al.*, 1995). Teniendo como referencia estos estudios se plantea como objetivo de este trabajo evaluar la capacidad de remoción de compuestos fenólicos presentes en las aguas residuales de origen industrial generadas en las empresa Acerias Paz del Río S.A mediante carbones activados comerciales, tanto de origen mineral como vegetal, asociados a microorganismos con capacidad degradadora de fenol (Pai, *et al.*, 1995, Pazarlioglu & Telefoncu, 2004, Tsai & Juang, 2006, Dash *et al.*, 2009) a fin determinar su eficiencia en la remoción de compuestos fenólicos.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la remoción de compuestos fenólicos presentes en las aguas residuales de la industria metalúrgica de Nobsa- Boyacá mediante carbón activado comercial mineral (Granular) y lignocelulósico (Peletizado) asociados a microorganismos degradadores de fenol.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Aislar e identificar microorganismos procedentes de aguas residuales industriales fenólicas de la industria metalúrgica de Nobsa- Boyacá.
- Caracterizar textural y químicamente los carbones activados solos y asociados a microorganismos.
- Establecer cuáles son los carbones activados comerciales asociados con microorganismos que presentan un mejor rendimiento en la degradación de compuestos fenólicos generados en la industria metalúrgica de Nobsa- Boyacá

4. MARCO TEORICO

La mayoría de los cauces de agua del país tiene algún nivel de contaminación, sobre todo si atraviesan ciudades. Esto se debe a los vertidos incontrolados o escasamente controlados de diferente naturaleza: orgánico e inorgánico de origen doméstico, industrial y agropecuario, entre otros.

La naturaleza de los efluentes industriales es muy heterogénea. Pueden ser de carácter mineral, como los producidos por la industria metalúrgica, biológicos, como los desechos generados por mataderos, o una combinación de ambos, como los vertidos por las curtiembres.

Las sales inorgánicas como las de cobre, plomo, níquel, mercurio y plata actúan como impedimento para que los organismos que integran el medio acuático realicen el intercambio gaseoso. Los sulfuros y el amoníaco paralizan las reacciones bioquímicas de aquellos. Muchas de estas sales tienen efecto tóxico acumulativo que producen trastornos neurológicos y pulmonares, entre otros, mientras que otras tienen algunas propiedades cancerígenas, como el cromo y el mercurio.

Los ácidos tienen efectos corrosivos y acidifican las aguas modificando el equilibrio de los organismos. También se puede producir liberación de ácido sulfhídrico del barro del lecho del río, lo cual produce olores desagradables. Junto con los álcalis, pueden destruir microorganismos, inhibiendo la capacidad autodepuradora.

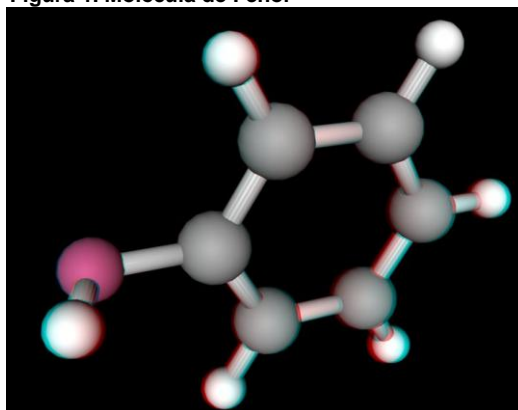
Todos estos vertidos producen a menudo cambios físicos del agua: modificaciones de color, olor, gusto, transparencia, contaminación biológica, sanidad, dureza, viscosidad, temperatura. En el caso de la contaminación térmica, provocada por los sistemas de enfriamiento de industrias siderúrgicas y papeleras entre otros, un

aumento de la temperatura provoca un mayor consumo de oxígeno que afectará seriamente las distintas comunidades que viven en el medio. También se acelera el metabolismo de los peces y, por lo tanto, es mayor la necesidad de oxígeno y la velocidad de respiración. Esto lleva a la muerte por falla en el sistema nervioso, respiratorio o en los procesos celulares.

El aumento de la temperatura acelera el crecimiento de organismos patógenos, que pueden producir en el hombre enfermedades como cólera, fiebre tifoidea, hepatitis infecciosa, gangrena, etc., por lo que los riesgos sanitarios son mayores en época seca si se toma contacto con aguas donde proliferan estos organismos. (Tierney *et al.*, 1997)

4.1 FENOL

Figura 1. Molécula de Fenol



www.images.google.com.co

En la figura 2 se muestra la estructura molecular del fenol en la que se observa un anillo aromático y unido en uno de sus carbonos un grupo OH. Inicialmente se denominó ácido carboxílico y fue descubierto por Runge en el año de 1834, en el alquitrán de la hulla. Se diferencia de los alcoholes por tener un grupo OH unido directamente a su anillo aromático. Se puede transformar fácilmente en éteres o ésteres. Por sus condiciones de aromaticidad es bastante estable. El anillo aromático del fenol tiene una densidad electrónica superior a la del benceno, debido al efecto resonante dador del oxígeno fenólico (Hernández, 2005)

A temperatura ambiente el fenol es cristalino e incoloro, de forma acircular o cristales de masa blanquecina, pueden presentar coloración rojiza al ser expuestos a la luz o en presencia de alcalinidad. Se funde a 43°C, hierve a 183°C y tiene un olor característico no muy agradable. Es muy soluble en agua y en la mayoría de solventes orgánicos, es cáustico y muy venenoso. Puede causar muerte por ingestión de tan solo 1 g y causa envenenamiento por absorción por la piel. Vertido como residuo industrial al medio ambiente, especialmente en el agua, resulta muy tóxico. Es mortal en concentraciones de 1 ppm para la fauna acuática. En presencia de cloro se transforma en clorofenol. Los fenoles se usan como disolventes para aceites lubricantes refinados, ácido salicílico, pentaclorofenol (herbicidas), pinturas germicidas, productos farmacéuticos, reactivos de laboratorio y desinfectante en general. Existen técnicas de remoción para estos compuestos: tratamientos biológicos, extracción líquido-líquido, adsorción y oxidación (Hernández, 2005)

4.1.1 Fuentes naturales de los fenoles

Los fenoles se encuentran ampliamente distribuidos en plantas y animales. Se presentan en la madera y en las agujas de pino, en la orina de los herbívoros (fenolsulfato) y en el alquitrán de hulla; de los fenoles se obtienen numerosas esencias naturales como vainillina, carvacrol y jengibre. Además algunos fenoles son los constituyentes básicos esenciales de los aceites del tomillo (timol), el clavo (eugenol) y el té (ácido gálico).

De los fenoles también se obtiene el ácido salicílico (principal componente de la aspirina), que se forma por oxidación del aldehído salicílico, que se extrae de compuestos complejos de la corteza del sauce (*Salix*). Éste ácido que tiene propiedades analgésicas y antipiréticas.

4.1.2 Toxicidad de los fenoles

La toxicidad se define como la capacidad de una sustancia de causar daño a los organismos vivos y ésta depende de la cantidad de sustancia administrada o absorbida y del tiempo de exposición

Tabla2. Toxicidad de los fenoles

Seres Humanos	1 g puede ser fatal
Mamíferos	
Ratas	DL ₅₀ 414 –530 mg/kg, oral
	DL ₅₀ 670 mg/kg, dérmico
Conejos	DL ₅₀ 400-600 mg/kg oral
	DL ₅₀ 850 mg/kg, dérmico
Gatos	DL ₅₀ 100 mg/kg, oral
Perros	DL ₅₀ 500 mg/kg, oral
Organismos acuáticos	
<i>Pimephales promelas</i>	CL ₅₀ 24 – 68 mg/L
<i>Leuciscus idus melanotus</i>	CL ₅₀ 25 mg/L(48h)
<i>Lepomis macrochirus</i>	CL ₅₀ 24 mg/L(96h)
Daphnia	CL ₅₀ 12 mg/L(48h)
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	CL ₅₀ 7,5 – 4,0 mg/L
<i>Microcystis aeruginosa</i>	CL ₅₀ 4,6 mg/L

DL50: Dosis letal 50. Es la cantidad requerida para matar al 50% de los animales de laboratorio expuestos.

CL50: Concentración letal 50. Es la cantidad de miligramos de ingrediente activo por kilogramo de peso, requerido para matar al 50% de los organismos expuestos. Fuente: ces.sic.ernet.in

En la Tabla 2 se presenta la toxicidad del fenol para diferentes tipos de organismos vivos. Se puede observar que para animales domésticos como el perro y el gato las cantidades en mg/Kg de fenol que les pueden causar daño son menores que para las pruebas realizadas sobre otras especies.

En la Tabla 3 se presentan los compuestos fenólicos mas tóxicos según la EPA, 1991 (Environmental Protection Agency) en la que se puede observar que entre más cerca al primer puesto el compuesto resulta ser mas toxico para el ambiente y

se le asigna una puntuación mayor que le asigna la agencia; para el caso específico se puede observar que el fenol ocupa el puesto 85 con un puntaje correspondiente a 804.

Tabla3.Compuestos Fenólicos mas tóxicos

Puesto	Nombre del Compuesto	Puntaje Total
31	Pentaclorofenol	1028
85	Fenol	804
94	2,4,6 – Triclorofenol	780
115	2,4,6 – Triclorofenol	754
121	2,4 – dinitrofenol	735
130	2,4 – dimeltifenol	708
143	Tetraclorofenol	662
243	2,4 – diclorofenol	507
245	2 – clorofenol	493

Fuente: EPA.1991

4.1.3 Efectos tóxicos en los seres vivos

- *Seres humanos / mamíferos:* El fenol es un fuerte veneno protoplasmático. Los vapores y líquidos del fenol son tóxicos y pueden ingresar fácilmente al cuerpo por vía cutánea. Los vapores inhalados lesionan las vías respiratorias y el pulmón. El contacto del líquido con la piel y los ojos produce severas quemaduras. La exposición prolongada paraliza el sistema nervioso central y produce lesiones renales y pulmonares. La parálisis puede desembocar en la muerte. Los síntomas que acompañan la afección son cefalalgias, zumbido en los oídos, mareos, trastornos gastrointestinales, obnubilación, colapso, intoxicación, pérdida del conocimiento, respiración irregular, paro respiratorio (apnea), paro cardíaco y, en algunos casos, convulsiones. El fenol ejerce efectos teratógenos (anomalías en el desarrollo embriológico) y cancerígenos el fenol carece de potencial mutagénico. Los fumadores están más expuestos, porque el humo del cigarrillo contiene fenoles.

- *Plantas:* Inhibe la permeabilidad pasiva y el crecimiento. Sin embargo la acumulación en los alimentos es poca.

4.1.4 Comportamiento en el medio ambiente

- *Agua:* El fenol es más denso que el agua. Se disuelve lentamente y forma, incluso en dilución, soluciones tóxicas. Este comportamiento le permite al fenol desplazarse a velocidades similares al del cuerpo de agua en el que se encuentre y por lo tanto ser consumido por los seres vivos fácilmente.
- *Aire:* Los vapores son más densos que el aire, esto implica que se encuentra más cerca de la corteza terrestre y por lo tanto es más probable que sea ingerido por los seres vivos. Además expuestos al calor, forman mezclas explosivas. La oxidación del fenol en el aire se acelera por efecto de la luz o de impurezas que actúan como catalizadores.
- *Suelo:* Debido a la degradación microbiana (aeróbica o anaeróbica) la acumulación de fenol en el suelo es escasa; el nivel de esta acumulación depende de la presencia de minerales arcillosos (gran afinidad con el óxido de aluminio). Por lo tanto es más difícil que entre a las plantas por vía subterránea.

4.2 CARBÓN ACTIVADO

El nombre de carbón activado se aplica a una serie de carbones porosos preparados artificialmente para que exhiban un elevado grado de porosidad y una elevada superficie interna. Las paredes de los poros proveen una gran área superficial la cual mantiene las moléculas adsorbidas. Esta retención es causada usualmente por fuerzas no específicas como Van der Waals.

4.2.1 Estructura y Propiedades de los carbones activados

Desde el punto de vista estructural, el carbón activado se puede definir como un material carbonoso poroso que ha sido preparado por reacción de un precursor carbonoso con gases, a veces con la adición de productos químicos (por ejemplo, ácido fosfórico, cloruro de zinc, hidróxido de potasio, entre otros) durante y después de la carbonización, para aumentar la porosidad. La estructura del carbón activado, que está basada en capas de grafeno totalmente desordenadas, se corresponde con la de un material no grafitable, es decir, un material que no ha pasado por un estado fluido durante el proceso de carbonización. La estructura macromolecular o polimérica del precursor permanece durante el tratamiento térmico, porque se produce un entrecruzamiento que impide la fusión, con solo la pérdida de pequeñas moléculas por la pirolisis. Este entrecruzamiento causa una estructura rígida, con muy poca movilidad, lo que evita el ordenamiento que se produce durante el proceso de tratamiento térmico (por ejemplo, grafitización) y da lugar a una estructura porosa (Rodríguez & Sepúlveda, 2001).

La superficie específica y las dimensiones de los poros dependen del precursor y de las condiciones de los procesos de carbonización y activación utilizados. Los tamaños de los poros van desde los más pequeños, llamados microporos (hasta 2,0 nm), hasta los mesoporos (de 2,0 a 50 nm) y macroporos (mayores de 50 nm).

Hay que tener en cuenta que aunque la mayor parte de la adsorción tiene lugar en los microporos (responsables de más del 90% de la superficie específica), los mesoporos y los macroporos son extraordinariamente importantes en los carbones activados, porque son los que facilitan el acceso de las especies que se van a adsorber al interior de la partícula y a los microporos

El carbón se selecciona entre otras cuantificando su superficie, pues en general una mayor superficie conlleva mayor capacidad de retención de contaminantes.

La superficie del carbón aumenta según el grado de activación; sin embargo, un elevado grado de activación conduce a un descenso de la densidad y la resistencia mecánica del carbón, además, en microporos de gran tamaño es probable que descienda la intensidad de la retención por el contaminante y, sí el grado de activación es bajo la microporosidad es tan estrecha que la superficie no está totalmente disponible para la retención de los compuestos, pues estos tienen un tamaño molecular mayor que el de una fracción de los microporos.

Hay por tanto un valor óptimo de superficie-microporosidad-grado de activación adecuado a cada proceso de aplicación. Sin embargo, las propiedades adsorbentes de un carbón activado no sólo están definidas por su estructura porosa, sino también por su naturaleza química. El carbón activado presenta en su estructura átomos de carbono con valencia insaturada y, además, grupos funcionales (principalmente de oxígeno y nitrógeno) y componentes inorgánicos responsables de las cenizas, todos ellos con un efecto importante en los procesos de adsorción. Los grupos funcionales se forman durante el proceso de activación por interacción de los radicales libres de la superficie del carbón con átomos tales como oxígeno y nitrógeno, que pueden en parte provenir del precursor o de la atmósfera.

Estos grupos funcionales hacen que la superficie del carbón se haga químicamente reactiva y esa es la razón por la que afectan las propiedades adsorbentes, especialmente para moléculas de cierto carácter polar. Así, el carbón activado puede ser considerado en principio como hidrófobo por su poca afinidad por el agua, lo que es muy importante en aplicaciones como la adsorción de gases en presencia de humedad, o de especies en disolución acuosa; pero la presencia de grupos funcionales en la superficie del carbón activado hace que puedan interaccionar con el agua, haciendo que la superficie sea más hidrófila.

La oxidación de un carbón, que es inherente a la fabricación del carbón activado, resulta en la formación de grupos de hidroxilo, carbonilo, carboxilo, entre otros, que le dan al carbón activado un carácter anfotérico, por lo que puede ser ácido o básico. Además de influir en la adsorción de muchas moléculas, los grupos superficiales de oxígeno contribuyen a la reactividad de los carbones activados hacia ciertos disolventes en aplicaciones como la recuperación de disolventes.

4.2.1.1 Preparación

La activación se define como el desarrollo de poros en un material no poroso, por medio de reacciones químicas. En general, una mayor superficie conlleva mayor capacidad de retención de contaminantes y la forma de aumentarla es prolongando el nivel o grado de activación (cuantificado a través del porcentaje de carbono perdido durante el proceso de quemado).

Cuando el grado de activación del carbón es bajo, la capacidad de adsorción puede verse disminuida. Aún si la superficie es próxima a $700 \text{ m}^2/\text{g}$. Esto se debe a que los poros son muy estrechos, pues el tamaño molecular es mayor que el tamaño de los poros. Por otra parte, si el grado de activación es muy elevado se presenta una disminución de la densidad y la resistencia mecánica del carbón.

Los carbones activados comerciales se fabrican a partir de materiales orgánicos que son ricos en carbono, especialmente carbón mineral, madera, huesos y cáscaras de frutas, turba, breas y coque. La elección del precursor es fundamentalmente una función de su disponibilidad, precio y pureza, pero el proceso de fabricación y la posible aplicación del producto final han de ser muy tenidos en cuenta. Los procesos de fabricación se pueden dividir en dos tipos: activación física (también llamada térmica) y activación química.

La porosidad de los carbones preparados mediante activación física es el resultado de la gasificación del material carbonizado a temperaturas elevadas,

mientras que la porosidad que se obtiene en activación química es generada por reacciones de deshidratación química, que tienen lugar a temperaturas mucho más bajas.

4.2.1.2 Activación física

Normalmente se lleva a cabo en dos etapas, la carbonización del precursor y la gasificación controlada del carbonizado. En la carbonización se eliminan elementos como el hidrógeno y el oxígeno del precursor, para dar lugar a un esqueleto carbonoso con una estructura porosa rudimentaria.

Durante la gasificación el carbonizado se expone a una atmósfera oxidante (vapor de agua, dióxido de carbono, o una mezcla de ambos) que elimina los productos volátiles y átomos de carbono, aumentando el volumen de poros y la superficie específica. La carbonización y la activación se realizan en distintos tipos de hornos, principalmente hornos rotatorios construidos en acero y materiales refractarios para soportar las altas temperaturas de activación (cercas a 1000°C).

4.2.1.3 Activación química

En este caso es necesario un solo horno. El precursor, normalmente un material lignocelulósico como madera, se impregna con un agente químico, preferentemente ácido fosfórico (aunque también se puede utilizar cloruro de cinc), y el material impregnado se calienta en un horno a 500-700°C. Los agentes químicos utilizados reducen la formación de material volátil y alquitranes, aumentando el rendimiento en carbono. El carbón resultante se lava profundamente para eliminar los restos del agente químico usado en la impregnación. Adicionalmente, estos carbones activados pueden ser activados térmicamente por gasificación parcial con dióxido de carbono o vapor de agua. De esta forma ha sido posible conseguir carbones activados con muy elevadas áreas

superficiales y porosidades, para aplicaciones como el almacenamiento de gas natural.

Cualquiera que sea el método de preparación utilizado, lo importante es tener en cuenta que cada aplicación requiere un material diferente.

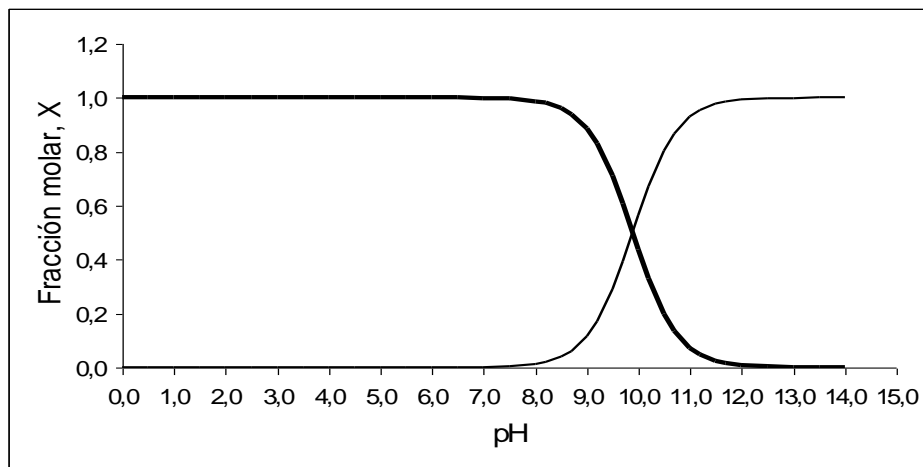
4.3 ADSORCIÓN DE FENOL POR CARBÓN ACTIVADO

El proceso de remoción de fenol ha sido sin duda el más estudiado de todas las aplicaciones en fase líquida de los materiales de carbón y esto se debe principalmente a dos razones. La primera, a que el fenol es una molécula modelo de los compuestos aromáticos y la segunda, a que ha sido considerada, como se menciono anteriormente, como una molécula contaminante prioritaria (Blanco *et. al.* 2009). Cuando el fenol se adsorbe a partir de soluciones líquidas lo hace de forma que su anillo aromático queda paralelo a las capas grafénicas de la superficie del carbón. De esta forma, la adsorción se produce mediante interacciones electrónicas de dispersión entre los electrones π del anillo aromático y los electrones π de las capas grafénicas (Moreno- Castilla & López – Ramón, 2007).

4.3.1 Factores en la adsorción de fenol por carbón activado

La influencia del pH: A pH básico (donde predomina en el agua la especie aniónica fenolato), la capacidad de retención del carbón es alrededor de la mitad de la que tiene cuando el pH es ligeramente ácido (donde predomina la especie neutra fenol) como se observa en la figura 3

Figura 2. Curva de especiación para fenol



Blanco et., al 2009

La influencia de la temperatura: A temperaturas ordinarias la adsorción que ocurre es física, las impurezas son retenidas en la superficie del carbón por fuerzas intermoleculares (normalmente de Van der Waals), mientras que la quimioadsorción se da cuando se dispone de energía de activación, que es la encargada de hacer o romper las uniones químicas. Esto sucede a temperaturas elevadas, normalmente mayores de 200°C.

La polaridad del carbón incrementa la adsorción de fenoles, entonces un aumento en el grado de oxidación del carbón conduce a un descenso de la superficie del carbón ocupada por el fenol (que puede disminuir hasta en un 40% en el carbón más oxidado). Así la superficie del carbón no se vea alterada de manera apreciable.

4.3.2 Principales variables de la eficiencia en el proceso de adsorción por carbón activado

Para el carbón activado dispuesto en un filtro para el proceso de adsorción, se deben tener en cuenta los siguientes factores:

- ♣ Tiempo de contacto entre la corriente de agua y el lecho de carbón activado. Debe ser el mínimo necesario para que exista penetración de la fase líquida a los sitios activos del carbón.

- ♣ Porcentaje de zonas activas en el carbón, debido a que ésta disminuye a través del tiempo, pues una vez el carbón esté saturado ya no sirve en el tratamiento de aguas residuales y debe ser dispuesto como un residuo.
- ♣ El flujo en contracorriente mejora el contacto, puesto que dispone de más superficie activa por volumen de fluido, pues el lecho permanece fluidizado.
- ♣ La presión de trabajo, de ser muy alta puede fracturar el carbón granulado produciendo finos que pueden taponar los poros.
- ♣ Temperatura, debido a que la velocidad de difusión del sustrato aumenta con la temperatura, alcanzando una mayor rapidez de equilibrio de adsorción pero menor cantidad de sustancia adsorbida.
- ♣ Las condiciones fisicoquímicas y bacteriológicas del agua de entrada pueden hacer que se adsorban otras sustancias, debido a la poca selectividad del carbón, y por lo tanto éste pierde su área superficial en sustancias que podían ser removidas en otra etapa del tratamiento. Además si el agua presenta bacterias y otros microorganismos indeseables pueden formar colonias o cepas en los lechos de carbón activado reduciendo así la cantidad de zonas activas.

4.4 MODELOS DE ADSORCIÓN

A continuación se describen los tipos de isotermas que se utilizan para caracterizar el área superficial de un sólido adsorbente y evaluar la cantidad máxima adsorbida de adsorbato.

El hecho que la energía potencial de una molécula de un gas disminuya en las cercanías de una superficie, implica que la concentración será mayor en ella que en el propio gas, es decir que se habrá adsorbido. Es evidente que la cantidad adsorbida de un adsorbato, en estado gaseoso o en solución acuosa, por un

sólido depende de la temperatura y la presión o la concentración respectivamente, así como de la naturaleza del adsorbato y del sólido. Por tanto, para un sistema dado, a una temperatura constante, la variación de la cantidad adsorbida con la presión o la concentración constituye una isoterma de adsorción.

Las isotermas de adsorción se pueden obtener siguiendo un procedimiento gravimétrico (aumento de peso) o volumétrico (cambio en el volumen de un sistema por adsorción del gas o vapor sobre el carbón), eligiéndose uno u otro en función del área de cada sólido

Las isotermas de adsorción no presentan siempre la misma forma, ya que existen apreciables diferencias en los calores de adsorción de distintos adsorbentes para un adsorbato dado, lo que significa que la forma de la isoterma es altamente dependiente de la naturaleza del adsorbente. Si el sólido es mesoporoso, la condensación capilar se producirá a presiones relativas medias o altas de la isoterma de adsorción, mientras que si es microporoso el llenado de los poros se producirá a bajas presiones. Esta es la razón fundamental por la que la forma de la isoterma de adsorción puede proporcionar información acerca de los procesos que tienen lugar en la interfase sólido-adsorbato.

Para ajustar isotermas desde solución se han utilizado modelos como los de Langmuir, Freundlich, Prausnitz- Radke (Leyva, 2007)

4.4.1 Modelo de Langmuir

Langmuir modela la superficie de un sólido al considerarlo como una serie de centros activos, capaces de adsorber una sola molécula. Cualquiera de estos sitios activos tiene igual probabilidad de adsorber la molécula que llega a la superficie. A pesar de que este mecanismo puede aplicarse a otras capas adsorbidas sobre la monocapa, Langmuir centró su atención, principalmente, en aquellos casos en los que la adsorción se limita a la primera capa.

El método de Langmuir, aplicable fundamentalmente a fenómenos de quimisorción, supone que el potencial de adsorción es constante en toda la superficie. La deducción matemática de la ecuación conduce a una expresión que describe la isoterma tipo I dada por:

$$q_e = q_m \left(\frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e} \right)$$

donde K_L es una constante a una temperatura dada que depende del tiempo de vida media de las especies adsorbidas y se encuentra relacionada con la energía de adsorción, q_e es la cantidad adsorbida en el equilibrio en fase sólida por gramo de carbón expresado como mg g^{-1} , q_m es la capacidad máxima de adsorción y C_e es la concentración en el equilibrio en fase líquida expresada en mgL^{-1} .

Linealizando la ecuación anterior queda como:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m K_L} + \frac{1}{q_m} C_e$$

Los valores de K_L y q_m se calculan utilizando el método de mínimos cuadrados.

4.4.2 Modelo de Freundlich

Los sistemas a menudo se desvían significativamente de la ecuación de Langmuir. Esto puede deberse a que la superficie no sea uniforme, y también puedan existir interacciones entre las moléculas adsorbidas; una molécula que está unida a la superficie puede dificultar o facilitar que otra molécula se una a un sitio vecino, y esto conducirá a una desviación de la ecuación de la adsorción ideal.

Los sistemas no ideales en ocasiones pueden adaptarse a una isoterma de adsorción empírica gracias al fisicoquímico alemán Herbert Max Finlay Freundlich; según esta ecuación, la cantidad de sustancia adsorbida x se relaciona con la concentración c mediante la ecuación:

$$x = kC^{1/n}$$

k y n son constantes empíricas. Para el cálculo de estas constantes se linealiza la ecuación como:

$$\ln x = \ln K + \frac{1}{n} \ln C$$

4.4.3 Modelo de Prausnitz- Radke

Este modelo se ha propuesto para interpretar las isotermas de adsorción de varios compuestos orgánicos en solución acuosa sobre carbón activado y se representa como:

$$q = \frac{aC}{1 + bC^\beta}$$

Donde a , β y b son constantes de la isoterma de Prausnitz- Radke. Esta ecuación comprende los tres casos particulares descritos a continuación:

- La isoterma de Prausnitz- Radke se convierte en la de Langmuir cuando $\beta = 1$.
- La isoterma de Prausnitz- Radke se transforma en la de Freundlich cuando el término bC^β es mucho mayor que la unidad.
- La isoterma Prausnitz- Radke es lineal cuando el término bC^β es mucho menor que la unidad. En otras palabras la isoterma Prausnitz- Radke tiene las características de estas tres isotermas. Por ser un modelo que presenta tres constantes de ajuste algunas veces ajusta mucho mejor los datos que las otras isotermas.

En sistema líquido – sólido, es importante aclarar que el hecho que determinado modelo de isoterma ajuste satisfactoriamente los datos de equilibrio de adsorción, no corrobora que el mecanismo de adsorción ocurra de acuerdo con los principios fundamentales que sustentan el moldeo que mejor ajuste los datos. El modelo de isoterma ajusta los datos experimentales por algún método matemático – estadístico, que permite calcular las constantes del modelo de la isoterma, pero este modelo no considera las interacciones ente el adsorbato y los sitios activos de la superficie (Leyva, 2007).

4.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS CARBONES ACTIVADOS

La caracterización de un carbón activado tiene bastante importancia a nivel comercial y científico y debe abarcar propiedades adsorbentes, químicas, físicas y mecánicas, por lo que en la actualidad se ha establecido un gran número de técnicas, dentro de las que se destacan la adsorción de gases y vapores, la calorimetría de inmersión, la espectroscopia fotoelectrónica de rayos X, XPS, las microscopias electrónicas de barrido y de transmisión, SEM y TEM, la desorción a temperatura programada TPD, entre otras.

4.5.1 Porosidad

Se puede decir que la primera etapa en la caracterización de un carbón activado es la determinación de su área superficial, seguida de un análisis de la porosidad y de la determinación de la aplicabilidad para un uso determinado. El área superficial normalmente se mide por el equilibrio de adsorción de un gas o vapor en condiciones isotérmicas, y una vez obtenida la isoterma de adsorción, se analiza por un método apropiado para evaluar la capacidad de monocapa, y con esta se calcula el área superficial si se conoce el área ocupada por una molécula(Rodríguez & Molina 2000). La ecuación de BET, pese a que es un modelo que no se adapta con exactitud a la porosidad típica de carbones activados, principalmente constituida por microporos, se expresa normalmente como:

$$p/p_0/n(p^0-p)=1/n_m C+c-1/n_m C^* p/p^0$$

donde

$$C= \exp(q_1-q_L/RT)$$

resulta proporcional a la entalpía de adsorción.

Esta ecuación demanda una relación lineal entre $(p/p^0) / n (p^0-p)$ y (p/p^0) de la cual se calcula la capacidad de la monocapa n_m (mmol g⁻¹), siendo el rango de linealidad para carbones activados entre 0.05 y 0.20.

La caracterización de la porosidad de un carbón activado no es una tarea fácil ya que no hay una técnica particular que brinde información sobre la totalidad de los poros. Así, la determinación de mesoporosidad y macroporosidad está bien documentada mientras que la microporosidad todavía es objeto de investigación.

La meso y macroporosidad pueden determinarse por porosimetría de mercurio, la cual consiste en la penetración de mercurio dentro de los poros por efecto de la presión. Por su parte, la mesoporosidad puede determinarse por el análisis del bucle de histéresis que resulta de la condensación progresiva de adsorbato en los poros en el caso de la adsorción con la formación de un menisco.

Por otra parte, la caracterización de la microporosidad de un carbón activado se puede desarrollar favorablemente por la adsorción de gases y vapores, aunque en la actualidad se están empleando técnicas complementarias como la calorimetría de inmersión y la microscopía electrónica, entre otras, debido a la compleja y altamente desordenada estructura, en donde las paredes de los poros son comparables con el tamaños de las moléculas de adsorbato. Por tanto, en la interpretación de los datos de adsorción se entiende que las moléculas de adsorbato son adsorbidas fuertemente a bajas presiones relativas por los poros

más estrechos porque existe una exaltación en el potencial de adsorción. Por otro lado, taponamientos en la red pueden causar efectos por difusión a bajas temperaturas de adsorción (N₂ 77 K) cuando las dimensiones del ancho del poro y del adsorbato son similares.

4.5.2 Teoría de Dubinin Raduskevich

La teoría de Dubinin de llenado de volumen de microporos, desarrollado en varios pasos desde 1947, ha sido el modelo más utilizado para la caracterización de carbones activados durante los últimos años. En esta teoría, Dubinin y colaboradores se basan en la curva característica de la teoría de Potencial de Polanyi, en el que la fracción de llenado, n/n_0 del volumen de microporo se expresa como:

$$n / n_p = \exp- (A/ E)^m$$

Donde m es un número entero, E es la energía libre característica de adsorción para un sistema dado, y A , originalmente llamado potencial de adsorción, es el cambio en la energía libre diferencial de adsorción, que se define como:

$$A = - RT \ln(p / p^0)$$

En el caso particular que $m=2$, la ecuación de la isoterma de adsorción se convierte en

$$\log n = \log n_0 - D (\log p / p_0)$$

Donde D es una constante relacionada con E . Esta ecuación se conoce generalmente como la ecuación de Dubinin Raduskevich (DR), por lo que de acuerdo con esta ecuación, se puede obtener una relación lineal entre $\log n$ y $(\log p / p_0)^2$ donde el intercepto es igual a n_0 , el volumen de microporo (Rouquerol & Rouquerol, 1999; Rodriguez Reinoso, 1997; Rodriguez Reinoso & Marsh, 2007),

4.5.3 Calorimetría de inmersión y caracterización de sólidos

La calorimetría es una técnica de carácter termodinámico que permite conocer la cantidad de calor que se involucra en un determinado proceso, y está relacionado con el contenido energético del sistema bajo estudio (Moreno & Giraldo, 2007)

Gracias a la gran cantidad de sistemas, fenómenos y condiciones de interés, no existe un modelo único de calorímetro, por lo que en la actualidad se cuenta con una gran diversidad de estos. Por tanto, desde su surgimiento, se han diseñado una gran variedad de calorímetros, en los que se pueden mencionar los adiabáticos, en los cuales no hay intercambio de calor entre la celda de reacción y los alrededores; los isoperibólicos, en el que el intercambio de calor entre la celda y los alrededores es muy limitado, y los isotérmicos, dentro de los cuales se ubican los calorímetros de conducción de calor, en los que se mantiene constante la temperatura del equipo y todo el calor producto de las diferentes interacciones se transfiere a los alrededores, y los efectos térmicos son registrados por sensores dispuestos de manera apropiada (Hemminger & Hohne, 1984, Huertas *et al.*, 2003).

La calorimetría de inmersión, es una técnica en la que se miden los efectos térmicos resultantes de sumergir un sólido en un solvente generalmente de tipo no-polar con el cual, el sólido no presenta interacciones químicas. Así la calorimetría de inmersión, se usa para conocer, según las condiciones termodinámicas del sistema, el calor resultante de la interacción del sólido y el líquido, y por tanto, la entalpía de inmersión del proceso de contacto que se establece para una cantidad específica del sólido que se estudia (Davis *et al.*, 2001).

Cuando un sólido se sumerge en un líquido con el que no reacciona, se desarrolla una cantidad dada de calor. Este calor de inmersión o calor de mojado se

relaciona con la formación de una capa adsorbida de las moléculas de líquido sobre la superficie del sólido, acompañado con el mojado de la capa adsorbida.

Los calores de inmersión de un sólido específico en diferentes líquidos son usualmente diferentes. Así, estarán relacionadas no solo el área superficial disponible al líquido sino también las interacciones específicas entre la superficie del sólido y el líquido de inmersión. Para sólidos con una química superficial similar, como el caso de los carbones activados, la medida de los calores de inmersión en líquidos con diferentes tamaños moleculares permite la valoración de la distribución del tamaño de los poros (Brasquet *et al.*, 1999).

La entalpía de inmersión ΔH_{imm} se define como el cambio de entalpía a temperatura constante que se da cuando un sólido es sumergido en un líquido en el que no se disuelve ni reacciona. La entalpía de inmersión es proporcional a:

- La magnitud de la superficie sólida. Para un sistema sólido-líquido dado, la entalpía de inmersión se incrementa con el área superficial disponible.
- La naturaleza química del líquido y de la superficie del sólido. Las interacciones específicas entre la superficie del sólido y el líquido incrementan la entalpía de inmersión.
- La textura porosa del sólido. Cuando el líquido tiene un tamaño molecular muy cercano las dimensiones de los poros, la interacción forzada puede aumentar la entalpía de inmersión; además, las moléculas más grandes que algunos poros no podrán acceder determinadas superficies (Silvestre *et al.*, 2001, Angel, 1998).

Se han usado diversos métodos, tanto físicos como químicos, para caracterizar los carbones activados. Uno de ellos es la microcalorimetría de inmersión. Dubinin demostró que en un sólido microporoso, sin superficie externa, la entalpía de inmersión está dada por la siguiente expresión:

$$\Delta H_i(T) = \int_0^{\theta} q^{\text{neto}}(T; \theta) d\theta$$

Donde q^{neto} es el calor de adsorción. Stoeckly y colaboradores establecieron una relación entre la entalpía de diferentes tipos de carbones activados en diversos líquidos orgánicos y los parámetros obtenidos por la adsorción de vapores de los mismos líquidos sobre el mismo sólido. En la ecuación de Stoeckly y Krahenbuehl:

$$-\Delta H_i = \frac{\beta E_0 W_0 \sqrt{\pi(1+\alpha T)}}{2 V_m}$$

Donde β es el coeficiente de afinidad del adsorbato, E_0 , es la energía libre característica de la adsorción del vapor de referencia, W_0 , es el volumen total de microporos del sólido, α es el coeficiente de expansión térmica a temperatura T , y V_m es el volumen molar.

Cuando la ecuación anterior se aplica directamente a carbones que tienen una pequeña superficie externa, la entalpía experimental [ΔH_{exp}] también contiene una contribución debida a la superficie externa [S_{ext}], como lo explican Stoeckly – Bansal en la siguiente relación:

$$\Delta H_{\text{exp}} = \Delta H_i + h_i S_{\text{ext}}$$

Donde h_i , es entalpía de inmersión específica de una superficie abierta no porosa. De la anterior ecuación, el área total puede ser calculada de esta forma (Davis *et al.*, 2001, Duman & Ayranci, 2005):

$$S_{\text{ext}} = A_{\text{total}} - A_{\text{microporo}}$$

Stoeckly y colaboradores utilizan esta técnica para la caracterización de la estructura porosa de una amplia variedad de materiales carbonosos, como fibras

de carbón activado y carbones activados. Estudios relacionados evalúan el área superficial y la distribución de tamaños de microporos de carbones activados tomando como referencia un carbón black no poroso y asumiendo que la entalpía de inmersión por área superficial es proporcional a la superficie disponible al líquido de inmersión (Moreno & Giraldo, 2000, Silvestre *et al.*,2001, Moreno & Giraldo, 2007 ,Angel, 1998, Stoeckly & Centeno, 2005,Moreno *et al.*,1996).

4.6 BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación puede definirse como el uso de organismos vivos, componentes celulares y enzimas libres, con el fin de realizar una mineralización (compuesto blanco + CO₂ + H₂O), una transformación parcial, la humificación de los residuos o de agentes contaminantes, o una alteración del estado redox de los metales (González,2003).

Los factores que gobiernan la biorremediación son complejos y pueden variar enormemente dependiendo de la aplicación. En muchos casos puede llegar a ser difícil distinguir entre los factores bióticos y abióticos que contribuyen con la biorremediación.

La biorremediación es un fenómeno común en la naturaleza cuando, en un ambiente o ecosistema se produce una alteración del equilibrio como es el caso de una gran tala de árboles. Esto origina un aumento considerable de materia orgánica en el suelo.

En este caso los factores físicos y bióticos tratan de reponer el daño. Se produce entonces un aumento de organismos saprófitos los cuales ocasionan una gran mineralización de la materia caída. Además el resto de esa materia puede ser reciclada o humificada. Cabe remarcar que cuanta más diversidad biológica exista en un ecosistema con mayor eficiencia podrá autodepurarse.

4.6.1 Tratamiento de fenoles por biorremediación

En la naturaleza muchos organismos son capaces de metabolizar compuestos aromáticos aeróbicamente. Bacterias del género *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcalígenes*, Bacilos, *Rhodococcus*, entre otras, involucran hidroxilación y fisión del anillo aromático, vía catecol. También por vía anaeróbica hongos, bacilos y bacterias anóxicas desnitrificantes, incluso *Pseudomonas sp.*, han demostrado capacidad de metabolizar estos contaminantes.

Los estudios de degradación de violeta de metilo y fenol en aguas provenientes de una factoría de colorantes, utilizando *Pseudomonas spp.* reportan disminuciones de fenoles desde concentraciones iniciales de 344 mg hasta menos de 1 mg por litro, utilizando *Alcalígenes* y *Pseudomona pútida* biovar B, en condiciones aeróbicas. Jeter (1985) utilizó una mezcla de *Pseudomona aeruginosa*, *Pseudomona fluorescens* y *Pseudomona pútida*, para remoción de fenoles hasta de 1 mg/L en aguas de desecho que contenían 1500 mg/L. También se conocen trabajos con *Acinetobacter redioresistens*, bacteria capaz de utilizar el fenol como única fuente de carbón y energía, después de un periodo de aclimatación de tres (3) días(Yang, 1975).

El crecimiento de esta especie en cultivos aclimatados, evaluado mediante el conteo de células viables, muestra una tendencia consistente con el uso de fenol como sustrato en una eventual fase de latencia y luego una exponencial, mientras que en cultivos no aclimatados se observa un estado inicial de células muertas.

La degradación del fenol procede mediante la acción de la enzima 2,3-oxigenasa hasta llevarlo a catecol, el cual es posteriormente metabolizado. El crecimiento de los microorganismos en tolueno y fenol indujo el desarrollo de la enzima de fisión meta del anillo, la catecol 2,3-dioxigenasa, mientras que el crecimiento sobre benzoato indujo la síntesis de la catecol 1,2-dioxigenasa para facilitar la apertura del anillo por la posición orto.

En general, la degradación aeróbica de hidrocarburos aromáticos y compuestos relacionados involucra a menudo la incorporación de ambos átomos de oxígeno molecular al núcleo aromático, vía un sistema multicomponente enzimático de dioxigenasas.

La vegetación acuática también puede actuar como sumidero de contaminantes orgánicos. En la biodegradación de fenoles se han utilizado *Ochromonas danica*, un alga y *Eichornia*, una angiosperma, mientras que para los fenoles clorados, por ejemplo pentaclorofenol, se ha utilizado *Elodea*, otra angiosperma.

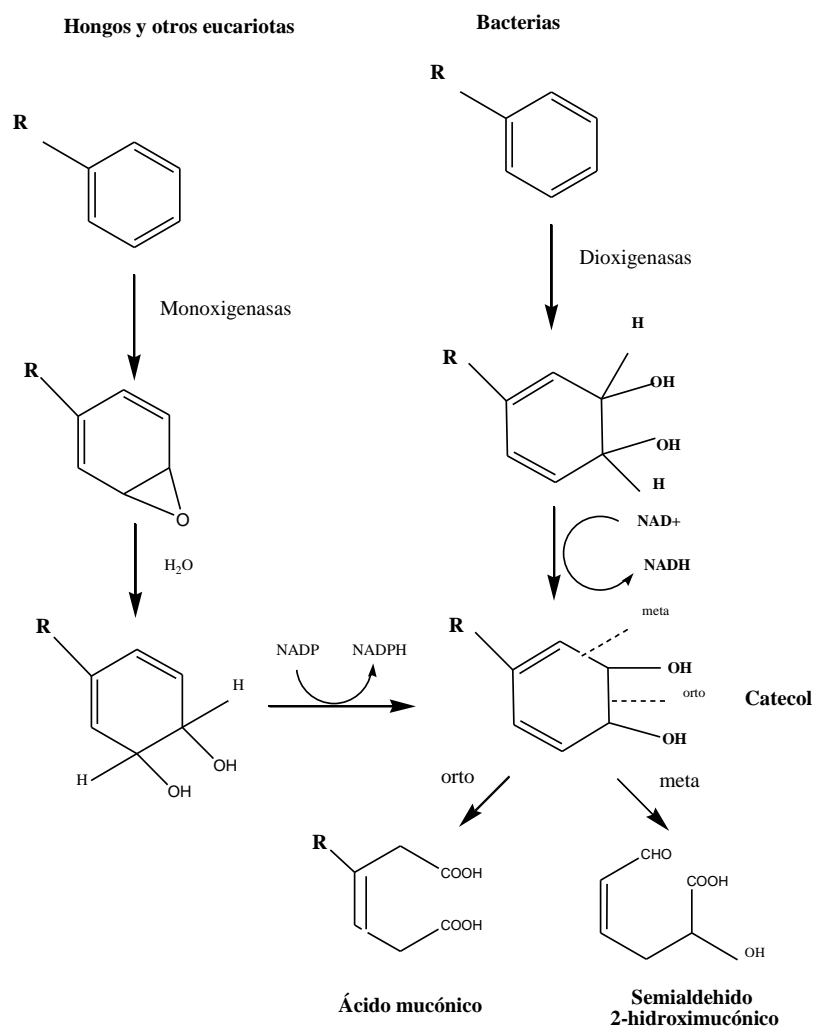
Los microorganismos han involucrado sistemas enzimáticos para la degradación de compuestos aromáticos en la cual el oxígeno es la llave para la hidroxilación y fisión del anillo aromático. La biodegradación de una molécula aromática sigue dos pasos, uno la activación del anillo y dos el rompimiento del anillo (ver figura 5). La activación involucra la incorporación de oxígeno molecular al anillo, esto es, dihidroxilación del núcleo aromático. Este paso es llevado a cabo por enzimas conocidas como oxigenasas.

Las monoxigenasas, característica de hongos y otros eucariotas, catalizan la incorporación de un solo átomo de oxígeno para formar un epóxido que puede hidratarse para dar un transdihidrodiol. Las dioxigenasas, características de bacterias, catalizan la incorporación de dos átomos de oxígeno molecular en un solo paso para formar un dihidrodiol. Los hidrodioles a su vez se oxidan a derivados dihidroxilados, como los catecoles que son los precursores del rompimiento del anillo. El catecol puede ser oxidado ya sea por la vía orto para dar el ácido mucónico o por la vía meta, la cual va dar origen el semialdehído 2-hidroximucónico (Eweis *et al.*, 1998, Riser - Roberts, 1992), el fenol puede ser utilizado como fuente de carbono por la vía catecol por algunas bacterias como *Pseudomona putida*, algunas levaduras y otros organismos.

La cinética inhibitoria de la combinación fenol- *Pseudomonas pútida* – sustrato, se sigue a través del modelo de inhibición de Haldane, usando la concentración de oxígeno disuelto (OD) como parámetro de control.

Los estudios sobre la cinética de la biodegradación de fenol, cuando otro compuesto de estructura química muy diferente se encuentra disponible como fuente alternativa de carbono y energía para *Pseudomonas pútida* aún no aclimatada, han demostrado que puede afectarse la tasa de degradación del compuesto tóxico que se intenta eliminar.

Figura 3. Ruta de Degradación (vía Catecol) de compuestos aromáticos



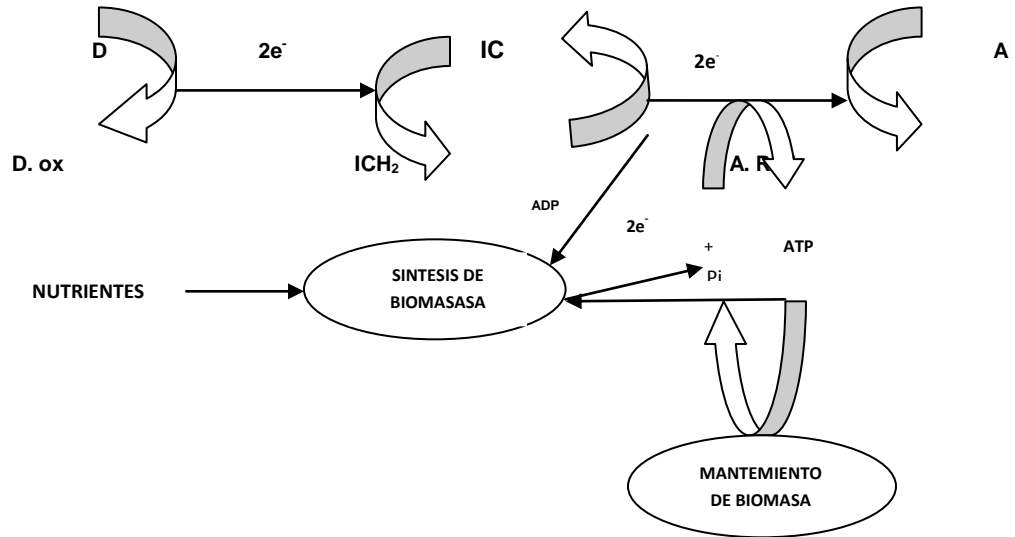
Tomado De Zubiria 2006 y adaptado por Autor

Se ha detectado que la presencia de metales pesados afecta el resultado de la biorremediación anaeróbica de contaminantes orgánicos. En el caso del fenol, el proceso es más sensible con la presencia de mercurio Hg (II), lo cual se evidencia en extensos periodos de aclimatación de la cepa y reducción de la tasa de biodegradación, aunque en algunos casos la adición de bajas concentraciones de metales traza realza la tasa de biodegradación, mediante un efecto sinérgico.

La expresión de muchas actividades bacterianas usualmente es facilitada por un rápido crecimiento, lo cual en el caso de la actividad biodegradativa, implica el suplemento de grandes cantidades de nutrientes y consecuentemente el manejo de volúmenes de biomasa importantes. Se ha logrado desacoplar la expresión de la actividad metabólica deseada de la fase de crecimiento, mediante manipulación de los genes promotores de iniciación durante el estado de lento crecimiento del microorganismo. Se logra así acentuar la expresión deseada con requerimientos nutricionales reducidos hasta en un 90%.

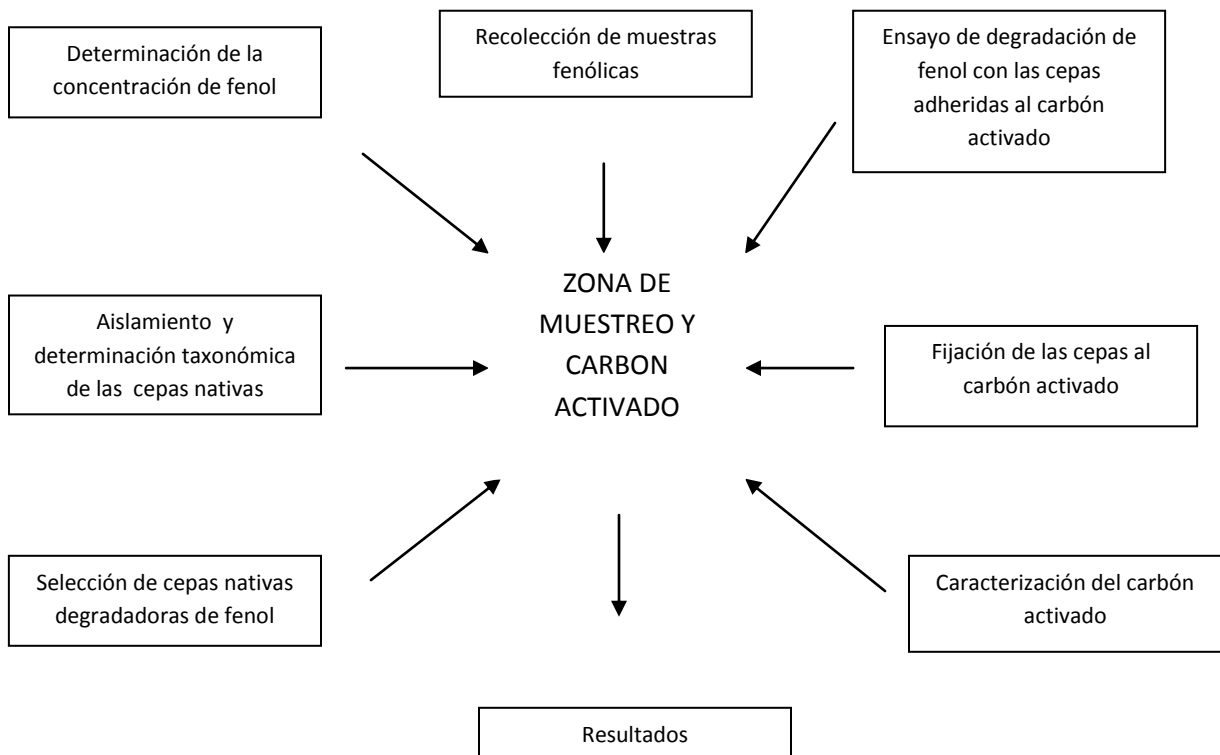
Las reacciones suponen una transferencia de electrones o un cambio en el número de oxidación. Las sustancias varían en cuanto a su tendencia de ceder electrones y oxidarse, o aceptarlos y reducirse. La figura 4 ilustra la oxidación del donante (D), el cual emite electrones que son llevados por un cosustrato interno reducido ICH₂. Algunos de los electrones llevados por ICH se transfieren a un sustrato receptor (A), y esta transferencia genera energía en forma de un compuesto (ATP). El resto de los electrones y parte del ATP se emplean para generar biomasa nueva, mientras que el ATP restante satisface las necesidades de mantenimiento de las células.

Figura 4. Proceso general de obtención de energía mediante oxidoreducción de compuestos.



El autor.

5. METODOLOGÍA

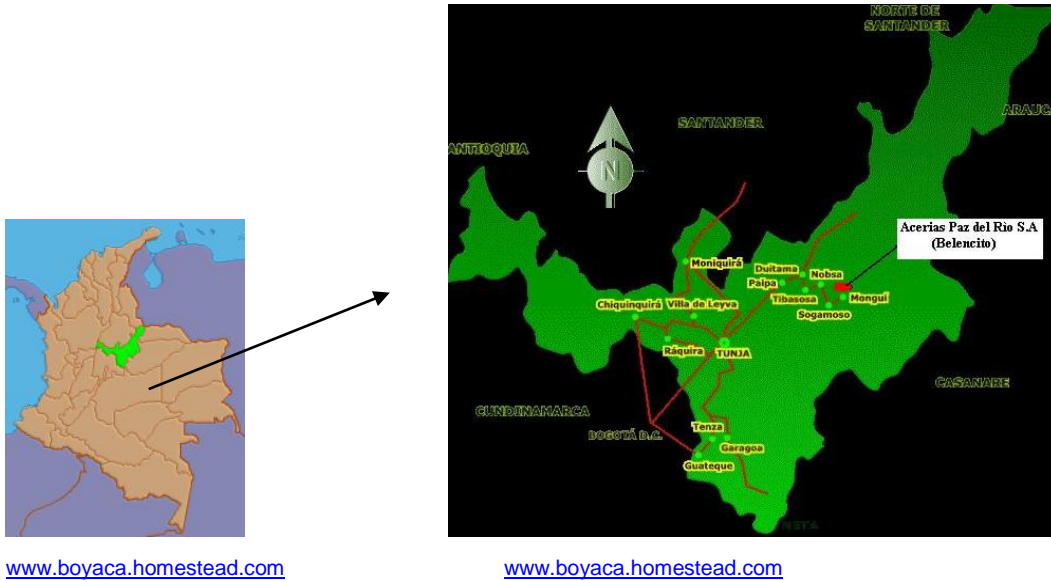


5.1 Ubicación de la zona de estudio

ACERIAS PAZ DEL RÍO S.A. es una empresa metalúrgica que tiene su planta industrial ubicada en Belencito dentro de la jurisdicción de los municipios de Nobsa y Corrales (Boyacá) distante de Bogotá por carretera a 220 kilómetros, como se observa en la figura 6. Su altura es de 2.400 metros sobre el nivel del mar y la temperatura media es de 18°C.

El Gobierno Nacional autorizó la creación de una Siderúrgica en Boyacá mediante la ley 45 del 15 de diciembre de 1947. El 17 de septiembre de 1948 se formó la Sociedad Anónima Empresa Siderúrgica Nacional de Paz del Río. En el mes de octubre de 1954, la empresa cambio su razón social por la de Acerías Paz del Río S.A.

Figura 5. Mapa de la ubicación de la zona de recolección de muestras zona de estudio.



La actividad productiva de la siderúrgica integrada se lleva a cabo mediante los siguientes procesos:

1. Explotación de Materias Primas:

Explotación de minerales y fabricación de materias primas

- Explotación minera: carbón, caliza, mineral de hierro.
- Fabricación Primaria: coque, sinter, arrabio, cal. En este proceso es donde se genera concentraciones elevadas de fenol(Ver Tabla 1)

2. Producción de Acero:

- Fabricación de acero liquido vía convertidores y horno eléctrico.

- Laminación de productos de acero: láminas, chapas, redondos lisos, redondos corrugados, alambrones.

3. Aprovechamiento de Subproductos:

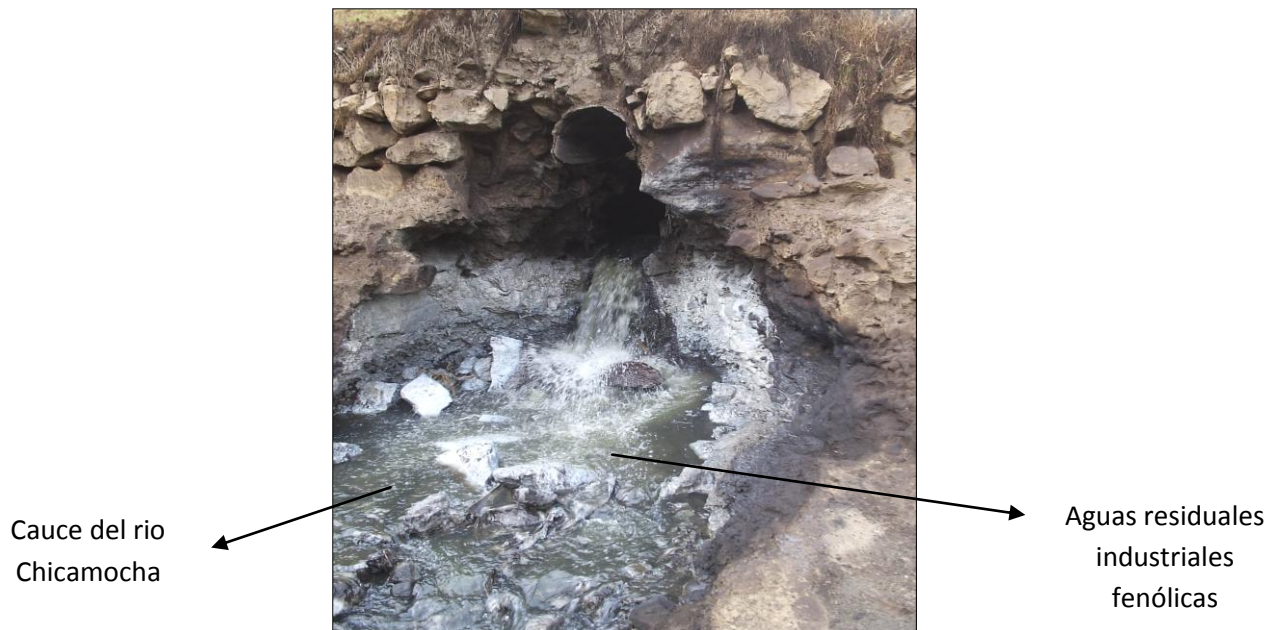
- Producción de Sulfato de Amonio, Naftalina, Brea, Abono, Escoria Granulada.

5.2 Recolección de muestras

Dentro de la empresa Acerías Paz del Río S.A existen 16 vertimientos. 9 puntos corresponden a vertimientos domésticos y 7 a vertimientos industriales los cuales están identificados con los números 1, 6, 10, 13, 14, 15 y 16 de los cuales los vertimientos 14, 15 y 16 son los que evidencian presencia de fenol (Ver Tabla 1). De los tres vertimientos el que presenta mayores concentraciones de fenol el vertimiento 14, en el cual se hizo la recolección de muestras. El vertimiento 14 tiene una longitud aproximadamente de 8 metros y 1 metro de ancho, presenta una emisión de gases (probablemente amoníaco) y sus efluentes son vertidos directamente al Río Chicamocha sin previo tratamiento; al contacto con las aguas del Río Chicamocha se observa una distinción del color del vertimiento el cual es color negro, grasoso. Otra característica del vertimiento es que presenta acumulación de una especie de fango aceitoso producto de material particulado que ha sido arrastrada por los tanques de enfriamiento en el proceso de coquería. Se recolectaron 50 mL de agua residual del vertimiento en frascos ámbar cada hora durante 24 horas. Estas muestras se almacenaron a 4°C. Los 24 frascos se mezclaron entre sí y de esa mezcla se tomó 1 litro, el cual se refrigeró a 4°C para determinar posteriormente la concentración de fenol. En un frasco adicional se hizo un raspado del colector del vertimiento 14 para la recuperación bacteriana. Este raspado se realizó con una espátula. En el sitio de muestreo se tomó la temperatura ambiente y la temperatura del agua residual, así como su pH el cual resultó ser ligeramente básico. La temperatura promedio fue de 38.5 °C.

En la figura 7 se muestra la salida de las aguas residuales que transporta el vertimiento 14 y que van directo al cauce del Rio Chicamocha.

Figura 6. Vertimiento 14 Coquería Vista de la salida del efluente



5.3 Recuperación de microorganismos degradadores de fenol nativos de la empresa Acerías Paz del Río S.A.

De la muestra recogida del raspado se resuspendió 1 ml en 50 mL de medio mineral líquido Bushnell Hass (BH) o Medio Mínimo de Sales (MMS ver Anexo1) con 1 ml de fenol a una concentración de 200mg/L como fuente de carbono. Esta concentración de 200 mg/L se uso partiendo de las mediciones realizadas a partir de la muestra compuesta colectada en el vertimiento 14 y cuyo valor previo desarrollo de la curva de calibración arrojó un valor de 126 mg/L de fenol. Los inóculos se colocaron en agitador orbital a 120 rpm por 3 días a 37°C . Luego se realizaron siembras por duplicado de 0.1 ml en muestra de agua residual fenólica agarizada (obtenida del colector del vertimiento 14, previa esterilización). Después de seis días de incubación a 37°C se observa el crecimiento de colonias sobre el medio de cultivo.

A las colonias obtenidas se les hizo una resiembra por duplicado con estriado de cuatro zonas por agotamiento e incubadas durante 3 días a 37°C. Este procedimiento se hizo con el fin de contar en cada caja de petri con cultivos axénicos para la determinación taxonómica.

5.4 Determinación Microbiana

Para la determinación microbiana se toma de las cajas de petri resembradas y se realiza nuevamente un repase en nuevo agua residual fenólica agarizada y se deja nuevamente 3 días a 37 °C este nuevo crecimiento sirvió para la determinación taxonómica mediante pruebas bioquímicas y Kits comerciales. Para hongos claves taxonómicas convencionales (Domsh, 1980) y para bacterias con pruebas de identificación BBL CRYSTAL Identification Systems (Dickinson and Company). Los métodos y procedimientos usados en la determinación taxonómica de los microorganismos fueron realizadas por el Laboratorio Control Microbiológico (Ver Anexo2)

5.5 Isotermas de Adsorción de Carbones Activados

Las isotermas de adsorción son útiles para determinar el área superficial del sólido y su porosidad para establecer forma y distribución de los poros.

Para obtener una aproximación de la estructura microporosa de un carbón activado se utilizan las isotermas de adsorción de gases. Con nitrógeno a 77 K el diámetro de moléculas es 0,36 nm, estas isotermas cubren todo el rango de presiones relativas ($P/P_0=1$) suministrando el volumen total de los microporos.

Las isotermas a 77 K se realizaron en un sortómetro marca Autosorb 3B Quantachrome Co. Este equipo mide las presiones de equilibrio del sistema adsorbente- adsorbato.

Las muestras de carbón se colocaron en las ampollitas de cuarzo que tienen un bulbo. Las muestras se desgasificarón a 250°C durante 24 horas para eliminar

gases que pudieran adsorber de la atmósfera y que ocupan un volumen en el sólido. Posteriormente se dio inicio al programa en donde el sortómetro arrojó los datos que se usaron para determinar el área superficial y la distribución de los poros mediante los modelo BET y DFT respectivamente.

5.6 Isotermas de Equilibrio

Para realizar las isotermas desde la solución se utilizaron aproximadamente 0.5g de Carbón Activado Granular (CAG) y Carbón Activado Peletizado (CAP), se colocaron en 5 matraces con 100ml de solución de fenol con concentración conocida (50, 100, 300, 500 y 1000 mg/L) a pH de 3.5 ajustado con HCl (0,1M), se sumergen en un baño termostataado a 37°C con agitación continua durante 24 horas por separado para cada uno de los carbones. Se realizaron duplicados. Posteriormente se miden las concentraciones de fenol en cada uno de los matraces en un espectrofotómetro UV-VIS Marca GENESYS a una longitud de onda de 269nm.

5.7 Inmovilización de las cepas sobre el carbón activado.

Los organismos se aislaron de aguas residuales de la Planta de coquización en el vertimiento 14 de la empresa metalúrgica Acerías Paz del Rio S.A. Estas aguas presentaron un pH de 7.2 y una temperatura *in situ* promedio de 37°C. Para el efecto se tomaron volúmenes de 200mL de muestra de agua residual durante 12 horas a intervalos de una hora, se refrigeraron a 4°C y al final del muestreo se mezclaron las muestras recogidas en un recipiente con el propósito de homogenizar; de aquí se tomo un litro de muestra para los análisis y aislamientos.

De la muestra compuesta se tomó una alícuota y se sembró sobre agua residual fenólica agarizada (obtenida del vertimiento 14). Se deja crecer a 37 °C durante 72 horas: luego de este crecimiento se hizo un raspado y se transfirió a un erlenmeyer de 250 mL que contenía 50mL de MMS (Medio Mínimo de Sales ver anexo 1) suplementado con 5 mL de fenol concentración 200mg/L se coloco

sobre un agitador orbital a 125 rpm a 37 °C durante 72 horas, luego se tomaron 5 mL y se transfirieron a otro erlenmeyer de 250 mL que contenía 50 mL de MMS y 5 mL de fenol a una concentración de 200mg/L y 50 gramos de Carbón activado granular y en otro erlenmeyer con las mismas características con 50 gramos de carbón activado peletizado, se colocó sobre un agitador orbital 125rpm a 37°C. Para determinar si hubo crecimiento sobre los carbones se hizo observaciones por microscopia de barrido electrónico.

Este sistema se dejó durante 9 días durante los cuales se midió la concentración de fenol en solución para determinar la eficiencia del sistema empleado y poder compararlos con los sistemas por separado(carbones y microorganismos).

Los MMS fueron previamente esterilizados a 120°C durante 15 minutos y a 15 psi.

5.8 Microscopia de barrido electrónico

A los carbones activados se les realizó una prueba Microscopia de Barrido Electrónico, para observar los carbones activados solos y luego para verificar la adhesión de microorganismos. Dicha observación se hizo con un Microscopio de Barrido FEI QUANTA 200 con aceleraciones de entre 500 V hasta 30 kV y la magnificación hasta 300.000 aumentos, aunque la magnificación para las muestras se obtuvo en 6000 aumentos como rango máximo.

Figura 7. Fotografía del Microscopio barrido electrónico Universidad Nacional de Colombia

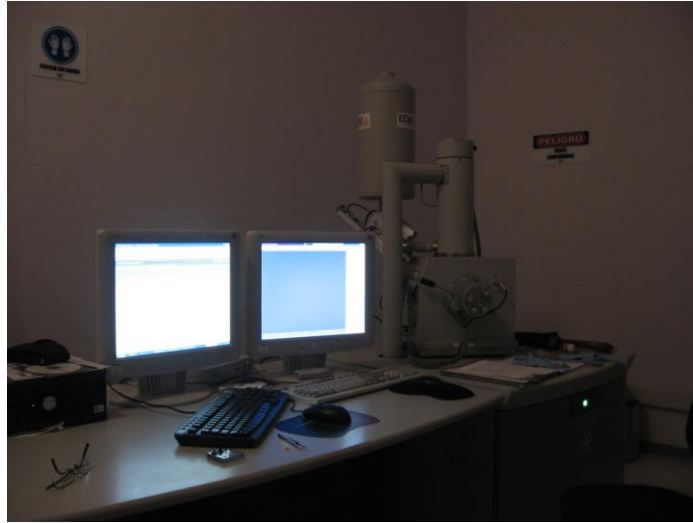


Figura 8. Equipo de Espectrofotometría UV VIS GENESYS



Figura 9. Microcentrífuga con refrigeración Universal- UPTC



5.9 Ensayos de Biodegradación de Fenol

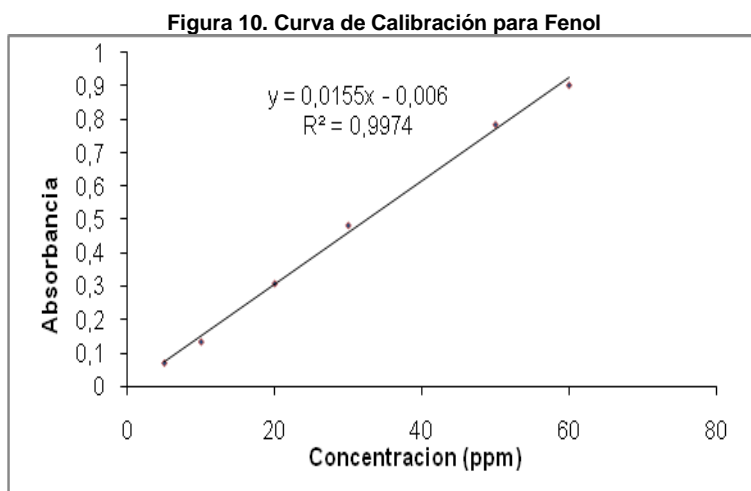
En 5 erlenmeyer que contenía cada uno 50 ml de MMS se toman 2 mL crecimiento microbiano y suplementadas con fenol a concentraciones de 50, 100, 300, 500 y

1000 mg/L de fenol se dejan en agitación a 125 rpm y 37° C durante 17 días. De cada erlenmeyer se tomó una alícuota de 10ml y se centrifugó a 8000 rpm/20minutos (Figura 10) con el fin de separar la biomasa de la solución con fenol. Se leyó en un espectrofotómetro THERMO GENESYS 10UV (Figura 9) a una longitud de onda de 269nm a intervalos de tiempos 0, 6, 10, 13 y 17 días

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Curva de Calibración

Para la realización de la curva de calibración se prepararon soluciones de 5, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 mg/L de fenol y se procedió a realizar las mediciones en el Espectrofotómetro UV 10 a una longitud de onda de 269nm, los valores obtenidos se graficaron y se muestran en la figura 1. Allí se observa un comportamiento lineal y una correlación de los datos buena ($R^2 = 0,9974$). A partir de esta curva se determinó la concentración de fenol presente en la muestra recolectada. El valor obtenido fue de 126 mg/L, un valor muy superior al reportado por la empresa que fue de 53,63mg/L. Aunque estos valores resultan muy diferentes es necesario aclarar que las concentraciones reportadas y las medidas pueden variar debido a que la fecha de la toma de muestras es diferente para los dos casos. Un segundo aspecto a tener en cuenta radica en la época que se muestreo la cual pudo estar influenciada por la lluvia para el caso de la investigación la época fue seca. Finalmente un tercer aspecto en ten en cuenta es la demanda de producción que hubiese podido tener la empresa.

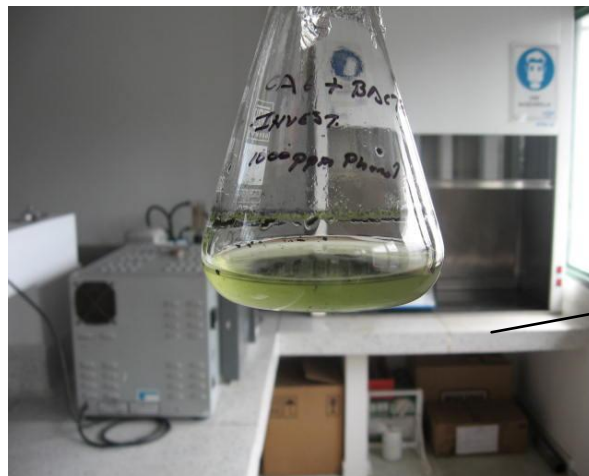


6.2 Aislamiento y Caracterización de Microorganismos

En la siembra sobre los medios de cultivo (Agar Fenolizado) se logro hacer la recuperación de dos microorganismos a partir de las muestras recolectadas. Estas dos cepas se preservaron hasta su utilización sobre los carbones activados y su utilización en la determinación taxonómica.

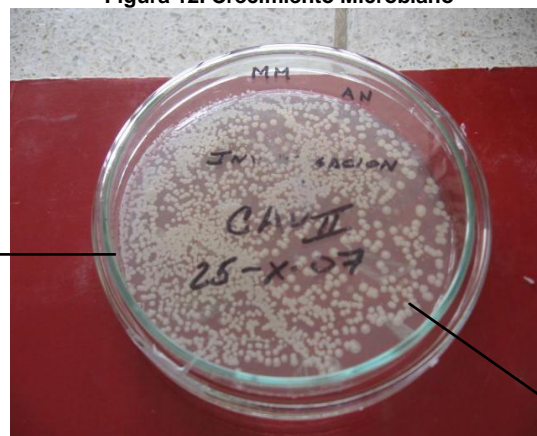
El crecimiento tanto en medio líquido como en medio solido se puede observar en las figuras 12 y 13 respectivamente.

Figura11. Coloración del medio por Crecimiento Microbiano



Viraje del medio de cultivo, lo cual evidencia crecimiento

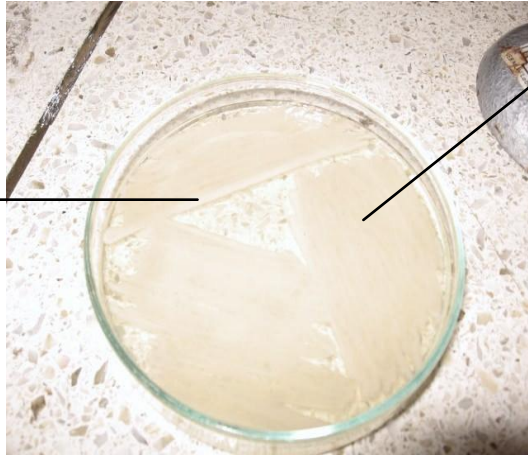
Figura 12. Crecimiento Microbiano



Siembra Masiva

Recuperación de colonias en agar nutritivo

Siembra por
agotamiento



Para los crecimientos en los dos medios se hizo una descripción macroscópica en la cual, para medio solido se observó crecimiento con poca elevación, color beige, bordes irregulares, y aspecto cremoso, mientras que para hongos se observó una elevación de la colonia, aspecto esponjoso y color grisáceo.

La identificación microscópica dio como resultado una bacteria del género *Klebsiella sp* y un hongo del género *Penicillium sp*. (Ver Anexo2).

6.3 Inmovilización Microbiana sobre carbones activados granular y peletizado

Durante la inmovilización de *Klebsiella sp*. y *Penicillium sp* se observó la producción de una capa mucosa que cubría la superficie de los carbones activados. Se sabe que las bacterias del genero *Klebsiella* tienen la capacidad de producir exopolisacaridos (EPS), los cuales se observan en la figura 14. Esta capa que cubre las células bacterianas facilita la inmovilización mediada por puentes de hidrogeno e interacciones electrostáticas que se suceden entre el medio el microorganismo y la matriz de soporte brindando protección y estabilidad y favoreciendo el desarrollo de un ambiente natural(Brisee, *et al* ., 2006) para el microorganismo, protegiéndolo de cambios que puedan sucederse en el ambiente; manteniendo el transporte de nutrientes y oxígeno (Sutherland, 2001), mediante la

diferencia de diferentes gradientes de oxígeno y pH dentro de los biofilms; además favorece la mineralización de fenol adsorbido.

Aunque, las especies del género *Penicillium sp.* se han reportado como degradadoras de fenol, no se conocen trabajos sobre inmovilización de este tipo de hongos sobre ninguna clase de carbón activado. Para el caso particular no se obtuvo la adhesión de hongos sobre la superficie de ninguno de los carbones activados aunque en los medios de cultivo se observa crecimiento por la tonalidad verde que es característica de crecimiento en líquido de *Penicillium sp.* Esta no adhesión puede ser explicarse por la velocidad de colonización de los microorganismos aislados; las bacterias poseen una tasa metabólica más rápida comparada con los hongos, la cual es una ventaja en el momento de colonizar nichos. Esto es consecuente ya que en primera instancia las bacterias colonizan la superficie de los carbones e inmediatamente generan una capa de exopolisacaridos que le garantiza no ser colonizadas por otras bacterias. Los mecanismos de colonización de *Penicillium sp.* no resultan tan efectivos para la colonización de un nuevo nicho con la mayor disponibilidad de fuente de carbono(Fenol) que es brindada por los procesos de adsorción realizados por los carbones activados.

Figura 13. Micrografía del carbón activado granular antes de la adhesión de microorganismos

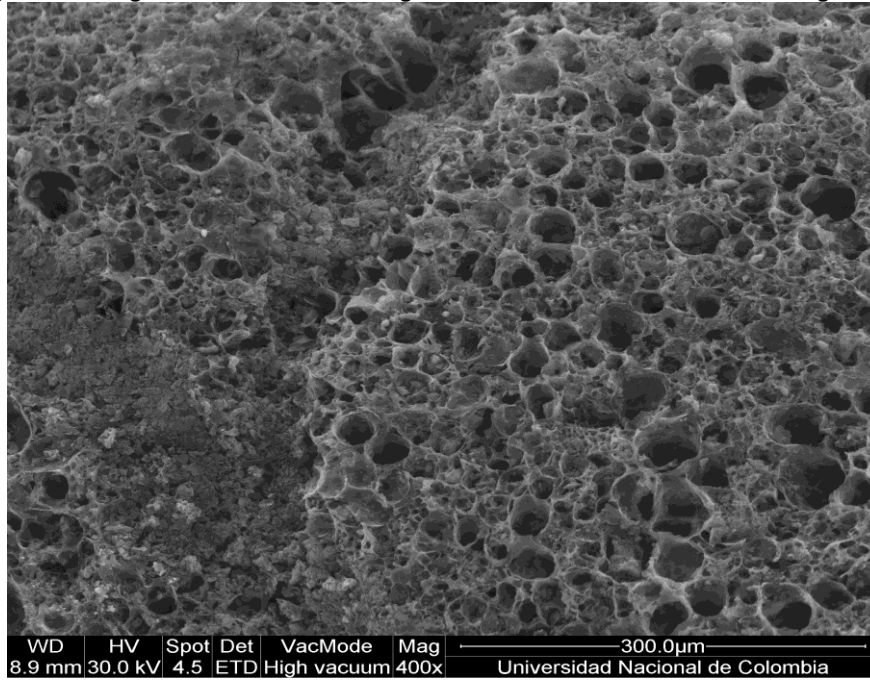


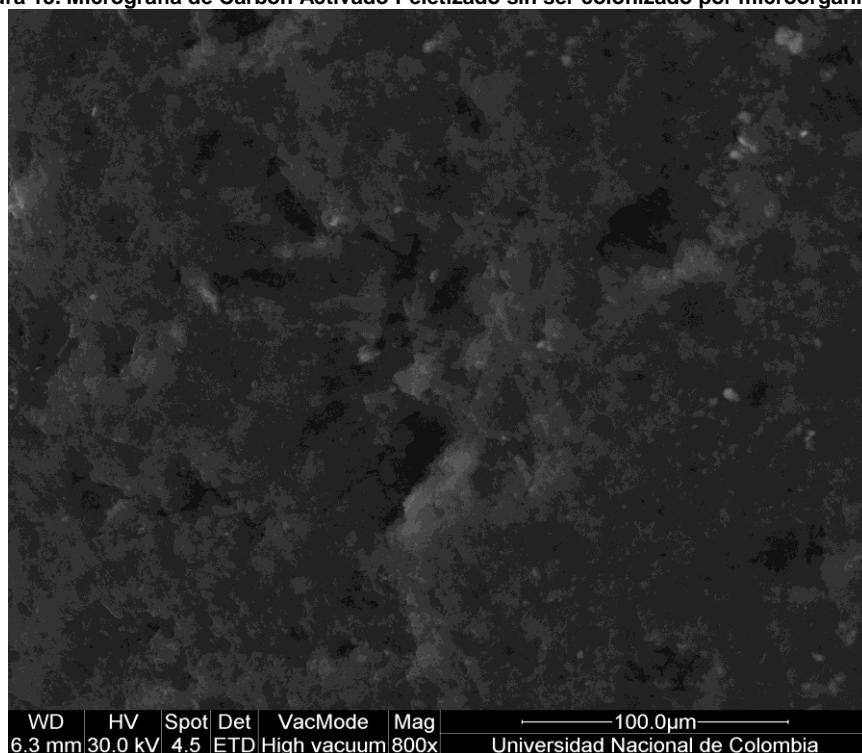
Figura 14. Adhesión de colonias sobre carbón activado granular (CAG)



Formación de Colonias sobre el carbón activado granular CAG

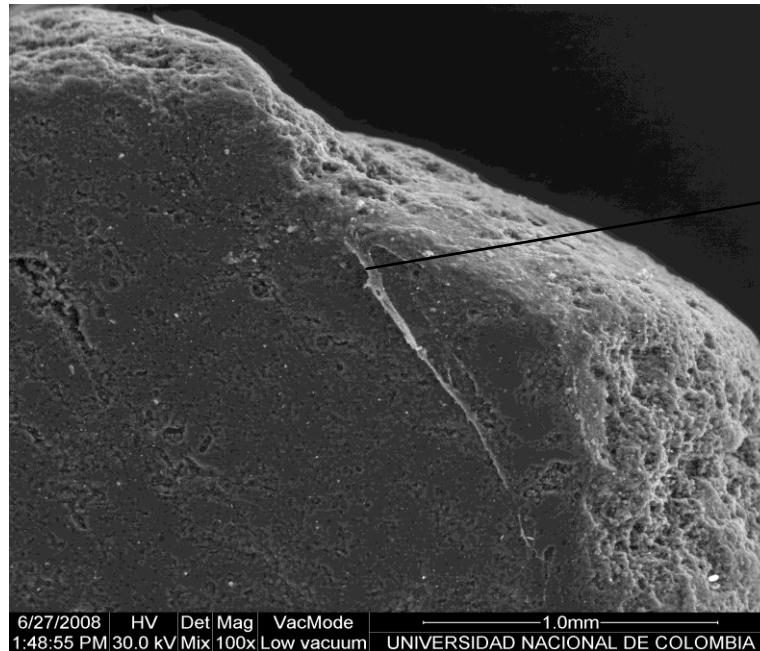
Capa de exopolisacáridos protegiendo las colonias formadas

Figura 15. Micrografía de Carbón Activado Peletizado sin ser colonizado por microorganismos



Por otro lado en la figura 15 se observa un carbón activado Peletizado antes de ser colonizado por microorganismos y en la figura 16 se observan los carbones activados Peletizado(CAP) con una menor adhesión. La formación del biofilm está regulada por la capacidad que tienen los microorganismos de modificar la superficie blanco el cual está mediada por múltiples interacciones electrostáticas. Entre otras con la posterior producción de exopolisacaridos que interactúan superficie- microorganismo. Para el caso del CAP, la adhesión de microorganismos es aparentemente menor y esto puede explicarse por la morfología de los carbones, ya que el carbón Peletizado se presenta como un cilindro definido, mientras que el granular se presenta como una forma irregular. Esto es importante debido a que las interacciones de los mecanismos de adhesión sobre las diferentes superficies se comportan de manera distinta. Por otra parte la naturaleza del precursor y el tipo de activación pueden influir debido a los diferentes grupos funcionales que se pueden generar en cada proceso de activación, y que en definitiva son los que en primera instancia están mediando las interacciones microorganismo- superficie(Comte *et al.*,2006, Stoodley *et al.*, 2002)

Figura 16. Carbon activado peletizado con aparente poco formacion de colonias



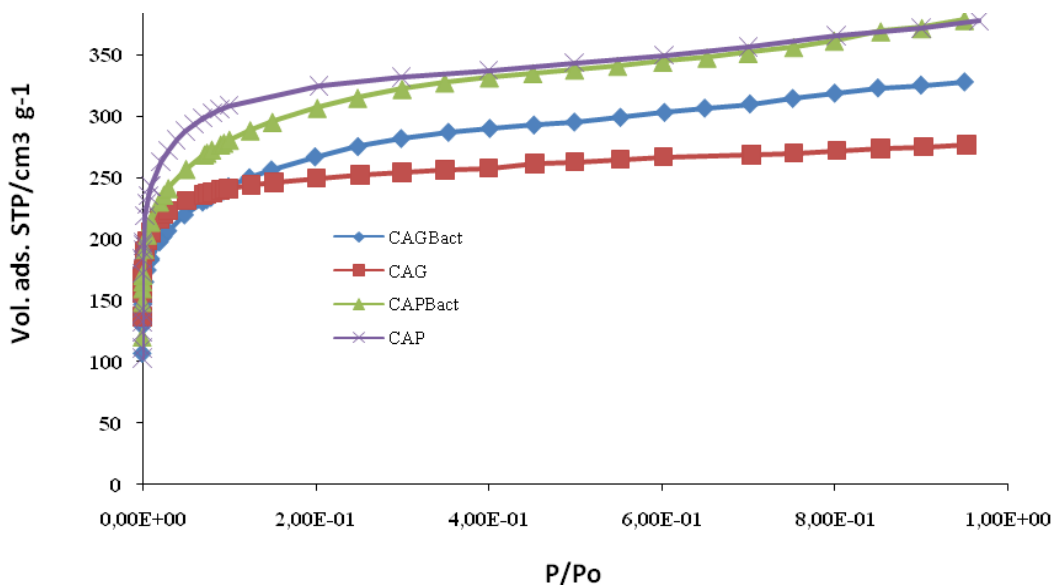
Formación de
exopolisacáridos

6.4 Caracterización textural de los carbones

En la figura 17 se presentan las isotermas de adsorción de N_2 77 K, de los carbones activados de partida, así como de los carbones modificados con la asociación de los microorganismos. Esta caracterización se realizó con el objeto de evaluar la posible modificación textural de los carbones activados durante el crecimiento y adaptación de las especies microbianas. Se observa, que los carbones activados CAG y CAP, presentan isotermas tipo I según la clasificación de la IUPAC, en donde se evidencia una adsorción de nitrógeno alta a presiones relativas bajas. Los datos de nitrógeno adsorbido para estas muestras demuestran su alta capacidad de adsorción, encontrándose valores de $350 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ y $250 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$ para los carbones CAP y CAG respectivamente. Ahora bien, pese a que los carbones activados de partida presentan isotermas tipo I, para el carbón activado Peletizado se observa una pendiente a altas presiones relativas, lo que indica una distribución de tamaño de poro más heterogénea. De la misma manera, se observa claramente que el crecimiento microbiano modifica las propiedades texturales de los carbones de partida. Así, teniendo en cuenta la forma de la isoterma, la muestra CAG-Bact presenta valores similares de nitrógeno adsorbido

a presiones relativas bajas, y se evidencia una pendiente en la adsorción a presiones relativas mayores, como se observa en la figura 17. Para la muestra CAP-Bact, se observa una disminución en la cantidad de nitrógeno adsorbido a bajas presiones relativas, hay un cambio en la pendiente a presiones relativas superiores, pero la cantidad de nitrógeno adsorbido en condiciones de saturación es el mismo. Estas consideraciones permiten afirmar que el crecimiento microbiano tiene una repercusión en las propiedades texturales de los carbones de partida.

Figura 17. Isothermas de Adsorción en Nitrógeno a 77K para carbones solos y asociados a microorganismos.



En la tabla 4 se presentan los resultados de la caracterización textural desarrollada a partir de las isoterma de N₂ 77 K, en los que se confirma la modificación superficial en los carbones CAG y CAP. En la tabla se observa una disminución en el área superficial aparente en ambos carbones, que puede ser debida al taponamiento de los poros de mayor tamaño en la matriz carbonosa, por la presencia de los microorganismos. Por otro lado, los valores de entalpía de inmersión en benceno para los cuatro materiales estudiados, y sin desgasificación previa de la muestra, muestran que la asociación microbiana con los carbones

activados disminuye las interacciones entre la molécula apolar del benceno (Giraldo & Moreno 2007, Rodríguez *et al.*, 2009) y la matriz carbonosa, haciendo que el calor resultante del mojado de los sólidos (Moreno *et al.*, 1998, Moreno & Giraldo 2000) por el líquido disminuyan de 88.42 J g^{-1} a 83.28 J g^{-1} para el carbón activado pelletizado CAP, y de 95.89 J g^{-1} a 67.44 J g^{-1} para el carbón activado granular CAG.

Tabla 4. Características Texturales de los Carbones

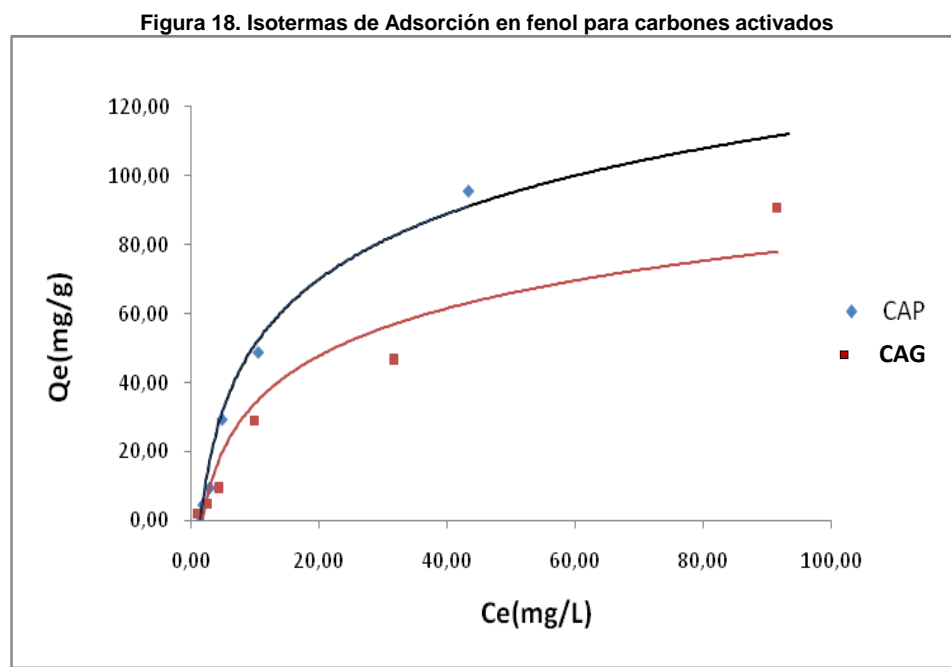
Muestra	Entalpia	BET m^2/g	Volumen Microporo cm^3/g	Volumen Mesoporo cm^3/g	Volumen total de Poro cm^3/g
CAP	-88.42	1440	0,500	0,088	0,588
CAPM	-83.28	1327	0,434	0,153	0,587
CAG	-95.89	1151	0,380	0,051	0,432
CAGM	-67.44	1144	0,379	0,129	0,508

Por otro lado se presentan los valores del volumen de microporo calculados por medio de la ecuación de Dubinin Radushkevich y el volumen total de poro calculados a partir del nitrógeno adsorbido a presión relativa de 0.99. Se observa que para el CAP, hay una disminución apreciable en el volumen de microporo pero no en el volumen total de poro, lo que significa que por medio de los sistemas de anclaje, los microorganismos se localizan dentro de los poros más pequeños, y modifican sus paredes haciendo que los poros sean más grandes. Ahora bien, cuando se estudia el carbón activado granular CAG, de origen mineral, se observa un aumento en el volumen total de poro de 0.432 a $0.508 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$, no se observa variación en el volumen del microporo, y se ve un aumento en el volumen de mesoporo, lo que se puede explicar por los sistemas de anclaje (EPS) que interactúan con la superficie del carbón de manera favorable en esta región de la porosidad del material.

Una característica que se desprende del comportamiento de las isotermas y de los datos presentados en la tabla 4, radica en que los microorganismos aumentan el volumen de mesoporo en los dos materiales. Sin embargo no es clara la razón que justifique el hecho que los microporos en el carbón granular permanezcan iguales

mientras que en el carbón peletizado disminuyan notoriamente. Una explicación a este comportamiento se basa en la naturaleza y origen de los carbones, lignocelulosico (CAP) y mineral (CAG), en los procesos de activación a los que pudieron haber sido sometidos estos precursores, y en la forma de presentación en la que fueron utilizados.

6.5 Adsorción de Fenol



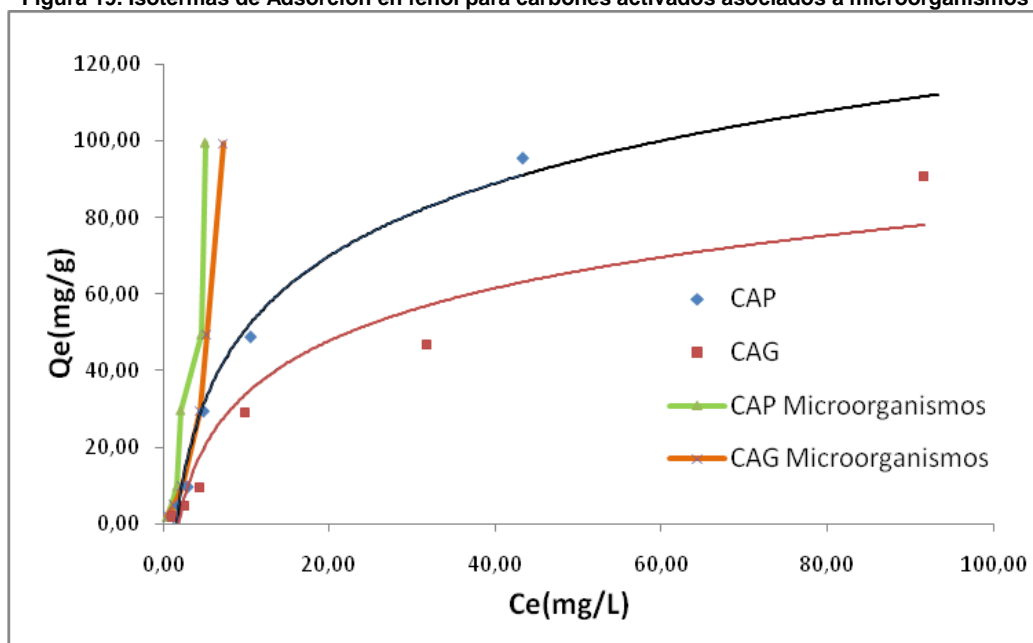
La figura 18 representa la isoterma de adsorción de fenol en solución en la que se observa que los carbones activados usados, tanto granular como Peletizado, se ajustan al modelo de isoterma Tipo F o Freundlich. Este modelo asume, la cual asume que existe heterogeneidad energética en todos los sitios de adsorción presentes en la superficie de los carbones usados y no se hace asintótica a concentraciones elevadas como ocurre con el modelo de Langmuir.

La figura 19 representa la interacción isotérmica del fenol en solución en la que se observa, además de la adsorción del fenol en los carbones activados descritos en la figura 18, el comportamiento de los carbones asociados a microorganismos. En

estas muestras se observa que la adsorción se comporta de manera similar cuando se encuentra a concentraciones bajas del soluto y es lineal mas no proporcional a la cantidad de adsorbato que se encuentre en solución.

En otras palabras lo que se quiere decir es que los microorganismos aportan al sistema la capacidad de no dejar saturar la capacidad de adsorción del fenol y a cambio los microorganismos se ven beneficiados porque toman su fuente de carbón del proceso de adsorción del carbón activado.

Figura 19. Isotermas de Adsorción en fenol para carbones activados asociados a microorganismos



En la tabla 5 se presentan las constantes calculadas a partir de los modelos de Langmuir y Freundlich. Estos valores proporcionan información acerca del comportamiento de la superficie de los carbones activados. El modelo de Langmuir aplicado al carbón Peletizado y granular indica que este tipo de material carbonoso no posee superficies homogéneas, ya que la constante b presenta valores bajos. De ello se infiere la no afinidad del adsorbente por las moléculas del soluto. De manera similar, se observa que cuando se asocian microorganismos, los materiales porosos presentan una leve tendencia a modificar las superficie de

los carbones, los cuales tienden a comportarse de manera más homogénea en comparación con los de origen.

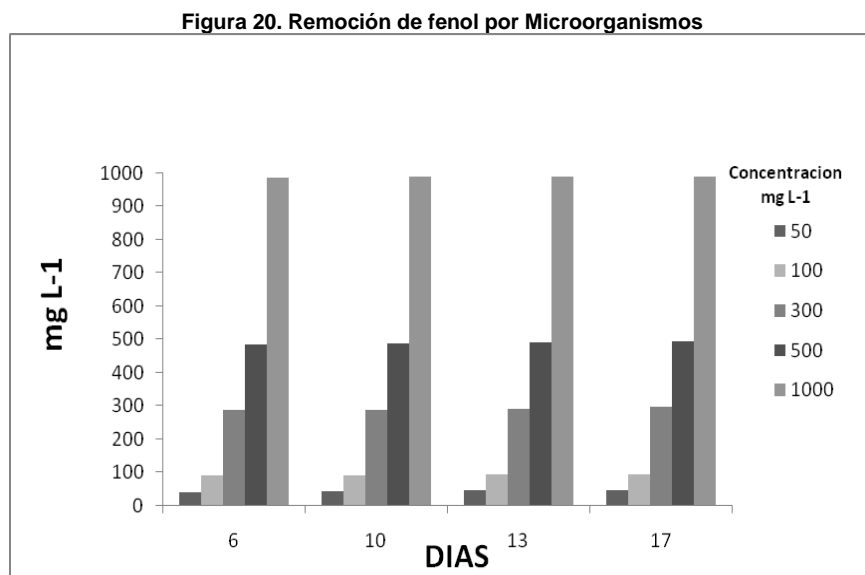
Tabla 5. Modelos Langmuir y Freundlich en solución de fenol para carbones activados y asociados a microorganismos

MODELO	LANGMUIR			FREUNDLICH		
Variables	Qmax	b	R²	Kf	n	R²
Carbón activado Peletizado	243.90	0.01	0.35	2.69	0.93	0.89
Carbón Activado peletizado asociado a microorganismos	34.84	0.15	0.68	3.30	0.63	0.98
Carbón Activado Granular	153.85	0.02	0.88	2.32	1.15	0.96
Carbón Activado Granular asociado a microorganismos	32.15	0.11	0.98	2.93	0.59	0.98

El modelo de Freundlich suministra información del sistema mediante sus constantes Kf y n. La primera se refiere a la capacidad adsorptiva de las muestras carbonosas; a mayores valores de esta constante mayor es la afinidad del adsorbente con el adsorbato. Para los cuatro sistemas evaluados se obtuvieron valores por encima de la unidad. El segundo parámetro (n) indica la intensidad de la adsorción. Aquí se presentan valores cercanos a la unidad, lo que señala una heterogeneidad en la superficie de los carbones solos, mientras que cuando se asocian a microorganismos se observa una tendencia a tener más heterogeneidad energética de los sitios donde sucede la adsorción. Esto es congruente ya que los microorganismos se aislaron de aguas residuales fenólicas y su metabolismo está adaptado a degradar fenol, lo que generara una doble afinidad por moléculas de fenol, en primera instancia, a las asociadas a los carbones activados y por otra parte la mediada por los microorganismos.

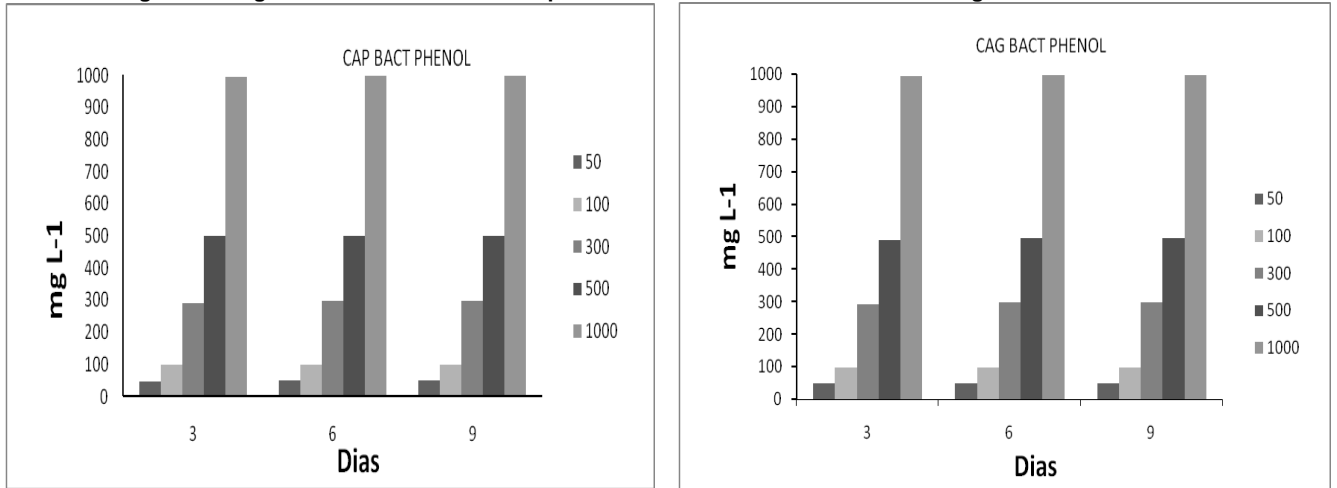
6.6 Adsorción de Fenol mediante Carbón Activado con microorganismos adheridos a su superficie.

En la figura 20 se observa el comportamiento en la degradación de fenol mediada por *Klebsiella sp* y *Penicillium sp*. la cual se realiza en seis días con un porcentaje de remoción de casi el 100% en las diferentes concentraciones usadas (50 100, 300, 500 y 1000 mg/L) y se comporta de igual manera hasta el día 17. Por otra parte se observa que el comportamiento en concentraciones elevadas (1000mg/L) es similar en proporción a concentraciones menores (50, 100mg/L), lo que indica que estos microorganismos soportan elevadas cargas de fenol. Esto es consecuente con lo reportado por diferentes autores(Leitao *et al.*, 2007, Khleifat *et al.*, 2007)



En la figura 21 se observa el comportamiento de fenol en los sistemas de carbón activado asociados con microorganismos, en los que se obtiene una reducción de casi 100% sobre las concentraciones de fenol evaluada y que corresponde a una concentración inicial de 1000 mg/L.

Figura 21. Degradación de Fenol mediada por los sistemas carbón activado microorganismos



7. CONCLUSIONES

- Este estudio demostró que existen microorganismos que se han adaptado para tolerar concentraciones elevadas de fenol y que pueden colonizar superficies (Carbones activados), los cuales les brindan soporte para formar biofilms.
- Se evidenció la capacidad de los microorganismos de colonizar aparentemente mejor superficies rugosas (Carbon Activado Granular) frente a superficies planas (Carcbones activados Peletizados). La colonización modifica la textura de los carbones, principalmente de los granulares, los valores de mesoporo y volumen total de poro. Estos aumentan de 0,051 a 0,129 y 0,432 a 0,508 cm³/g para CAG y CAP respectivamente. Esta modificación se ve reflejada en una mejor remoción de fenol en los sistemas compuestos que cuando se utilizan por separado carbones y microorganismos.
- Aunque el modelo que mejor se ajusta para entender la superficie de los carbones solos y asociados a microorganismos es el de Freundlich, se observa que para carbones granulares con microorganismos los datos muestran una tendencia a comportarse según el modelo de Langmuir.
- La remoción de fenol, tanto en carbones como con microorganismos, presentan un comportamiento bueno a lo hora de ser utilizado en sistema de tratamiento de aguas con un tiempo de remoción aproximadamente de 24 horas y 120 horas. Sin embargo, aunque los carbones activados presentan buena remoción, su saturación es muy rápida. Por otro lado, los microorganismos presentan buena remoción pero su tiempo es alto. Los

carbones activados asociados a microorganismos tuvieron una remoción buena durante a las primeras 72 horas y este comportamiento se mantuvo a lo largo del tiempo.

- Aunque *Penicilium sp.* y *Klebsiella sp* se encuentran reportados como degradadores de fenol, son muy pocos los estudios sobre su papel colonizador de superficie carbonosas para el tratamiento de efluentes fenólicos, en especial para los hongos.
- Se evidencio la capacidad de la bacteria *Klebsiella sp.* para colonizar más rápido la superficie carbonosa, protegiéndose mediante la segregación de exopolisacaridos y de esta manera evitando la competición por un nicho dentro la superficie con el hongo, ya que la diferencia en tasas metabólicas es un factor decisivo entre bacterias y hongos para colonizar en el caso particular los carbones activados.
- Se concluye además que las características del precursor de los carbones, la presentación y su activación inciden aparentemente de manera menos favorable en la adhesión de los microorganismos sobre los carbones peletizados, como se evidencia en las micrografías, en comparación con los carbones granulares.

8. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la utilización de carbones que posean la misma activación, ya que con ello se puede entender si existe influencia directa sobre el proceso de colonización por parte de los microorganismos y la incidencia sobre la superficie textural del tipo de carbón usado.
- Se sugiere utilizar agua residual directa y constante del punto de vertimiento con el fin de observar el comportamiento de los carbones y los microorganismos frente a otros contaminantes como los reportados en la tabla 1 y por otra parte para determinar si existe además de *Klebsiella sp.* y *Penicillium sp.* otros microorganismos asociados a los materiales carbonosos.
- Sería importante la implementación de un Quimiostato con el fin mantener una concentración constante de fenol y con ello garantizar que el sistema siempre contenga la concentración inicial.
- Parece necesario observar en el sistema si se evidencia la formación de floc resultado del proceso de biodegradación de fenol y si es posible caracterizarlo químicamente.
- Es recomendable realizar una caracterización molecular de los organismos degradadores de fenol que puedan estar presentes en estos sistemas y que no son posibles de cultivar.

ANEXOS1

Medio Mínimo de Sales (MMS)

SAL	Concentración g/L
KH_2PO_4	0,5
NH_4Cl	1, Negativo
Na_2SO_4	2, Negativo
KNO_3	2, Negativo
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.001
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1, Negativo
FeSO_4	0.0004
Fenol	200ppm

Fuente. Chitiva, & Dussan, 2003

ANEXO2.

9. BIBLIOGRAFÍA

ABDEL-NASSER A. HENDAWY EI. SAMRA S.E. GIRGIS B.S. 2001. Adsorption characteristics of activated carbons obtained from corncobs. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **180**: 209-221.

ABD-EL-HALEEM D. BESHAY U. ABDELHAMID A. MOAWAD H. KAKI S. 2003. Effects of mixed nitrogen sources on biodegradation of phenol by immobilized *K Acinetobacter* sp. Strain W17. *African J. Biotechnology*. **2**:8-12.

ACERIAS PAZ DEL RÍO S.A. 2002. Proceso Siderúrgico Planta de Belencito

AMSDEN B. BOCHANYSZ J. DAUGULIS A. 2003. Degradation of xenobiotics in a portioning bioreactor in wich the portioning phase is a polymer. *Biotechnol. Bioengineering*. **84**:399-405.

ANGEL MENÉNDEZ J.1998. On the use of Calorimetric Techniques for the Characterization of Carbons. A Brief Review. *Termochimica Acta*. **312**:79.

ANNADURAIA Gurusamy. JUANGB Ruey-Shin. LEEA Duu-Jong.2002. Microbiological degradation of phenol using mixed liquors of *Pseudomonas putida* and activated sludge. *Waste Management* **22**:703–710

BAUTISTA Gina. PEREZ Claudia. RAMÍREZ Yaneth. SARMIENTO Edward. 2005. Actualización y puesta en marcha del modelo de simulación de calidad hídrica de la Cuenca alta y media del Río Chicamocha en jurisdicción de la Corporación Autónoma Regional de Boyacá. Trabajo de Grado. Universidad de Boyacá. Tunja.

BERCIC G. PINTAR A. LEVEC J. 1996. Desorption of phenol from activated carbon by hot water regeneration desorption isotherms. *Ind. Eng. Chem. Res.* **35**: 4619–4625.

BLANCO-MARTÍNEZ D.A. GIRALDO L. MORENO-PIRAJÁN J.C.2009. Effect of the pH in the adsorption and in the immersion enthalpy of monohydroxylated phenols from aqueous solutions on activated carbons. *Journal of Hazardous Materials.***169**:291-296

BRASQUET C. SUBRENAT E. LE CLOIREC P.1999. Removal of phenolic compounds from aqueous solutions by Activated Carbon Cloths. *Wat. Sci. Tech.***39**:201

BRISSE S. GRIMONT F. GRIMONT P. (2006). The Genus *Klebsiella*. *Prokaryotes*, **6**:159-96.

CHITIVA L. DUSSAN J. 2003. Evaluación de matrices para la inmovilización de *Pseudomonas* pp. En biorremediación de fenol. *REV. Col. Biotecnol.***5**:5-10.

COMTE Sophie. GUIBAUD Gilles. BAUDU Michel. 2006. Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) resulting from activated sludge according to their type: Soluble or bound. *Process Biochemistry.***41**: 815-823.

COONEY D.O.1998. Adsorption design for wastewater treatment. Lewis Publishers. Washington DC. USA. En *En Sólidos porosos preparación, caracterización y aplicaciones*. Universidad de los Andes. 2007.

DABROWSKI A. PODKOSCIELNY P. HUBICKI Z. BARCZAK M. 2005. Adsorption of phenolic compounds by activated carbon—a critical review. *Chemosphere.* **58**: 1049-1070.

DANIS T.G. ALBANIS T.A. PETRAKIS D.E. POMONIS P.J. 1998. Removal of chlorinated phenols from aqueous solutions by adsorption on alumina pillared clays and mesoporous alumina aluminum phosphates, *Water Res.* **32**:295–302.

DASH Rajesh Roshan. BALOMAJUMDER Chandrajit. KUMAR Arvind .2009. *Ind. Eng. Chem. Res.***48**:, 3619–3627

DAVIS W.T. KIM G.D. PERRY T.C.2001. Study of the adsorption/removal efficiency of woven and nonwoven activated carbon fabric for MEK. *Separation Science and Technology*, 2001. **36**: 931.

DE ZUBIRIA RAMIREZ Laura. 2006 .Diversidad Molecular de bacterias degradadoras de fenol aisladas de suelos Colombianos contaminados con compuestos aromáticos. Tesis de Maestría. Universidad de los Andes. Bogota Colombia.

DOMSCH KH. GAMS W. ANDERSON. TH. 1980. *Compendium of soil fungi.* London, UK, Academia Press. 895-900.

DUMAN O. AYRANCI E. 2005. Structural and ionization effects on the adsorption behaviours of dome anilinic compounds onto high area Carbon Cloth. *Journal of Hazardous materials B.* **120**: p.173.

EWEIS J.B. ERGAS S.J. CHANG D.P. SCHROEDER E.D. 1998. *Bioremediation Principles.* McGraw-Hill International Editions. Página 296.

FERRARI M. D. 1996. Biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y su aplicación en la biorremediación de suelos y lodos contaminados. *Revista Argentina de Microbiología* **28**:83-98.

GARCIA Martha. SÁNCHEZ Felix. MARIN Rodrigo. GUZMÁN Hector. VERDUGO Nelsy. DOMÍNGUEZ Efrain. VARGAS Omar. PANIZZO Lorenzo. SÁNCHEZ Nancy. GOMEZ Jeremias. CORTES Guillermo. 2000. El medio Ambiente en Colombia. Capitulo 4.

GIRALDO L. MORENO-PIRAJAN J. 2007. Calorimetric determination of activated carbons in aqueous solutions. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 89 (2), 589-594.

GÓMEZ, M. Y GONZÁLEZ, L. 1998. Remoción de fenoles de las aguas de producción en los campos Trinidad y Barquereña. Trabajo dirigido de grado, Universidad Nacional sede Medellín.

GONZALEZ Mauricio.2003. Biorremediacion y tratamiento de efluentes. Consulta on line.

GREGOVA K. PETROV V. MINKOVA A.1993. A comparison of adsorption characteristics of various activated 51-carbons, *J. Chem. Technol. Biot.* **56**:78–82.

GUARÍN, L. Y ROMÁN, L.1997. Estudio cinético de la degradación del fenol por oxidación química con peróxido de hidrógeno catalizada con luz ultravioleta. Trabajo dirigido de grado, Universidad Nacional sede Medellín.

GUPTA V.K. ALI I. SAINI V.K. 2004. Removal of chlorophenols from wastewater using red mud: an aluminum industry waste, *Environ. Sci. Technol.* **38**:4012–4018.

HERNÁNDEZ C.P. 2005. Evaluación preliminar de la oxidación avanzada de compuestos fenólicos. Trabajo Memos de Investigación. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

HUERTAS J. VALENCIA A. MORENO J.C. GIRALDO L. 2003. A Heat Conduction Microcalorimeter for the Determination of the Immersion Heats of Activated Carbon into Phenol Aqueous Solutions. *Instrumentation Science and Technology*. **31**: 385-392

IDEAM. 2002. Estudios hidrogeológicos para las zonas de Alto Magdalena, Valle del Cauca, Macizo Colombiano, Orinoquía, eje cafetero, Boyacá y Valle Medio del Magdalena.

JAIN A.K. GUPTA V.K. SUHAS S.. 2004. Removal of chlorophenols using industrial wastes, *Environ. Sci. Technol.* **38**:1195– 1200.

KHLEIFAT Khaled M. AL-MAJALI Ibrahim. TARAWNEH Khaled.2007. Rate of Biodegradation of Phenol by *Klebsiella oxytoca* in Minimal Medium and Nutrient Broth Conditions. *Bioremediation Journal*.**11**:13–19.

LEITAO A.L. DUARTE M.P. OLIVEIRA J. 2007. Degradation of phenol by a halotolerant strain of *Penicillium chrysogenum*. *International Biodeterioration & Biodegradation*.**59**:220-225

LEYVA RAMOS Roberto. 2007. Importancia y aplicaciones de la adsorción en fase líquida. En *Sólidos porosos preparación, caracterización y aplicaciones*. Universidad de los Andes. Capítulo V. pag.155-211.

MARTÍN MARTINEZ J. 1990. Adsorción física de gases y vapores por carbones. Universidad de Alicante (Publicaciones).

MONTERROZA, A. Y VANEGA Y. 2000. Desfenolización de aguas residuales por vía electroquímica. Trabajo dirigido de grado, Universidad Nacional sede Medellín.

MORENO – CASTILLA Carlos. LOPEZ – RAMON Maria Victoria. 2007. Sólidos Porosos, preparación caracterización y aplicaciones. Universidad de los Andes. Capitulo VI . pag. 213-242.

MORENO-PIRAJAN J. C. GIRALDO L. GÓMEZ A.1998. Applicability of the Stoeckli-Bansal-Donnet equation for the determination of total area of active carbons by microcalorimetry of immersion . *Instrumentation Science & Technology* **1998**, 26 (5), 533.

MORENO J.C. GIRALDO L.2007. Instrumentación calorimétrica aplicada a la determinación de entalpías de inmersión de sólidos porosos., en Sólidos porosos: Preparación caracterización y aplicaciones. Universidad de los Andes: Bogotá, Colombia.

MORENO J.C. GIRALDO L.2000. Determination of the Inmersion Enthalpy of activated carbon by Microcalorimetry of the Heat Conduction. *Instrumentation Science and Technology*.**28**:171.

MORENO J.C. GIRALDO L. GÓMEZ A. 1996. A batch type conduction microcalorimeter for immersion heat determinations: design, calibration and applications. *Thermochimica Acta*, **290**: 1.

NAIR Indu C. JAYACHANDRAN K. SHASHIDHAR Shankar. 2005. Treatment of paper factory e.uent using a phenol degrading *Alcaligenes sp.* under free and immobilized conditions. *Bioresource Technology*.

NAIR Indu C. JAYACHANDRAN K. SHASHIDHAR Shankar. 2008. Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotechnology*.**7**: 4951-4958,

NAMANE A. HELLAL A. 2006. The dynamic adsorption characteristics of phenol by granular activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*. **137**: 618–625.

ORTIZ, G. Y PARRA, A. 2000. Degradación de fenoles mediante fermentación anaerobia en dos etapas. Trabajo dirigido de grado, Universidad Nacional sede Medellín.

PAI Shwu-Ling. HSU Yu-Lan. CHONG Nyuk-Min. SHEU Ching-Sen. CHEN Chei-Hsiang. 1995. Continuous degradation of phenol by *Rhodococcus sp.* immobilized on granular Activated carbon and in calcium alginate. *Bioresource Technology*. **51**. 37-42

PAZARLIOGLU Nurdan Kasikara . TELEFONCU Azmi.2004. Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* immobilized on activated pumice particles. *Process Biochemistry* **40**: 1807–1814

RAMÍREZ, J. Y VILLA, D. 1993. Eliminación de fenoles de aguas residuales por adsorción en carbón activado. Trabajo dirigido de grado. Universidad Nacional sede Medellín.

RICHARD Dominique. NÚÑEZ DELGADO Maria de Lourdes. SCHWEICH Daniel. 2009. Adsorption of complex phenolic compounds on active charcoal: Adsorption capacity and isotherms. *Chemical Engineering Journal* **148** : 1–7.

RISER- ROBERTS Eve. 1992. Bioremediation of petroleum contaminated sites. CRC Press. Unites States of America. **ISBN0873718321**

RODRIGUEZ G. GIRALDO L. MORENO J. 2009. Calorimetric study of the immersion enthalpies of activated carbon cloths in different solvents and aqueous solutions. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. **96**:547-552

RODRÍGUEZ REINOSO, F. 1997. Activated Carbon: Structure, characterization and applications, en Introduction to carbon Technologies. H. Marsh, E.A. Heintz, et al. Editors. Universidad de Alicante: Alicante, España.

RODRIGUEZ REINOSO Francisco. SEPULVEDA- ESCRIBANO A. 2001. Porous carbons in adsorption and catálisis. En : Handbook of surfaces and interfaces of materials. Ed. Nalga HS. Vol. 5, 309-355. Academic Press . New York.

RODRÍGUEZ-REINOSO F. MARSH H. 2007. Activated Carbon. Elsevier: Amsterdam, Netherlands.

ROUQUEROL, F. ROUQUEROL J. 1999. Adsorption by Powders and Porous Solids. London, UK.: Academic Press.

RUBIO Simón, GRANADOS Francisco, JIMENEZ Jaime. 2000. Remoción de fenol en solución acuosa sobre carbón activado X y Zeolita. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. Mexico. **16**:37-40.

SATIZABAL Camilo. SATIZABAL María. 1995. Código Nacional de los Recursos Naturales. Legislación Ecológica para la protección Ambiental. Bogotá: Jurídica Poder. Pág. 93.

SCHLÜTER, A. KRAHN I. KOLLI F. BÖNEMANN G. STIENS M. SZCZEPANOWSKI R. SCHNEIKER S. PÜHLER A. 2007. IncP-1beta plasmid pGNB1 isolated from a bacterial community of a wastewater treatment plant mediates decolorization of triphenylmethane dyes. Applied Environmental Microbiology **73**: 6345-6350.

S.H. LIN, R.S. JUANG. 2009. Adsorption of phenol and its derivatives from water using synthetic resins and low- cost natural adsorbents: a review, J. Environ. Manage. 90 1336–1349.

SILVESTRE–ALBERO J. GÓMEZ C. SEPÚLVEDA-ESCRIBANO A. RODRÍGUEZ–REINOSO F. 2001. Characterization of microporous solids by Immersion calorimetry. *Colloids and Surfaces A*. **187**: 151.

SOBECKA Bożyena Seredyn. TOMASZEWSKA Maria. JANUS Magdalena, MORAWSKI Antoni W.2004. Biological activation of carbon filters. Institute of Chemical and Environmental Engineering. **10**: 70-322.

SINGH Rajbir. PAUL Debarati. JAIN Rakesh. 2006. Biofilms: implications in bioremediation. *Trends in Microbiology*.**14**:1-9

SRIVASTAVA S.K., GUPTA V.K., JOHRI N., MOHAN D. 1995. Removal of 2,4,6-trinitrophenol using Bagasse fly ash a sugar industry waste material. *Ind. J. Chem. Technol.* **2**: 333–336.

STANDARD METHODS.1995. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 19th edition.American Public Health Association.USA.

STOODLEY P. SAUER K. DAVIES D. G. COSTERTON J.W. 2002. Biofilms as complex differentiated communities . *Annu. Rev. Microbiol.***56**:187–209

STOECKLY F. CENTENO T.A. 2005,On the determination of surface areas in activated carbons. *Carbon*. **43**:1184.

SUAREZ Camilo. MONROY Manuel. 2004. Factibilidad en el diseño de un sistema de tratamiento de aguas residuales domésticas generadas en UPTC-Tunja mediante humedales artificiales. Trabajo de Grado. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

SUAREZ Ingrid.2003. Implementación del programa de tasas retributivas en la cuenca media del Río Chicamocha en Jurisdicción de la Corporación Autónoma

Regional de Boyacá- Corpoboyaca. Trabajo de Grado. Fundación Universitaria de Boyacá. Tunja.

TIERNEY J.T. SULLIVAN R . LARKIN E.P.1997.Persistence of polivirus 1 in soil and on vegetables grown in soil previously flooded with inoculated sewage of effluent. *Applied and Environmental Microbiology*. **33**: 109-113,

TSAI Shang-Yuan, JUANG Ruey-Shin. 2006. Biodegradation of phenol and sodium salicylate mixtures by suspended *Pseudomonas putida* CCRC 14365. *Journal of Hazardous Materials*.**138**: 125–132.

TUMBAS Ivana Ivancev. DALMACIJA Bozo. TAMAS Zagorka. KARLOVIC Elvira. 1998. Reuse of biologically regenerated activated carbon for phenol removal. Institute of chemistry, Faculty of Science.

WANG SONG-YUNG, TSAI MING-HSIU, SHENG-FONG LO, MING-JER TSAI. 2008. Effects of manufacturing conditions on the adsorption capacity of heavy metal ions by Makino bamboo charcoal. *Bioresource Technology*. **99**: 7027–7033.

YANG R. HUMPHREY A. 1975. **Dynamics and steady state studies of phenol degradation in pure and mixed cultures.** *Biotechnol.Bioeng*. **17**:1211-1235 .

<http://www.clarimex.com/corporativo>.

<http://www.oviedo.es>

<http://www.webislam.com>

www.ces.iisc.ernet.in

www.jason.oceanobs.com

www.boyaca.homestead.com