

**DESARROLLO DE UNA PROPUESTA DE UN TRATAMIENTO BIOLÓGICO CON
HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA PARA LA DEGRADACIÓN DE
FENOLES EN EFLUENTES DE LA EMPRESA LABORATORIOS ESKO LTDA**

JOSE ALEJANDRO MEDINA BORJA

VALENTINA PATIÑO BAUTISTA

**Proyecto integral de grado para optar al título de
INGENIERO QUÍMICO**

Directora

Diana Milena Morales Fonseca

Microbióloga Msc

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMERICA

FACULTAD DE INGENIERIAS

INGENIERIA QUÍMICA

BOGOTÁ D.C.

2021

NOTA DE ACEPTACION

Nombre

Firma presidente jurado

Nombre

Firma jurado

Nombre

Firma jurado

Bogotá D.C. Agosto de 2021

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Mario Posada García-Peña

Consejero Institucional

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. Alexandra Mejía Guzmán

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro

Secretario General

Dr. José Luis Macías Rodríguez

Decano de la Facultad

Ing. Julio César Fuentes Arismendi

Director de Programa

Ing. Nubia Liliana Becerra Ospina

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables de los criterios e ideas expuestas en el presente documento.

Estos corresponden únicamente a los autores.

Esta tesis es dedicada a mi familia, especialmente a mi mamá, porque sin ella nada de esto hubiera sido posible, por brindarme en todo momento su apoyo y motivación para culminar esta etapa tan importante en mi vida, a mi papá por darme el apoyo durante toda la carrera. También gracias a Dios por permitirme culminar esta etapa, por poder graduarme como profesional.

Agradezco a todos los amigos que hice a lo largo de la carrera, a la vida por darme la oportunidad de conocerlos y compartir con ustedes 5 años maravillosos. A mi mejor amiga, que desde el colegio me ha acompañado en este proceso y que me apoyó en todo momento. Finalmente quiero agradecer a mi compañero de tesis, Alejandro Medina, por compartir este camino conmigo, aguantarme en muchas ocasiones y lograr sacar este proyecto de la mejor manera

Valentina Patiño Bautista

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecerle a la empresa Laboratorios ESKO Ltda y a Erika Pedreros por darnos la oportunidad de realizar este proyecto y por su apoyo mostrado durante el desarrollo de este. Adicionalmente, le queremos agradecer a nuestra directora, Diana Morales por la ayuda, acompañamiento y conocimientos que nos brindó a lo largo de todo el proyecto.

A la Fundación Universidad de América por darnos los conocimientos y herramientas para nuestro desarrollo profesional y a los profesores con los que tuvimos la oportunidad de ver clase a lo largo de la carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	11
OBJETIVOS	12
1. MARCO TEÓRICO	13
1.1. Aguas Residuales	13
1.2. Agua Residual Doméstica	13
1.2.1. <i>Agua Residual Industrial</i>	13
1.3. Parámetros de Caracterización	13
1.3.1. <i>Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅)</i>	13
1.3.2. <i>Demanda Química de Oxígeno (DQO)</i>	14
1.3.3. <i>pH</i>	14
1.3.4. <i>Sólidos Suspendidos Totales (SST)</i>	14
1.3.5. <i>Sólidos Sedimentables (SSED)</i>	14
1.3.6. <i>Grasas y Aceites</i>	14
1.3.7. <i>Sustancias Activas al Azul de Metileno (MBAS)</i>	15
1.3.8. <i>Fenoles</i>	15
1.4. Tratamiento de aguas residuales	17
1.4.1. <i>Pretratamiento</i>	18
1.4.2. <i>Tratamiento primario</i>	18
1.4.3. <i>Tratamientos secundarios:</i>	20
1.5. Hongos de la podredumbre blanca para procesos de remoción	21
1.5.1. <i>Diferentes usos de los hongos de la podredumbre blanca en la remoción de sustancias</i>	22
1.6. Marco legal	23
1.6.1. <i>Resolución 0631 de 2015:</i>	23
2. DIAGNÓSTICO	26
2.1. Generalidades de la empresa	26
2.2. Descripción de la planta de tratamiento de aguas residuales	26
2.2.1. <i>Distribución de la planta de tratamientos de agua residual</i>	27
2.3. Punto de muestreo	31
2.4. Revisión de los datos históricos	32
2.5. Origen de los fenoles en el efluente	34
2.6. Cuantificación de fenol	34
2.6.1. <i>Kit de fenoles</i>	34
2.6.2. <i>Concentración Inicial</i>	38
3. EVALUACION TEORICA DE LOS TRATAMIENTOS PARA LA REMOCIÓN DE FENOLES EN AGUAS RESIDUALES	40
3.1. Tratamientos no biológicos	42
3.1.1. <i>Tratamientos Físicos</i>	43
3.1.2. <i>Tratamientos Químicos:</i>	47
3.2. Tratamientos biológicos	55
3.2.1. <i>Hongos</i>	56
3.2.2. <i>Bacterias</i>	58
3.3. Discusión	60
4. SELECCIÓN DE UN TRATAMIENTO BIOLOGICO PARA LA DEGRADACION DE FENOLES EN AGUAS RESIDUALES PARA LA EMPRESA LABORATORIOS ESKO LTDA.	64
4.1. Construcción de la matriz de selección	64

4.1.1.	<i>Criterios de selección</i>	64
4.1.2.	<i>Matriz</i>	65
4.2.	Selección del tratamiento biológico para la degradación de fenoles	66
4.3.	Tratamiento biológico con hongos de la podredumbre blanca (HPB)	67
4.3.1.	<i>Hongos de la podredumbre blanca (HPB)</i>	67
4.3.2.	<i>Pleurotus sp</i>	69
4.3.3.	<i>Pleurotus ostreatus</i>	70
4.3.4.	<i>Enzimas involucradas en la degradación de compuestos fenólicos por Pleurotus ostreatus</i>	72
4.4.	Inmovilización de <i>Pleurotus ostreatus</i> para tratamiento de aguas contaminadas con fenoles	76
4.4.1.	<i>Ventajas de inmovilización</i>	76
4.4.2.	<i>Estropajo</i>	76
5.	DESARROLLO DEL PROCESO DE DEGRADACION DE FENOLES POR MEDIO DE HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA	78
5.1.	Diseño de experimentos	78
5.1.2.	<i>Selección de concentraciones de fenol</i>	79
5.1.3.	<i>Selección tipo diseño de experimentos</i>	79
5.1.4.	<i>Hipótesis</i>	80
5.2.	Metodología	80
5.2.1.	<i>Obtención de la cepa</i>	81
5.2.2.	<i>Conservación de la cepa</i>	82
5.2.3.	<i>Inmovilización del hongo Pleurotus ostreatus para tratamiento de aguas contaminadas con fenoles</i>	83
5.2.4.	<i>Cuantificación de biomasa para inoculación</i>	92
5.2.5.	<i>Ajuste de concentraciones de fenol en muestra de agua residual</i>	92
5.2.6.	<i>Montaje experimental del sistema de degradación</i>	94
5.2.7.	<i>Determinación de concentración de fenoles final</i>	98
5.3.	Resultados	98
5.3.1.	<i>Cuantificación de biomasa para la inoculación</i>	98
5.3.2.	<i>Concentración final de fenoles</i>	100
5.4.	Análisis e interpretación de resultados	106
6.	ESTIMACIÓN DEL COSTO DE INVESTIGACIÓN DE LA PROPUESTA DEL SISTEMA DE DEGRADACIÓN DE FENOLES	110
7.	CONCLUSIONES	116
	BIBLIOGRAFIA	117

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Diagrama de bloques de la PTAR de Laboratorios Esko LTDA.	28
Figura 2 Comparador kit de fenoles	35
Figura 3 Comparador kit de fenoles	36
Figura 4 Escala del segundo comparador del kit de fenoles	36
Figura 5 Envase 25 ml del kit de fenoles	37
Figura 6 Tubos de ensayo kit de fenoles	37
Figura 7 Concentración inicial de fenoles	38
Figura 8 Resultados de la búsqueda con palabras clave “phenol” y “waste water”	40
Figura 9 Resultados de la búsqueda con palabras clave “phenol”, “waste water” y “degradation”	41
Figura 10 Resultados de la búsqueda con palabras clave “phenol”, “waste water” y “treatment”	41
Figura 11 Resultados de la búsqueda con palabras clave “phenol”, “waste water” y “removal”	42
Figura 12 Pleurotus ostreatus macroscópicamente	71
Figura 13 Diagrama de bloques de la metodología	81
Figura 14 Cepa aislada Pleurotus ostreatus	82
Figura 15 Salvado de trigo en agua destilada	85
Figura 16 Láminas de estropajo	86
Figura 17 Agar Salvado de trigo	87
Figura 18 Bandejas de aluminio con agar salvado de trigo	88
Figura 19 Bandejas de aluminio con láminas de estropajo	88
Figura 20 Pellets Pleurotus ostreatus	89
Figura 21 Tubos falcón con biomasa en centrifugadora	90
Figura 22 Tubos falcón con biomasa	91
Figura 23 Biomasa sembrada	91
Figura 24 Muestras de agua residual	93
Figura 25 Láminas de estropajo con biomasa	94
Figura 26 Preparación de los recipientes en la cámara de extracción	95
Figura 27 Erlenmeyer con lámina de estropajo	96
Figura 28 Erlenmeyer concentración 1	97
Figura 29 Erlenmeyer concentración 2	97
Figura 30 Segundo comparador del kit de fenoles	100
Figura 31 Concentración 1 – Blanco (C1B)	100
Figura 32 Concentración 1 - Estropajo (C1 Estropajo)	101
Figura 33 Concentración 1 - Réplica 1 (C1R1)	101
Figura 34 Concentración 1 - Réplica 2 (C1R2)	102
Figura 35 Concentración 1 - Réplica 3 (C1R3)	102
Figura 36 Concentración 2 - Blanco (C2B)	103
Figura 37 Concentración 2 - Estropajo (C2 Estropajo)	103
Figura 38 Concentración 2 - Réplica 1 (C2R1)	104
Figura 39 Concentración 2 - Réplica 2 (C2R2)	104
Figura 40 Concentración 2 - Réplica 3 (C2R3)	105
Figura 41 Esquema del diseño de escalamiento propuesto	114

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Parámetros fisicoquímicos a monitorear y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales no domesticas – ARnD a cuerpos de aguas superficiales de actividades asociadas con fabricación y manufactura de bienes	24
Tabla 2 Distribución de vertimientos de la empresa Laboratorios Esko	27
Tabla 3 <i>Registro de los parámetros básicos sanitarios en el año 2019</i>	32
Tabla 4 Lista de hongos empleados para degradar compuestos fenólicos.	57
Tabla 5 Lista de algunas bacterias usadas para degradar compuestos fenólicos	59
Tabla 6 Tabla comparativa de las diferentes tecnologías consultadas durante el capítulo.	60
Tabla 7 Matriz de decisión (Método Pugh)	65
Tabla 8 Matriz ponderada de Pugh	66
Tabla 9 Condiciones de operación consideradas en el diseño experimental	80
Tabla 10 Fórmula del medio salvado de trigo	84
Tabla 11 Codificación muestras de agua residual para montaje experimental	95
Tabla 12 Peso tubo falcón sin tapa	98
Tabla 13 Peso biomasa seca en tubos falcón	99
Tabla 14 Concentraciones y porcentajes de remoción finales para la concentración de 3,7 mg/L	105
Tabla 15 Concentraciones y porcentajes de remoción finales para la concentración de 8,8 mg/L.	106
Tabla 16 Comparación de los resultados experimentales con otros autores.	108
Tabla 17 Costos de los materiales usados durante la experimentación.	110
Tabla 18 Costos de los reactivos usados durante la experimentación.	111
Tabla 19 Costos de los equipos usados durante la experimentación.	112
Tabla 20 Costos de la mano de obra necesaria durante la investigación.	112
Tabla 21 Costo de la cepa de <i>Pleurotus ostreatus</i>	112
Tabla 22 Costos conglomerados de cada parámetro	113
Tabla 23 Costos de equipos y materiales principales del diseño escalado	114
Tabla 24 Costos de reactivos necesarios para la producción de la biomasa del diseño propuesto.	115

RESUMEN

El fenol presenta una toxicidad asociada a su concentración y por lo tanto los efluentes industriales que los contienen han de ser tratados antes de verterlos al medio ambiente. Debido a las propiedades bactericidas del fenol, estos efluentes no pueden ser tratados en las plantas depuradoras convencionales, dado que a concentraciones mayores a 50 mg/L inhibe la reproducción de los microorganismos y en concentraciones del orden 1 g/L destruyen completamente la flora y fauna.[1]

Teniendo en cuenta lo anterior, en esta investigación se realiza una propuesta para complementar los procesos de la PTAR de la empresa Laboratorios ESKO Ltda, teniendo como principal objetivo la degradación de compuestos fenólicos, para hacer cumplimiento de la normativa vigente (Resolución 0631 del 2015) para la disposición de aguas de reuso y vertimientos.

De esta forma, se propone implementar un tratamiento biológico haciendo uso de una cepa de *Pleurotus ostreatus*, un hongo de la podredumbre blanca productor de un complejo enzimático que le permite la degradación de compuestos aromáticos a través de continuas oxidaciones.

La selección del microorganismo se realizó por medio de una matriz de decisión, empleando el *Método Pugh*, comparándolo con otros tratamientos biológicos como lo es el uso de bacterias, analizando criterios de interés para la empresa Laboratorios ESKO Ltda. Posterior a ello se realizaron una serie de evaluaciones experimentales para la degradación de fenoles en agua residual de la empresa con concentraciones de fenol muy superiores a las registradas por la misma, y respaldadas por la revisión bibliográfica, que indican la tolerancia y efectividad de *P.ostreatus* sobre el compuesto contaminante. Las condiciones de operación fueron a temperatura ambiente y sin agitación, similares a las de la planta de tratamiento de Laboratorios ESKO.

Finalizados los ocho días de tratamiento se hallaron porcentajes de degradación desde 83,78% hasta 97,30% para una concentración inicial de 3,7 mg/L de fenol y desde 77,27% hasta 90,91% para una concentración inicial de 8,8 mg/L de fenol.

Palabras clave: Método Pugh, hongo de la podredumbre blanca, fenoles, degradación, concentración.

OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar una propuesta de un tratamiento biológico con hongos de la podredumbre blanca para la degradación de fenoles en efluentes de la empresa Laboratorios Esko LTDA.

Objetivos específicos

- Evaluar teóricamente los tratamientos para la remoción de fenoles en aguas residuales partiendo de una revisión bibliográfica.
- Seleccionar un tratamiento biológico para la degradación de fenoles en las aguas residuales de la empresa Laboratorios Esko LTDA.
- Establecer las condiciones que más favorecen el proceso de degradación de fenoles por medio de los hongos de la podredumbre blanca.
- Estimar el costo de investigación de la propuesta del sistema de degradación de fenoles.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Aguas Residuales

Se puede considerar como agua residual toda aquella proveniente de la actividad humana, que contiene una gran cantidad de sustancias y/o microorganismos que pueden ser peligrosos para las fuentes hídricas y su bioma, por lo que es necesario un tratamiento previo[2].

Para este documento se tendrán en cuenta dos tipos de agua residual

1.2. Agua Residual Doméstica

Las aguas residuales domésticas provienen de los desechos producidos en los hogares de los humanos, están comprendidas por materia orgánica y microorganismos, así como restos de jabones y detergentes[2].

1.2.1. Agua Residual Industrial

Las aguas residuales industriales provienen de los procesamientos de materia prima en fábricas y plantas, su composición es muy variable según el tipo de actividad del establecimiento, pero en general son aguas más contaminadas que las aguas residuales domésticas[2].

1.3. Parámetros de Caracterización

Para seleccionar los parámetros a tener en cuenta se tomó la resolución 0631 del 2015 en el apartado de “fabricación de jabones, detergentes y productos cosméticos”.

1.3.1. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO₅)

Es la medida del consumo de oxígeno de los microorganismos heterotróficos en la estabilización de la materia orgánica biodegradable, en condiciones aeróbicas y en un periodo de cinco días a una temperatura de 20°C.

La determinación de DBO, es una de las pruebas más importantes para conocer la capacidad de contaminación de los cuerpos receptores, y la fuerza contaminante de las aguas negras y los desechos industriales. La DBO, da una indicación de la

cantidad de agua clara de dilución necesaria, para la evacuación satisfactoria de aguas negras por dilución.[3]

1.3.2. Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Es la medida que determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo, a condiciones acidas y se mide como miligramos de oxígeno, equivalente a la fracción orgánica disuelta y/o suspendida, por litro de disolución, agua residual.[4]

1.3.3. pH

El pH expresa la concentración de iones hidrógeno presentes en una muestra, se usa para expresar la intensidad de la condición ácida o alcalina de una solución sin medir propiamente la acidez total o la alcalinidad total. Es un factor que debe considerarse respecto a la coagulación química, la desinfección y el control de corrosión.[5]

1.3.4. Sólidos Suspendidos Totales (SST)

Hace referencia al material particulado que se mantiene en suspensión en las corrientes de agua residual y/o superficial [6]. Los sólidos suspendidos son transportados gracias al arrastre y soporte del movimiento del agua.[7]

1.3.5. Sólidos Sedimentables (SSED)

Son las partículas de tamaño superior a 0,01 mm que sedimentan en las soluciones de agua, su efecto se traduce en el color y turbiedad de aguas sedimentadas sin coagulación.[6]

1.3.6. Grasas y Aceites

Este parámetro no busca medir una cantidad absoluta de una sustancia específica, se determinan grupos de sustancias con características físicas similares con base en su solubilidad en el solvente, el término “grasas y aceites” hace referencia a cualquier sustancia soluble en el solvente n-hexano, esto incluye otros compuestos como colorantes orgánicos, clorofila o compuestos azufrados.[8]

1.3.7. Sustancias Activas al Azul de Metileno (MBAS)

Los tensoactivos entran en los cuerpos de agua por residuos del lavado doméstico e industrial, estas moléculas se congregan entre el medio acuoso y las otras fases del sistema. Un alto contenido de detergentes en el agua puede provocar formación de espuma y toxicidad para la vida acuática.[9]

1.3.8. Fenoles

Los fenoles son compuestos orgánicos de estructura básica C_6H_5OH , son altamente solubles en agua y se presentan como resultados de la polución con residuos industriales. En forma pura, es un sólido incoloro a blanco, tiene un olor repugnantemente dulce característico. Se evapora más lentamente que el agua y una cantidad moderada puede disolverse en agua, además, es inflamable. Su punto de ebullición es de 181,75 °C, punto de fusión 43 °C, presenta una solubilidad en agua de 0,067 g/mL a 16 °C y su pH está en el rango de 4,8 – 6,0 al 5% en agua. [10]

Al aplicar cloro en agua industriales para su desinfección, se forman cloro fenoles y se presentan problemas de olores y sabores indeseables a muy bajas concentraciones. “El fenol posee en su estructura un anillo bencénico, y tiene un grupo hidroxilo en lugar de uno de los átomos de hidrogeno propio del benceno, esto hace que el fenol tenga la capacidad de estabilizarse”. [11]

“El fenol es tanto una sustancia química manufacturada como natural. Se le encuentra en la naturaleza en ciertos alimentos, en desechos humanos y animales y en materia orgánica en descomposición”. [1]

1.3.8.a. Usos del fenol. El uso principal del fenol es como intermediario en la producción de resinas fenólicas, también se usa en la producción de caprolactama, usada en la manufactura de nylon 6 y otras fibras sintéticas, y bisfenol A, usada en la manufactura de resinas de epoxi y de otras resinas. Se usa también para eliminar bacterias y hongos característicos de aguas fangosas, como desinfectante y en medicamentos.

A pesar de la toxicidad de los compuestos de tipo fenólico, estos encuentran gran variedad de usos a nivel industrial, como por ejemplo en la “fabricación de plásticos, en la fabricación de resinas de fenol – formaldehido, en la industria de alimentos, en

la producción de agentes preservantes y en la fabricación de desinfectantes e insecticidas, en la producción de detergentes, en la industria farmacéutica y en la producción de pinturas, explosivos y en fotografía”. [1]

“Se utiliza en modo directo como componente de productos medicinales y de aseo, pero principalmente constituye la materia prima para la fabricación de otros reactivos y de productos finales”. [10]

1.3.8.b. Origen del fenol en aguas residuales industriales. A la hora de estudiar estos componentes presentes en las aguas residuales, es de gran importancia conocer los causantes de esta contaminación. Los derivados fenólicos más importantes desde el punto de vista de las aguas residuales son:

- a. Fenol
- b. 2-Monoclorofenol
- c. 4-Monoclorofenol
- d. 2,4-Diclorofenol
- e. 2,6-Diclorofenol
- f. 2,4,6-Triclorofenol
- g. Tetraclorofenoles
- h. Pentaclorofenoles
- i. Cresoles
- j. Naftoles

Adicionalmente desde el punto de vista de la industria cosmética, categoría a la cual la empresa Laboratorios Esko LTDA pertenece, los derivados fenólicos más comunes son:

- a. Quinona
- b. Hidroquinona
- c. Cloruro de bencilo
- d. Triclosan

Todos estos derivados fenólicos, y muchos más, son usados actualmente en diferentes sectores industriales, como también se usa el fenol, en grado analítico, para muchos procesos, lo que hace que la eliminación de los residuos de estas sustancias sea de gran importancia.

1.3.8.c. Riesgos por la presencia de fenoles. El fenol presenta una toxicidad asociada a su concentración, y por lo tanto los efluentes industriales que los contienen han de ser tratados antes de verterlos al medio ambiente. Debido a las propiedades bactericidas del fenol, estos efluentes no pueden ser tratados en las plantas depuradoras convencionales, dado que a concentración de 50 mg/L inhibe la reproducción de los microorganismos y en concentraciones del orden de 1 g/L destruyen completamente la flora y la fauna. [1]

El fenol puede entrar al cuerpo humano a través de aguas contaminadas, comidas u otros productos que contengan este tipo de compuestos. Es fácilmente absorbido a través de la piel o las mucosas, particularmente por el tracto gastrointestinal e igualmente puede ser inhalado en el aire o el humo. [10]

Al tener contacto con la piel puede producir quemaduras y existe el riesgo de absorción por la piel, ante el contacto con los ojos produce quemaduras y hay riesgo de ceguera, por ingestión puede producir quemaduras en la boca, faringe, esófago y tracto gastrointestinal, por la inhalación de vapores se puede presentar dificultades respiratorias, irritación de mucosas y tos, entre otros posibles riesgos. [1]

1.4. Tratamiento de aguas residuales

Las aguas contaminadas provienen de diferentes fuentes, como lo pueden ser las domésticas y las industriales, por lo que están compuestas de partículas muy variadas, tanto en tamaño como en composición, debido a esto requieren un tratamiento antes de su descarga. En la etapa inicial predominan los fenómenos físicos, que corresponden a las operaciones unitarias, luego se utilizan procesos químicos y biológicos, conocidos como procesos unitarios para eliminar los sólidos suspendidos, usualmente se realiza una combinación de procesos y operaciones unitarias.

Estos tratamientos tienen como objetivos reducir la carga orgánica de los efluentes en términos de demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) o demanda química de oxígeno (DQO), remover o reducir los nutrientes, nitrógeno y fósforo, con el fin de evitar la filtración en el subsuelo que contamine las aguas subterráneas o evitar el crecimiento acelerado de las algas que podrían ocasionar problemas de eutrofización en las aguas receptoras, remover o inactivar a los organismos patógenos, incluyendo

las formas parasitarias y por último, cumplir con las normas o reglamentos legales que permiten el uso de las aguas residuales y vertimiento a la red de alcantarillado a las fuentes de agua o marinas. Estos tratamientos se dividen en pretratamientos, primarios, secundarios y terciarios[12]:

1.4.1. Pretratamiento

Tiene como función eliminar todo el material grueso que generalmente está flotando y que da impacto visual negativo, extraer de las aguas la mayor cantidad posible de las materias que arrastran, y que posteriormente ocasionarían problemas en los tratamientos posteriores. Tiene como objetivos principales la eliminación de los sólidos gruesos como basura, la separación de las partículas discretas como arenas y la separación de las grasas, aceites y espuma.

1.4.1.a. Cribado. Es un método que elimina los contaminantes más voluminosos, ya sean flotantes o suspendidos. Se utiliza para remover los sólidos de gran tamaño o basura, los cuales al transportarse con la corriente de agua residual pueden interferir en la operación del equipo de la planta. [14] [13]

1.4.1.b. Dilaceración. Su objetivo es triturar las materias solidas arrastradas por el agua. Estas materias en lugar de separarse del efluente bruto, se pulverizan y continúan en el circuito del agua hacia las siguientes fases de tratamiento. [8]

1.4.1.c. Desarenado. Tiene como objetivo eliminar partículas más pesadas que el agua, que no hayan sido retenidas en etapas previas, y que tienen un tamaño superior a 200 micras. Con este proceso se consiguen proteger los equipos de procesos posteriores ante la abrasión, atascos y sobrecargas en los procesos posteriores. [8]

1.4.1.d. Desengrasado. El objetivo de esta operación es el de eliminar grasas, aceites y espumas y además materias flotantes que provocarían problemas en las siguientes etapas de tratamiento. Esta etapa no siempre está presente. [8]

1.4.2. Tratamiento primario

En este tratamiento se elimina una fracción de los sólidos en suspensión y de la materia orgánica residual, suele llevarse a cabo mediante operaciones físicas tales como el tamizado y la sedimentación. Este va a producir una reducción de la demanda bioquímica de oxígeno, igualmente se consigue una reducción de la contaminación

bacteriológica, y constituye un método para preparar el agua para el tratamiento secundario.

1.4.2.a. Coagulación. “Los sólidos coloidales suspendidos en el agua presentan una carga electrostática sobre su superficie, que provoca la repulsión entre las partículas y les impide agruparse para formar sólidos conglomerados de mayor tamaño. Este proceso consiste en añadir compuestos químicos al agua para reducir las fuerzas de tensión que apartan a los sólidos suspendidos entre sí. Es el tratamiento esencial para la eliminación de sólidos suspendidos (orgánicos, inorgánicos y biológicos)”. [15]

1.4.2.b. Neutralización. Neutralización o ajuste de pH, para tener un rango cercano a 7, es una de las etapas primordiales del tratamiento de las aguas y aguas residuales que permite proteger las fuentes receptoras de las descargas alcalinas o ácidas fuertes o el post tratamiento de dichos residuos. Para las aguas ácidas se agrega óxido de calcio, óxido o hidróxido de magnesio e hidróxido de sodio y para las aguas alcalinas, se agrega ácido sulfúrico, ácido clorhídrico y anhídrido carbónico[12].

1.4.2.c. Sedimentación. Es la separación de partículas más pesadas en el agua mediante la acción de la gravedad. Es una de las operaciones unitarias más utilizadas en el tratamiento de aguas residuales

Existen tres tipos de sedimentación[12]:

- Sedimentación de partículas floculentas: Este tipo de sedimentación se presenta cuando las concentraciones son bajas (< 300 – 500 mg/L).
- Sedimentación zonal: Se presenta cuando tenemos concentraciones intermedias de sólidos (500 – 5000 mg/L)
- Sedimentación por compresión o de espesamiento: Se presenta cuando las concentraciones de sólidos son muy altas (> 5000 – 10000 mg/L).

1.4.2.d. Floculación. “Consiste en la aglomeración de partículas coloidales suspendidas, por medio de un mezclado físico o con agua de un coagulante químico, para formar flóculos de mayor tamaño capaces de ser separados por procesos subsecuentes como sedimentación o filtración”. [15]

1.4.2.e. Flotación. Es una operación unitaria que se emplea para la separación y partículas flotables y emulsiones de una fase líquida. Se consigue introduciendo finas burbujas de gas, normalmente aire, en la fase líquida. Estas burbujas de

adhieren a las partículas, y la fuerza ascensional que experimenta el conjunto partícula-burbuja de aire hace que suban hasta la superficie del líquido[12].

1.4.3. Tratamientos secundarios:

También conocido como tratamiento biológico, tiene como objetivo principal la eliminación de los sólidos en suspensión y de los compuestos orgánicos biodegradables, esto por medio de microorganismos adecuados, aunque a menudo se incluye la desinfección como parte de este tratamiento” [16]. El proceso se basa en que microorganismos adecuados consuman la materia orgánica. En esta etapa se consiguen importantes rendimientos en eliminación de DBO. Estos tratamientos están clasificados en aerobios, con presencia de oxígeno y anaerobios, en ausencia de oxígeno.

1.4.3.a. Tratamientos secundarios aerobios. Los tratamientos secundarios aerobios pueden ser[12]:

1.4.3.a.i. Lodos activados. Consiste en una masa activada de microorganismos que estabiliza un residuo por vía aeróbica, se realiza usando un tanque o reactor, donde el cultivo bacteriano oxida la materia orgánica, para garantizar el medio aerobio, el reactor tiene difusores que además mantienen la homogeneidad de la mezcla

- Convencional
- Mezcla completa
- Aireación escalonada
- Oxígeno puro
- Tasa alta
- Aireación prolongada
- Proceso de Krauss
- Zanjón de oxidación
- Lagunas aireadas
- Digestión aerobia
- Lagunas aerobias

1.4.3.a.ii. Filtros percoladores

- Tasa baja
- Tasa alta

- 1.4.3.a.iii. Torres biológicas
- 1.4.3.a.iv. Unidades rotatorias de contacto biológico
- 1.4.3.a.v. Reactores de lecho fijo

1.4.3.b. Tratamientos secundarios anaerobios. Los tratamientos secundarios anaerobios en comparación con los tratamientos aerobios producen un ahorro en el coste de inmovilizado al no tener que invertir en sistema de aireación, se produce menor cantidad de biomasa por lo que no es necesario un manejo y evacuación de los lodos tan constante, pero se necesitan mayores tiempos de residencia, se producen malos olores y se necesitan temperaturas más altas para garantizar que los procesos se realicen a velocidades razonables[12].

Algunos de estos tratamientos son:

- 1.4.3.b.i. Digestión anaerobia
- 1.4.3.b.ii. Anaerobio de contacto
- 1.4.3.b.iii. Lagunas anaerobias
- 1.4.3.b.iv. Manto de lodos – flujo
- 1.4.3.b.v. Ascensional
- 1.4.3.b.vi. Filtro anaerobio
- 1.4.3.b.vii. Lecho expandido

1.5. Hongos de la podredumbre blanca para procesos de remoción

Los hongos de la podredumbre blanca, también llamados hongos lignolíticos, por sus enzimas lignolíticas[17], son comunes en bosques de pino y encino. Estos hongos tiene un sistema enzimático que les permite a través del desarrollo de su micelio, colonizar diferentes tipos de sustrato y acceder a los compuestos que constituyen las contaminaciones más fuertes de los suelos [18]. Debido a la baja especificidad de las enzimas lignolíticas, les permite oxidar una amplia variedad de compuestos contaminantes. [17]

En los últimos años, los hongos de la podredumbre blanca han sido utilizados para descontaminar suelos o aguas por su especial capacidad de degradar compuestos xenobióticos del tipo hidrocarburos aromáticos policíclicos, asimismo, han demostrado la capacidad de decolorar efluentes de industrias aceiteras, textiles o

papeleras. Muchas cepas han sido estudiadas en la degradación de contaminantes como clorofenoles, hidrocarburos, lignina kraft, compuestos aromáticos, entre otros. [18]

“Algunos de los factores más importantes que se deben tener en cuenta en las tecnologías de biodegradación de los suelos contaminados con hongos de la podredumbre blanca son: alcanzar una abundante colonización, mantener su crecimiento por un periodo prolongado de tiempo y favorecer la producción de enzimas”. [17]

1.5.1. Diferentes usos de los hongos de la podredumbre blanca en la remoción de sustancias

En la naturaleza los xenobióticos que contaminan el ambiente son susceptibles a la eliminación con hongos de la podredumbre blanca, entre ellos están:

1.5.1.a. Colorantes. “En la industria textil se estima que del 10-14% de los colorantes, después del teñido de telas, se vierten en efluentes de agua dulce, los más comunes son: azo, trifenilmetano o polimérico/heterocíclico, estables a la acción degradadora por la microbiota natural “. Para disminuir ese impacto negativo, existe la alternativa de usar hongos de la podredumbre blanca después de varias investigaciones se llegaron a resultados con una degradación desde un 28% hasta 98% de varios tipos de colorantes usados en la industria textil.

1.5.1.b. Aromáticos. En la biorremediación de ambientes contaminados con aromáticos, se hace un gran uso de esta especie de hongos, logrando degradar tolueno, benceno, naftaleno, tetraclorobenceno, isómeros, entre otros.

1.5.1.c. Hidrocarburos aromáticos poli cíclicos (HAP). “Los HAP son compuestos homólogos de benceno formados por 2 o más anillos fusionados, que se liberan en emisiones industriales, durante la combustión incompleta de la gasolina en automotores o en plantas de generación de energía, sin embargo, estos compuestos son recalcitrantes y potenciales carcinogénicos”. Los hongos de la podredumbre blanca sintetizan las enzimas ligninolíticas que oxidan los anillos de los HAP. [19]

1.5.1.d. Pesticidas. Son los compuestos que más contaminan aguas superficiales y subterráneas, causan un grave problema ambiental, pues algunos de estos químicos son carcinogénicos, son de alto riesgo para la vida, por eso es

necesario su tratamiento para minimizar o reducir su negativo impacto ambiental. Con el uso de los hongos de la podredumbre blanca se pudo oxidar pesticidas como cloronitrofen, nitrofen, diuron, herbicida, atrazina y la terbutilazina en altos porcentajes.

1.5.1.e. Clorofenoles. Uno de los más utilizados es el pentaclorofenol (PCF), que se utiliza como conservador de la madera, en el blanqueo de la pulpa, en consecuencia, efluentes industriales contienen fenoles clorinados, altamente tóxicos para la vida como: el 2,4,6-clorofenol, carcinogénico para animales, ó el *p*-cloro fenol posible carcinogénico en humanos. Los hongos de la podredumbre blanca son de alto uso en la biodegradación de estos compuestos con un alto porcentaje de degradación en diferentes materiales de inmovilización y crecimiento.

1.5.1.f. Nitroaromáticos. Estos son compuestos como: el nitrobenceno, el nitrotolueno, los nitro fenoles y los nitro benzoatos, se utilizan en síntesis de pesticidas, explosivos, colorantes, y farmacéuticos, pero son un problema ambiental por su recalcitrancia. Ciertos nitroaromáticos son tóxicos para humanos y animales. Investigaciones reportan que los hongos de la podredumbre blanca oxidan nitroaromáticos, como el trinitrotolueno (TNT), lo que los convierte en una alternativa en la recuperación de ambientes contaminados con estos compuestos. [19]

1.6. Marco legal

Para el desarrollo del proyecto se deben tener en cuenta las siguientes normativas, las cuales darán los parámetros correspondientes a cumplir:

1.6.1. Resolución 0631 de 2015:

Esta resolución establece los parámetros y los valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones.

La empresa Laboratorios Esko LTDA se rige bajo el **CAPÍTULO VI PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y SUS VALORES LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES EN LOS VERTIMIENTOS PUNTUALES DE AGUAS RESIDUALES NO DOMESTICAS – ARND A CUERPOS DE AGUAS SUPERFICIALES** en el Sector: ACTIVIDADES DE FABRICACIÓN Y MANUFACTURA DE BIENES [20], con el artículo:

Artículo 13. “**Parámetros fisicoquímicos a monitorear y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales no domésticas – ARnD a cuerpos de aguas superficiales de actividades asociadas con fabricación y manufactura de bienes.** Los parámetros fisicoquímicos y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales no domésticas – ARnD de las actividades de fabricación y manufactura de bienes a cumplir, serán los siguientes”. [20]

A continuación, se observa la lista de parámetros con sus valores de límites máximos permisibles en el vertimiento para este tipo de empresa según la normatividad.

Tabla 1

Parámetros fisicoquímicos a monitorear y sus valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales no domésticas – ARnD a cuerpos de aguas superficiales de actividades asociadas con fabricación y manufactura de bienes

PARAMETRO	VALORES LIMITES MAXIMOS PERMISIBLES	
	pH	Unidades de pH
DQO	mg/LO ₂	500
DBOs	mg/LO ₂	250
Sólidos suspendidos totales	mg/L	80
Sólidos sedimentables	mg/L	1
Grasas y aceites	mg/L	15
Fenoles	mg/L	0,2
Formaldehido	mg/L	
Sustancias activas al azul de metileno	mg/L	10
HIDROCARBUROS		
Hidrocarburos totales (HTP)	mg/L	10
Hidrocarburos Aromáticos policíclicos	mg/L	Análisis y reporte
BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno)	mg/L	Análisis y reporte
Compuestos orgánicos Halogenados absorbibles		Análisis y reporte
COMPUESTOS DE FOSFORO		

Tabla 1 Continuación

Ortofosfatos	mg/L	Análisis y reporte
Fosforo Total	mg/L	Análisis y reporte
COMPUESTOS DE NITROGENO		
Nitratos	mg/L	Análisis y reporte
Nitritos	mg/L	Análisis y reporte
Nitrógeno Amoniacal	mg/L	Análisis y reporte
Nitrógeno total	mg/L	Análisis y reporte
IONES		
Cloruros	mg/L	250
Sulfatos	mg/L	400
Sulfuros	mg/L	1
METALES Y METALOIDES		
Arsénico	mg/L	0,1
Cadmio	mg/L	0,05
Zinc	mg/L	3
Cobalto	mg/L	
Cobre	mg/L	1
Cromo	mg/L	0,5
Mercurio	mg/L	0,01
Níquel	mg/L	0,5
Plomo	mg/L	0,2
Titanio	mg/L	

Nota. Esta tabla muestra los valores máximos permisibles de los parámetros fisicoquímicos que están establecidos en la Resolución 0631 del 2015. Tomado de: C. M. D. A. Y. D. SOSTENIBLE, “Resolución 0631. (17, marzo, 2015). Por la cual se establecen los parámetros y valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpo de agua superficiales y a los sistemas de alcantarillado público y se dictan otras disposiciones.” Red de desarrollo sostenible de Colombia. 20015, doi: 10.4324/9780203861950.

2. DIAGNÓSTICO

2.1. Generalidades de la empresa

Laboratorios ESKO LTDA es una empresa que se especializa en el desarrollo, manufactura y acondicionamiento de productos cosméticos, bajo calidad certificada por el Instituto Nacional de Vigilancia de medicamentos y alimentos (INVIMA) y mediante buenas prácticas de manufactura (BPM), la compañía comercializa productos propios dirigidos a profesionales de la belleza, desarrolla y fabrica a otras compañías bajo el sistema de maquila. Está ubicada en la zona industrial de Puente Aranda, ubicada en Bogotá D.C.

Dentro del portafolio de productos fabricados por Laboratorios ESKO se encuentran líneas de tratamiento facial, corporal y SPA y una línea de maquillaje profesional, con marcas propias como Dermabell y Claire D'arcey además la fabricación de productos como shampoo, baños espumosos, tónicos, cremas, geles, maquillajes, labiales, lociones, productos en ampollitas, tubos colapsibles, y en general empaque y acondicionamiento de cualquier producto cosmético a terceros.

Para febrero de 2017 la empresa tiene un consumo de 149 m³ de agua en forma bimensual según la facturación de la Empresa de Alcantarillado y Acueducto de Bogotá (EAAB). En el año 2015, siguiendo los lineamientos del plan de responsabilidad social y ambiental de la compañía, se implementó la planta de tratamiento de aguas residuales cuya función principal es el tratamiento primario de vertimientos generados por la compañía para el reuso del agua.

2.2. Descripción de la planta de tratamiento de aguas residuales

Los vertimientos generados dentro de la organización varían entre áreas, por lo cual se efectúa en primera medida el diagnóstico de los vertimientos en cada punto de generación y luego se define el punto de vertimiento como se indica en la Tabla 3

Tabla 2

Distribución de vertimientos de la empresa Laboratorios Esko

CAJA VERTIMIENTOS	<ul style="list-style-type: none">- Vertimiento de la trampa de grasas.- Vertimiento del lavado de traperos.
CAJA ALCANTARILLADO	<ul style="list-style-type: none">- Vertimientos provenientes de las áreas de: administrativos, cafetería, lavamanos y baños.
CAJA AGUAS NEGRAS	<ul style="list-style-type: none">- Vertimiento proveniente del área de desarrollo.<ul style="list-style-type: none">- Vertimiento sifón PTAR.- Vertimiento de filtro de prensa.

Nota. En esta tabla se evidencia como los diferentes vertimientos están distribuidos en las diferentes cajas. Tomado de L. Esko, "Informe de actividades planta de tratamiento," 2017.

Cada lugar de generación de vertimiento de aguas dentro de la compañía tiene un punto diferente de recolección y vertimiento final, aunque la mayor parte del proceso va a la PTAR, algunos vertimientos se consideran de origen doméstico no industrial y son desechados en el alcantarillado sin previo tratamiento. [21]

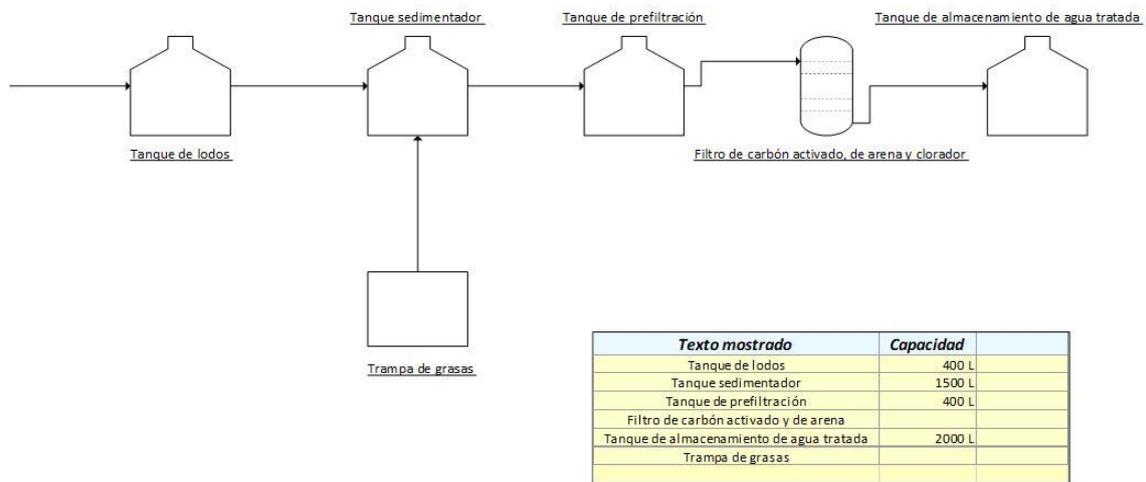
La planta de tratamiento de agua residual PTAR está diseñada para remover material particulado y coloidal de las aguas residuales provenientes del área de lavado de la planta de producción, permitiendo mejorar las condiciones del agua para que sean reutilizadas en los sanitarios.

2.2.1. Distribución de la planta de tratamientos de agua residual

A continuación, se va a mostrar y explicar la planta de tratamientos de agua residual que tiene implementada Laboratorios Esko.

Figura 1

Diagrama de bloques de la PTAR de Laboratorios Esko LTDA.



Nota. Esta imagen muestra el diagrama de bloques de la PTAR de la empresa *Laboratorios Esko*.

El proceso está conformado por:

2.2.1.a. Trampa de grasas. Es la primera unidad en contacto con el agua cruda residual, proveniente de las actividades del área de producción y tiene como función principal la remoción de grasas sobrenadantes que floten. Esta es una trampa de dos compartimientos comunicados por la parte inferior.

El primer compartimiento retiene las grasas y lípidos flotantes y está complementado por una capa de medio filtrante que remueve parte de los sólidos que puedan encontrarse. El segundo compartimiento sirve como tanque de recepción para la eyección de las aguas a la tolva de coagulación y floculación, tiene en su interior y en el fondo la bomba sumergible B1.

2.2.1.b. Bomba sumergible (B1). Es una bomba de 0,5 HP ubicada al fondo del segundo compartimiento de la trampa de grasas y tiene como función sacar las aguas del segundo compartimiento de la trampa e introducirlas en la tolva de coagulación y floculación. Esta bomba cuenta con un flotador FL1 que la protege en caso de un bajo nivel de agua, sin embargo, la operación de esta bomba está controlada por otros dos flotadores.

2.2.1.c. Flotador (FL2). Se encuentra ubicado en el segundo compartimiento de la trampa de grasas y determina si hay o no agua en el compartimiento para ser

bombearse hacia la tolva de coagulación y floculación. Este flotador se encuentra ubicado a un nivel superior al flotador FL1.

2.2.1.d. Flotador (FL3). Se encuentra ubicado en el interior de la tolva de coagulación y floculación y determina si la tolva está llena o si todavía tiene espacio para más agua. Cuando el flotador sube, indica que la tolva está llena y que la bomba B1 debe apagarse. Cuando baja, indica que la tolva todavía puede recibir más agua.

2.2.1.e. Tolva de coagulación y floculación (TV1). Es la unidad donde se realiza la coagulación y la floculación a las aguas efluentes de la trampa de grasas. Esta tolva tiene una altura de 2,02 metros (sin motor), un volumen operacional aproximado de 1500 litros y se compone en la parte superior por un cilindro y en la parte inferior por un cono. La geometría cónica ayuda a disminuir el tiempo de precipitación de coágulos y flóculos, y adicionalmente, facilita el proceso de separación. La tolva viene equipada con un agitador y un motor M1 de 0,5 HP para moverlo. Este motor opera con un variador de velocidad que se encuentra instalado en el tablero de control.

La tolva TV1 está abierta en la parte superior, tiene 3 salidas distribuidas en el cilindro y una salida en la parte inferior. La salida superior es el rebose de la misma, las otras dos salidas del cilindro de la tolva son las salidas para el agua tratada ya sedimentada hacia el tanque de homogenización. La salida de la parte inferior del cono es para sacar los lodos hacia el tanque de lodos (o para extraer el agua tratada en caso de que el tratamiento termine con la flotación).

2.2.1.f. Bomba de vaciado de tolva (B3). Esta bomba de 0,5 HP tiene como función ayudar a sacar los fondos de la tolva, ya sea hacia el tanque de homogenización T1 o el tanque de lodos T2. El encendido y apagado de esta bomba se controla a través de un interruptor manual de 2 posiciones (OFF-ON) instalado a conveniencia en uno de los soportes metálicos de la tolva TV1.

2.2.1.g. Tanque de lodos (T2). Este tanque tiene como objetivo almacenar los lodos generados en la tolva TV1 está equipado con una tapa removible para inspección. Adicionalmente tiene una salida en la parte superior que sirve como rebose, tiene una salida que hace de succión para la bomba B4 en la parte inferior, tiene una salida en la parte inferior donde se encuentra la válvula de lavado V25, y cuenta también con salidas varias para sacar agua que pueda clarificarse durante cualquier proceso de espesamiento de lodos que se realice en este tanque. El tanque permite realizar procedimientos de espesamiento de lodos para facilitar el manejo de

los mismo. Estos procedimientos pueden ir desde dejar sedimentar los lodos por varias horas, hasta realizar una segunda coagulación para aumentar la densidad de los flóculos de los lodos y facilitar su futura disposición.

2.2.1.h. Bomba de filtro prensa (B4). Esta bomba de 3 HP es la encargada de pasar los lodos T2 a través del filtro prensa. Esta bomba tiene un sensor de flotador FL6 en el tanque de lodos que le indica cuando debe apagarse por bajo nivel. Esta bomba se enciende manualmente con un interruptor manual de dos posiciones (ON-OFF) que se encuentra, por conveniencia, en la columna metálica más cercana a la bomba.

2.2.1.i. Tanque de homogenización (T1). Este tanque tiene como objetivo recibir las aguas tratadas de la tolva y recibir las aguas lluvias. En el interior del tanque se encuentra la válvula de flotador VF1 determina si debe o no entrar más agua lluvia y se encuentra también la bomba sumergible B2 de 1,0 HP que se encarga de presurizar el agua para que esta pueda pasar por las unidades y filtración y cloración. El tanque cuenta con una salida en la parte superior como rebose, con una salida en la parte inferior con una válvula de lavado y con la salida de la descarga de la bomba B2.

2.2.1.j. Bomba de filtración (B2). Esta bomba sumergible de 1 HP está encargada de bombear el agua clarificada por el proceso de coagulación y floculación, y el agua lluvia, por los filtros de arena, carbón activado y por el clorador. Esta bomba funciona automáticamente cuando agua llega al tanque T1 y se apaga cuando el nivel en el tanque de almacenamiento T3 se encuentra lleno. Adicionalmente, la bomba cuenta con un interruptor manual de dos posiciones (OFFAUTO) en el tablero de control.

2.2.1.k. Filtro de arena (F1). Este es un filtro de arena de carcasa de fibra de vidrio adaptado con una válvula multipuertos VM1 en la parte superior. Tiene como objetivo remover sólidos, flóculos, color y olor que pueda haber quedado del proceso de coagulación y floculación, para así poder mejorar sus propiedades organolépticas. La válvula multipuertos tiene 5 posiciones: filtrado, retro lavado, rociado, desecho y recirculación. Con la operación sencilla de esta válvula de una única manija y la de la apertura de agua potable (V14), las limpiezas del filtro son fáciles y sencillas.

2.2.1.l. Filtro de carbón activado (F2). Este es un filtro de carbón activado de carcasa de fibra de vidrio adaptado con una válvula multipuertos VM2 en la parte superior. El filtro tiene como objetivo remover sólidos, flóculos, color y olor que pueda

haber quedado del proceso de coagulación y floculación, para así poder mejorar sus propiedades organolépticas. La válvula multipuertos tiene 5 posiciones: filtrado, retro lavado, rociado, desecho y recirculación. Con la operación sencilla de esta válvula de una única manija y la de la apertura de agua potable (V15), las limpiezas del filtro son fáciles y sencillas.

2.2.1.m. Clorador (CL1). Este clorador se encarga de entregar el cloro necesario al agua para una apropiada desinfección. Con este clorador solo deben utilizarse tabletas de ácido tricloroisocianúrico (TCCA). Es muy importante no mezclar distintos tipos de cloro en el clorador ya que esto puede generar riesgos de explosión.

2.2.1.n. Tanque de almacenamiento principal (T3). Este tanque de 2000 litros se encarga de almacenar el agua que ya ha sido tratada. El agua en este tanque es la que se lleva directamente a los sanitarios. El tanque está equipado con una salida en la parte inferior para funciones de lavado. Tiene también dos salidas en la parte superior que funcionan como reboses. Adicionalmente, el tanque cuenta con una entrada de agua potable (la cual está regulada por la válvula VF2), la entrada de agua tratada, y una salida hacia los sanitarios (la succión de bomba de eyección B5). En el interior del tanque se encuentran los sensores de flotador FL5 y FL7, que le indican al sistema el momento en el que el tanque está en su nivel mínimo, y el momento en el que el tanque está en su nivel máximo.

2.2.1.o. Bomba de suministro a sanitarios (B5). Esta bomba es la encargada de suministrar el agua tratada a los sanitarios del laboratorio. La bomba se enciende automáticamente cuando la línea de descarga de la misma se despresuriza.

2.2.1.p. Tablero de control. Este tablero eléctrico contiene todas las protecciones eléctricas de los motores de la PTAR y se encarga de distribuir la energía a todos los componentes de la planta. La superficie del tablero está equipada con dos interruptores (con sus respectivos testigos luminosos) y con una apertura que permite acceso a la interfaz de control del variador de velocidad del motor de mezclado de la tolva de coagulación

2.3. Punto de muestreo

Para realizar la caracterización de las aguas residuales, se debe tener en cuenta los puntos de muestreo. La caracterización fue realizada por Analquim Ltda, se efectuó el 26 de septiembre de 2019. El único punto de muestreo está ubicado en el tanque

de almacenamiento principal (T3), ya que es el punto final antes de la redistribución en el descargue de los sanitarios y es donde se encuentra el agua ya tratada, es por esto que la muestra es puntual.

2.4. Revisión de los datos históricos

La revisión de los datos históricos para la caracterización de vertimientos de la PTAR de Laboratorios ESKO LTDA. se tomó a partir de la información recopilada del único informe de monitoreo e interpretación realizado por Analquim Ltda. el 26 de septiembre de 2019 [22]. Así en la Tabla 3 se presentan los resultados de las mediciones realizadas y su comparación con la Resolución 0631 del 2015 para establecer los valores máximos permisibles:

Tabla 3

Registro de los parámetros básicos sanitarios en el año 2019

PARÁMETRO	UNIDADES	VALOR OBTENIDO EN LABORATORIO	VALOR MÁXIMO PERMISIBLE
ph	Unidades de pH	5,99 - 7,24	5,00 a 9,00
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L O ₂	258	500
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	mg/L O ₂	80	250
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	mg/L	6	80
Sólidos Sedimentables (SSED)	mg/L	<0,1	1
Grasas y Aceites	mg/L	<6	15
Fenoles Totales	mg/L	0,56	0,2

Tabla 3. Continuación

Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM)	mg/L	2,66	10
Temperatura	°C	18,5 - 24,9	40
Caudal	L/s	0,261	N.E
Hidrocarburos totales (HTP)	mg/L	<10	10
Hidrocarburos Aromáticos policíclicos	mg/L	<0,0025	Análisis y reporte
BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno)	mg/L	<0,050	Análisis y reporte
Ortofosfatos	mg/L	<0,03	Análisis y reporte
Fosforo Total	mg/L	<0,1	Análisis y reporte
Nitratos	mg/L	0,6	Análisis y reporte
Nitritos	mg/L	<0,007	Análisis y reporte
Cloruros	mg/L	22,3	250
Sulfatos	mg/L	<10	400
Sulfuros	mg/L	<0,8	1
Mercurio	mg/L	<0,002	0,01
Cadmio	mg/L	<0,003	0,05

Nota. Esta tabla muestra el registro de los parámetros básicos sanitarios que el Laboratorio Analquim realizó para la empresa Laboratorios Esko LTDA. Tomado de ANALQUIM, "INFORME DE MONITOREO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS – AGUA SUPERFICIAL - Época de Verano," 2019.

A partir de los datos suministrados por la caracterización realizada por el laboratorio Analquim Ltda. se observa que en el año 2019 los valores medidos se encuentran dentro de los valores máximos permisibles por la Resolución 0631 del 2015, a excepción del apartado de Fenoles totales, puesto que su concentración se encuentra en 0,56 mg/L, siendo superior al valor máximo permisible.

2.5. Origen de los fenoles en el efluente

Haciendo una revisión de la lista de materias primas manejadas por la empresa Laboratorios ESKO LTDA suministrada por ellos mismos, se encontró que manejan algunos compuestos con presencia de fenol, como lo son:

- Triclosan
- Quinona
- Hidroquinona
- Cloruro de bencilo

El agua que se procesa en la planta de tratamientos de aguas residuales es la proveniente de la limpieza de los equipos, algunas trazas de los compuestos son arrastradas en la limpieza y se ven reflejadas en el agua que se produce, como el sistema actual de tratamiento no contempla la remoción de dichos compuestos, se incumple la normativa pertinente, como lo indica la caracterización realizada por el laboratorio Analquim Ltda en 2019.

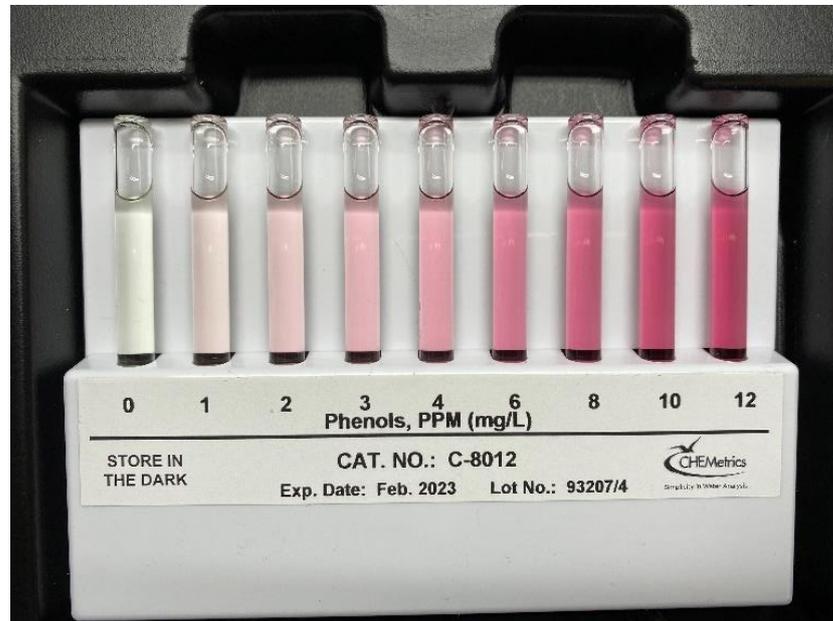
2.6. Cuantificación de fenol

2.6.1. *Kit de fenoles*

Para la determinación de la concentración de fenoles se hizo la compra del kit K-8012/R-8012 Phenol CHEMetrics® Kit, de la empresa CHEMetrics, ya que un laboratorio externo requiere de al menos 1 L de muestra y los ensayos que se van a manejar cuentan con solo 100 mL cada uno, y realizar la cuantificación según indica la NTC 4582 del 2015 no es posible por los impedimentos de la extracción con cloroformo además del volumen de agua mínimo requerido, es por esto que se vio útil el manejo de este kit.

El kit consta de dos comparadores, primero el comparador para concentraciones mayores a 1 mg/L de fenol, como se muestra en la Figura 2.

Figura 2
Comparador kit de fenoles



Nota. Esta imagen muestra el comparador del kit K-8012/R-8012 Phenol CHEMetrics® Kit para concentraciones entre 1 mg/L y 12 mg/L.

El segundo comparador permite identificar concentraciones entre 0 mg/L y 1 mg/L de fenol, con intervalos de 0,1 mg/L, como muestra la Figura 3, ninguno de los dos comparadores es exacto, tanto por la sensibilidad del indicador como por la necesidad de usar la visión como comparador.

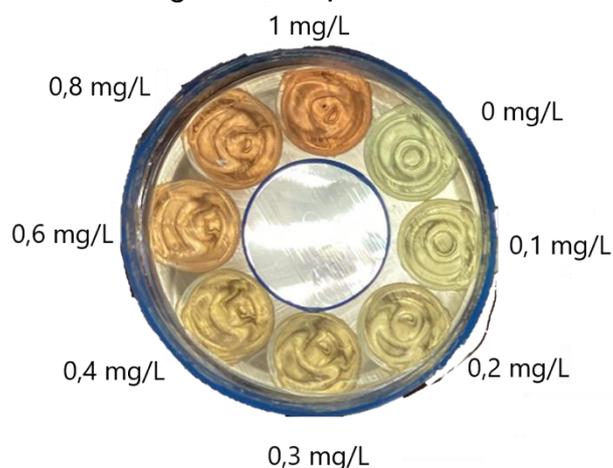
Figura 3
Comparador kit de fenoles



Nota. Esta imagen muestra el comparador del kit K-8012/R-8012 Phenol CHEMets® Kit de fenoles para concentraciones de 0 mg/L y 1 mg/L.

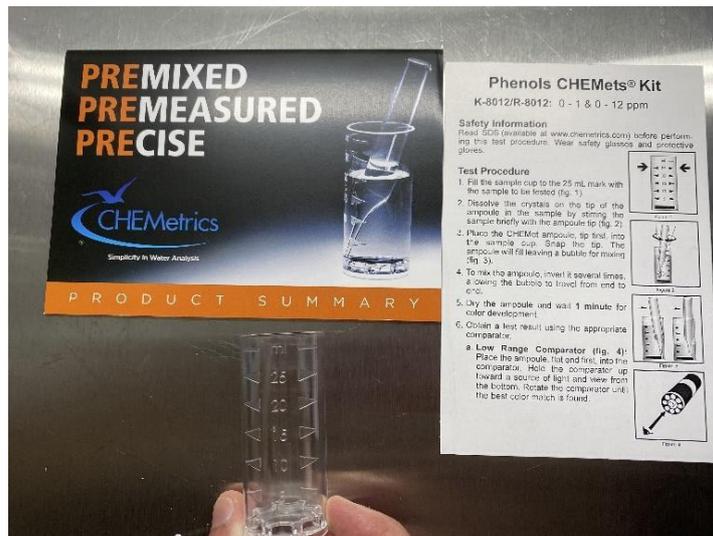
Tiene, además, un envase de 25 mL que permite medir el volumen de la muestra necesario, las instrucciones y una caja con 30 tubos de ensayo que contienen el indicador y la 4-aminoantipirina necesaria para la identificación del fenol, como se muestra en las Figuras 4 y 5.

Figura 4
Escala del segundo comparador del kit de fenoles



Nota. Esta imagen muestra la escala del segundo comparador del kit K-8012/R-8012 Phenol CHEMets® Kit de fenoles.

Figura 5
Envase 25 ml del kit de fenoles



Nota. En esta imagen está el envase de 25 ml con el cual se permite medir el volumen de la muestra de agua.

Figura 6
Tubos de ensayo kit de fenoles



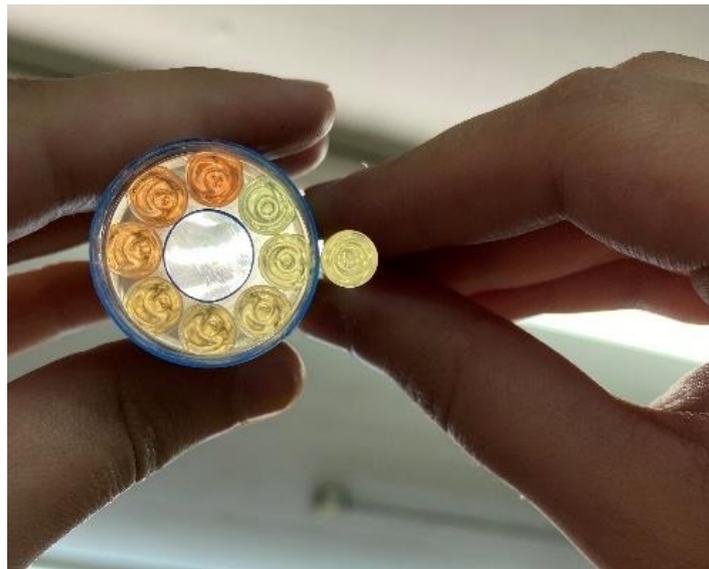
Nota. En esta imagen se observa los tubos de ensayo del kit K-8012/R-8012 Phenol CHEMets® Kit de fenoles, que contienen en su interior un indicador y en la punta 4-aminoantipirina para la identificación de fenoles.

Para su uso se deben medir 25 mL de la muestra, se disuelve el indicador agitando el tubo de ensayo dentro de la muestra, y cuando este disuelto se rompe la punta del tubo, para que automáticamente, por capilaridad, absorba la muestra, dentro del tubo se encuentra la 4-aminoantipirina que reacciona con el fenol de la muestra, y se colora, es necesario agitar durante 1 minuto antes de medir la concentración con el comparador correspondiente.

2.6.2. Concentración Inicial

Se hizo la medición de la concentración inicial de fenol haciendo uso del kit, como existe el problema que se mencionó previamente respecto a la incertidumbre en la medición, y como se muestra en la Figura 7, se decidió trabajar con una concentración inicial de 0,1 mg/L de fenol.

Figura 7
Concentración inicial de fenoles



Nota. En esta imagen se muestra que la concentración inicial de fenoles de la muestra entregada por la empresa Laboratorios Esko LTDA es de 0,1 mg/L.

Según lo evidenciado en el diagnóstico, con la caracterización de las aguas residuales realizada en un laboratorio externo en el año 2019, se evidencia que el contenido de fenol se encuentra fuera de los límites permitidos en la resolución 0631 del 2015, con una concentración de 0,56 mg/L, por lo que se es necesario la implementación de un tratamiento adicional para la disminución de este contaminante. A continuación, se

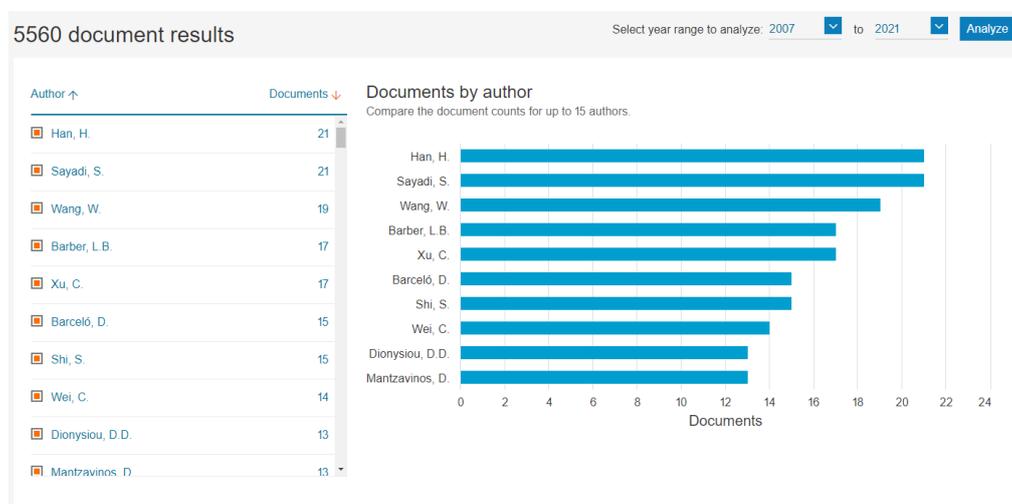
hará una breve descripción de las diferentes tecnologías que actualmente son utilizadas en la industria para la remoción de fenoles, con el fin de conocer que otras alternativas se pueden contemplar como tratamiento.

3. EVALUACION TEORICA DE LOS TRATAMIENTOS PARA LA REMOCIÓN DE FENOLES EN AGUAS RESIDUALES

Para la selección de estas tecnologías adicionales, se realizó una revisión bibliográfica, acompañada de una bibliometría, donde se filtraron artículos científicos, libros, capítulos de libros, revisiones, entre otros, además se hizo una filtración por año, solo mirando publicaciones desde el 2007 al día de hoy, asimismo que en su resumen o “abstract”, se encontraran palabras como “phenol”, “waste water”, “degradation”, “removal” y “treatment”.

La búsqueda se realizó en la herramienta Scopus, aparte del filtro de año de publicación y tipo de documento, que se mencionaron anteriormente, se filtró el área de interés a los campos de “ciencia ambiental”, “ingeniería”, “química”, “ingeniería química” y “ciencias agrícolas y biológicas”, a continuación, se muestran algunos de los resultados obtenidos para las búsquedas realizadas.

Figura 8
Resultados de la búsqueda con palabras clave “phenol” y “waste water”

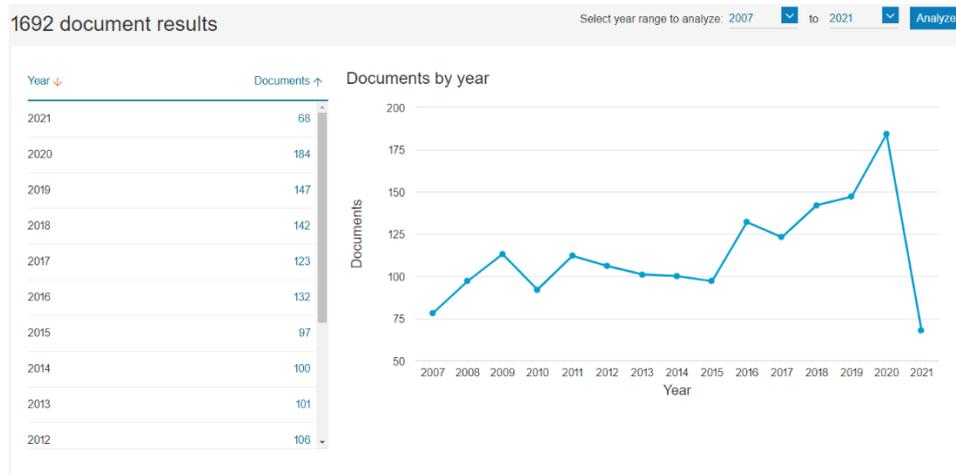


Nota. La figura muestra los autores encontrados para la búsqueda con las palabras clave “phenol” y “waste wáter”.

Los autores que han investigado sobre la presencia de fenoles en agua residual y su tratamiento se mantienen constantes para las diferentes búsquedas que se hicieron, se resalta la presencia de Hongjun Han y Sami Sayadi quienes son los que más documentos tienen redactados dentro de la búsqueda.

Figura 9

Resultados de la búsqueda con palabras clave “phenol”, “waste water” y “degradation”

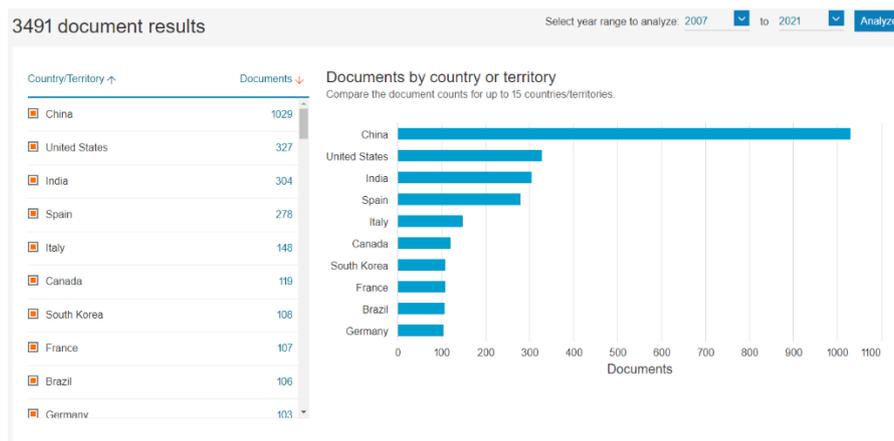


Nota. La figura muestra la cantidad de documentos publicados en los años comprendidos entre 2007 y 2021 para las palabras clave “phenol”, “waste water” y “degradation”.

Para todas las búsquedas realizadas se ve un incremento en la cantidad de publicaciones que se realizan año por año del tema de fenoles y su presencia en el agua, esto demuestra el aumento de interés y relevancia que ha tenido el tema en la actualidad.

Figura 10

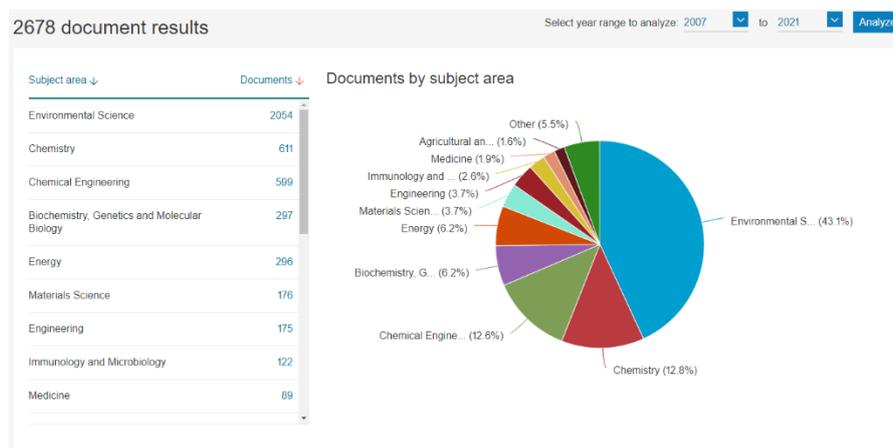
Resultados de la búsqueda con palabras clave “phenol”, “waste water” y “treatment”



Nota. La figura muestra los países de proveniencia de los documentos publicados comprendidos entre 2007 y 2021 para las palabras clave “phenol”, “waste water” y “treatment”.

Para todas las búsquedas se encontró que la mayoría de los documentos proviene de China y son financiados por universidades o centros de investigación chinos, le sigue Estados Unidos e India.

Figura 11
Resultados de la búsqueda con palabras clave “phenol”, “waste water” y “removal”



Nota. La figura muestra las áreas de interés de los documentos publicados en los años comprendidos entre 2007 y 2021 para las palabras clave “phenol”, “waste water” y “removal”.

Las áreas de interés que corresponden a la mayoría de publicaciones son la ciencia ambiental, química e ingeniería química, a pesar de que áreas como bioquímica, energías o ciencia de materiales tienen un aporte importante, no son áreas de interés para el proyecto, es por esto que se tuvieron en cuenta no más los documentos pertenecientes a las áreas mencionadas previamente.

La primera búsqueda que se hizo, usando las palabras clave “phenol” y “waste water” fue la que más documentos encontró, con un total de 5560 documentos entre artículos, revisiones, libros y capítulos de libro, cuando se empezaron a aplicar filtros adicionales como las palabras “degradation”, “treatment” o “removal” se empezó a reducir considerablemente la cantidad de documentos, llegando a un mínimo de 1692 para la palabra “degradation”.

3.1. Tratamientos no biológicos

Los tratamientos no biológicos o tradicionales se pueden dividir en métodos físicos y métodos químicos, cada tipo de tratamiento tiene sus respectivas ventajas y desventajas en comparación con otros métodos, además de limitaciones.

3.1.1. Tratamientos Físicos

3.1.1.a. Coagulación. Los materiales suspendidos en el agua provenientes de actividades industriales en este caso deben ser removidos ya que causan una disminución de la calidad del agua al reducir la claridad (aumentando la turbiedad), alterando el color, causando infecciones y cargando compuestos tóxicos que pueden ser absorbidos. Este proceso hace uso de coagulantes metálicos comúnmente basados en aluminio, el más usado es el sulfato de aluminio, según las características del agua se pueden usar cloruros de aluminio o aluminatos de sodio.

Esta aplicación es usada debido al relativo bajo costo del material y a la simplicidad de la aplicación, sin embargo, presenta desventajas como el necesario ajuste del pH antes o después del tratamiento, la alta sensibilidad a cambios de temperatura, el uso de dosis mayores debido a la ineficiencia, la sensibilidad a las demás propiedades de la muestra y la alta producción de lodos.[23]

Para mejorar la eficiencia de estos procesos se han realizado investigaciones en la polimerización de las sales de aluminio, estos compuestos presentan mayor eficiencia en dosis bajas, un rango de pH y temperatura mayor en comparación con las soluciones de aluminio no polimerizadas.

La reacción más importante es la hidroxilación del aluminio, esta reacción es incontrolable y rápida y deriva en los cambios de pH de la muestra al final del proceso, las sales polimerizadas eliminan estas reacciones, así mismo reducen el impacto al pH al final del tratamiento.[23]

Como indica Tzoupanos, a pesar de su mejora en las propiedades, la eficiencia de los coagulantes prepolimerizados sigue siendo inferior comparada con los polielectrolitos orgánicos, el aumento del peso molecular del polímero implica mejores propiedades de floculación, los coagulantes de nueva generación siguen con este concepto, agregar aditivos a una sal prepolimerizada para aumentar el peso molecular sin comprometer la estabilidad de la molécula, los aditivos pueden ser de tipo inorgánico o de tipo orgánico.

A pesar que los biopolímeros son menos tóxicos, se usan más los polímeros sintéticos ya que estos presentan mayor eficiencia como floculantes, principalmente debido a la

posibilidad de controlar las propiedades como el número y tipo de unidades cargadas y el peso molecular, además de ser más económicos que los biopolímeros.[23]

Algunos de los polímeros sintéticos usados están basados en la poliacrilamida y sus copolímeros como el ácido poliacrílico, los más comunes son poliacrilamidas hidrolizadas y cloruro de polidialdimetilamonio.

Los polímeros orgánicos no son usados generalmente como coagulantes primarios, se usan principalmente como aditivos floculantes. A pesar de su eficiencia, estos coagulantes tienen limitantes significativas, como el costo alto de tratamiento. Considerando que además del precio del producto en sí, este viene generalmente en forma sólida por lo que se debe invertir en una disolución, aumentando así el costo global del tratamiento.[23]

Se hizo un estudio con agua residual de la industria cosmética de Polonia entre octubre de 2011 y febrero de 2012, en esta fábrica se produce una gran variedad de cosméticos como labiales, shampoos, jabones líquidos y cremas. Las muestras de agua fueron tratadas por una electrocoagulación seguido de una oxidación fotocatalítica con TiO_2 . Se prepararon 3 muestras usando diferentes coagulantes, en la primera se usó $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, en la segunda y tercera se usaron Brentafloc F3 y PAX16, respectivamente, ambos son coagulantes que contienen sales de aluminio, la corrección del pH se hizo después de la adición del coagulante usando NaOH o H_2SO_4 según fuera necesario.

Para la muestra A se logró una remoción del 74,6% de la Demanda Química de Oxígeno, para la muestra B una remoción del 37,7% DQO y para la muestra C un porcentaje de remoción del 74,0%.[24]

3.1.1.b. Adsorción. Es considerado un fenómeno natural, en el que las moléculas disueltas se acumulan en la superficie de un material adsorbente. Este fenómeno ocurre cuando las fuerzas de atracción de la superficie del carbono sobrepasan las fuerzas de atracción del líquido en cuestión.

El carbón activado es usado como adsorbente en procesos de separación y purificación en las industrias. Está compuesto por una estructura homogénea micro porosa con una gran superficie, mostrando una gran estabilidad a la radiación. Existen diferentes fuentes para la obtención de carbón activado, se han realizado diferentes

estudios en la búsqueda de contribuir en la sostenibilidad ambiental y ofrecer beneficios para futuras aplicaciones industriales. [25]

Esta tecnología es altamente usada debido a las excelentes características de adsorción del carbón activado, además del bajo costo de producción de este, la facilidad de operar con él y de las condiciones operativas. Como desventaja, el fenol tiene un tamaño de partícula relativamente pequeño, por lo cual puede penetrar fácilmente en estructura micro porosas, además que no todos los carbones activados presentan el mismo tamaño de poro, lo cual influye en la cinética de adsorción. Debido a esto se han desarrollado diferentes alternativas de carbón activado, las cuales han permitido que se observe una mejor adsorción y una fuerte afinidad por los fenoles en comparación al carbón activado comercial. [26]

El mecanismo y la capacidad de adsorción de los compuestos fenólicos en la superficie del carbón activado están influidos por las características del adsorbato, entre ellas está el tamaño molecular, el cual define las características del adsorbato y la cinética de adsorción, la solubilidad, que controla las interacciones hidrofóbicas, el valor de pKa, que rige las propiedades de disociación del adsorbato en la solución, entre otras.

Otra opción para realizar adsorción es usando lodos secos, los cuales han tenido eficiencia removiendo compuestos fenólicos de aguas residuales. Temperatura y pH son dos parámetros críticos que tienen un gran impacto en la eficiencia de la adsorción de los compuestos fenólicos usando lodos secos. El pH de la solución influencia significativamente en el proceso de adsorción, ya que afecta el grado de especiación de los compuestos fenólicos, así como a las propiedades superficiales el lodo.[27]

3.1.1.c. Tecnología de membranas. “Las membranas se emplean en tratamientos de aguas residuales e industriales para la obtención de efluentes de alta calidad, previo a su vertido al medio natural, o para varias aplicaciones en reutilización de agua, como una tecnología que ahorra espacio”. [28]

En función del material de la membrana, las membranas pueden clasificarse en: membranas cerámicas, membranas poliméricas y membranas compuestas.

- Membranas cerámicas: estas presentan un buen rendimiento de filtración debido a su alta resistencia química, integridad, naturaleza inerte y facilidad de limpieza, lo que conlleva bajos costes de operación. Además, las membranas cerámicas son altamente hidrofílicas, lo que las hace más resistentes al ensuciamiento. Sin embargo, su alto coste de fabricación y su naturaleza frágil hacen que no se puedan utilizar en diversas aplicaciones.
- Membranas poliméricas: son los tipos de membranas más comunes disponibles. Las membranas poliméricas tienen una buena resistencia física y química, pero son principalmente hidrofóbicas. Algunos ejemplos de materiales de membranas poliméricas son el fluoruro de polivinilideno (PVDF), la polietersulfona (PES), el poliacrilonitrilo (PAN), la polisulfona (PS), el polietileno (PE), el butiral de polivinilo (PVB), etc. Debido a su naturaleza hidrofóbica, las membranas poliméricas tienden a ensuciarse con facilidad, pero su uso está muy extendido en la actualidad debido a la facilidad de fabricación del tamaño de los poros.
- Membranas compuestas: son membranas producidas a partir de dos o más materiales para combinar los puntos fuertes de los materiales constitutivos en el producto final. Normalmente, un material constituye la superficie activa y otra forma la capa de soporte. En las aplicaciones de membranas compuestas, las membranas hidrofóbicas se recubren con un polímero hidrofílico para superar el defecto de ensuciamiento. [29]

Otro factor importante en la elección de la membrana es el tamaño del poro, las membranas más utilizadas en el tratamiento de aguas residuales se agrupan en dos:

- Membranas porosas: estas emplean el tamizado o la exclusión de tamaño para separar las partículas, en este grupo están las membranas de microfiltración, ultrafiltración y nanofiltración de extremo suelto.
- Membranas no porosas: estas en cambio, aprovechan las diferencias de difusividad o solubilidad entre el disolvente y el soluto en las membranas para la separación, en este grupo se encuentran las membranas de extremo cerrado y las de osmosis inversa. [29]

En la degradación de fenoles son una alternativa eficiente debido a su bajo consumo de energía, su pequeña huella de carbono, la alta calidad de los efluentes y su fácil

ampliación mediante modelos de membranas [30]. Las tecnologías de membrana más importante son:

- a. Biorreactores de membrana extractiva (EMBR) y membranas de fibra hueca
- b. Reactores de membrana fotocatalíticos
- c. Osmosis inversa
- d. Nanofiltración
- e. Pervaporación
- f. Destilación por membrana

Unos de los inconvenientes que presenta esta tecnología y que “afecta la retención organizada por parte de las membranas, son las características de la membrana, las propiedades fisicoquímicas de los solutos, la química de la solución y las condiciones operativas” , en ciertas ocasiones se presenta un rechazo de los compuestos fenólicos, esto se puede “atribuir en parte al carácter hidrofóbico específico, el tamaño molecular y a las propiedades de denegación de los electrones de estos compuestos” [28]. Otro factor que influye es que el “agua de alimentación a menudo es el efluente secundario que contiene un alto nivel de actividad biológica, lo que puede causar el ensuciamiento de la membrana y el fallo irreversible del sistema”[31]. Otro elemento para tener en cuenta de esta tecnología es que está limitado por su alto coste operativo y de mantenimiento, ya que requiere una alta presión en el sistema y un amplio pretratamiento. [32]

3.1.2. Tratamientos Químicos:

3.1.2.a. Oxidación Química. Los oxidantes químicos permiten la descomposición de fenoles acuosos, este tipo de proceso tiene un bajo costo de energía y reactivos, se puede operar a condiciones templadas (temperatura y pH), los químicos más usados son ozono, cloro, dióxido de cloro, cloraminas, ferrato y permanganato. El ferrato y permanganato son los más estudiados debido a sus altos potenciales reductores, el ferrato se reduce a hidróxido férrico, que tiene propiedades coagulantes y floculantes. Por otro lado, el permanganato es relativamente económico, fácil de manejar (incluyendo el lodo producido), estable y no forma subproductos clorinados o bromados.[33]

La oxidación usando permanganato es efectiva removiendo disruptores endocrinos como el bisfenol A, la velocidad de reacción depende del pH y la temperatura, la ruta de reacción es similar a la ozonificación del bisfenol A, donde el anillo de benceno se ve afectado en las etapas iniciales de la oxidación.[25]

Se hizo un experimento para probar la remoción del bisfenol A usando permanganato de potasio, ambos de grado analítico, el permanganato estaba presente en una tasa de 5 a 1 en comparación con el bisfenol, a un pH de 7 y concentración constante de bisfenol A, la constante cinética de la reacción aumentó linealmente a medida que aumentaba la concentración de Magnesio (VII). La temperatura tiene un papel muy importante en la oxidación de bisfenol A usando permanganato, la constante cinética aumentó significativamente en temperaturas entre 10 °C a 30 °C.[34]

3.1.2.b. Oxidación Electroquímica. Este método es una alternativa a la oxidación química, difiere en que no es necesario el uso de un reactivo, pero aumenta los costos de equipos y energía, este tratamiento se divide en oxidación directa e indirecta. La directa o anódica sucede durante una absorción de contaminantes en la superficie del ánodo. Se usan diferentes materiales para el ánodo, tales como platino, dióxido de plomo, dióxido de estaño, dióxido de iridio y BDD (boron doped diamond), algunos parámetros como la densidad, pH, el mismo material y los electrolitos usados afectan la eficiencia del tratamiento.[35]

La indirecta toma ventaja de reactivos intermediarios para afectar la transferencia de electrones entre el electrodo y el contaminante, previniendo las incrustaciones en el electrodo por parte de los contaminantes. La presencia de iones cloruro mejoran la remoción de los compuestos fenólicos a través del proceso de oxidación electroquímica por cloro activado, que permite la formación de Cl_2 o ClO^- . [25]

Se realizó una investigación para determinar el desempeño de un sistema electroquímico de oxidación para la remoción de m-cresol en agua, usando un ánodo de $\text{Ti}/\text{SnO}_2\text{-Sb}_2\text{O}_5\text{-IrO}_2$ y un cátodo poroso compuesto de grafito, un nanotubo de carbono y PTFE (politetrafluoretileno). La producción de H_2O_2 por reducción de O_2 usando los cátodos fue medida a un pH de 3, se obtuvo una mejor obtención cuando el potencial catódico era negativo (-1,0 V).

El tratamiento de 100 mg/L de m-cresol se realizó con diferentes concentraciones iniciales de Fe^{2+} a un potencial catódico de -1,0 V, se monitoreó el deceso de la

concentración de m-cresol llegando a un pico a los 7,25 minutos, la descomposición del compuesto se da por la acción combinada de la oxidación electro-Fenton y la oxidación aniónica en la presencia de Fe_2^+ , la degradación más rápida de m-cresol se logra con una concentración de 22,4 mg/L de Fe_2^+ . Durante el proceso se forman algunos subproductos, como el ácido glicólico, 2-metilhidroquinona y 2-metil-p-benzoquinona que fueron completamente removidos a lo largo de la oxidación.[36]

3.1.2.c. Procesos Avanzados de Oxidación. Estos procesos son una serie de técnicas que tienen la característica común, que forman radicales hidroxilo (-OH) [25] para impulsar los procesos de oxidación, estos radicales son capaces de mineralizar la mayoría de los compuestos orgánicos, incluidos los fenólicos[25]. Los radicales hidroxilos son especies reactivas, que atacan a la mayor parte de las moléculas orgánicas con constantes de velocidad generalmente del orden de $10^6 - 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. [37]

Un objetivo de la utilización de los procesos avanzados de oxidación es la mineralización de los contaminantes a dióxido de carbono, agua y compuestos inorgánicos o, al menos, su transformación a productos inocuos. Estos procesos ofrecen varios métodos alternativos de producción de radicales hidroxilo, lo que permite un mejor cumplimiento de los requisitos específicos de tratamiento [37]. Tienen como ventaja que pueden funcionar con menos requisitos energéticos que la oxidación directa [38], además de que pueden trabajar a temperaturas y presiones cercanas a la ambiente

Estos incluyen tratamiento con ozono, la degradación fotocatalítica, el proceso Fenton, la oxidación por aire húmedo y el tratamiento con UV/H₂O. [30]

3.1.2.c.i. Oxidación Fenton. “Es uno de los métodos más eficaces de oxidación de contaminantes orgánicos, ha mostrado ser eficaz en el tratamiento de diversos componentes de las aguas residuales industriales, como las aminas aromáticas, una amplia variedad de colorantes, así como muchas otras sustancias, como, por ejemplo, pesticidas, tensoactivos” [39] y fenoles. El proceso Fenton, es una reacción entre el peróxido de hidrógeno y el hierro para generar radicales hidroxilo, en condiciones ácidas [40]. Este proceso puede ser usado como pretratamiento para reducir la toxicidad de los contaminantes. [25]

“Se utiliza eficazmente para destruir contaminantes orgánicos e inorgánicos utilizando la capacidad de oxidación de los radicales hidroxilo generados a partir de la destrucción catalítica del H_2O_2 por el ion hierro” [40].

“Este proceso ha sido aplicado en aguas residuales industriales, como industrias químicas, farmacéuticas, textiles, de pulpa de papel, cosmética, y ha dado como resultado una reducción significativa de la toxicidad, una mejora de la biodegradabilidad y la eliminación del color y el olor”. [38]

Esta tecnología depende en gran medida del pH de la solución, principalmente por los factores de especiación del hierro y del peróxido de hidrógeno. Se ha descubierto que el pH óptimo para estas reacciones está en torno a 3. A un pH inferior se observa una disminución de la eficacia de la degradación, además, que las velocidades de reacción disminuyen de igual forma, pero a un pH superior el potencial de oxidación de los radicales hidroxilo disminuye, además que la auto descomposición del peróxido de hidrógeno se acelera por la presencia de iones H^+ [41]. Por lo tanto, se requiere un control adecuado del pH para aumentar la eficiencia el proceso.

Por otro lado, la tasa de degradación aumenta con el incremento de la concentración de ion ferroso sin exceder los límites, puesto que conduciría a un aumento de la cantidad no utilizada de sales de hierro, lo que produciría un aumento del contenido total de sólidos disueltos de la corriente y efluentes [41]. Otro factor importante en la eficiencia global de degradación de este proceso es la concentración de peróxido de hidrógeno, normalmente se ha observado que el porcentaje de degradación del contaminante aumenta con el incremento del peróxido de hidrógeno [41] pero no se recomienda una cantidad excesiva puesto que esto aumenta el DQO, lo que puede ser perjudicial para muchos organismos, además que puede generar la eliminación de radicales hidroxilo. [38]

Las principales razones por las que este proceso es altamente usado es su alta eficiencia de la mineralización que permite la transformación de los contaminantes orgánicos en CO_2 no tóxico, tiene un tiempo de reacción menor al de otros procesos de oxidación avanzada, los radicales hidroxilo se generan a presión y temperatura ambiente [37], lo cual evita costos adicionales en instalaciones y equipos, por otro lado una de las ventajas que presenta este proceso es que no es necesario ningún aporte de energía para activar el peróxido de hidrógeno [39], lo que generaría

mayores costos. Al mismo tiempo, este método ofrece una fuente rentable de radicales hidroxilo, utilizando reactivos fáciles de manejar[39], conseguir y almacenar, son seguros y no causan daños al medio ambiente. [41]

Una de las desventajas más relevantes de este proceso, es el coste de los reactivos, H_2O_2 , Fe^{2+} y aunque este proceso tiene una alta eficiencia de oxidación, su función está limitada por la producción final de lodos de hierro férrico [40], lo que presenta varios inconvenientes económicos y medioambientales [41]. Por otro lado, este proceso produce una contaminación adicional del agua causada por el catalizador utilizado, como sal de hierro, que no puede ser retenido en el proceso [39], asimismo el desperdicio de oxidantes debido al efecto de barrido de radicales del peróxido de hidrógeno y su descomposición, son factores que delimitan este proceso. [41]

Existen diferentes variantes de la oxidación Fenton que son utilizadas para la degradación de contaminantes en las aguas residuales industriales, como por ejemplo los fenoles, entre ellas están el proceso Foto-Fenton, Sono-Fenton, Electro-Fenton, aunque estas no son las únicas variaciones que se presentan en esta tecnología, puesto que entre ellas pueden existir posibles combinaciones, que pueden aumentar la eficiencia del proceso en la degradación de compuestos contaminantes en aguas residuales industriales.

3.1.2.c.ii. Ozonificación. En este proceso, las moléculas de ozono actúan directamente sobre los sitios nucleófilos y los enlaces insaturados de los compuestos orgánicos [42]. “Se pueden considerar dos posibles acciones oxidantes, la primera o método directo, implica la reacción entre los compuestos disueltos por el ozono, el segundo o método radical, se dan reacciones entre los radicales hidroxilo generados en la descomposición del ozono y los compuestos disueltos.[38]

La ozonificación se utiliza en muchas plantas de aguas residuales como tratamiento terciario y también para la oxidación de contaminantes orgánicos de efluentes industriales o agrícolas [39], ayuda en los procesos de coagulación y filtración, y como primera barrera para los microorganismos [43]. Esta tecnología implica la reacción directa entre el ozono molecular (O_3) y los compuestos disueltos o la posterior transformación del O_3 en oxidantes como radicales hidroxilo, radicales hidroperóxidos, entre otros, que luego reaccionan con los compuestos objetivo. [25]

“El ozono en condiciones estándar de temperatura y presión tiene una baja solubilidad en el agua, es inestable y tiene una vida media de pocos minutos, por lo tanto, para tener la cantidad necesaria de esta sustancia en el medio de reacción hay que utilizar una cantidad mayor” [39]. Es de los oxidantes más potentes y eficaces que se han empleado en la industria [43], la dosis de este compuesto depende de una serie de factores, siendo el más importante el tipo de efluente que se trata, estudios anteriores han demostrado que las dosis de ozono oscilan entre unos pocos mg/L y más de 10 mg/L para los efluentes primarios. [44]

“Esta técnica es eficaz en muchas aplicaciones, como la eliminación del color, la desinfección, la eliminación del olor y el sabor, la eliminación de magnesio y compuestos orgánicos” [39]. En una investigación realizada por Miksch se determinó la eficacia de varios procesos de oxidación avanza para los “nonilfenoles (NP), para la ozonificación se encontró que la descomposición dependía de la concentración inicial de ozono, se inició con una concentración inicial de NP de 10 mg/L con dosis de ozono de 0,8, 1 y 2 mg/L y se consiguió eliminar el 45 %, 52% y 60%, respectivamente de NP en 3 minutos de reacción”. [25]

La reacción entre el fenol y el ozono se produce rápidamente [43]. Este proceso funciona con valores altos de pH, ya que la reacción se produce en un régimen controlado por difusión, el empleo de un eyector para la introducción del ozono puede acelerar la reacción, debido a una transferencia de masa de ozono más rápida [43]. Aunque con el uso de ultrasonidos se puede obtener un mayor aumento de la conversión del fenol, pero, esto es más aplicable a un pH neutro. [43]

Una de las ventajas que presenta esta tecnología es que, al igual que el peróxido de hidrogeno y el oxígeno, no introducen iones adicionales en el medio [39], además de esto se descompone en oxígeno sin producir subproductos derivados de la reacción de oxidación. [38]

La mayor desventaja de esta tecnología es que al usar el ozono como compuesto principal, este tiene que ser producido in situ, por lo tanto, el costo de esta sustancia es muy elevado. Además, al tratarse de un gas, hay que prever un sistema de recuperación que encarecerá aún más el sistema de obtención[39], por lo tanto, el coste energético de la ozonización puede limitar muchas aplicaciones prácticas [38].

Asimismo, este proceso puede producir subproductos cancerígenos, lo que aumenta la contaminación ambiente y limita aún más sus aplicaciones. [30]

3.1.2.c.iii. Degradación Fotocatalítica. La fotocatalisis es un proceso en el cual una sustancia se activa al absorber un fotón, acelerando así una reacción, sin consumir el fotón, esto se da en presencia de un catalizador semiconductor como lo es el TiO_2 , ZnO , Fe_2O_3 , CdS o ZnS [45]. Su mayor ventaja es que la mayoría de contaminantes orgánicos pueden ser mineralizados hasta CO_2 y ácidos minerales.[46]

La fotocatalisis heterogénea usando UV/ TiO_2 es de las más comunes y se basa en la absorción de fotones con energía mayor a 3.2 eV a longitudes de onda menores que 390 nm.[45]

Existen algunos factores que pueden afectar el rendimiento de la degradación, la cantidad de TiO_2 es directamente proporcional a la tasa total de reacción fotocatalítica pero cuando el TiO_2 alcanza un nivel de saturación el coeficiente de absorción de fotones lumínicos disminuye al crear un efecto de pantalla lumínica que reduce la eficiencia de la oxidación, se debe determinar previamente el diámetro del reactor para garantizar una absorción de fotones satisfactoria y no incurrir en este tipo de efectos. El pH es otro factor que influye en el rendimiento ya que el proceso fotocatalítico es fuertemente dependiente del pH del medio, para el TiO_2 se usa comúnmente a pH de 6,9 aunque la máxima capacidad oxidativa del titanio se obtiene en pH menores, es por esto que es necesaria una buena selección del pH al que se va a realizar el proceso.[45]

Al aumentar la temperatura del proceso generalmente resulta en un aumento en la actividad fotocatalítica, sin embargo, a temperaturas mayores a 80 °C, se favorece la recombinación de portadores y se desfavorece la adsorción de compuestos orgánicos sobre la superficie del titanio.[47] A temperaturas bajo 0 °C se aumenta la energía de activación, por lo que se recomienda una temperatura entre 20 y 80 °C. La naturaleza de los contaminantes es otro factor a tener en cuenta, algunos compuestos como el 4-clorofenol requieren de más tiempo para oxidar debido a los múltiples intermediarios que se forman durante la degradación. Algunos iones inorgánicos como el magnesio, hierro, zinc, cobre, bicarbonato, fosfatos, nitratos, sulfatos y cloruros pueden ser adsorbidos por la superficie del TiO_2 , reduciendo la eficiencia del proceso fotocatalítico. [45]

3.1.2.c.iv. Oxidación con aire húmedo. La oxidación con aire húmedo es un proceso basado en una reacción a alta temperatura y alta presión de los compuestos oxidables en un agua residual en contacto con aire u oxígeno, generalmente en un reactor de columna de burbujeo, es posible la realización de este proceso usando catálisis heterogénea u homogénea.[48]

La oxidación húmeda (más de 120 °C) es una buena alternativa para tratar las aguas con alto contenido orgánico de industrias como la farmacéutica o la refinación química. Los compuestos orgánicos se convierten en sustancias fácilmente biodegradables o completamente mineralizadas, mientras que los compuestos inorgánicos se convierten en su forma más oxidada, como los sulfitos o sulfatos. [48]

La oxidación catalítica con aire húmedo permite realizar el proceso a presiones y temperaturas más bajas, las sales metálicas (como las de cobre o hierro) mejoran considerablemente la velocidad de reacción, pero es necesario un postratamiento para separar y reciclarlas. Se pueden usar sales metálicas, óxidos metálicos o metales puros, depende del tipo de compuesto que se desea degradar, los metales depositados en soportes estables son menos propensos a lixiviar. [48]

Para remover fenol se puede usar aire como oxidante y cobre como catalizador en un reactor de lecho de goteo a 120-160 °C y una presión del oxígeno de 6-12 bar. Se realizó un estudio para comparar la eficiencia del proceso usando como catalizadores cobre (CuO) y carbón activado. Se realizó a una temperatura de 140 °C y presión del aire de 4,7 Mpa. Se midió la vida útil de ambos catalizadores, el de cobre presenta una vida útil baja debido a su poca estabilidad en un medio acuoso, ácido y caliente, después de un corto periodo de tiempo la máxima remoción de fenol que se logró fue del 78% y luego decreció a un 30%. El carbón activado da una mayor remoción de fenol, desde un 100% hasta un 48%, sin embargo, el carbón también se oxida durante el proceso, consumiéndolo, siendo esta una de las razones de la disminución de remoción.[49]

3.1.2.c.v. UV/H₂O₂. El peróxido de hidrógeno y ozono han sido usados como oxidantes en diferentes procesos de tratamiento de agua, sin embargo, estos compuestos sin la presencia de luz ultravioleta (UV) presentaron velocidades de reacción menores. El objetivo de este proceso es generar radicales hidroxilos para lograr una completa destrucción de los compuestos orgánicos. El tratamiento usando

ozono es efectivo, pero tiene inconvenientes como que el ozono es un gas inestable que debe ser producido y utilizado en el mismo sitio, se requiere un equipo específico que permita la transferencia del ozono al agua. En cambio, el peróxido de hidrógeno es mucho más fácil de almacenar y transportar, ofreciendo una mejor alternativa al proceso.[50]

El peróxido ha sido efectivo en el tratamiento de compuestos refractarios como las nitrosaminas, alifáticos halogenados, orgánicos aromáticos como benceno, tolueno, clorobenceno, fenol, clorofenol y otros. La transmitancia del UV en el agua es un parámetro importante ya que afecta el rendimiento de la oxidación, este parámetro se ve reducido por la turbidez o compuestos orgánicos e inorgánicos coloreados. Una baja transmitancia vuelve el proceso fotooxidativo muy costoso e impráctico. [50]

Este proceso es costoso por el alto consumo de oxidantes además de energía, sumado con los problemas de manejo que presenta el ozono, las reacciones suelen ser más rápidas y efectivas en la fotocatalisis, reduciendo el campo de trabajo de la oxidación con luz ultra violeta.[51]

3.2. Tratamientos biológicos

La biodegradación es uno de los métodos más estudiados para la destrucción completa de los contaminantes orgánicos. Los microorganismos desempeñan un papel fundamental en este problema, a pesar de las propiedades tóxicas de los fenoles, varios microorganismos utilizan esta sustancia como fuente de carbono y energía para su supervivencia y crecimiento, estos pueden ser bacterias, levaduras, algas u hongos. La biodegradación de compuestos fenólicos ha sido altamente estudiada con varios tipos de microorganismos.

En muchas ocasiones los métodos químicos o físicos, no destruyen completamente los compuestos contaminantes, sino que los transforman en otro. La biodegradación se prefiere generalmente debido a la disminución de los costes y la posibilidad de una mineralización completa [52]. El fenol, un hidrocarburo aromático, es degradado por varios microorganismos, que lo utilizan como fuente de carbono para el crecimiento de los organismos. [52]

“Las actividades de biodegradación de los microorganismos han cobrado especial actualidad debido a la creación de compuestos que no pueden degradarse de forma

natural como los polímeros sintéticos, colorantes, pesticidas, productos farmacéuticos, etc. La mayoría de ellos son estables por lo que se necesita de mucho tiempo para su biorremediación”.[53]

“Los parámetros más importantes que afectan el porcentaje de biodegradación del fenol son las concentraciones del contaminante, la biomasa viable, la existencia de inhibidores, la temperatura, el pH, la terminación microbiana y la adaptación microbiana”. [52]

El fenol y sus derivados no son fácilmente biodegradables porque son tóxicos para la mayoría de los microorganismos en altas concentraciones.

3.2.1. Hongos

“Los hongos son microorganismos de vida libre, y por lo general, viven en el suelo y en regiones de baja humedad relativa, están muy extendidos en la naturaleza y se consideran los principales descomponedores del mundo, ya que son los responsables de la oxidación de los materiales orgánicos muertos”. [54]

“Los hongos se emplean potencialmente en muchos procesos biológicos que incluyen la producción de ácidos orgánicos, enzimas, hormonas, antibióticos, esteroides y el tratamiento de problemas medioambientales. Son también biodegradadores muy eficaces, producen una amplia gama de enzimas extracelulares que son capaces de degradar los compuestos orgánicos de las aguas residuales”. [54]

Los hongos desempeñan un papel importante por su capacidad de eliminar compuestos peligrosos del agua, los géneros más comunes en la biodegradación son *Alternaria*, *Aspergillus*, *Candida*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gliocladium*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pleurotus*, *Polyporus*, *Rhizopus*, *Rhodotolura*, *Saccharomyces*, *Talaromyces* y *Torulopsis* [55]. Hay microorganismos tanto aeróbicos como anaeróbicos que son capaces de completar el proceso de degradación de fenol. [53]

“La capacidad de la mayoría de los hongos de producir enzimas extracelulares para la asimilación de carbohidratos complejos hace posible la degradación de una amplia gama de contaminantes. También tienen la ventaja de ser relativamente fáciles de cultivar, por lo que son adecuados para la producción a gran escala” [55], por otro lado, “es fácil la separación de la biomasa fúngica por filtración debido a su estructura

filamentosa. En comparación con las levaduras, los hongos son menos sensibles a las variaciones de nutrientes, pH y temperatura”. [55]

“Una forma de mejorar la degradación de estos compuestos es inocular el medio con un solo microorganismo conocido para degradar el fenol. Durante los procesos industriales se forman otros compuestos tóxicos que dan lugar a una composición multicomponente de las aguas residuales, por lo tanto, las cepas utilizadas para la descontaminación no solo deben estar muy activas para uno de los contaminantes, sino que también deben ser resistentes al resto de los contaminantes o poseer diferentes capacidades de biodegradación”. [56]

Además de las bacterias, los hongos son conocidos por su diversidad y notable capacidad para degradar compuestos fenólicos, son capaces de ampliar la localización de su biomasa mediante el crecimiento de hifas, pueden crecer en condiciones de estrés ambiental, como la baja disponibilidad de nutrientes, la baja actividad del agua y en valores bajos de pH, donde el crecimiento bacteriano puede ser limitado [52], por su actividad enzimática permiten su adaptación a entornos desfavorables, incluidos los que contienen contaminantes altamente tóxicos. [30]

Las cepas de hongos usadas para la degradación de fenoles que se han estudiado se encuentran en la siguiente tabla:

Tabla 4

Lista de hongos empleados para degradar compuestos fenólicos.

No.1	Compuestos fenólicos	Cepa
1	Phenol	<i>Fusarium sp., Aspergillus sp., Penicillium sp., and Graphium sp.</i>
2	Phenol	<i>Trametes</i>
3	Phenol	<i>Aspergillus niger</i>
4	Phenolic resin	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>
5	Phenol	<i>Aspergillus fumigatus</i>
6	Phenol	<i>Paecilomyces variotii JH6.</i>
7	Gallic, protocatechuic, vanillic, syringic, Caffeic, and ferulic acids	<i>Fusarium flocciferum</i>

Tabla 4 Continuación

8	Phenol	<i>Macrotermes gilvus and a Termitomyces strain</i>
9	Phenol	<i>Penicillium sp.</i>
10	Chlorophenols	<i>Trametes villosa</i>
11	Phenol and p-cresol	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>
12	Phenol	<i>Fusarium flocciferum</i>
13	Phenol and p-cresol	<i>Scedosporium apiospermum</i>
14	Phenol and p-cresol 4 ethyl phenol	<i>Aspergillus fumigates</i>

Nota. Esta tabla muestra las diferentes cepas de hongos que han sido usadas por diferentes investigaciones en la degradación de compuestos fenólicos. Tomado de T. Singh, A. K. Bhatiya, P. K. Mishra, and N. Srivastava, *An effective approach for the degradation of phenolic waste: Phenols and cresols*. Elsevier Inc., 2019.

3.2.2. Bacterias

Las bacterias tienen la capacidad de fijar nitrógeno en el suelo, favoreciendo el crecimiento de las plantas que se encuentran en el mismo medio, la energía metabólica requerida para este proceso proviene de la oxidación de materia orgánica. Los procariontes autótrofos y heterótrofos contribuyen a la formación de grandes cantidades de nitrógeno reactivo por medio de la fijación de nitrógeno. La velocidad de degradación depende de la población microbiana y de la cantidad de xenobióticos presentes.[57]

La degradación de fenoles por bacterias es más eficiente que por otros microorganismos, es por esto que tienen un gran valor en la remoción de toxinas ambientales.

La mayoría de contaminantes orgánicos pueden ser degradados bajo condiciones aeróbicas, inicialmente, los contaminantes son activados y oxidados intracelularmente por medio de reacciones enzimáticas catalizadas por peroxidasas y oxigenasas. Una monooxigenasa fenol hidroxilasa inicialmente monohidroxila el anillo aromático, produciendo catecoles (pirocatecoles), que son los intermediarios

principales obtenidos de la actividad metabólica del fenol usando diferentes microorganismos.[58]

La degradación anaeróbica de compuestos aromáticos es menos efectiva que la degradación aeróbica y solo una poca cantidad de bacterias han sido estudiadas. Estos microorganismos usan los compuestos aromáticos como fuente de carbono celular y de energía. Se han identificado tres rutas principales de degradación de compuestos aromáticos mononucleares: resorcinol, benzoil-CoA y floroglucinol, una característica general entre estas rutas es la naturaleza reductora del proceso, a diferencia del ataque oxidativo que se da durante la degradación aerobia.[30]

Tabla 5

Lista de algunas bacterias usadas para degradar compuestos fenólicos

No.	Compuesto fenólico	Bacteria
1	m-Cresol y p-Cresol	<i>Pseudomonas putida NCIB9869</i>
2	p-Cresol	<i>Desulfobacterium cetonicum</i>
3	2-clorofenol, fenol y p-Cresol	<i>Rhodococcus erythropolis M1</i>
4	Fenol y Catecol	<i>Pseudomonas putida MTCC 1194</i>
5	Fenol	<i>Pseudomonas aeruginosa NCIM 2074</i>
6	p-Cresol	<i>Bacillus sp. Strain PHN 1</i>
7	o-Cresol	<i>Pseudomonas sp.</i>
8	Fenol	<i>Bacillus brevis</i>
9	Fenol	<i>Burkholderia sp</i>
10	Fenol	<i>Microbacterium phyllosphere</i>
11	Fenol	<i>Acinetobacter sp. W-17</i>
12	Fenol	<i>Ralstonia eutropha</i>
13	Fenol	<i>Nocardia sp</i>
14	Fenol	<i>Comamonas testosteroni P15</i>

Nota. Esta tabla muestra algunas de las diferentes especies de bacterias que se pueden usar para la degradación de compuestos fenólicos. Tomado de T. Singh,

A. K. Bhatiya, P. K. Mishra, and N. Srivastava, *An effective approach for the degradation of phenolic waste: Phenols and cresols*. Elsevier Inc., 2019.

3.3. Discusión

A continuación, en la Tabla 6, se presenta una recapitulación de las tecnologías tenidas en cuenta a lo largo del capítulo

Tabla 6

Tabla comparativa de las diferentes tecnologías consultadas durante el capítulo.

Tecnología de remoción	Ventajas Principales	Desventajas Principales	Porcentajes de Remoción
Coagulación	Bajo costo de material, simplicidad de aplicación	Ajuste de pH necesario (antes o después), alta sensibilidad a cambios de temperatura, uso de dosis mayores por ineficiencia, alta producción de lodos	74,6%[24] 75%[59] 67%[59]
Adsorción	Bajo costo de producción, fácil operación	El fenol tiene un tamaño de partícula relativamente pequeño porque lo puede penetrar fácilmente en las estructuras microporosas.	64% [28] 95% [26]
Membranas	Bajo consumo de energía, pequeña huella de carbono, alta calidad de los efluentes y fácil aplicación.	Elevados costos de inversión, operación y mantenimiento, posible ensuciamiento de la membrana	80%[60] 87,34%[61] 75%[62]
Oxidación química	Bajo costo energético y de reactivos, se puede operar a pH y temperatura intermedia	Se requiere una selección específica del reactivo según el compuesto que se desee remover, costos de inversión altos,	73,8%[34]

Tabla 6 Continuación

Oxidación electroquímica	No requiere reactivo	Alto costo energético y de equipos	92%[63] 60%[64]
Oxidación Fenton	Alta eficiencia en la transformación de los contaminantes tóxicos, menor tiempo de reacción en comparación a otros procesos de oxidación avanzada, buenas condiciones de operación.	Alto costo de los reactivos, problemas medioambientales. Contaminación adicional por el uso de catalizadores.	97,5%[40] 71%[65]
Ozonificación	No produce subproductos	Costo del ozono, muy elevado, el costo de recuperación del ozono es elevado, costo energético muy alto.	60%[25]
Degradación fotocatalítica	Velocidades de reacción altas	El TiO_2 puede saturarse reduciendo la eficiencia, el pH y temperatura afectan el rendimiento del proceso, el tiempo del proceso depende de la naturaleza del compuesto a degradar	60%[66] 33%[67]
Oxidación con aire húmedo	Facilidad en obtener compuestos degradables	Alto consumo energético, requiere de una secuencia de separación posterior, se requiere un catalizador	94,8%[48] 90%[68] 78%[49]

Tabla 6 Continuación

UV/H₂O₂	Efectivo tratamiento en de compuestos refractarios	El ozono es un gas inestable y requiere un manejo específico, la turbidez y compuestos colorados afectan la transmitancia de la luz UV en el agua, alto consumo de oxidantes y energía	93%[51] 100%[50]
Hongos	Facilidad al cultivar la cepa, menor sensibilidad a variaciones en condiciones de operación, eficiencias altas.	Requiere un manejo más cuidadoso para evitar contaminación de la cepa	96,5%[69] 99,8%[70] 95%[71]
Bacterias	Eficiencias altas, no requiere de reabastecimiento de reactivos potencialmente tóxicos	Requiere un manejo más cuidadoso para evitar contaminación de la cepa	93%[72] 100%[73] 99,9%[74]

Nota. Esta tabla muestra una recopilación de las ventajas y desventajas principales de cada una de las tecnologías que se tuvo en cuenta durante la revisión bibliográfica.

Las diferentes tecnologías presentan resultados favorables en el proceso de remoción de fenoles, manteniéndose al margen del contexto de cada uno de los experimentos realizados por cada tecnología, pero en general los tratamientos biológicos mantienen unas eficiencias bastante altas.

Teniendo en cuenta las diferentes ventajas y desventajas identificadas en la Tabla 6, se puede ver que los métodos no biológicos incurren en formación de subproductos que deben ser tratados ya que su acumulación puede ser tóxica o pueden contaminar el agua que se desea tratar, también requieren inversiones en reactivos y equipos, que implican a su vez consumos energéticos, incluso pueden implicar la necesidad de un espacio físico necesario más grande para poder instalar las diferentes etapas necesarias en el proceso.

Laboratorios ESKO LTDA es una empresa a favor de la minimización del impacto ambiental, promoviendo el uso de tecnologías amigables con el medio ambiente, por lo que algunos de los tratamientos previamente nombrados se vuelven inviables.

Los procesos biológicos presentan la alternativa de ser renovables e incluso autosuficientes, la producción constante de biomasa está ligada al consumo del componente que se desea remover del agua, eliminando los costos de reactivos químicos, posiblemente tóxicos, el espacio para el almacenamiento es más reducido, y aunque es necesario un estricto manejo de la inocuidad para evitar contaminar las cepas, los rendimientos que ofrecen estos tipos de proceso son bastante elevados.

4. SELECCIÓN DE UN TRATAMIENTO BIOLÓGICO PARA LA DEGRADACION DE FENOLES EN AGUAS RESIDUALES PARA LA EMPRESA LABORATORIOS ESKO LTDA.

4.1. Construcción de la matriz de selección

Laboratorios Esko Ltda es una empresa que promueve el uso de tecnologías amigables con el medio ambiente y el grupo de investigación tiene sus criterios por lo que se realiza una matriz que permite seleccionar el tratamiento que más favorece las necesidades e intereses de ambas partes.

4.1.1. Criterios de selección

Para lograr seleccionar un tratamiento adecuado se hace uso de una herramienta cuantitativa y cualitativa conocida como *Método Pugh*, que permite comparar las opciones empleando una matriz de selección. Primero se establecen unos criterios que evaluarán las tecnologías tenidas en cuenta en el capítulo anterior para llegar a una opción final, estos criterios son:

- **Inocuidad:** Este criterio permite clasificar que tan inocuo es un microorganismo para implementarlo en un tratamiento sin afectar negativamente otro parámetro que se deba cumplir en la normativa como la DBO.
- **Capacidad de degradación de compuestos aromáticos:** Este criterio permite identificar la tolerancia y capacidad de degradación de un proceso sobre altas concentraciones del compuesto contaminante.
- **Colonización de un sustrato lignocelulósico:** Este criterio permite establecer la capacidad de inmovilización de un microorganismo en un material soporte biodegradable.
- **Patogenicidad:** Este criterio permite clasificar los microorganismos según sus propiedades patogénicas que pueden ser un problema tanto en el manejo del microorganismo como en la contaminación y posterior descarga de efluentes.
- **Semillero de investigación:** El grupo de trabajo con el que se realizó el proyecto tenía preestablecido hacer uso de un tratamiento biológico.

4.1.2. Matriz

En la Tabla 7 se le otorga un valor porcentual a cada uno de los parámetros según su importancia, además se realiza un análisis individual de los tratamientos biológicos mencionados teniendo en cuenta los criterios expuestos anteriormente, si hay cumplimiento del criterio se le asigna un (+1), si no hay cumplimiento se asigna un (-1), como indica el Método Pugh.

Tabla 7
Matriz de decisión (Método Pugh)

Criterio	Porcentaje de importancia (%)	Tratamientos Físicos	Tratamientos Químicos	Tratamiento Biológico	
				Hongos	Bacterias
Inocuidad	20	+1	-1	+1	-1
Capacidad de degradación de compuestos aromáticos	35	-1	+1	+1	+1
Colonización de un sustrato lignocelulósico	15	-1	-1	+1	-1
Patogenicidad	10	-1	+1	+1	-1
Semillero de investigación	20	-1	-1	+1	+1

Nota. La tabla presenta los criterios tenidos en cuenta junto con la importancia asignada y el cumplimiento de los mismos, por parte de cada tecnología.

El criterio de capacidad de degradación de compuestos aromáticos es el que tiene mayor importancia (35%) debido a que es necesario que el tratamiento sea capaz de cumplir con los porcentajes de degradación necesarios para cumplir la normativa. La inocuidad sigue en jerarquía (20%) ya que es importante que al ser arrastrada la biomasa por el efluente de agua, no se incumplan otros parámetros y se vea necesaria la implementación de un nuevo tratamiento para corregir esta falencia, junto con los intereses del semillero de investigación (20%), la colonización de un sustrato lignocelulósico tiene una importancia del 15% ya que es importante que la biomasa sea capaz de mantenerse fija en un material para evitar al máximo pérdidas y que sea

posible reutilizar el catalizador nuevamente en ciclos posteriores, y la patogenicidad cuenta con la menor importancia (10%) porque a pesar de que es importante que el microorganismo no represente un peligro, tanto para los que lo manejan como para el medio con el que esté en contacto, se decidió que los demás criterios tenían mayor influencia a la hora de clasificar las tecnologías.

4.2. Selección del tratamiento biológico para la degradación de fenoles

Para seleccionar la tecnología que se va a emplear se debe aplicar el porcentaje de importancia a cada uno de los criterios, de forma tal que la alternativa con mayor valor positivo sea la seleccionada para el tratamiento como se ve en la Tabla 8.

Tabla 8

Matriz ponderada de Pugh

				Tratamiento Biológico	
Criterio	Porcentaje de importancia (%)	Tratamientos Físicos	Tratamientos Químicos	Hongos	Bacterias
Inocuidad	20	+20	-20	+20	-20
Capacidad de degradación de compuestos aromáticos	35	-35	+35	+35	+35
Colonización de un sustrato lignocelulósico	15	-15	-15	+15	-15
Patogenicidad	10	+10	-10	+10	-10
Semillero de investigación	20	-20	-20	+20	+20
Total	100	-40	-30	100	10
Clasificación		IV	III	I	II

Nota. La tabla presenta cada tecnología con el valor final de cada criterio según su importancia y la clasificación de cada tecnología.

Como se puede ver en la Tabla 8, haciendo la ponderación con los porcentajes de importancia, la tecnología que fue escogida es el tratamiento por medio de hongos, ya que cumple satisfactoriamente con los criterios establecidos.

4.3. Tratamiento biológico con hongos de la podredumbre blanca (HPB)

Uno de los tratamientos más estudiados[71] para la degradación o remoción de componentes tóxicos en efluentes contaminados, es el uso de hongos de la podredumbre blanca, que inmovilizados en distintos materiales, tienen la habilidad de degradar compuestos como el fenol. La acción de las enzimas de estos hongos como lo son las lacasas, las manganeso peroxidases, lignina peroxidases, siendo estas tres las más importantes, ha sido ampliamente estudiada en la degradación de la lignina, la oxidación de largas cadenas de hidrocarburos aromáticos policíclicos, tratamientos de efluentes de empresas textiles, de papel, en la degradación de clorofenoles, TNT, entre otros.

La baja especificidad de los mecanismos que usan los hongos de podredumbre blanca para transformar y mineralizar el polímero de lignina y otros compuestos aromáticos sustenta la base de la aplicabilidad biotecnológica de este tipo de hongos y de las enzimas del sistema ligninolítico [70] en el tratamiento de efluentes contaminados para la empresa Laboratorios Esko LTDA.

La cepa *Pleurotus ostreatus* posee enzimas específicas capaces de degradar lignina, fenoles y polifenoles, por lo que es una de las especies más utilizadas en la investigación. [75]

4.3.1. Hongos de la podredumbre blanca (HPB)

Los HPB son un grupo de hongos que comprende unas 1600-1700 especies caracterizadas por la capacidad de despolimerizar y degradar la lignina, mediante un conjunto de enzimas extracelulares[76]

Taxonómicamente se clasifica en:

Reino: Hongo

División: *Basidiomycotina*

Clase: *Homobasidiomycete*

Subclase: *Hymenomicete*

Orden: *Agaricales*

Familia: *Tricholomataceae* [77]

Son reconocidos por su variedad y su notable capacidad de degradar materiales naturales complejos y persistentes.

Las setas, los bollos, los conos y los hongos en forma de costra son variedades de hongos de la podredumbre blanca y son capaces de degradar la lignina y sustancias similares a la lignina. Estos degradadores son muy investigados en aplicaciones biotecnológicas, ya que, en comparación a las bacterias, los HPB puede soportar niveles tóxicos de la mayoría de contaminantes, además de ser capaces de ampliar la localización de su biomasa mediante el crecimiento hifal. [77]

Los HPB son los más eficaces para la deslignificación debido a la producción de enzimas oxidativas extracelulares lignolíticas, incluyendo la lacasa, la manganeso peroxidasa y la lignina peroxidasa, se han realizado diversos estudios con cepas de *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Coriolus versicolor*, *Cyathus stercoreus* y *Ceriporiopsis subvermispora*, los cuales degradan la lignina dejando la madera descompuesta de color blanco y textura fibrosa [78] dejando la celulosa y la hemicelulosa menos afectadas. [77]

Por otro lado, la expresión del sistema lignolíticos es independiente de la concentración del contaminante presente en el medio, por lo que estos hongos pueden llegar a degradar compuestos incluso a concentraciones muy bajas. Y aunque el suelo no es su habitat natural, pueden crecer utilizando sustratos de bajo coste económicos, como residuos agrícolas y que pueden facilitar el proceso de degradación.[79]

Los HPB pueden ser usados en sistemas de biorremediación ya que poseen un sistema extracelular de degradación sustancias químicas o diversos contaminantes ambientes que son muy tóxicos y persistentes. Estos hongos utilizan materiales lignocelulósicos abundantes y económicos como fuentes de nutrientes y pueden tolerar una amplia gama de condiciones ambientales como la temperatura, el pH y niveles de humedad. [76]

Son aerobios obligados, en comparación a las bacterias, que suelen utilizar los contaminantes como fuente nutricional de carbono o nitrógeno, los HPB no producen

ninguna ganancia neta de energía, por lo tanto, requieren de una fuente adicional de C o N para el metabolismo primario de los hongos de podredumbre blanca. [77]

Por otro lado, son capaces de oxidar diversidad de compuestos, especialmente los hidrocarburos aromáticos policíclicos de mayor tamaño, siendo estos el principal grupo de contaminantes medioambientales, en donde se destacan los clorofenoles. Los 4 principales géneros de HPB que han demostrado su potencial para la biorremediación son *Phanerochaete*, *Trametes*, *Bjerkandera* y *Pleurotus*[77]. Entre los tipos de hongos de la podredumbre blanca, los del género *Pleurotus* "tienen propiedades terapéuticas, gran valor nutricional y numerosas aplicaciones medioambientales y biotecnológicas, siendo uno de los grupos más grandes y diversos de hongos cultivados". [79]

4.3.2. *Pleurotus sp*

El género *Pleurotus sp* se conoce generalmente como "seta de ostra", es un basidiomiceto lignocelulítico y crece de forma natural en los bosques templados y tropicales sobre troncos de madera seca y en descomposición o, a veces, sobre troncos secos de maderas coníferas, de igual forma puede crecer sobre materia orgánica en descomposición. [80]

Esta cepa cuenta con el máximo número de especies cultivadas comercialmente, son adecuadas para el cultivo durante todo el año. Existen variaciones en la forma, el color, la textura y el aroma según la elección de los consumidores. Su cultivo es sencillo ya que puede crecer en paja seca y no requiere materiales selectivos para su crecimiento, además de no requerir de condiciones ambientales controladas porque la mayoría de las especies tienen una amplia tolerancia a la temperatura, humedad, relación y CO₂.

Para el crecimiento de este hongo, la temperatura óptima se sitúa entre los 22 °C y 26 °C, a temperaturas más altas el cultivo inhibirá el crecimiento y causará daños sobre el micelio. El uso de este hongo y su cultivo tiene grandes ventajas, entre ellas se encuentran que puede degradar cualquier tipo de residuo agrícola o forestal que contenga lignina, celulosa y hemicelulosa. [80]

4.3.3. *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus ostreatus es la tercera cepa de mayor comercialización a nivel internacional, es un hongo lignocelulítico, conocido también por el nombre común de hongo ostra. En condiciones silvestres crece en tocones y ramas de planifolios muertos o debilitados. Esta especie presenta una gran versatilidad y adaptabilidad, ya que tolera un rango amplio de temperaturas, además, presenta resistencia a plagas y enfermedades, y se puede cultivar prácticamente sobre cualquier sustrato lignocelulósico como troncón, corteza o aserrín[75]. Taxonómicamente se clasifican en:

Reino: Hongo

División: *Basidiomycotina*

Clase: *Homobasidiomycete*

Subclase: *Hymenomicete*

Orden: *Agaricales*

Familia: *Tricholomataceae*

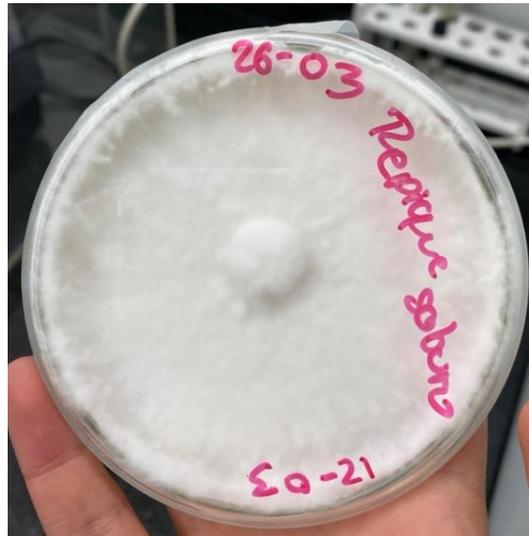
Género: *Pleurotus*

Su morfología comprende un sombrero redondo, su superficie es lisa, abombada y convexa cuando es joven y va aplanándose poco a poco. Su diámetro oscila entre 5 cm y 15 cm según la edad del hongo. El color es variable, desde gris claro o gris pizarra hasta pardo, aunque va alcanzando una coloración más amarillenta con el tiempo. En la parte inferior del sombrero se ubican unas laminillas dispuestas desde el tallo que lo sostiene hasta el borde, en ellas se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie, estas esporas son pequeñas, casi cilíndricas. El pie suele ser corto, algo lateral, ligeramente duro y blanco.[81]

Macroscópicamente *Pleurotus ostreatus* presenta un crecimiento micelial blanco algodonoso y con formación de anillos concéntricos, como se muestra en la Figura 12.

Figura 12

Pleurotus ostreatus macroscópicamente



Nota. En esta imagen se muestra como se ve el hongo *Pleurotus ostreatus* macroscópicamente.

Pleurotus ostreatus posee enzimas específicas capaces de degradar lignina, fenoles y polifenoles hasta un 60% de la concentración inicial, por lo que es una de las especies más utilizadas en la investigación de residuos con presencia de estos compuestos. [75] Adicionalmente, *P.ostreatus* es reconocido por su gran capacidad para producir y excretar diferentes tipos de enzimas de amplia gama de actividades, entre las más importante están las lacasas, las manganeso peroxidasas y las peroxidasas versátiles. [76]

4.3.3.a. Factores de crecimiento de *Pleurotus ostreatus*. El crecimiento de un hongo varía según si se de en un medio líquido o en un medio sólido, sobre medio liquido si este es permanentemente agitado puede crecer en todo el volumen del recipiente, mientras si se mantiene estático solo crecerá sobre la superficie. El desarrollo de los hongos se ve afectado por varios factores:

- Temperatura: esta afecta el metabolismo de las células, influye en la capacidad enzimática, en la fluidez de los lípidos de la membrana celular. *Pleurotus ostreatus* es una cepa que crece en un rango amplio de temperatura de 0 °C a 35 °C. Zadrazil reporto que puede soportar durante 24 horas temperaturas de 40 °C.

- pH: este factor afecta el carácter iónico del medio e influye directamente sobre las proteínas de la membrana y la actividad de las enzimas ligadas a la pared celular, es decir, afecta directamente su metabolismo. El pH óptimo para *Pleurotus ostreatus* está entre 5.5 y 6.5, y a un pH de 4 (ácido) se puede inhibir su crecimiento.
- Carbono: este componente es necesario debido a que son las fuentes directas de energía para su metabolismo, asimismo para la formación de estructuras celulares. Dada su importancia este elemento es el que se requiere en mayores cantidades.
- Nitrógeno: este elemento aporta beneficios para el rápido crecimiento micelial y la formación de cuerpos fructíferos, según la bibliografía se encuentra que la peptona es una importante fuente de nitrógeno. [82]

4.3.4. Enzimas involucradas en la degradación de compuestos fenólicos por *Pleurotus ostreatus*

Las tres principales enzimas encargadas de la degradación de la lignina y otros compuestos tóxicos como los fenoles son las lacasas (fenoloxidasas) y las enzimas extracelulares como las lignina peroxidasas, las manganeso peroxidasas y las versátil peroxidasas. Lo más importante de esta ruta de degradación es la formación de radicales libres intermedios altamente reactivos, que se forman cuando se elimina o se añade un electrón al estado básico de una sustancia química, desencadenando así la oxidación o la reducción de los compuestos.[76] Los diferentes grados de degradación dependen de las condiciones ambientales y de las especies fúngicas implicadas. [77]

La variedad de reacciones llevadas a cabo por estos radicales incluye la oxidación de alcohol bencílico, la hidroxilación, la dimerización, la polimerización del fenol, entre otras. [76]

La mayoría de las reacciones catalizadas enzimáticamente se producen en condiciones relativamente suaves, temperaturas inferiores a 100 °C, presión atmosférica, valores de pH de 4 a 8 y sin necesidad de productos químicos o disolventes agresivos. [83]

Estas enzimas han sido altamente estudiadas por su implicación en la oxidación de un número importante de xenobióticos como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los colorantes sintéticos y naturales y algunos pesticidas como el pentaclorofenol [76]. Esta degradación puede llegar a sustituir los procesos químicos convencionales de varias industrias.

4.3.4.a. Lacasas. Las lacasas están muy extendidas en la naturaleza y han sido encontradas en fuentes microbianas y no microbianas, son enzimas que catalizan la ruptura de los enlaces carbono – carbono y carbono – oxígeno – carbono en una amplia de compuestos orgánicos, como la lignina y las estructuras polifenólicas, oxidan el fenol y son catalogadas como ecológicas, ya que catalizan diversas reacciones que implican la oxidación de un electrón con generación de agua. [84]

Son oxidasas de cobre múltiple que reducen el O₂ a agua y realizan simultáneamente la oxidación de muchos sustratos aromáticos, catalizan la eliminación de un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de monofenoles, orto y parafenoles. [85]

«Estructuralmente en el sitio activo la enzima posee cuatro átomos de cobre (como Cu en el resto de la enzima) los cuales están distribuidos en tres sitios diferentes de su estructura. El sitio cobre tipo 1 es el responsable del color azul intenso de la enzima con un máximo de absorbancia a 605 nm. El sitio cobre tipo 2 no exhibe señales de absorbancia en el visible, y en el sitio cobre tipo 3, se incorporan dos átomos de cobre en el centro activo, y es el responsable de la pequeña banda que se observa a 330 nm».

Por lo anteriormente expuesto es por eso que las enzimas requieren de cobre y oxígeno para la oxidación de fenoles, polifenoles, aminas aromáticas y diferentes sustratos no fenólicos. Adicional a esto la producción de las lacasas puede ser fuertemente inducida por la adición de elementos como cobre, manganeso, magnesio, entre otros. [86]

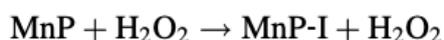
Una vez producidas estas enzimas solo requieren de oxígeno molecular para la catálisis, por lo que son adecuadas para aplicaciones biotecnológicas como la transformación o inmovilización de los compuestos xenobióticos en el medio ambiente. Han sido estudiadas para la degradación de colorantes, la biorremediación

de algunos residuos industriales tóxicos como los compuestos aromáticos clorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, nitroaromáticos y pesticidas.[76]

Estudios realizados por Ardon y Krishna dicta que el aumento de las concentraciones de glucosa, salvado de trigo, úrea, extracto de levadura, KH_2PO_4 e inóculos pueden aumentar la producción de lacasas, adicional muestra que en el rango de pH de 5-5,5 se aumenta también la producción. [84]

4.3.4.b. Manganese Peroxidases (MnPs). Las manganese peroxidases son las enzimas más producidas por casi todos los basidiomicetos que colonizan la madera. Requieren el peróxido de hidrogeno como oxidante, oxidan básicamente el Mn^{2+} a Mn^{3+} en presencia de H_2O_2 y quelantes de ácido orgánicos, como el ácido láctico. El Mn^{3+} , a su vez, oxida una variedad de compuestos fenólicos y colorantes monoaromáticos. [84]

El ciclo catalítico de las MnP inicia con la reacción de la enzima y el H_2O_2 para formar el compuesto I (MnP1+) de la MnP, posteriormente se da la oxidación del Mn^{2+} por el compuesto I (MnP1+), esto da como resultado el Mn^{3+} y el compuesto II (MnP2+). Las MnP se vuelven a formar a partir del compuesto II mediante la donación de un electro de Mn^{2+} para formar Mn^{3+} , como se muestra en las reacciones química. Los iones Mn^{3+} generados actúan como mediadores difusibles de transferencia de carga, permitiendo la oxidación de varios sustratos fenólicos como fenoles simples, aminas, colorantes, así como compuestos fenólicos. [76]



Tienen un gran potencial en la remediación de residuos industriales, como la degradación de contaminantes industriales refractarios, además, son útiles en la decoloración de tintes sintéticos y tienen un potencial importante para la industria textil. [84]

4.3.4.c. Lignina peroxidases (LiPs). “Fue la primera enzima en descubrirse y se asemeja a otras peroxidases en que contiene el grupo hemo férrico y funciona

siguiendo la vía catalítica típica en que LiP es oxidada por H_2O_2 generando un intermediario deficiente de electrones, el cual regresa a su estado natural de reposo inicial por medio de oxidaciones posteriores". [86]

El ciclo catalítico de la LiP comienza con la oxidación de la enzima a expensas del peróxido de hidrógeno originando la transformación de su centro activo en un compuesto intermediario (complejo I, o complejo radical +4). Este compuesto actúa como generador catiónico de radicales libres de Fe. Así, en presencia de un compuesto aromático (fenólico o no) donador de electrones, el compuesto I, es reducido a compuesto II (mediante ganancia de un electrón), a la vez que se genera un radical aromático. Tras una segunda reducción del compuesto II con un sustrato aromático se regenera la enzima nativa, cerrándose así el ciclo. No obstante, si existe un exceso de peróxido de hidrógeno en el medio, la LiP puede sufrir una inactivación irreversible, al transformarse su centro activo en el compuesto III. [84]

"En términos generales, las enzimas o complejo ligninolítico pueden ser ordenadas según sus potenciales de oxidación así: LiP > MnP > Lacasas. LiP presenta un potencial de oxidación suficientemente elevado para absorber electrones de estructuras aromáticas no fenólicas, dando origen a radicales catiónicos, los cuales sufren luego varias reacciones no enzimáticas incluyendo el rompimiento de uniones C-C y C-O". [86]

Las LiP son capaces de oxidar una variedad de compuestos xenobióticos, incluyendo hidrocarburos aromáticos policíclicos, fenoles policlorados, nitroaromáticos, colorantes azoicos y clorofenoles.[77]

4.3.4.d. Otras enzimas. Estos hongos además de la producción de enzimas degradadoras de lignina, tienen una gran capacidad de producir una amplia gama de biocatalizadores, además de otras enzimas como xilanasas, celulasas, peptinasas, proteasas, amilasas y lipasas. La secreción de este coctel de enzimas y de biocatalizadores dependen de la composición del medio, el pH y la temperatura, así como el crecimiento del micelio.

grupo de enzimas producidas por el género *Pleurotus ostreatus* son las aril alcohol oxidasas y las hemo-tiolato peroxidasas, las primeras proporcionan el H_2O_2 requerido

por las peroxidasas lignolíticas para la degradación fúngica y las segundas, tienen su función como oxidorreductasas en los sistemas biológicos y son biocatalizador versátil. [84]

4.4. Inmovilización de *Pleurotus ostreatus* para tratamiento de aguas contaminadas con fenoles

“La inmovilización de microorganismos en soportes naturales o sintéticos proporciona estabilidad a las funciones celulares. Esta técnica permite alcanzar altas concentraciones celulares en volúmenes reducidos, así como la reutilización del biocatalizador y la implantación de sistemas continuos de producción”. [87]

4.4.1. Ventajas de inmovilización

La inmovilización de microorganismos permite manejar velocidades de agitación mayores, que permite mayor transferencia de masa y calor, como las células crecen en el soporte se disminuye la viscosidad del medio y es posible reutilizar el catalizador en otros procesos, evitando así un impacto negativo en parámetros como la DBO, siendo este uno de los criterios utilizados en la matriz de selección. [88]

Para la inmovilización de hongos se han usado diferentes materiales de soporte como la espuma de poliuretano, fique, estropajo [89] o malla en polietileno (polisombra) [90], de estos mencionados, el estropajo presenta el mejor crecimiento de *Pleurotus ostreatus*, por lo que se eligió para el desarrollo del proyecto. [91]

4.4.2. Estropajo

El estropajo es una planta miembro de la familia de las cucurbitáceas, tiene hojas alternas y palmeadas, lisas y de bordes dentados, la flor es de color amarillo. Es una planta que ofrece alternativas de aplicación en áreas como la medicina o construcción. [92]

Debido a su estructura fibrosa, posee propiedades adsorbentes y mecánicas, estas fibras están formadas por un entramado de micro-tubos que permiten adquirir fácilmente impurezas del ambiente, además su superficie rugosa permite retener iones metálicos. Sus propiedades adsorbentes permiten su uso en pruebas de remoción y de inmovilización de microorganismos.

Sus propiedades mecánicas dependen de la capa esponjosa a la que pertenecen, y estas se ven influenciadas principalmente por el grado de humedad presente en el interior de la fibra y su aspecto superficial, este puede modificarse por medio de tratamientos con NaOH, que dejan expuesta la superficie rugosa de la fibra, maximizando su interacción superficial con las sustancias en tratamiento.[92]

Las fibras de *Luffa cylindrica* se han usado para la eliminación de contaminantes del agua como lo son tintes, metales y sales disueltas, debido a la acción de su estructura fibrosa.[93]

El estropajo se ha usado para inmovilizar microorganismos y así remover algunos compuestos de interés, por ejemplo, Piao Xu et al, inmovilizaron una cepa de *Phanerochaete chrysosporium*, que es un hongo de la podredumbre blanca, para remover iones de Pb (II) obteniendo resultados de hasta el 90% de remoción. [94]

5. DESARROLLO DEL PROCESO DE DEGRADACION DE FENOLES POR MEDIO DE HONGOS DE LA PODREDUMBRE BLANCA

5.1. Diseño de experimentos

Para dar cumplimiento al tercer objetivo se realizó un diseño experimental con las concentraciones de fenoles escogidas y los materiales de soporte

5.1.1. Selección de los materiales de soporte

Para la elección de los materiales de soporte se tuvieron en cuenta materiales en los que el hongo de podredumbre blanca hubiera presentado un crecimiento favorable además de ser de bajo costo, fácil adquisición y manejo.

5.1.1.a Malla en polietileno (polisombra). La polisombra es un material de fácil manejo ya que no es gruesa, rígida y es resistente, lo que permite una mayor facilidad a la hora de ajustar el material a la superficie deseada, además de tener una porosidad que permite a los hongos desarrollarse y fijarse en dichos espacios, otro factor importante es la humedad, en porcentajes muy altos se tienden a formar aglomerados, como el material tiene un porcentaje de humedad menor al 10% permite el almacenamiento y viabilidad del microorganismo por más tiempo y finalmente, al ser un material inerte, el microorganismo no va a consumir y degradar el soporte aumentando su vida útil.[90]

5.1.1.b Estropajo (*Luffa cylindrica*). La *Luffa cylindrica* “en su mesocarpio forma una intrincada retícula fibrosa de lignocelulosa que es la parte útil de la planta”, las fibras forman microtubos dando como resultado un sistema poroso. Debido a la estructura fibrosa y porosa, el material es capaz de adquirir impurezas del ambiente, además, su superficie rugosa facilita la retención de iones metálicos, estas propiedades facilitan su uso en la inmovilización de microorganismos y remoción de compuestos [92]. Al ser un material orgánico es propenso a ser degradado por el microorganismo, reduciendo su vida útil, pero por esta misma razón su disposición y desecho es más fácil y ambientalmente sostenible.

5.1.2. Selección de concentraciones de fenol

Para la elección de las concentraciones a las que se va a evaluar el rendimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* se tuvo en cuenta la caracterización de aguas realizada por Analquim Ltda a la empresa Laboratorios ESKO LTDA donde el máximo histórico es de 0,56 mg/L de fenol, como se han hecho estudios donde los hongos se someten a concentraciones de hasta 10 mg/L de fenol [70], [79], [95], se decidió tomar dos concentraciones de 4 mg/L y 9 mg/L. El hongo es capaz de remover hasta el 100% de la concentración de fenol en ciertos casos por lo que un resultado satisfactorio le garantizaría a la empresa que las concentraciones de fenol con las que pueden salir los efluentes, van a ser tratadas satisfactoriamente por el tratamiento biológico propuesto, logrando cumplir el máximo de 0,2 mg/L que establece la resolución 0631 del 2015.

5.1.3. Selección tipo diseño de experimentos

El diseño de experimentos con el que se realizó este proyecto fue un diseño de un factor, siendo este la concentración de fenoles, y el material de soporte se mantuvo como una constante. No se realiza proceso de agitación durante el experimento ya que la planta de tratamiento de la empresa no realiza procesos en reactores continuamente agitados, si no que dispone del uso de tanques.

Las condiciones de operación que se tuvieron en cuenta se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 9

Condiciones de operación consideradas en el diseño experimental

Condiciones de operación	Valor
Temperatura	Ambiental
Presión (mmHg)	560
Agitación	No
Suplemento nutricional	No
Tiempo de incubación (días)	8
Material de soporte	Estropajo
Concentración de fenol en la muestra	3,7 mg/L; 8,8 mg/L
pH	6

Nota. La tabla indica las condiciones de operación bajo las que se desarrolló el experimento, las condiciones ambientales hacen referencia a las propias de la ciudad de Bogotá D.C.

5.1.4. Hipótesis

5.1.4.a. Hipótesis alternativa. La concentración de fenoles en la muestra de agua residual se ve reducida por la acción del material de soporte y la actividad enzimática de *Pleurotus ostreatus*.

5.1.4.b. Hipótesis nula. La concentración de fenoles en la muestra de agua residual, no se ve reducida por la acción del material de soporte y la actividad enzimática de *Pleurotus ostreatus*.

5.2. Metodología

La metodología implementada en el desarrollo de la fase experimental del proyecto se puede ver en la Figura 13.

Figura 13

Diagrama de bloques de la metodología



Nota. Esta imagen muestra la metodología a seguir durante el desarrollo de la fase experimental.

5.2.1. Obtención de la cepa

El hongo *Pleurotus ostreatus* es adquirido por medio de un distribuidor comercial conocido como los Hongos de Merlín encontrado en la plataforma de Mercado Libre, el hongo se encuentra inmovilizado en semillas de sorgo, en fase de desarrollo del micelio vegetativo, y para garantizar la inocuidad del cultivo, se espera a que el hongo fructifique, con el fin de tomar el tejido (cuerpo fructífero) y poder realizar la propagación del hongo de manera axénica e inocua (Figura 14).

Figura 14
Cepa aislada Pleurotus ostreatus



Nota. Esta imagen es la cepa aislada de *Pleurotus ostreatus*.

5.2.2. Conservación de la cepa

Para la conservación de la cepa se realizan medios de cultivo de agar sabouraud en cinco (5) cajas de Petri; para ello se preparan 200 mL de agar, que consiste en disolver 1,3 g de agar sabouraud en 200 mL de agua destilada en un Erlenmeyer, siguiendo las indicaciones expuestas en el recipiente. Posterior a esto, se pone en una plancha de calentamiento, con constante agitación, hasta su punto de ebullición, luego, se sella con un tapón de algodón y aluminio, y adicional a esto, se marca el Erlenmeyer con una cinta indicadora, que permite determinar si la esterilización se realiza correctamente. Se lleva a un autoclave por 15 minutos a 121 °C y 15 psi de presión.

Para llevar a cabo todo este proceso, se debe tener en cuenta que todo lo que vaya a estar en contacto con el hongo debe estar previamente esterilizado, tiene que pasar por un proceso en el autoclave durante al menos 15 minutos a 121 °C y 15 psi de presión. Entre los materiales que se deben esterilizar están: Asas, placas de Petri (si son de vidrio), espátulas, puntas azules, materiales de inmovilización y Erlenmeyers con soluciones para inocular.

Una vez esterilizado el medio de cultivo se lleva a una cabina de flujo laminar, la cual es descontaminada previamente, ya que se debe mantener el ambiente de cultivo lo más estéril posible. En la cabina de flujo laminar se sirve el medio Sabouraud, preparado anteriormente, en las cajas de Petri, este procedimiento se debe realizar caliente con el fin de que el medio no se solidifique en el Erlenmeyer.

Una vez solidificado y a temperatura ambiente, se procede a realizar el corte del cuerpo fructífero del hongo *Pleurotus ostreatus*, esto con el fin de obtener el micelio puro del hongo, estos cortes se hacen en el perímetro del cuerpo fructífero, usando las puntas azules, debido a que en esta sección es donde se encuentra el micelio más joven, por ende, el metabólicamente más activo. Las cajas de Petri solidificadas se dividen en 4 secciones, en cada una se pone un disco de cuerpo fructífero de aproximadamente 2 mm de espesor, todo se realiza con los materiales previamente esterilizados. Una vez terminados los cortes se procede a sellar la caja de Petri con papel parafilm y se lleva a la incubadora a 28 °C por 8 días.

5.2.3. Inmovilización del hongo *Pleurotus ostreatus* para tratamiento de aguas contaminadas con fenoles

5.2.3.a. Preparación del medio líquido. Para la elaboración de este medio líquido de salvado de trigo se sigue la siguiente fórmula:

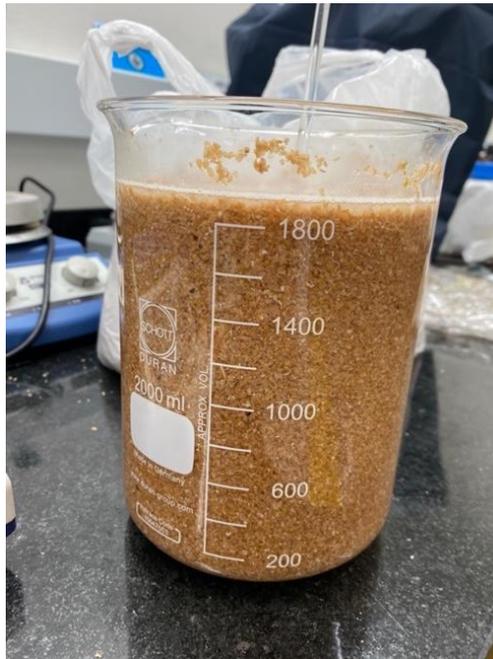
Tabla 10*Fórmula del medio salvado de trigo*

Componentes	Concentración (g/L)
Salvado de trigo	175
Glucosa	10
Peptona	5
Extracto de levadura	2
KH_2PO_4	0.1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05
MnSO_4	0.076
CuSO_4	0.076
Cloranfenicol	0.1
Agar agar	18

Nota. Esta tabla representa las concentraciones que son necesarias para la elaboración del medio líquido o sólido, hay que tener en cuenta que estas concentraciones están en proporción a un litro. [90]

El primer paso a realizar es poner 1 litro de agua destilada con la cantidad de salvado de trigo, esta se deja reposar por 1 hora, como se muestra en la Figura 15. Luego, se procede a filtrar, para dejar solo el líquido de salvado de trigo, seguido a esto, se mide la cantidad de líquido obtenido para calcular las cantidades necesarias de los otros componentes.

Figura 15
Salvado de trigo en agua destilada



Nota. Esta imagen muestra el primer paso a seguir en la elaboración del medio líquido, en donde se deja por una hora, la cantidad de salvado de trigo en un litro de agua destilada.

5.2.3.b. Propagación de la biomasa en caldo salvado de trigo. Se realiza la propagación en medio líquido empleando 4 Erlenmeyer de 250 mL con una cantidad de 100 mL de medio líquido de salvado de trigo, la composición de este salvado de trigo se encuentra en la Tabla 11, exceptuando que a esta mezcla no se le agrega la cantidad correspondiente de agar. El medio líquido se lleva al autoclave a esterilizar durante 15 minutos a 121 °C y 15 psi de presión.

Después de esterilizado este medio líquido de salvado de trigo, se depositan 5 discos de hongos crecidos en agar en cada recipiente, estos son tomados de cajas de Petri con ayuda de puntas azules, donde se tiene la cepa conservada. Se escogen las cajas en donde el hongo evidencia un mejor crecimiento, todo este proceso se realiza en una cabina de flujo laminar, la cual es descontaminada con anterioridad, posteriormente se sella cada Erlenmeyer con un tapón de algodón y se cubre con aluminio. Estos Erlenmeyer se llevaron a incubar a 30°C durante 8 días a 130 rpm en un shaker JPSOD60.

5.2.3.c. Desarrollo del protocolo de inmovilización. Como soporte de inmovilización se utiliza estropajo, sin aditivos ni tinturas. Las láminas tienen unas dimensiones de 3 cm de largo por 4 cm de ancho, sin ningún espesor en específico, pero buscando mantener una homogeneidad (Figura 16). La esterilización previa de este soporte se realiza por medio de un proceso en el autoclave por 3 ciclos de 15 minutos a 121 °C y 15 psi de presión, este proceso se realiza por más tiempo que otros materiales debido a que no se sabe la procedencia de este material y se necesita completamente estéril para ponerlo en contacto con la biomasa.

Figura 16
Láminas de estropajo



Nota. Esta imagen muestra las láminas de estropajo con dimensiones de 3 cm x 4 cm utilizadas para la inmovilización de biomasa.

Se utilizan bandejas de aluminio para la inmovilización en las láminas de estropajo con la biomasa. Como base de estas bandejas, se utiliza agar salvado de trigo, con el fin de garantizar que la biomasa inmovilizada tenga los suficientes nutrientes para su crecimiento en el material de soporte, se sigue la fórmula de la Tabla 10 y las indicaciones expuestas en el punto 5.5.3.a. Posterior a su realización, este agar se distribuye en Erlenmeyers de 250 ml y se llevan a una plancha de calentamiento con agitación constante hasta su punto de ebullición como se muestra en la Figura 17, posteriormente se sella con un tapón de algodón y se cubre con aluminio, adicional a esto, se marca cada Erlenmeyer con una cinta indicadora. Para garantizar su esterilización estos se llevan a un proceso en el autoclave durante 15 minutos a 121 °C y 15 psi de presión.

Figura 17
Agar Salvado de trigo



Nota. Esta imagen muestra el agar salvado de trigo en una plancha de calentamiento previo a su utilización.

Las bandejas de aluminio también se someten a un proceso de esterilización en el autoclave durante 15 minutos a 121 °C y 15 psi de presión. Después del proceso de esterilización, todo es llevado a la cabina de flujo laminar, previamente descontaminada, en donde, en primer lugar, se deja enfriar un poco el agar salvado de trigo, para poder manejarlo, pero sin dejarlo enfriar mucho tiempo ya que el agar a temperatura ambiente es sólido, posterior a esto se vierte en las bandejas de aluminio, aproximadamente 1/8 de profundidad de cada una, se espera a que alcance la temperatura ambiente a la cual se solidifica (Figura 18). En cada bandeja se colocan 6 láminas de estropajo (Figura 19).

Figura 18

Bandejas de aluminio con agar salvado de trigo



Nota. En esta imagen se observa las bandejas de aluminio con agar salvado de trigo utilizadas para la inmovilización de las láminas de estropajo con biomasa.

Figura 19

Bandejas de aluminio con láminas de estropajo



Nota. Esta imagen muestra las bandejas de aluminio con las láminas de estropajo.

5.2.3.d. Inmovilización de biomasa. La biomasa obtenida pasados los 8 días, es la utilizada para hacer las pruebas de inmovilización y los cálculos de peso seco. 2 de los 4 Erlenmeyers utilizados en el punto 5.3.3.b., corresponden a la réplica 1 y réplica 2; su contenido es distribuido en tubos falcón de 13 ml, se llenaron 6 tubos con biomasa, todo este proceso es realizado en la cabina de flujo laminar, previamente descontaminada. Estos tubos son llevados a una centrifugadora *Fanem Baby I.* a 3600 rpm durante 8 minutos (Figura 21).

Figura 20
Pellets Pleurotus ostreatus



Nota. Esta imagen muestra la biomasa obtenida del hongo *Pleurotus ostreatus* pasados los 8 días de incubación.

Figura 21

Tubos falcón con biomasa en centrifugadora



Nota. En esta imagen se observa los 8 tubos falcón en la centrifugadora Fanem Baby I.

Transcurrido el tiempo en la centrifugadora, a cada tubo falcón de la réplica 1 y réplica 2, se le descarta parte del sobrenadante (Figura 22) y se procede a sembrar esta biomasa. Se distribuye de forma homogénea sobre cada lamina de estropajo en las bandejas de aluminio; el contenido de un tubo en su totalidad se deposita en una lámina de estropajo de 3 cm x 4 cm, así hasta completar todas las láminas de estropajo (Figura 23). Para finalizar, cada bandeja de aluminio se protege cubriéndose con láminas de papel aluminio, para evitar posibles contaminaciones.

Figura 22
Tubos falcón con biomasa



Nota. Esta imagen se muestran los tubos falcón después de pasar por un proceso de centrifugación y descarte del sobrenadante.

Figura 23
Biomasa sembrada



Nota. En esta imagen se observa la biomasa sembrada sobre las láminas de estropajo.

Esta biomasa inmovilizada se deja durante 8 días a 30 °C en una incubadora sin agitación para su propagación en el material de soporte.

5.2.4. Cuantificación de biomasa para inoculación

Para determinar la cantidad real de biomasa que se va a inocular en cada lámina de estropajo, se utilizan los dos Erlenmeyers restantes del punto 5.3.3.b., que corresponden a la réplica 3 y réplica 4, el contenido de estos recipientes, también se distribuye en tubos falcón de 13 mL y son llevados a una centrifugadora *Fanem Baby I.* a 3600 rpm durante 8 minutos. Pasado este tiempo se descarta todo el sobrenadante de los tubos y se lleva a un horno a 60 °C durante 48 horas, para realizar las pruebas de peso seco de la biomasa.

Se debe tener el peso de los tubos falcón sin tapa secos, para esto, los tubos vacíos se llevan a un horno a 60 °C durante 48 horas. Posterior a este proceso, y pasadas las 48 horas de los tubos con la biomasa en el horno, ambos se sacan y se pesan nuevamente. Finalmente se realiza la resta del peso de los tubos falcón secos con biomasa con el peso los tubos falcón vacíos secos, para obtener el peso de la biomasa con la cual se inocula cada lámina, al mantenerse la relación de usar el contenido de cada tubo por cada lámina de estropajo.

5.2.5. Ajuste de concentraciones de fenol en muestra de agua residual

Para el ajuste de las concentraciones de fenol, se empieza conociendo la concentración inicial de fenol del agua entregada por la empresa Laboratorios Esko LTDA. Según el numeral 2.6.2. la concentración entregada por el Kit de Fenoles es de 0,1 mg/L.

Como se explicó en el diseño de experimentos, las concentraciones a usar son 4 mg/L (C1) y 9 mg/L (C2) . Para poder llegar a estas concentraciones se utiliza como reactivo Fenol Cristalino con una pureza del 99% suministrado por la Universidad de América. Para lograr estas concentraciones en la muestra de agua, se realizan los respectivos cálculos para determinar qué peso de fenol se necesita agregar a las soluciones. Se determina que para C1 se necesitan agregar 3,9 mg por litro de agua, y para C2 se necesitan 8,9 mg por litro de agua a usar.

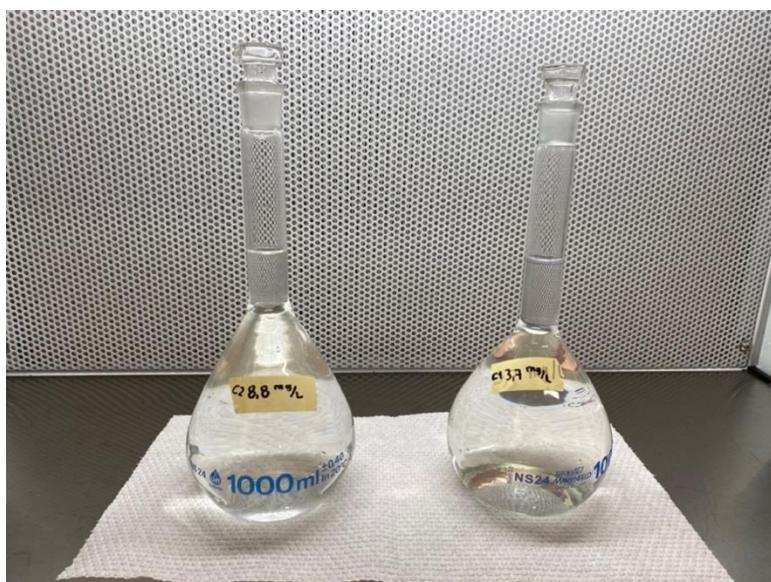
Debido al tamaño del cristal de fenol, cuyo peso rondaba los 3 mg, las concentraciones reales a trabajar son 3,7 mg/L (C1) y 8,8 mg/L (C2), para C1 y C2 se agregan 3,6 mg y 8,7 mg, respectivamente, de fenol cristalino. El objetivo final es

tener 1 litro de cada concentración para poder realizar el montaje experimental del sistema de degradación.

Para empezar, en dos Erlenmeyer de 500 mL, se toman 500 mL de agua entregada por la empresa, y se agrega el fenol pesado previamente, cabe resaltar que cada recipiente está marcado con C1 y C2 para evitar confusiones. Esta solución pasa después por una plancha de agitación para garantizar la homogenización completa de los cristales de fenol en el agua.

Después de garantizada la homogenización de la mezcla, con dos balones aforados de 1000 mL, se procede a hacer una dilución completa, se adiciona en primer lugar la mezcla homogenizada previamente, una en cada balón aforado, después con la muestra de agua entrega por la empresa se realiza el aforo hasta el litro completo. Posteriormente se agita con mucho cuidado, girando el balón aforado de un lado al otro. Las soluciones finales se muestran en la Figura 24.

Figura 24
Muestras de agua residual



Nota. Esta muestra los balones aforados de las muestras de agua residual con concentración de 8,8 mg/L (izquierda) y 3,7 mg/L (derecha).

Finalmente, para garantizar la concentración inicial de fenoles con las que se va a llevar a cabo el experimento, se les realiza una prueba de fenoles con el kit usado previamente.

5.2.6. Montaje experimental del sistema de degradación

Después de realizar las muestras de agua residual, se procede a hacer el montaje experimental del sistema de degradación, para ello se utilizan las láminas de estropajo con biomasa inmovilizada que se dejó durante 8 días a 30 °C (Figura 25).

Figura 25
Láminas de estropajo con biomasa



Nota. Esta imagen muestra las láminas de estropajo con biomasa inmovilizada pasados los 8 días.

Se utilizan 8 Erlenmeyer de 250 ml para el montaje y se codifican según la siguiente tabla:

Tabla 11

Codificación muestras de agua residual para montaje experimental

No.	Codificación	Contenido
1	C1 R1	Concentración 1 (3,7 mg/L) – Replica 1
2	C1 R2	Concentración 1 (3,7 mg/L) – Replica 2
3	C1 R3	Concentración 1 (3,7 mg/L) – Replica 3
4	C1 B	Concentración 1 (3,7 mg/L) – Sin estropajo BLANCO
5	C1 ESTROPAJO	Concentración 1 (3,7 mg/L) – Estropajo sin biomasa
6	C2 R1	Concentración 2 (8,8mg/L) – Replica 1
7	C2 R2	Concentración 2 (8,8 mg/L) – Replica 2
8	C2 R3	Concentración 2 (8,8 mg/L) – Replica 3
9	C2 B	Concentración 1 (8,8 mg/L) – Sin estropajo BLANCO
10	C2 ESTROPAJO	Concentración 1 (8.8mg/L) – Estropajo sin biomasa

Nota. En esta tabla se muestran las respectivas codificaciones de los Erlenmeyer que se utilizaran en el montaje experimental de la degradación de fenoles.

Figura 26

Preparación de los recipientes en la cámara de extracción

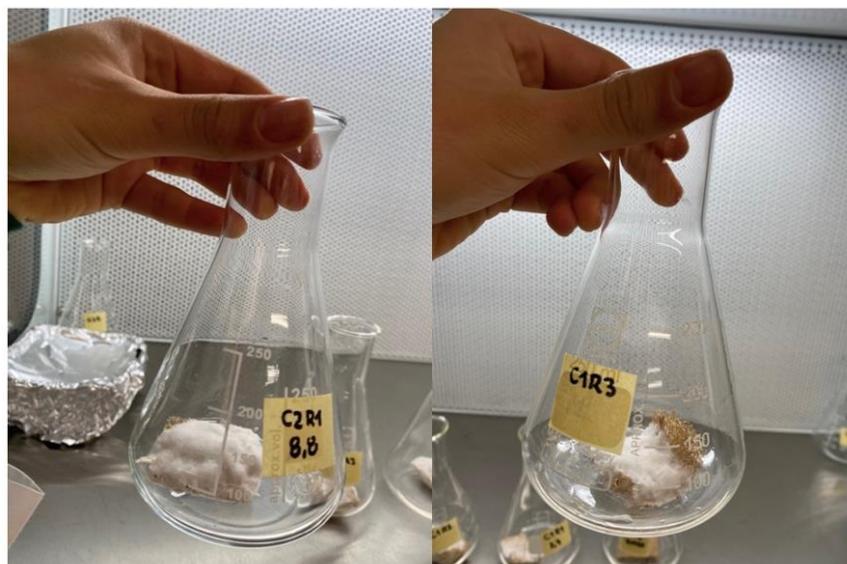


Nota. En esta imagen se presentan los Erlenmeyers con su respectiva codificación, antes de la dosificación de la muestra de agua residual.

Para los recipientes 1-3 y 6-8, según la Tabla 11, el montaje se realiza en una cabina de flujo laminar descontaminada previamente para evitar contaminación. Con unas

pinzas esterilizadas previamente, se deposita una lámina de estropajo con biomasa inmovilizada en el Erlenmeyer como se muestra en la Figura 27.

Figura 27
Erlenmeyer con lámina de estropajo



Nota. Esta imagen muestra los Erlenmeyer de las dos concentraciones con su respectiva lámina de estropajo con biomasa inmovilizada.

Los recipientes 5 y 10, según la Tabla 11, se realizan con el fin de determinar si la sola lámina de estropajo, por su estructura fibrosa y porosa, es capaz de adquirir impurezas del agua, eliminando así parte del fenol presente en la muestra de agua. Los recipientes 4 y 9 se realizan con el fin de determinar cuánto fenol se puede evaporar de la muestra del agua sin estar presente la lámina de estropajo con la biomasa inmovilizada.

Después de tener todos los Erlenmeyer listos, en una cámara de extracción de gases, se agregan las muestras de aguas residual a cada recipiente que corresponda, después son sellados con un tapón de algodón.

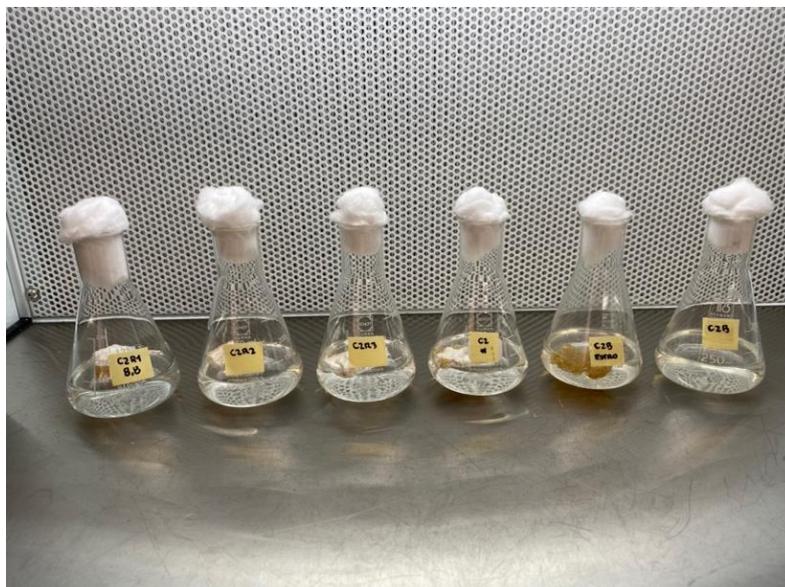
Este montaje se deja por 8 días, a temperatura ambiente, sin agitación, a la espera de resultados, como se muestran en las siguientes imágenes.

Figura 28
Erlenmeyer concentración 1



Nota. En esta imagen se muestran todos los Erlenmeyer a usar en el montaje experimental de la concentración 1 (3,7 mg/L).

Figura 29
Erlenmeyer concentración 2



Nota. En esta imagen se muestran todos los Erlenmeyer a usar en el montaje experimental de la concentración 2 (8,8 mg/L).

5.2.7. Determinación de concentración de fenoles final

Después de los 8 días de realizado el montaje, se procede a hacer la cuantificación de fenoles por medio del kit de fenoles, como si indica en el numeral 2.6.

Se establece el porcentaje de remoción teniendo en cuenta la concentración inicial y la final como se indica en la siguiente ecuación

$$\%Remoción = \frac{(C_i - C_f)}{C_i} * 100$$

Donde C_i es concentración inicial de fenol en mg/L

C_f es concentración final de fenol en mg/L

5.3. Resultados

5.3.1. Cuantificación de biomasa para la inoculación

Tabla 12

Peso tubo falcón sin tapa

No.	Peso tubo Falcón sin tapa húmedo (g)	Peso tubo Falcón sin tapa seco (g)
1	5,6081	5,5898
2	5,5739	5,5571
3	5,6289	5,6277
4	5,5391	5,4824
5	5,5826	5,5595
6	5,5875	5,5759
7	5,6123	5,6045
8	5,5615	5,5593
Promedio	5,5867	5,5695

Nota. En esta tabla están consignados los resultados del peso seco de los tubos falcón sin tapa.

El peso promedio de los tubos falcón después de 48 horas a 60 °C en el horno es de 5,5695 ± 0,0431 g, este peso se tendrá en cuenta para la determinación de la biomasa

final con la que se va a empezar el proceso de inmovilización en las láminas de estropajo.

Tabla 13
Peso biomasa seca en tubos falcón

No.	Peso Biomasa Seca en Tubo falcón (g)
1	5,8823
2	5,9385
3	5,8375
4	5,9763
5	5,5437
6	5,7892
Promedio	5,8279

Nota. En esta tabla están consignados los resultados del peso seco de biomasa en los tubos falcón.

El peso promedio de la biomasa seca en el tubo falcón después de 48 horas en el horno a 60 °C es de 5,8279 ± 0,0239 g, este valor se tendrá en cuenta para los cálculos finales para conocer el peso de la biomasa con la cual se inmoviliza en la lámina de estropajo

Después de tener estos resultados promedio del peso de la biomasa seca en los tubos falcón se procede a hacer la resta con el peso del tubo falcón seco sin biomasa para poder encontrar la cantidad de biomasa con la cual se inmoviliza cada lámina de estropajo

$$\text{Peso biomasa} = (\text{PP biomasa seca en tubo Falcon} - \text{PP tubo falcon seco sin tapa})$$

Donde PP es peso promedio en g

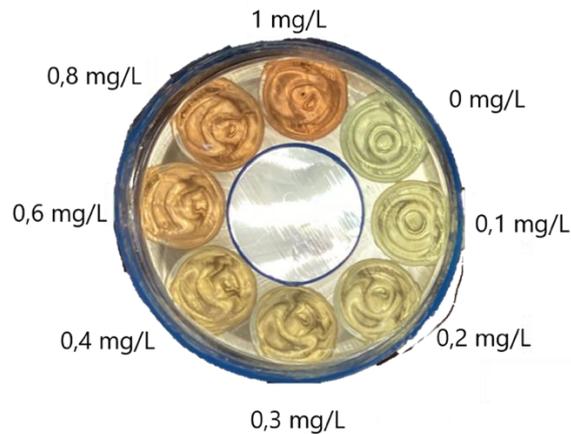
$$\text{Peso biomasa} = 5,8279 \text{ g} - 5,5695 \text{ g}$$

$$\text{Peso biomasa} = 0,2584 \text{ g}$$

5.3.2. Concentración final de fenoles

Después de los 8 días realizado el montaje experimental del sistema de degradación, se encontraron los siguientes resultados.

Figura 30
Segundo comparador del kit de fenoles



Nota. La imagen muestra la escala del segundo comparador del kit de fenoles.

Figura 31
Concentración 1 – Blanco (C1B)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C1B contrastada con el primer comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 32
Concentración 1 - Estropajo (C1 Estropajo)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C1 Estropajo contrastada con el primer comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 33
Concentración 1 - Réplica 1 (C1R1)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C1R1 contrastada con el segundo comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 34
Concentración 1 - Réplica 2 (C1R2)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C1R2 contrastada con el segundo comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 35
Concentración 1 - Réplica 3 (C1R3)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C1R3 contrastada con el segundo comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 36
Concentración 2 - Blanco (C2B)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C2 Blanco contrastada con el primer comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 37
Concentración 2 - Estropajo (C2 Estropajo)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C2 Estropajo contrastada con el primer comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 38
Concentración 2 - Réplica 1 (C2R1)



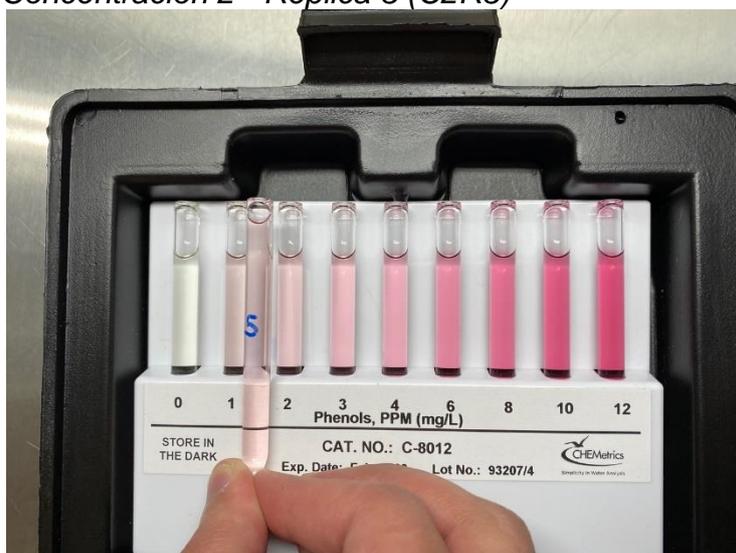
Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C2R1 contrastada con el primer comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 39
Concentración 2 - Réplica 2 (C2R2)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C2R2 contrastada con el segundo comparador pasados los 8 días de tratamiento.

Figura 40
Concentración 2 - Réplica 3 (C2R3)



Nota. En esta imagen se observa la muestra de la C2 R3 contrastada con el primer comparador pasados los 8 días de tratamiento.

En la siguiente tabla se hace un resumen de las concentraciones finales teniendo en cuenta el intervalo al que pertenecen según el comparador del kit para cada uno de los ensayos.

Tabla 14
Concentraciones y porcentajes de remoción finales para la concentración de 3,7 mg/L

No.	Codificación	Figura	Concentración inicial (mg/L)	Intervalo Concentración final* (mg/L)	Intervalo porcentaje remoción (%)
1	C1 B	31	3,7	3 - 4	0
2	C1 ESTROPAJO	32		3 - 4	0
3	C1 R1	33		0,1 – 0,2	97,30 – 94,59
4	C1 R2	34		0,4 – 0,6	89,19 – 83,78
5	C1 R3	35		0,1 – 0,2	97,30 – 94,59

Nota. La tabla presenta los intervalos de concentraciones numéricas según la comparación de las muestras con el comparador correspondiente después de 8 días de tratamiento. *Según los comparadores del kit K-8012/R-8012 Phenol CHEMetrics® Kit.

Tabla 15

Concentraciones y porcentajes de remoción finales para la concentración de 8,8 mg/L.

No.	Codificación	Figura	Concentración inicial (mg/L)	Intervalo Concentración final* (mg/L)	Intervalo porcentaje remoción (%)
1	C2 B	36	8,8	8 – 10	0
2	C2 ESTROPAJO	37		8 – 10	0
3	C2 R1	38		1 – 2	88,64 – 77,27
4	C2 R2	39		0,8 – 1	90,91 – 88,64
5	C2 R3	40		1 - 2	88,64 – 77,27

Nota. La tabla presenta los intervalos de concentraciones numéricas según la comparación de las muestras con el comparador correspondiente después de 8 días de tratamiento. *Según los comparadores del kit K-8012/R-8012 Phenol CHEMets® Kit.

5.4. Análisis e interpretación de resultados

La cepa de *Pleurotus ostreatus* se encontraba en un estado metabólico lento por los cierres decretados por la alcaldía durante la temporada de diciembre de 2020 – enero de 2021, por lo que fue necesario realizar múltiples repiques alternando entre medio líquido y medio sólido buscando activar al microorganismo, para garantizar un crecimiento rápido del mismo. Los primeros repiques demoraban más de una semana en colonizar la mitad de la caja de Petri, mientras que los últimos lograban el mismo avance en tres (3) días.

Teniendo una cepa activa metabólicamente, se observó que pasados los tres (3) días el hongo presentaba un crecimiento del micelio de color blanco y apariencia algodonosa alrededor de cada uno de los discos de agar colocados inicialmente en las cajas de Petri. Luego, el hongo presentó un crecimiento favorable en el medio líquido de salvado de trigo, haciéndose visible en la cantidad de pellets de *Pleurotus ostreatus* que podían verse en el Erlenmeyer (Figura 20), que posteriormente iba a ser envasado en los tubos falcón para preparar la fase de inmovilización.

Realizados los cálculos de cuantificación de biomasa contenida en una lámina de estropajo, como indica el numeral 5.3.1, se determinó que se hizo uso de 0,0215 g/cm² de *Pleurotus ostreatus* para la inmovilización.

Pleurotus ostreatus presentó una afinidad hacia el biomaterial de soporte (estropajo) al crecer de manera satisfactoria en menos de una semana, al no evidenciarse presencia de otros microorganismos (como bacterias u hongos de diferentes

especies), demostrando que el manejo del procedimiento hasta la fecha se había mantenido inocuo.

Garantizar la concentración de fenol deseada en la muestra de agua no fue posible debido al peso de cada cristal del reactivo empleado, por lo tanto, se debió manejar una concentración cercana a la deseada. Se decidió incorporar el estropajo colonizado en el Erlenmeyer antes que la muestra de agua ya que esto permitía que el material se impregnara con el agua y no flotara por completo, garantizando el contacto del hongo con el fenol.

Para la cuantificación de fenoles en las muestras de agua se utilizó un método colorimétrico por el cual se obtendría una concentración aproximada según la sensibilidad del comparador del kit, es por esto que para las concentraciones finales se tuvo en cuenta el intervalo en donde estaba comprendida cada muestra en relación al comparador, y se realizó el análisis estadístico y la determinación del porcentaje de remoción para ambos valores al no poder determinar un valor exacto de la concentración de fenol en la muestra.

Para el montaje experimental se hizo uso de dos blancos analíticos en cada concentración, el primer blanco (C1B y C2B) hace referencia a la muestra de agua residual sin presencia del biomaterial de soporte ni la biomasa, esto permite determinar si el fenol se evapora de la muestra a pesar de estar cubierto por un tapón de algodón, el segundo blanco (C1 Estropajo y C2 Estropajo) hace referencia a la muestra de agua residual con únicamente el biomaterial de soporte, ya que como se encontró en la bibliografía, el estropajo al ser un material poroso cuenta con la capacidad de adsorber algunos contaminantes como lo son los compuestos aromáticos o los iones metálicos.

Pasados los ocho (8) días del montaje experimental se encontró que para la primera concentración (3,7 mg/L de fenol), el hongo *Pleurotus ostreatus* logró degradar entre 94,59% y 97,30% para las réplicas 1 y 3 y entre 83,78% y 89,19% para la réplica 2, mientras que en la segunda concentración (8,8 mg/L), el hongo *Pleurotus ostreatus* logró degradar entre 77,27% y 88,64% para las réplicas 1 y 3 y entre 88,64% y 90,91% para la réplica 2. El primer blanco (C1B y C2B) no presentó una evidente pérdida de fenol en ninguna de las concentraciones y el segundo blanco (C1 Estropajo y C2 Estropajo) presentó el mismo comportamiento, esto debido a que el primer

comparador tiene un intervalo de 1 mg/L por lo que no es evidente visualmente una pérdida del fenol, mayor a 0,7 mg/L para la primera concentración o mayor a 0,8 mg/L para la segunda concentración, hasta que la muestra presente una concentración fuera de dicho intervalo.

Los resultados obtenidos en la fase experimental se compararon con revisiones bibliográficas de degradación de fenoles usando *Pleurotus ostreatus*, se tuvo en cuenta tanto el porcentaje de remoción, el tiempo del tratamiento y la concentración inicial de fenol, pero no se tuvo en cuenta la naturaleza del compuesto, como se puede ver en la Tabla 16.

Tabla 16

Comparación de los resultados experimentales con otros autores.

Autor	Concentración inicial de fenol (mg/L)	Tiempo de tratamiento	Porcentaje de remoción
Medina, Patiño	3,7	8 días	97,30%
Medina, Patiño	8,8	8 días	90,91%
Nájera[70]	10	34 días	99,8%
Fountoulakis[95]	10,35	20 días	64,71%
Melendez[69]	8	24 horas	96,5%

Nota. La tabla presenta los resultados obtenidos en el experimento en comparación con otros autores que usaron *Pleurotus ostreatus* para el tratamiento de fenoles.

Teniendo en cuenta esta comparación, se puede asumir que el proceso experimental realizado fue exitoso debido a que *Pleurotus ostreatus* logró degradar porcentajes muy altos a concentraciones altas y moderadas, lo que demuestra que por medio de la acción de enzimas como lacasas, manganeso peroxidasas y lignina peroxidasas se logra remover el contaminante de interés (fenol) probando así la viabilidad de este tipo de tratamiento biológico para la descontaminación de efluentes pertenecientes a una industria cosmética.

Se hizo un análisis de varianza haciendo uso del software Minitab®, para el límite inferior y superior del intervalo al que pertenece la muestra según el comparador correspondiente, como se mencionó previamente, el primer análisis corresponde al límite inferior de ambas concentraciones, se obtuvo un valor de F de 1,72 y un valor

de p de 0,227 por lo que se concluye que hay diferencias estadísticamente significativas en la acción del material de soporte y la actividad enzimática de *Pleurotus ostreatus* en la muestra de agua residual y se rechaza la hipótesis nula.

Para el límite superior se obtuvo un valor de F de 2,04 y un valor de p de 0,191 por lo que se concluye que hay diferencias estadísticamente significativas en la acción del material de soporte y la actividad enzimática de *Pleurotus ostreatus* en la muestra de agua residual y se rechaza la hipótesis nula.

6. ESTIMACIÓN DEL COSTO DE INVESTIGACIÓN DE LA PROPUESTA DEL SISTEMA DE DEGRADACIÓN DE FENOLES

Debido a que la propuesta incluye un desarrollo experimental, se recopilan los diferentes gastos incurridos durante este proceso, incluyendo ítems como los reactivos usados, materiales, equipos y mano de obra, los cuales se muestran en las siguientes tablas.

Cabe resaltar que la Universidad de América no presta el servicio de alquiler de equipos con cobro a externos, por lo que en el precio de los equipos no se calculó según la cantidad de horas de uso, en vez, se tomó como el precio comercial del equipo avaluado por la Universidad de América según el inventario de laboratorios suministrado por la entidad.

Tabla 17

Costos de los materiales usados durante la experimentación.

Materiales	Capacidad	Cantidad	Costo (\$/un)	Costo (\$)
Erlenmeyer	250 mL	12	\$ 11.900	\$ 142.800
Erlenmeyer	500 mL	2	\$ 12.614	\$ 25.228
Vaso de precipitado	2 L	3	\$ 23.800	\$ 71.400
Vaso de precipitado	1 L	1	\$ 11.900	\$ 11.900
Vaso de precipitado	600 mL	2	\$ 13.328	\$ 26.656
Vaso de precipitado	250 mL	2	\$ 10.115	\$ 20.230
Vaso de precipitado	50 mL	4	\$ 5.950	\$ 23.800
Probeta	100 mL	2	\$ 14.280	\$ 28.560
Balón aforado	1 L	2	\$ 41.650	\$ 83.300
Espátula	Unidad	3	\$ 5.950	\$ 17.850
Microespátula	Unidad	2	\$ 8.925	\$ 17.850
Puntas desechables para micropipeta	Unidad	20	\$ 1.785	\$ 35.700
Tubos falcón	13 mL	18	\$ 2.975	\$ 53.550
Pinzas	Unidad	1	\$ 5.800	\$ 5.800
Azas	Unidad	4	\$ 4.760	\$ 19.040
Cajas de Petri	100 mm x 15 mm	15	\$ 536	\$ 8.040
Agitador de vidrio	Unidad	2	\$ 16.065	\$ 32.130
Rollo de aluminio	300 m	1	\$ 10.200	\$ 10.200
Papel parafilm	1 caja	1	\$ 182.000	\$ 182.000
Algodón	500 g	1	\$ 9.000	\$ 9.000

Tabla 17 Continuación

Papel kraft	150 m	1	\$ 28.000	\$ 28.000
Gasa	2 m	4	\$ 4.500	\$ 18.000
Cinta indicadora	50 m	1	\$ 96.000	\$ 96.000
Cinta de enmascarar	50 m	1	\$ 2.600	\$ 2.600
Tijeras	Unidad	1	\$ 2.000	\$ 2.000
Bandejas de aluminio	20 unidades	1	\$ 7.320	\$ 7.320
Estropajo	1 paquete	3	\$ 2.500	\$ 7.500
Kit de fenol	30 ampolletas	1	\$ 484.100	\$ 484.100
Indicador de pH	1 rollo	1	\$ 95.000	\$ 95.000
Marcador	Unidad	1	\$ 3.000	\$ 3.000
Termómetro	Unidad	1	\$ 25.000	\$ 25.000
Subtotal (\$)				\$ 1.593.554

Nota. La tabla muestra los diferentes materiales usados durante la investigación, los precios fueron obtenidos de un inventario suministrado por la Universidad de América.

Tabla 18

Costos de los reactivos usados durante la experimentación.

Reactivos	Capacidad	Cantidad	Costo (\$)
Levadura	25 g	1	\$ 4.000
Cloranfenicol	8 cápsulas	1	\$ 4.500
Glucosa	500 g	1	\$12.000
Salvado de trigo	10 kg	1	\$ 21.800
KH ₂ PO ₄	1 kg	1	\$ 115.192
Peptona	1 kg	1	\$ 326.060
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 kg	1	\$ 173.740
MnSO ₄	1 kg	1	\$ 178.500
CuSO ₄	1 kg	1	\$ 160.650
Agar agar	1 kg	1	\$ 9.520
Fenol cristalino	1 kg	1	\$ 714.000
Agua destilada	10 L	1	\$32.000
Subtotal (\$)			\$ 1.751.962

Nota. La tabla muestra los diferentes reactivos usados durante la investigación, los precios fueron obtenidos de un inventario suministrado por la Universidad de América.

Tabla 19*Costos de los equipos usados durante la experimentación.*

Equipos	Cantidad	Costo (\$)
Cabina de flujo laminar	1	\$31.839.900
Centrifugadora	1	\$ 6.612.000
Balanza analítica	1	\$ 6.844.000
Horno	1	\$ 2.980.040
Balanza	1	\$ 1.687.800
Autoclave	1	\$ 2.856.000
Estufa de 2 puestos	1	\$ 113.900
Shaker	1	\$ 5.452.000
Plancha de calentamiento	2	\$ 2.093.800
Incubadora propia	1	\$ 300.000
Incubadora	1	\$ 20.111.000
Subtotal (\$)		\$ 80.890.440

Nota. La tabla muestra los diferentes equipos usados durante la investigación, los precios fueron obtenidos de un inventario suministrado por la Universidad de América.

Tabla 20*Costos de la mano de obra necesaria durante la investigación.*

Talento humano	Semanas	Días	Horas	Total (horas)	Costo (\$/hora)	Costo (\$)
Investigador 1	11	3	5	165	\$10.000	\$1'650.000
Investigador 2	11	3	5	165	\$10.000	\$1'650.000
Directora	8	1	4	32	\$40.000	\$1'280.000
Subtotal (\$)						\$4.580.000

Nota. La tabla muestra la cantidad de horas invertidas por cada investigador y la directora durante la investigación.

Tabla 21*Costo de la cepa de *Pleurotus ostreatus**

Cepa	Costo (\$)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	\$51.000

Nota. La tabla muestra el precio de la cepa de *Pleurotus ostreatus* comprada al inicio de la investigación.

Tabla 22*Costos conglomerados de cada parámetro*

Parámetro	Costo (\$)
Materiales	\$1.593.554
Reactivos	\$1.751.962
Equipos	\$80.890.440
Talento humano	\$4.580.000
Cepa	\$51.000
Total	\$88.866.956

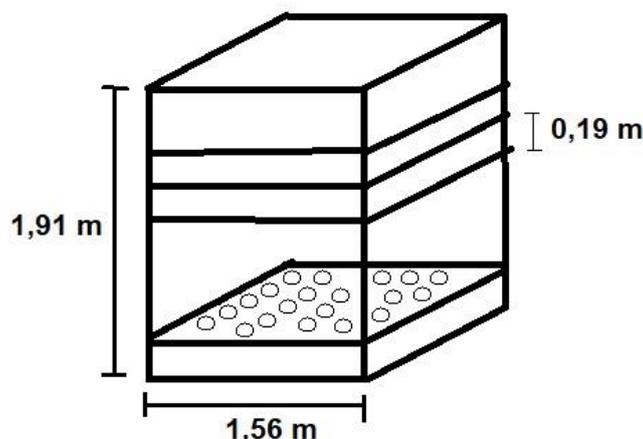
Nota. La tabla muestra los gastos totales de la investigación

Los costos totales de la investigación, teniendo en cuenta los costos de materiales, equipos, reactivos y mano de obra es de \$88.866.956.

Además, se hizo una estimación del posible costo de escalamiento a la planta de tratamiento de agua de Laboratorios Esko Ltda, teniendo en cuenta únicamente los equipos y algunos materiales necesarios para esto. Se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos durante la fase experimental (100 mL de agua se tratan con 12 cm² de estropajo) y se hizo un escalado hacia el volumen de agua correspondiente.

Se escogieron 2000 Litros que es el volumen máximo que puede procesar Laboratorios Esko según la capacidad de su tanque de almacenamiento, se plantea un tanque de 2000 L que en su interior tiene múltiples bandejas porosas, en cada bandeja se encuentra el estropajo con la biomasa inmovilizada, este diseño permite procesar diferentes cantidades de agua hasta un máximo de 2000 Litros. Hay que tener en cuenta que para los cálculos se asumió el tanque como un cubo, más no como un cilindro, el esquema se puede ver en la Figura 41.

Figura 41
Esquema del diseño de escalamiento propuesto



Nota. La imagen muestra el esquema del diseño propuesto asumiendo el tanque como un cubo.

El tanque cuenta con 10 bandejas de 1,56 m de lado, logrando un área efectiva de tratamiento de 2,434 m² por cada una, permitiendo alcanzar los 24 m² de área necesaria para tratar 2000 Litros de agua. En la Tabla 23 se pueden ver los costos que potencialmente traería este diseño.

Tabla 23
Costos de equipos y materiales principales del diseño escalado

Equipo/Material	Cantidad	Costo (\$/un)	Costo total (\$)
Tanque plástico 2000 L	1	\$1.039.400	\$1.039.400
Canastas plásticas 1m x 0,7m x 0,25m	16	\$15.000	\$240.000
Estropajo 10cm x 18cm	425	\$2.500	\$1.062.500
Subtotal (\$)			\$2.341.900

Nota. La tabla muestra los costos del diseño propuesto para el escalamiento de la propuesta de tratamiento de fenoles.

Para la producción de biomasa es necesaria una cantidad de 516,8 gramos por cada bandeja (teniendo en cuenta la inoculación manejada de 0,2584 gramos por cada lámina de 12 cm²), asumiendo que de cada litro de medio de cultivo de salvado de trigo se producen 15,504 gramos serían necesarios 33,33 litros de solución, en la Tabla 24 se muestran los costos de los reactivos necesarios para preparar 34 litros del medio de cultivo.

Tabla 24

Costos de reactivos necesarios para la producción de la biomasa del diseño propuesto

Reactivos	Capacidad	Cantidad	Costo (\$)
Levadura	25 g	2	\$ 8.000
Cloranfenicol	8 cápsulas	1	\$ 4.500
Glucosa	500 g	1	\$12.000
Salvado de trigo	10 kg	1	\$ 21.800
KH ₂ PO ₄	1 kg	1	\$ 115.192
Peptona	1 kg	1	\$ 326.060
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 kg	1	\$ 173.740
MnSO ₄	1 kg	1	\$ 178.500
CuSO ₄	1 kg	1	\$ 160.650
Agar agar	1 kg	1	\$ 9.520
Agua destilada	40 L	1	\$128.000
Subtotal (\$)			\$ 1.137.962

Nota. La tabla muestra los costos de reactivos necesarios para preparar 34 litros del medio líquido de salvado de trigo para la producción de biomasa.

El costo de un reactor de 50 litros ronda los \$42.636.000 COP (11000 USD con una tasa de cambio de 3.876 COP) [96] por lo que se puede considerar la tercerización de la producción de la biomasa fúngica e inmovilización en las láminas de estropajo, en una planta piloto.

Teniendo en cuenta lo anterior, el costo del diseño propuesto tiene un valor de \$3.479.862.

7. CONCLUSIONES

Se evaluaron teóricamente las diferentes tecnologías disponibles para la depuración de fenoles en aguas residuales, pasando por las tecnologías físicas, químicas y biológicas, se decidió que las tecnologías biológicas son las que presentan más ventajas ya que tienen bajo costo y altas eficiencias a diferencia de las tecnologías no biológicas que pueden incurrir en altos costos de implementación o mantenimiento.

Se seleccionó un tratamiento para la degradación de fenoles en las aguas residuales haciendo uso de una matriz de selección por el *Método Pugh*, teniendo en cuenta parámetros como inocuidad, patogenicidad, capacidad de degradación de compuestos aromáticos, colonización de un sustrato lignocelulósico y los intereses del semillero de investigación, obteniendo como resultado que los hongos son el tratamiento que mejor se adapta a las necesidades de Laboratorios ESKO Ltda.

Se establecieron las condiciones que más favorecen el proceso de degradación de fenoles por medio del uso de *Pleurotus ostreatus* inmovilizado en un soporte biodegradable, estableciendo una temperatura de crecimiento en incubadora con agitación constante a 30 °C, usando como medio salvado de trigo. La concentración inicial de 3,7 mg/L de fenol permitió alcanzar porcentajes más altos de degradación de hasta el 97,30%, mientras que la concentración inicial de 8,8 mg/L de fenol permitió alcanzar porcentajes de degradación de hasta 90,91%.

Se estimó el costo de la investigación de la propuesta teniendo en cuenta parámetros como los costos de materiales, reactivos, equipos y la mano de obra, haciendo uso del inventario de laboratorio de la Universidad de América cuando fue necesario, llegando a un costo total de \$88.866.956.

BIBLIOGRAFIA

- [1] D. Prato, "Tratamiento de aguas residuales industriales fenólicas sintéticas mediante procesos avanzados de oxidación," *Univ. Iberoam.*, p. 148, 2007.
- [2] M. E. García, J. A. Pérez, and L. Generalidades, "Aguas Residuales. Composición."
- [3] M. O. Navarro, "Demanda bioquímica de oxígeno 5 días, incubación y electrometría.," *Inst. Hidrol. Meteorol. y Estud. Ambient.*, vol. 2, pp. 2–9, 2015, [Online]. Available: <http://www.ideam.gov.co/>.
- [4] C. Rodriguez, A. G. Coy, and M. E. Duque, "Demanda Química De Oxígeno Por Reflujo Cerrado Y Volumetría," *Minist. Ambient. Vivienda y Desarro. Territ.*, p. 11, 2007, [Online]. Available: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Demanda+Química+de+Oxígeno..pdf/20030922-4f81-4e8f-841c-c124b9ab5adb>.
- [5] J. G. AFANADOR, M. S. Gaitan, and M. E. Duque, "pH EN AGUA POR ELECTROMETRIA," *Inst. Hidrol. Meteorol. y Estud. Ambient.*, no. 20, pp. 1–4, 2009.
- [6] IDEAM, "Sólidos Suspendidos Totales En Agua Secados a 103 – 105 °c.," *Subdirección Hidrol. - Grup. Lab. Calid. Ambient.*, pp. 1–4, 2007, [Online]. Available: <http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38155/Sólidos+Suspendidos+Totales+en+aguas.pdf/f02b4c7f-5b8b-4b0a-803a-1958aac1179c>.
- [7] IDEAM, "Sistema de Información del Medio Ambiente Identificación de la Variable Descripción General," *Dane*, p. 3, 2007, [Online]. Available: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/pib/ambientales/Sima/solidos_suspension.pdf.
- [8] A. M. Hernandez, R. del P. Bojaca, and M. E. Duque, "Determinación de grasas y aceites en aguas por el método soxhlet," *Ideam*, pp. 1–8, 2007.
- [9] Norma Mexicana, "Nmx-Aa-039-Scfi-2001," 2001.

- [10] A. E. Muñoz, "Proceso fenton y foto-fenton para la remoción de fenoles de efluentes generados en una planta de celulosa kraft," *Tesis Maest.*, p. 83, 2011.
- [11] M. y E. A. de C. Instituto de Hidrología, "Identidad, producción, usos del fenol," *Prod. Apl. y usos del fenol*, pp. 217–236, 2010.
- [12] M. M. Bermeo Garay, *Tratamiento de aguas residuales*, no. 55. 2016.
- [13] F. Attiogbe, "Comparison of membrane bioreactor technology and conventional activated sludge system for treating bleached kraft mill effluent," *African J. Environ. Sci. Technol. Full*, vol. 7, no. 5, pp. 292–306, 2013, doi: 10.5897/AJEST2013.1429.
- [14] C. Calderón, *Identificación y descripción de sistemas primarios para el tratamiento de aguas residuales.* .
- [15] E. (Instituto de I. U. Vega Gonzáles and J. G. de I. U. Ramos Hernández, "Alternativas de tratamiento de aguas residuales - Tratamiento físico.," pp. 8–14, 1996.
- [16] Metcalf and Eddy, *Ingeniería de aguas residuales. Volumen 1: Tratamiento, vertido y reutilización.* 1995.
- [17] J. C. Quintero, G. Feijoo, and J. M. Lema, "Production of Ligninolytic Enzymes From Basidiomycete Fungi on Lignocellulosic Materials," *Vitae*, vol. 13, no. 2, pp. 61–67, 2006.
- [18] C. Martín Moreno, A. González Becerra, and M. J. Blanco Santos, "Tratamientos biológicos de suelos contaminados: Contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación," *Rev. Iberoam. Micol.*, vol. 21, no. 3, pp. 103–120, 2004.
- [19] S.-A. C. y S.-Y. J. M. García-Hernández David, "Degradación de aromáticos por hongos de la podredumbre blanca. Minirevisión," *Microbiol. Ambient. Inst. Investig. Químico-Biológicas*, no. April, 2006.
- [20] C. M. D. A. Y. D. SOSTENIBLE, "Resolución 0631. (17, marzo, 2015). Por la cual se establecen los parámetros y valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpo de agua superficiales y a los sistemas de

- alcantarillado público y se dictan otras disposiciones.,” *Red de desarrollo sostenible de Colombia*. 20015, doi: 10.4324/9780203861950.
- [21] L. Esko, “Informe de actividades planta de tratamiento,” 2017.
- [22] ANALQUIM, “INFORME DE MONITOREO E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS – AGUA SUPERFICIAL - Época de Verano,” 2019.
- [23] N. D. Tzoupanos and a I. Zouboulis, “Coagulation-Flocculation Processes in Water / Wastewater Treatment : the Application of New Generation of Chemical Reagents,” *6th IASME/WSEAS Int. Conf. HEAT Transf. Therm. Eng. Environ.*, no. January, pp. 309–317, 2008.
- [24] J. Naumczyk, J. Bogacki, P. Marcinowski, and P. Kowalik, “Cosmetic wastewater treatment by coagulation and advanced oxidation processes,” *Environ. Technol. (United Kingdom)*, vol. 35, no. 5, pp. 541–548, 2014, doi: 10.1080/09593330.2013.808245.
- [25] L. G. C. Villegas, N. Mashhadi, M. Chen, D. Mukherjee, K. E. Taylor, and N. Biswas, “A Short Review of Techniques for Phenol Removal from Wastewater,” *Curr. Pollut. Reports*, vol. 2, no. 3, pp. 157–167, 2016, doi: 10.1007/s40726-016-0035-3.
- [26] B. N. T. y S. C. George, “Production of Activated Carbon from Natural Sources,” *IMedPub Journals*, pp. 1–5, 2015.
- [27] N. D. Mu’azu, N. Jarrah, M. Zubair, and O. Alagha, “Removal of phenolic compounds from water using sewage sludge-based activated carbon adsorption: A review,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 14, no. 10, pp. 1–34, 2017, doi: 10.3390/ijerph14101094.
- [28] and B. H. Amine Mnif, Dorra Tabassi, Mourad Ben Sik Ali, “Phenol Removal from Water by AG Reverse Osmosis Membrane,” *Environ. Prog. Sustain. Energy*, vol. 33, no. 3, pp. 676–680, 2015, doi: 10.1002/ep.
- [29] O. T. Iorhemen, R. A. Hamza, and J. H. Tay, “Membrane bioreactor (Mbr) technology for wastewater treatment and reclamation: Membrane fouling,” *Membranes (Basel)*, vol. 6, no. 2, pp. 13–16, 2016, doi:

10.3390/membranes6020033.

- [30] T. Singh, A. K. Bhatiya, P. K. Mishra, and N. Srivastava, *An effective approach for the degradation of phenolic waste: Phenols and cresols*. Elsevier Inc., 2019.
- [31] X. Sun, C. Wang, Y. Li, W. Wang, and J. Wei, "Treatment of phenolic wastewater by combined UF and NF/RO processes," *Desalination*, vol. 355, pp. 68–74, 2015, doi: 10.1016/j.desal.2014.10.018.
- [32] H. Ozaki and H. Li, "Rejection of organic compounds by ultra-low pressure reverse osmosis membrane," *Water Res.*, vol. 36, no. 1, pp. 123–130, 2002, doi: 10.1016/S0043-1354(01)00197-X.
- [33] B. J. Yates, R. Zboril, and V. K. Sharma, "Engineering aspects of ferrate in water and wastewater treatment-a review," *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.*, vol. 49, no. 14, pp. 1603–1614, 2014, doi: 10.1080/10934529.2014.950924.
- [34] J. Zhang, B. Sun, and X. Guan, "Oxidative removal of bisphenol A by permanganate: Kinetics, pathways and influences of co-existing chemicals," *Sep. Purif. Technol.*, vol. 107, pp. 48–53, 2013, doi: 10.1016/j.seppur.2013.01.023.
- [35] I. M. S. Pillai and A. K. Gupta, "Batch and continuous flow anodic oxidation of 2,4-dinitrophenol: Modeling, degradation pathway and toxicity," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 756, pp. 108–117, 2015, doi: 10.1016/j.jelechem.2015.08.020.
- [36] Y. Chu, D. Zhang, L. Liu, Y. Qian, and L. Li, "Electrochemical degradation of m-cresol using porous carbon-nanotube-containing cathode and Ti/SnO₂-Sb₂O₅-IrO₂ anode: Kinetics, byproducts and biodegradability," *J. Hazard. Mater.*, vol. 252–253, pp. 306–312, 2013, doi: 10.1016/j.jhazmat.2013.03.018.
- [37] S. M. Aramyan, "Advances in Fenton and Fenton Based Oxidation Processes for Industrial Effluent Contaminants Control-A Review," *Int. J. Environ. Sci. Nat. Resour.*, vol. 2, no. 4, 2017, doi: 10.19080/ijesnr.2017.02.555594.
- [38] M. Muruganandham *et al.*, "Recent developments in homogeneous advanced oxidation processes for water and wastewater treatment," *Int. J. Photoenergy*,

- vol. 2014, 2014, doi: 10.1155/2014/821674.
- [39] M. Osman, "Waste Water Treatment in Chemical Industries: The Concept and Current Technologies," *J. Waste Water Treat. Anal.*, vol. 05, no. 01, pp. 1–12, 2014, doi: 10.4172/2157-7587.1000164.
- [40] M. R. Mofrad, M. E. Nezhad, H. Akbari, M. Atharizade, and M. B. Miranzadeh, "Evaluation of efficacy of advanced oxidation processes fenton, fenton-like and photo-fenton for removal of phenol from aqueous solutions," *J. Chem. Soc. Pakistan*, vol. 37, no. 2, pp. 266–271, 2015.
- [41] A. Babuponnusami and K. Muthukumar, "A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment," *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 2, no. 1, pp. 557–572, 2014, doi: 10.1016/j.jece.2013.10.011.
- [42] Y. Mikhak, M. M. A. Torabi, and A. Fouladitajar, *Refinery and petrochemical wastewater treatment*. Elsevier Inc., 2019.
- [43] W. H. Glaze, J. W. Kang, and D. H. Chapin, "The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and ultraviolet radiation," *Ozone Sci. Eng.*, vol. 9, no. 4, pp. 335–352, 1987, doi: 10.1080/01919518708552148.
- [44] S. Naidoo and A. O. Olaniran, "Treated wastewater effluent as a source of microbial pollution of surface water resources," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 11, no. 1, pp. 249–270, 2013, doi: 10.3390/ijerph110100249.
- [45] M. Umar and H. Abdul Aziz, "Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants in Water by Polyoxometalates," *Org. Pollut. -Monitoring, Risk Treat.*, pp. 195–208, 2013.
- [46] A. Ortiz-Gomez, B. Serrano-Rosales, M. Salaices, and H. De Lasa, "Photocatalytic oxidation of phenol: Reaction network, kinetic modeling, and parameter estimation," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 46, no. 23, pp. 7394–7409, 2007, doi: 10.1021/ie0611960.
- [47] U. I. Gaya and A. H. Abdullah, "Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems," *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.*, vol. 9, no. 1, pp.

- 1–12, 2008, doi: 10.1016/j.jphotochemrev.2007.12.003.
- [48] V. S. Mishra, V. V. Mahajani, and J. B. Joshi, "Wet Air Oxidation," *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 34, no. 1, pp. 2–48, 1995, doi: 10.1021/ie00040a001.
- [49] A. Fortuny, J. Font, and A. Fabregat, "Wet air oxidation of phenol using active carbon as catalyst," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 19, no. 3–4, pp. 165–173, 1998, doi: 10.1016/S0926-3373(98)00072-1.
- [50] C. R. Huang and H. Y. Shu, "The reaction kinetics, decomposition pathways and intermediate formations of phenol in ozonation, UV O₃ and UV H₂O₂ processes," *J. Hazard. Mater.*, vol. 41, no. 1, pp. 47–64, 1995, doi: 10.1016/0304-3894(94)00093-V.
- [51] B. H. Diya'Uddeen, W. M. A. W. Daud, and A. R. Abdul Aziz, "Treatment technologies for petroleum refinery effluents: A review," *Process Saf. Environ. Prot.*, vol. 89, no. 2, pp. 95–105, 2011, doi: 10.1016/j.psep.2010.11.003.
- [52] K. Basha, A. Rajendran, and V. Thangavelu, "Recent advances in the biodegradation of phenol: a review," *Asian J Exp Biol Sci*, vol. 1, no. 2, pp. 219–234, 2010.
- [53] A. Krastanov, Z. Alexieva, and H. Yemendzhiev, "Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives," *Eng. Life Sci.*, vol. 13, no. 1, pp. 76–87, 2013, doi: 10.1002/elsc.201100227.
- [54] R. K. Singh, S. Kumar, S. Kumar, and A. Kumar, "Biodegradation kinetic studies for the removal of p-cresol from wastewater using *Gliomastix indicus* MTCC 3869," *Biochem. Eng. J.*, vol. 40, no. 2, pp. 293–303, 2008, doi: 10.1016/j.bej.2007.12.015.
- [55] M. Vanishree, A. J. Thatheyus, and D. Ramya, "Biodegradation of Petrol Using the Fungus *Penicillium* sp.," *Sci. Int.*, vol. 2, no. 1, pp. 26–31, 2014, doi: 10.17311/sciintl.2014.26.31.
- [56] V. L. Santos and V. R. Linardi, "Biodegradation of phenol by a filamentous fungi isolated from industrial effluents - Identification and degradation potential," *Process Biochem.*, vol. 39, no. 8, pp. 1001–1006, 2004, doi: 10.1016/S0032-

9592(03)00201-2.

- [57] M. J. Shahid *et al.*, "Role of Microorganisms in the Remediation of Wastewater in Floating Treatment Wetlands : A Review," pp. 1–29, 2020.
- [58] V. Sridevi, M. V. V Chandana Lakshami, M. Manasa, and M. Sravani, "Metabolic pathways for the biodegradation of phenol," *Int J Eng Sci Adv Technol*, vol. 2, no. January 2012, pp. 695–705, 2012.
- [59] M. Achak, F. Elayadi, and W. Boumya, "Chemical Coagulation/Flocculation Processes for Removal of Phenolic Compounds from Olive Mill Wastewater: A Comprehensive Review," *Am. J. Appl. Sci.*, vol. 16, no. 3, pp. 59–91, 2019, doi: 10.3844/ajassp.2019.59.91.
- [60] A. Bódalo, E. Gómez, A. M. Hidalgo, M. Gómez, M. D. Murcia, and I. López, "Nanofiltration membranes to reduce phenol concentration in wastewater," *Desalination*, vol. 245, no. 1–3, pp. 680–686, 2009, doi: 10.1016/j.desal.2009.02.037.
- [61] A. Gutierrez, A. Mugica, and R. Torres, "Synthesis of Catalytic Membranes for the Oxidation of Organic Pollutants in Wastewater," *Membr. Mater. Simulations, Appl.*, pp. 1–154, 2016, doi: 10.1007/978-3-319-45315-6.
- [62] F. Khazaali, A. Kargari, and M. Rokhsaran, "Application of low-pressure reverse osmosis for effective recovery of bisphenol A from aqueous wastes," *Desalin. Water Treat.*, vol. 52, no. 40–42, pp. 7543–7551, 2014, doi: 10.1080/19443994.2013.831795.
- [63] O. Abdelwahab, N. K. Amin, and E. S. Z. El-Ashtoukhy, "Electrochemical removal of phenol from oil refinery wastewater," *J. Hazard. Mater.*, vol. 163, no. 2–3, pp. 711–716, 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.07.016.
- [64] A. Dimoglo, H. Y. Akbulut, F. Cihan, and M. Karpuzcu, "Petrochemical wastewater treatment by means of clean electrochemical technologies," *Clean Technol. Environ. Policy*, vol. 6, no. 4, 2004, doi: 10.1007/s10098-004-0248-9.
- [65] A. R. Yazdanbakhsh, H. Daraei, and M. Davoodabadi, "Degradation of phenol with using of Fenton-like Processes from water," vol. 2, no. 3, pp. 325–329,

- 2015.
- [66] H. Benhebal *et al.*, “Photocatalytic degradation of phenol and benzoic acid using zinc oxide powders prepared by the sol-gel process,” *Alexandria Eng. J.*, vol. 52, no. 3, pp. 517–523, 2013, doi: 10.1016/j.aej.2013.04.005.
- [67] J. Kim, B. Park, D. H. Shin, J. M. Yoo, H. Lee, and B. H. Hong, “Photocatalytic degradation of phenol using chemical vapor desposition graphene column,” *Catalysts*, vol. 10, no. 11, pp. 1–11, 2020, doi: 10.3390/catal10111251.
- [68] A. Tungler, E. Szabados, and A. M. Hosseini, “Wet Air Oxidation of Aqueous Wastes,” *Wastewater Treat. Eng.*, 2015, doi: 10.5772/60935.
- [69] J. Melendez, S. Castillo, Y. Peña, and T. Yépez, “Degradación De Compuestos Fenólicos En Efluentes Simulados Por Acción De La Enzima Lacasa Obtenida a Partir Del Hongo,” *Postgradovipi.50Webs.Com*, 2015, [Online]. Available: <http://www.postgradovipi.50webs.com/archivos/agrollania/2015/agro5.pdf>.
- [70] M. K. N. ARMIJO, “EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL HONGO *Pleurotus ostreatus*, EN LA BIODEGRADACIÓN DE FENOLES EN EFLUENTES DE PROCESOS DE TEÑIDO Y LAVADO DE JEAN,” 2017.
- [71] Z. Křesinová, L. Linhartová, A. Filipová, M. Ezechiáš, P. Mašín, and T. Cajthaml, “Biodegradation of endocrine disruptors in urban wastewater using *Pleurotus ostreatus* bioreactor,” *N. Biotechnol.*, vol. 43, pp. 53–61, 2018, doi: 10.1016/j.nbt.2017.05.004.
- [72] K. Patel and M. Patel, “Improving bioremediation process of petroleum wastewater using biosurfactants producing *Stenotrophomonas* sp. S1VKR-26 and assessment of phytotoxicity,” *Bioresour. Technol.*, vol. 315, no. May, 2020, doi: 10.1016/j.biortech.2020.123861.
- [73] H. Zhou, G. Wang, M. Wu, W. Xu, X. Zhang, and L. Liu, “Phenol removal performance and microbial community shift during pH shock in a moving bed biofilm reactor (MBBR),” *J. Hazard. Mater.*, vol. 351, no. February, pp. 71–79, 2018, doi: 10.1016/j.jhazmat.2018.02.055.
- [74] Y. Jiang, K. Yang, H. Wang, Y. Shang, and X. Yang, “Characteristics of phenol

- degradation in saline conditions of a halophilic strain JS3 isolated from industrial activated sludge,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 99, no. 1–2, pp. 230–234, 2015, doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.07.021.
- [75] M. T. Varnero, M. S. Quiroz, and C. H. Álvarez, “Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*),” *Inf. Tecnol.*, vol. 21, no. 2, pp. 13–20, 2010, doi: 10.1612/inf.tecnol.4154it.09.
- [76] M. P. Shah, *Microbial Bioremediation & Biodegradation*. 2020.
- [77] S. E. Korcan, İ. H. Ciğerci, and M. Konuk, *White-Rot Fungi in Bioremediation*. 2013.
- [78] A. M. Abdel-Hamid, J. O. Solbiati, and I. K. O. Cann, *Insights into Lignin Degradation and its Potential Industrial Applications*, vol. 82. Elsevier, 2013.
- [79] E. Rodríguez Sánchez, “Caracterización molecular de lacasas de *Pleurotus eryngii*: expresión heteróloga de estas enzimas y aplicaciones en la degradación de contaminantes aromáticos,” *Tesis*, p. 157, 2006.
- [80] T. Satyanarayana, S. Kumar, D. Mukund, and A. Aspects, *Advancing Frontiers in Mycology & Mycotechnology*. 2019.
- [81] S. C. Elizalde, “BIODEGRADACIÓN DE PAÑALES DESECHABLES USADOS MEZCLADOS CON RESIDUOS DE JARDINERÍA POR ACCIÓN DE DOS HONGOS,” *Univ. Autónoma Metrop.*, vol. 55, p. 3909, 2014.
- [82] J. E. Sanchez and D. Royse, *La biología y el cultivo de Pleurotus spp. Mexico*, 2001.
- [83] H. P. Call and I. Mücke, “History, overview and applications of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozym®-process),” *J. Biotechnol.*, vol. 53, no. 2–3, pp. 163–202, 1997, doi: 10.1016/S0168-1656(97)01683-0.
- [84] C. R. De Carvalho *et al.*, *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi*, vol. 3, no. October. 2019.

- [85] A. Zille, T. Tzanov, G. M. Gübitz, and A. Cavaco-Paulo, "Immobilized laccase for decolourization of reactive Black 5 dyeing effluent," *Biotechnol. Lett.*, vol. 25, no. 17, pp. 1473–1477, 2003, doi: 10.1023/A:1025032323517.
- [86] N. M. Sandoval and X. A. O. Velandia, "EVALUACIÓN DE INDUCTORES METÁLICOS Y CO-SUSTRATOS PARA LA REMOCION DE NEGRO REACTIVO 5 EMPLEANDO *Pleurotus ostreatus* INMOVILIZADO EN FIQUE.," PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA, 2008.
- [87] E. Durán-páramo *et al.*, "La Inmovilización celular como herramienta para la inoculación de medios de cultivo," p. 1, 2000, [Online]. Available: http://www.smbb.com.mx/congresos/smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA_V/CV-43.pdf.
- [88] D. Pierotty-Carvajal, "Producción de ácido giberélico utilizando biocatalizadores soportados en matrices porosas," *Univ. Sci.*, vol. 11, pp. 41–50, 2006, [Online]. Available: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49901206>.
- [89] P. Daniela and C. Bustos, "EVALUACIÓN DE LA INMOVILIZACIÓN DE *Trametes versicolor* DSM 3086 EN ESTROPAJO COMÚN (*Luffa cylindrica*) EVALUACIÓN DE LA INMOVILIZACIÓN DE *Trametes versicolor* DSM 3086 EN ESTROPAJO COMÚN (*Luffa cylindrica*)," 2018.
- [90] D. M. Morales and K. J. Ruiz, "Determinacion de la capacidad de remocion de cadmio, plomo y niquel por hongos de la podredumbre blanca inmovilizados diana milena morales fonseca katherine johanna ruiz tovar," pp. 1–239, 2008.
- [91] J. A. Fernández, L. M. Henao, and A. M. Pedroza-rodríguez, "Inmovilización de hongos ligninolíticos para la remoción del colorante negro reactivo 5," *Rev. Colomb. Biotecnol.*, vol. 11, no. 1, pp. 59–72, 2009.
- [92] R. I. Pereira-Martínez, J. F. Muñoz-Paredes, and D. H. Peluffo-Ordoñez, "Empleo del estropajo común (*Luffa cylindrica*) en la remoción de contaminantes.," *Rev. Investig. Agrar. y Ambient.*, vol. 8, no. 1, pp. 205–215, 2017, doi: 10.22490/21456453.1850.
- [93] C. Ye, N. Hu, and Z. Wang, "Experimental investigation of *Luffa cylindrica* as a natural sorbent material for the removal of a cationic surfactant," *J. Taiwan Inst.*

- Chem. Eng.*, vol. 44, no. 1, pp. 74–80, 2013, doi: 10.1016/j.jtice.2012.08.006.
- [94] P. Xu *et al.*, “Adsorption of Pb(II) by iron oxide nanoparticles immobilized *Phanerochaete chrysosporium*: Equilibrium, kinetic, thermodynamic and mechanisms analysis,” *Chem. Eng. J.*, vol. 203, pp. 423–431, 2012, doi: 10.1016/j.cej.2012.07.048.
- [95] M. S. Fountoulakis, S. N. Dokianakis, M. E. Kornaros, G. G. Aggelis, and G. Lyberatos, “Removal of phenolics in olive mill wastewaters using the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*,” *Water Res.*, vol. 36, no. 19, pp. 4735–4744, 2002, doi: 10.1016/S0043-1354(02)00184-7.
- [96] Shangai Topace Scientific Instruments Co., Ltda. Elección económica cubierta del Reactor de acero inoxidable de 50 litros de 10 litros de 200 litros con precio de fábrica. [Online]. Available: https://spanish.alibaba.com/product-detail/economical-choice-jacketed-stainless-steel-reactor-50-liter-10-liter-200-liter-with-factory-price-1600176763021.html?spm=a2700.7724857.normal_offer.d_title.4a197eeecEti05&s=p
- [97] Manual Estructuración del Trabajo de Grado. Fundación Universidad de América, 2021. [PDF].

RECOMENDACIONES

Realizar el proceso investigativo usando otros materiales de inmovilización como el polisombra o la espuma de poliuretano para evaluar su rendimiento en comparación con el estropajo.

Establecer el peso seco de la biomasa que se va a poner en contacto con la muestra de agua para determinar el crecimiento del hongo en el material de inmovilización y conocer la cantidad real de biomasa que va a tratar el agua.

Realizar el proceso de degradación a temperaturas diferentes a la ambiental y haciendo el uso de agitación para evaluar su rendimiento.

Realizar el experimento usando un método de cuantificación de fenoles que permita conocer las concentraciones reales en la muestra de forma más exacta.

Escalar el proceso a la planta de tratamiento para comparar la eficiencia a nivel laboratorio con la eficiencia en proceso y así determinar su viabilidad.