BENEMÉRITA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

“MODIFICACIÓN DE ERIONITA Y CLINOPTILOLITA CON ÁCIDOS HÚMICOS PARA SU APLICACIÓN EN PROCESOS REDOX”

TESIS

PRESENTA:

ABNER ISAÍAS NICANOR ROMERO

PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADO EN QUÍMICA

DIRECTOR DE TESIS

DRA. MARÍA ANA PÉREZ CRUZ

ASESOR DE TESIS

DR. MARIO GONZÁLEZ PEREA

PUEBLA, PUE. DICIEMBRE 2016

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Dr. Mario Gonzales Perea, por su tiempo y dedicación dados a este trabajo.

Me gustaría dar mi gratitud al comité que se encargó de la revisión de esta tesis: Dra. Margarita Teutli León. Dra. Delia López Velázquez, Dra. Flor Pilar Pineda García.

A mis colegas del laboratorio de catálisis y adsorción, Mayra Sánchez, Paulina Zeleny, Antonio Benavides Paredes, Marina De la paz Cervantes por su amistad, apoyo y compañía.

A mi directora Dra. María Ana Pérez Cruz, el apoyo, confianza y paciencia.

Al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A. C., por permitirme el uso de sus instalaciones para la realización del proyecto, y sobre todo al Dr. Francisco J. Cervantes, por la atención y guía brindados.

A la Vicerrectoría de investigación y estudios de posgrados, por el apoyo para la estancia Proyecto VIEP 00358.

DEDICATORIA

A mi madre y padre.

La mujer que es un ejemplo de superación y esfuerzo, gracias por tu guía.

Mi padre quien me enseñó a seguir mi curiosidad.

A mis hermanos

Por estar ahí cuando los necesité, y compartir los buenos y malos momentos.

A mis amigos

Que aunque la sangre no nos relacione, me hicieron sentir parte de algo más grande.

ÍNDICE

		Página
	INTRODUCCIÓN	**1**
1.	**ANTECEDENTES**	**5**
	1.1 Sustancias húmicas	**5**
	1.1.1 Acido húmicos	**6**
	1.2 Zeolitas	**9**
	1.2.1 Clinoptilolita	**9**
	1.2.2 Erionita	**11**
	1.3 Impregnación de AH en soportes inorgánicos	**12**
2.	**DESARROLLO EXPERIMENTAL**	**14**
	2.1 Elaboración de ZMAH	**14**
	2.2 Caracterización del material	**17**
	2.3 Aplicación de estudio electroquímico	**20**
	2.4 Biodegradación de Iopromida en consorcio ZMAH-Lodos	**22**
3.	**RESULTADO Y DISCUSIÓN**	**27**
	3.1 Espectros infrarrojos de ZMAH	**27**
	3.2 Determinación carbón orgánico total (COT)	**29**
	3.3 Composición elemental de ZMAH	**30**
	3.4 Fisisorción de ZMAH	**31**
	3.5 Estudio electroquímico	**34**
	3.6 Biodegradación de iopromida en consorcio ZMAH-Lodos	**36**
4.	**CONCLUSIONES**	**42**
5.	**BIBLIOGRAFIA**	**43**
	ANEXO	**46**

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, es de suma importancia la búsqueda de materiales, que puedan ser utilizados en procesos de purificación de aguas residuales, que retengan, remuevan y/o degraden contaminantes; los cuales en su mayoría son de composición muy estable, por lo que adquieren características recalcitrantes (CR) como lo son, los colorantes azo, compuestos nitroaromáticos y solventes polihalogenados [1]; por lo que se investigan materiales que actúen sobre estos contaminantes y además que puedan recuperarse, para su uso posterior. Actualmente se proponen los ácidos húmicos (AH), para la degradación de contaminantes recalcitrantes, por su capacidad prolongada de mediación redox, sin que se pierda durante el tratamiento de los contaminantes

Sin embargo, los AH se desperdician después del tratamiento a los contaminantes, por lo que, este estudio buscó su inmovilización en matrices sólidas que le conferirán, mantener sus propiedades de mediación redox, y además recuperarse después de la reacción o incluso ingresarlos en reactores de proceso continuo.

Como se sabe, las Zeolitas Naturales (ZN) son soportes inorgánicos de bajo costo y fácil manejo, que cuentan con estabilidad mecánica, selectividad, sin cambios de forma o volumen y rápida adsorción de iones metálicos [2]; por lo que la inmovilización de los ácidos húmicos en zeolitas naturales, puede proporcionar un material de gran utilidad, con posibles aplicaciones en varias áreas de la investigación y la industria.

JUSTIFICACIÓN

Debido al crecimiento industrial en zonas urbanas, la contaminación del medio ambiente, por el desecho de contaminantes recalcitrantes, tanto en ríos como lagos es común; por lo cual, es necesario el tratamiento de estas aguas, para la degradación de los contaminantes a través de mediadores redox; por lo que, se propone el uso de los ácidos húmicos inmovilizados en zeolitas naturales (ZMAH), como una opción a esta problemática debido a su disponibilidad y fácil manipulación, otorgando un material de sencilla aplicación y recuperación en reactores. Además, el ZMAH influye positivamente en la respiración microbiana y vegetal, por lo que abre líneas de investigación para su aplicación en el control de microorganismos y cultivos hidropónicos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Fijar ácidos húmicos sobre zeolitas naturales tipo erionita y clinoptilolita mediante adsorción en fase líquida para obtener materiales con propiedades redox y de fácil recuperación.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Inmovilizar ácidos húmicos sobre erionita y clinoptilolita mediante adsorción en soluciones 0.1 M de NaOH, KOH o NH_4OH a temperatura ambiente y a 70 °C.

- Caracterizar las zeolitas erionita y clinoptilolita naturales y modificadas con ácidos húmicos (ZMAH) mediante espectroscopía infrarroja, fisisorción, análisis elemental

- Determinar las propiedades redox de ZMAH en base a la aplicación de la voltamperometría cíclica.

- Analizar el efecto de las ZMAH en la biodegradación de Iopromida.

HIPÓTESIS

Se espera que los ácidos húmicos, se inmovilicen sobre la superficie de la zeolita mediante interacción electrostática, y que el material resultante mantenga la propiedad mediadora redox de los ácidos húmicos.

ANTECEDENTES

1.1 Sustancias húmicas.

La materia orgánica del suelo (MOS) está conformada por los restos de tejidos vegetales y animales inalterados, sus productos de descomposición parcial, la fracción orgánica soluble en agua y la materia estabilizada o *humus* [3].

Al principio el humus describía la totalidad del suelo, considerándose sinónimo de materia orgánica, actualmente, el término hace referencia a una fracción de la materia orgánica que abarca un grupo de sustancias de alta complejidad, color oscuro, resistentes al ataque microbiano, de peso molecular alto, coloidales y características ácidas [3]. Estas sustancias húmicas (SH), que son la fuente de los AH, están contenidas tanto en suelos como en agua, también, en depósitos geológicos orgánicos como el sedimento de lagos, lignito, tuba y esquito [4]; las SH se producen de la descomposición recalcitrante de biomasa animal y vegetal, a la que se suma la acción del clima, las características químicas y físicas de los desechos, y la abundancia y composición de la población microbiana del suelo [5].

Por su composición y peso molecular, las SH encontradas en suelos se asocian mediante uniones de carácter débil a productos de descomposición de estructura química definida, como polisacáridos, proteínas, azúcares y aminoácidos, por lo que se clasificaron a partir de su solubilidad acuosa en tres fracciones: humina, ácidos fúlvicos (AF) y ácidos húmicos (AH). Esta clasificación viene por la técnica de extracción líquida (figura 1.1), la humina es la fracción de las SH que es insoluble en soluciones alcalinas, los ácidos húmicos es la materia orgánica oscura que puede ser extraída con una solución alcalina pero insoluble en soluciones ácidas y los ácidos fúlvicos que son solubles tanto en soluciones básicas y ácidas.

Los AH por su abundancia, reactividad y estabilidad; han mostrado una variedad de aplicaciones tecnológicas y de investigación, ya que intervienen en la biorremediación de aguas y suelos, en la producción agrícola, en el control del pH de suelos, en la adsorción y el secuestro de iones, etc.

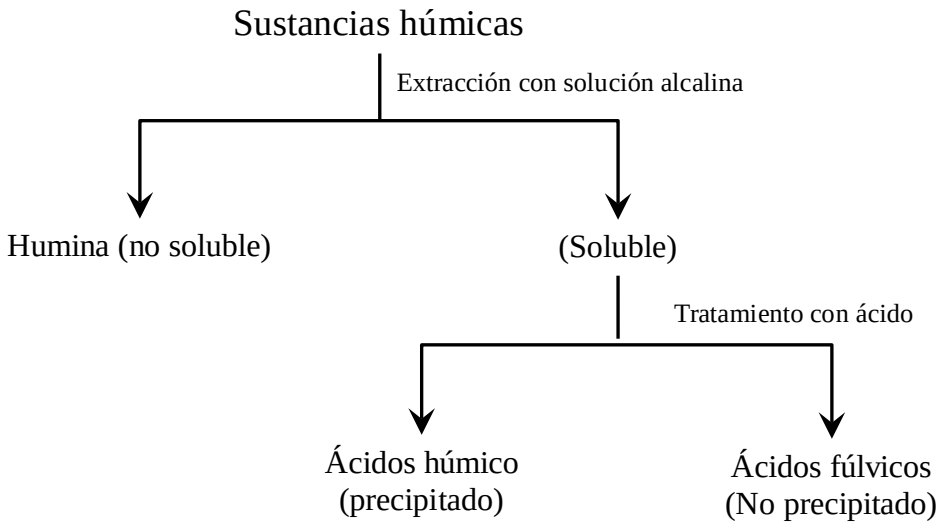


Figura 1.1 Clasificación de sustancias húmicas en función del método de extracción.

1.1.1 Ácidos húmicos

Estructura y síntesis

Entonces los AH se pueden definir como un material orgánico oscuro que es extraído del suelo mediante dilución en solución alcalina y otros reactivos, pero que es insoluble en disolución ácida. Tiene varias rutas de síntesis, una de las más actuales es por medio de la lignina (figura 1.2) en donde se forman grupos quinónicos.

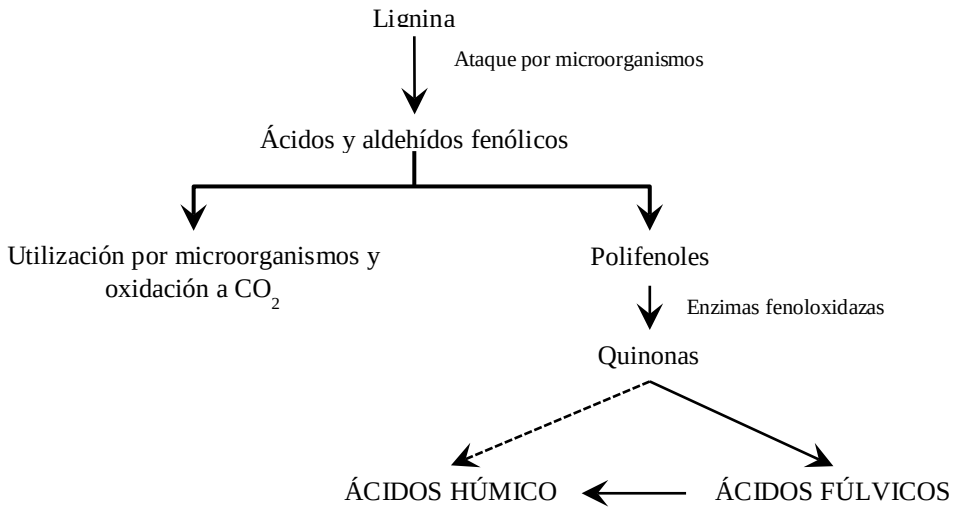


Figura 1.2 Ruta de síntesis de AH vía polifenolica a partir de lignina.

Aunque la estructura de los AH ha propuesto (Figura 1.3) no ha podido ser establecida, ya que la distribución de la sustancia húmica varía frecuentemente por las condiciones, sustrato y la materia orgánica original, antes mencionadas, por lo general su composición está dentro de los siguiente porcentajes: 50-60% de carbono; 30-35% de oxígeno; 4-6% de hidrógeno; 2-4% de nitrógeno y 0-2% de azufre [6], la proporción de carbono y oxígeno presente en los AH da a lugar que los grupos funcionales sean en su mayoría grupos fenólicos, ácidos carboxílicos, enólicos, quinónicos [7], de los cuales prevalecen los grupos fenólicos y carboxílicos, que le proveen a los AH su comportamiento ácido. Se han propuesto varias estructuras del AH, pero sin llegar a un consenso debido al tamaño de las moléculas y la cantidad de grupos funcionales que la conforman.

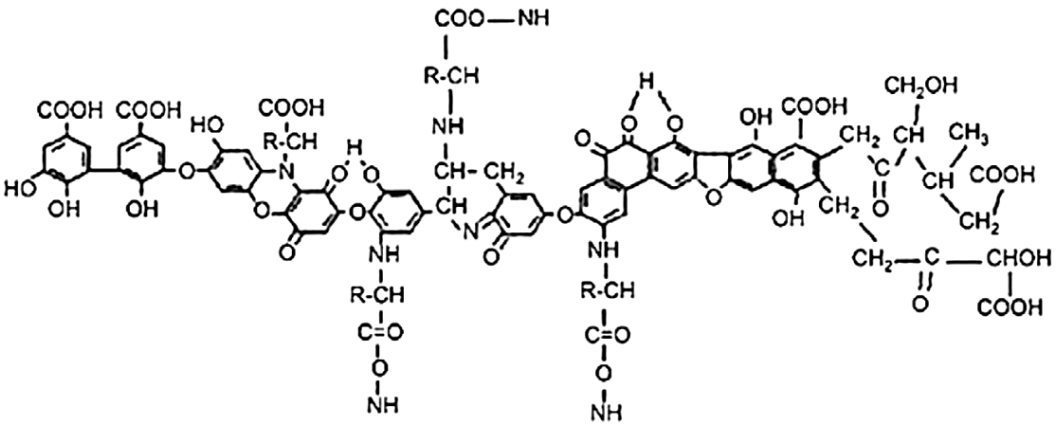


Figura 1.3 Modelo estructural del AH [8].

Solubilidad y dependencia al pH

Como se ha expuesto, los AH son sustancias con una composición extensa que le da propiedades únicas, solubles en soluciones básicas, esto ocurre principalmente por la desprotonación de los grupos fenólicos y carboxílicos; la repulsión de las moléculas negativas resultantes provoca una extensión de la macromolécula orgánica, y si al contrario los AH disueltos se acidifican los grupos funcionales vuelven a protonarse, haciendo a la molécula enroscarse y hacerse más compacta creando una estructura tipo micela, donde las partes hidrófobas se encuentran dentro y las hidrofílicas en contacto con el medio acuoso (figura 1.4).

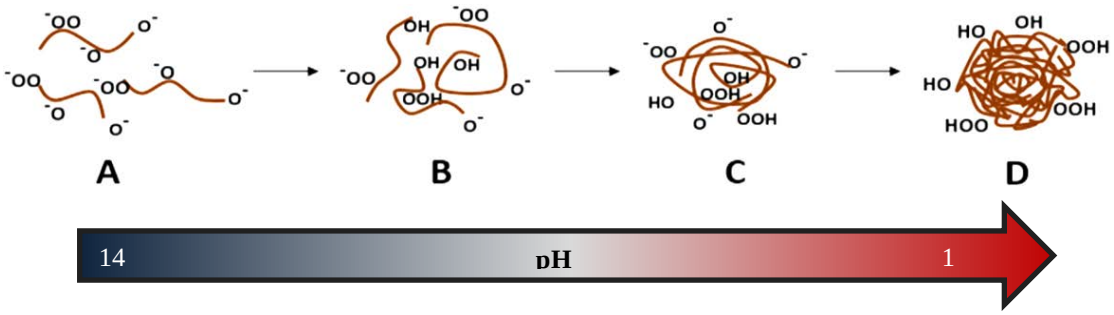


Figura 1.4 Comportamiento del AH conforme al cambio de pH: (A) AH disgregado por la repulsión de carga, (B) y (C) protonacion de grupos carboxílico y alcoholes dando a la agregación intermolecular, (D) formación del precipitado.

Propiedades electroquímicas de los ácidos húmicos

Los AH, al tener un comportamiento acido-base polielectrolítico en su estructura llevan a cabo intercambio de iones, enlaces, formación de complejos a partir de cationes como los metales pesado, también la interacción con suportes inorgánicos con carga positiva y negativa, como en el caso de las arcillas, donde los AH permanecen unidos fuertemente, pero estas propiedades son sensibles al pH del medio [5], y por lo tanto, es el que determina la cantidad de grupos funcionales con carga que se encuentran en la macromolécula. Uno de estos grupos son las quinonas que se caracterizan por ser grupos receptores-donadores de electrones; al aceptar un electrón se reduce a semiquinona, la cual es estabilizada por su

anillo aromático; al aceptar un segundo electrón se reduce a hidroquinona, aún más estable [8]. Este proceso es reversible cuando la hidroquinona reacciona con un oxidante, regresando a su forma quinónica (Figura 1.5), este procesos de mediación redox hacen a los AH de gran interés en agricultura, remediación ambiental, medicina y farmacéutica.

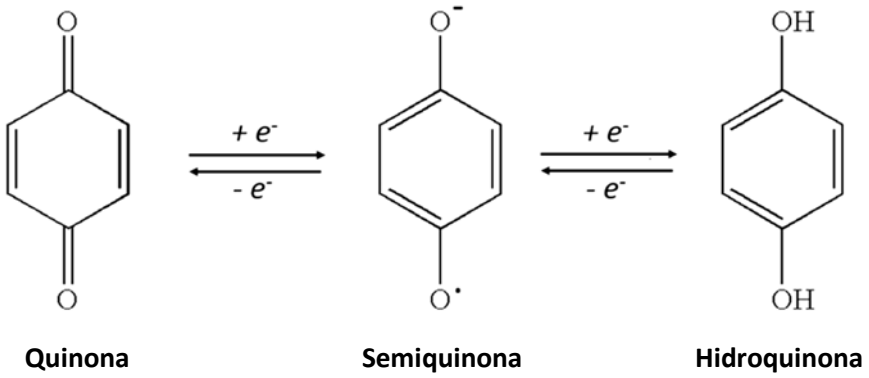


Figura 1.5. Proceso de redox de la quinona. [9]

1.2 Zeolitas

Las zeolitas son aluminosilicatos con una estructura cristalina con espacios vacíos que son ocupados por iones y moléculas de agua, que al tener una considerable libertad de movimiento conlleva al intercambio iónico y la deshidratación. Tanto el SiO_2 y el Al_2O_3 forman tetraedros donde, el Silicio o Aluminio, se encuentra en el centro y cuatro oxígenos en los vértices, cada átomo de oxígeno es compartido entre dos tetraedros, que sucesivamente forman una estructura continua, finalmente las cargas negativas son compensadas con cationes metálicos como el Ca, Mg, Ba, Sr y en mayor medida por K, Na, Li.

1.2.1 Clinoptilolita

La zeolita del tipo clinoptilolita (ZC) (Figura 1.6) es la más abundante en la naturaleza. Fue descubierta en 1890 por Pirsson [10] que la identifico incorrectamente como

mordenita. Este material se forma en andesita, rolita, rocas sedimentarias, rocas basálticas como vetas o impregnaciones, en una diversidad de ambientes que incluye sedimentos de mar profundo, acumulaciones continentales en relleno de sumidero, lagos de baja profundidad y en secciones de flujo de lava. Depósitos importantes se hallan especialmente en Bulgaria, Hungría, Cuba, México, Rusia, Italia, Jordania y los Estados Unidos [11].

La fórmula química de la ZC es [11]:

$$\mathbf{[(K,Na,Ca_{0.5},Sr_{0.5},Ba_{0.5},Mg_{0.5})_6(H_2O)_{20}|[Al_6\ Si_{30}\ O_{72}]}$$

Pertenece al grupo de las heulanditas, que en particular tiene características físicas como una densidad de 2.16 g cm^{-3}, se conforma en agregados radiales y tubulares. En la escala de Mohr está entre 3.5 a 4, lo que hace al material de dureza baja-media y su estructura es monoclínica. Se le considera rica en silicio por la relación Si/Al en una intervalo de 4 a 5, de gran estabilidad térmica con una temperatura de descomposición que de 700 °C [12].

Entre sus aplicaciones esta como inmovilizador inorgánico, tamizador molecular, intercambiador de iones, útil en el tratamiento y purificación de agua, sustracción de iones metálicos, desecador, adsorbente/separador de moléculas orgánicas [13-14], etc.

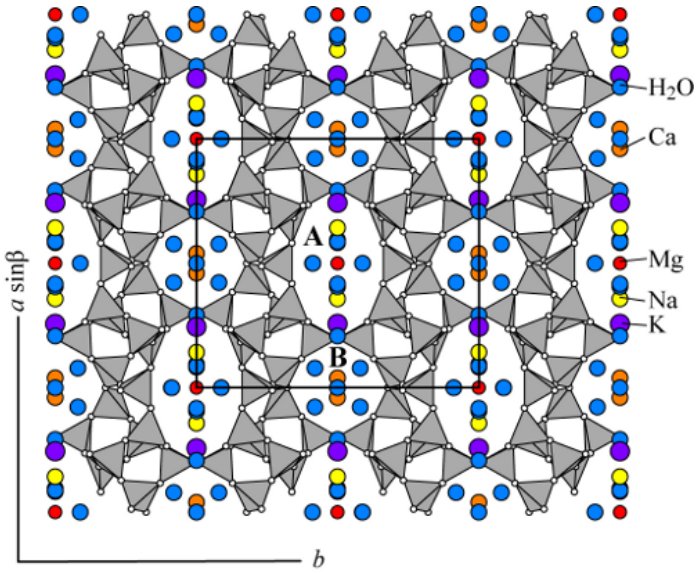


Figura 1.6 Estructura cristalina de la clinoptilolita-Na (Agoura, California) con la posición de los cationes de la zeolita.

1.2.2 Erionita

La erionita (ZE) se encuentra como un mineral de formación rocosa, como resultado de una alteración de los cristales de la riolita y traquita en lagos salinos. La ZE está ampliamente distribuida en sedimentos de lagos alcalinos en el oeste de EUA, donde forma prismas hexagonales y cristales aciculares, o también complicadas masas fibrosas, su fórmula química es [11]:

$$|K_2(K,Na,Ca_{0.5})7(H2O)_{30}|\ [Al_9Si_{27}O_{72}]$$

Es de baja a media dureza, con un intervalo de 3.5 a 4 en la escala de Mohr, pertenece al grupo espacial $P6_3/mmc$, siendo una de las zeolitas de 6 anillos en la secuencia AABAAC (Figura 1.7), formando así una cavidad, donde se aloja un solo catión, en este caso el catión de K [15] (figura 1.8), que es el ion susceptible al intercambio iónico.

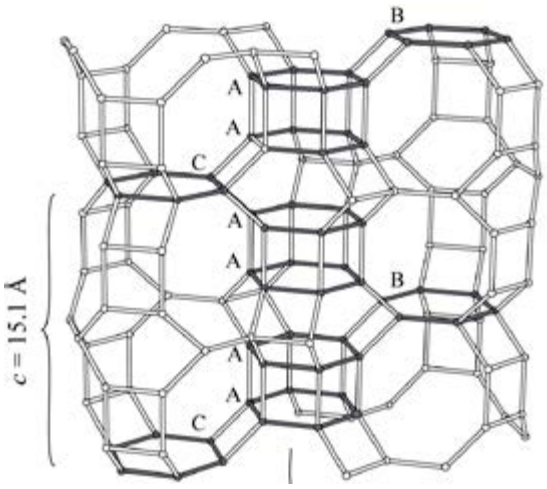


Figura 1.7 Diagrama que muestra la distribución de los sitios tetraédricos y los enlace metal-oxígeno-metal.

A este material se le ha dado uso en procesos de adsorción tanto de agua, cationes , *n*-pentano, con buenos resultados [16], también se emplea como catalizador del craqueo selectivo de la n-parafina [17], intercambiador de iones como el de Cs que se lleva de manera selectiva por las altas concentraciones de iones de Na^{+} y K^{+}, que contiene la zeolita.

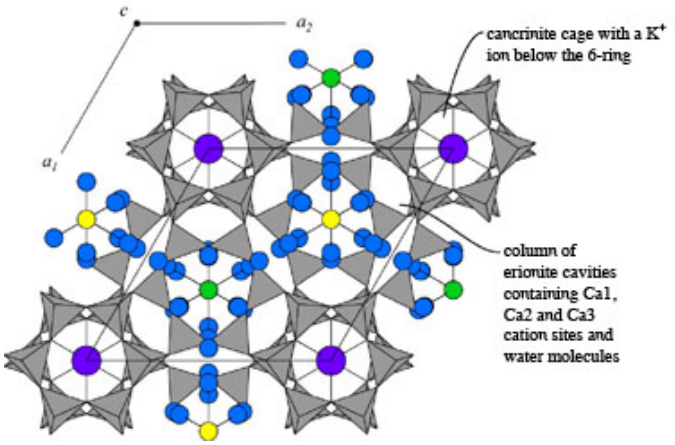


Figura 1.8 Estructura cristalina de la K-erionita con su distribución catiónica

1.3 Impregnación de AH en soportes inorgánicos

Como el objetivo central de este estudio es la inmovilización de los AH en la superficie de las zeolitas naturales, se han consultado varios tratados sobre este tema, en los que se emplean varios tipos de soportes inorgánicos de distintas índoles, que tienen como meta

crear materiales húmicos, que representen una bajo costo, sean viables para trabajo ingenieril y conserven la propiedad de mediación redox.

El proceso de adsorción es considerado el método más efectivo para la remoción de AH de soluciones acuosas debido a su simplicidad, gran eficiencia [18] y de producir un mediador redox de fase solida efectivo [19], el proceso implica la interacción del AH con el material de soporte, formando una cubierta orgánica, la composición y grosor de la cubierta es dependiente de la afinidad entre el adsorbato y el material de soporte, se ha investigado ligeramente para separar y definir, fracciones húmicas que se asocian con los sólidos. Entre los problemas experimentales asociados están la compleja inestabilidad de las cubiertas húmicas [20] y la contribución sustancial del mismo mineral a toda la adsorción [5].

Se ha verificado que el proceso de inmovilización del AH en materiales de soporte es dependiente del pH, involucrando tanto atracción electrostática en medio ácido, así como ácido-base y puentes de hidrógeno en medio básico [21], por lo que dependiendo de la química superficial del material hay técnicas que permitirán la fijación del AH. En la mayoría de los casos los compuestos de hidroxiapatita tienen afinidad con los ácidos orgánicos de bajo peso molecular del AH de los ácidos carboxílicos y fenoles [22], en el caso del sol-gel sigue un mecanismo de enclaustramiento por la red de poros [23], mientras para los polímero y sustancias modificadas con grupos electropositivos, se lleva a cabo un puente salino entre los cationes de la superficie y las bases conjugadas de los ácidos carboxílicos y fenólicos [24]. Otro ejemplo es el caso de las arcillas que tienen similitud con las zeolitas naturales debido a su superficie electronegativa, en estos materiales el AH se fracciona en la adsorción sobre el mineral, quedando la porción alifática retenida y la parte aromática polar vuelve a la solución [25], este fenómeno puede esperarse en la interacción del AH con las zeolitas naturales.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 Elaboración de ZMAH

Preparación de zeolita natural

En la figura 2.1 se presenta el diagrama del procedimiento de la preparación de los condiciones y materiales, donde se lograba la inmovilización, Las zeolitas utilizadas fueron la clinoptilolita originaria de Villa de Reyes en el estado de San Luis Potosí y la erionita, de Agua Prieta en el estado de Sonora, estas fueron molidas y tamizadas a un tamaño de 3 mm. Las zeolitas fueron secadas durante 24 horas a 120 °C, se pesaron en una balanza analítica y posteriormente se impregnaron con AH.

Preparación de soluciones básicas de ácidos húmicos.

La leonardita comercial que se utilizada tiene una composición elemental descrita en la tabla 2.1. Se puede observar que esta leonardita posee casi el 50% de carbono (C).

Se prepararon tres soluciones básicas con distintas bases: (NaOH, NH_4OH y KOH), cada una con la misma concentración de 0.1 M, en la solución básica se añadió AH con agitación continua hasta alcanzar una concentración de 1000 ppm, posteriormente se midió la basicidad de las soluciones, usando un pH-metro con electrodo de vidrio poroso previamente calibrado y a temperatura ambiente.

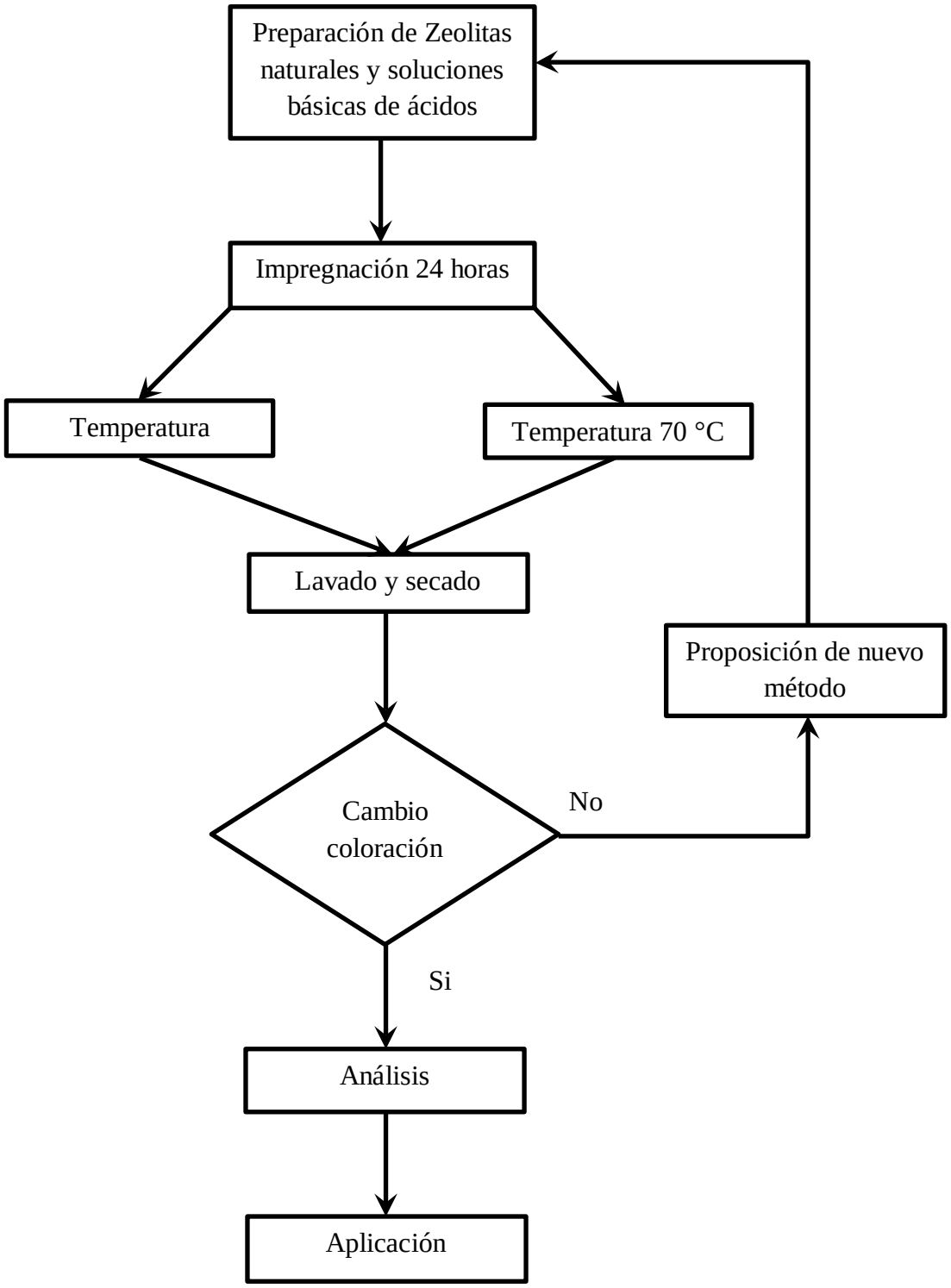


Figura 2.1. Proceso para la elaboración de ZMAH

Tabla 2.1 Composición elemental del humus tipo leonardita comercial

Muestra	**H_2O**	**Cenizas**	**C**	**H**	**O**	**N**	**S**	**P**
	% peso							
Leonardita	10.9	13	49.2	4.52	nd	0.9	nd	nd

Impregnación de AH sobre zeolita natural.

Una vez obtenida la solución de AH, la impregnación se realizó a temperatura ambiente y a 70 °C durante 24 horas de contacto y con agitación continua en sistemas tipo "batch" conteniendo una relación de 10 mL de solución básica de AH por cada gramo de zeolita natural (las condiciones fueron previamente determinadas, ver anexo A). Cada una de las impregnaciones se llevó a cabo por duplicado en un matraz Erlenmeyer de 50 mL sellado con parafilm, bajo agitación constante y sobre una parrilla de calentamiento (Figura 2.1). Al finalizar, el contenido fue vaciado y lavado varias veces con agua desionizada para eliminar el material no impregnado. Las muestras preparadas fueron las siguientes (Tabla 2.2).

Tabla 1.2 Codificación asignada a las muestras preparadas por impregnación en solución básica a diferentes temperaturas.

Materia	**Temperatura (°C)**	**Solución de AH**	**Código**
Clinoptilolita natural	Ambiente	NaOH	CMNa
Clinoptilolita natural	70	NaOH	CMNa70
Clinoptilolita natural	Ambiente	KOH	CMK
Clinoptilolita natural	70	KOH	CMK70
Clinoptilolita natural	Ambiente	NH_4OH	CMA
Erionita natural	Ambiente	NaOH	EMNa
Erionita natural	70	NaOH	EMNa70
Erionita natural	Ambiente	KOH	EMK
Erionita natural	70	KOH	EMK70
Erionita natural	Ambiente	NH_4OH	EMA

Las zeolitas modificadas (ZM) finalmente fueron puestas a secar en una mufla a 120°C por 24 horas, tanto la solución de impregnación y los lavados fueron conservados para su posterior análisis mediante carbón orgánico total.

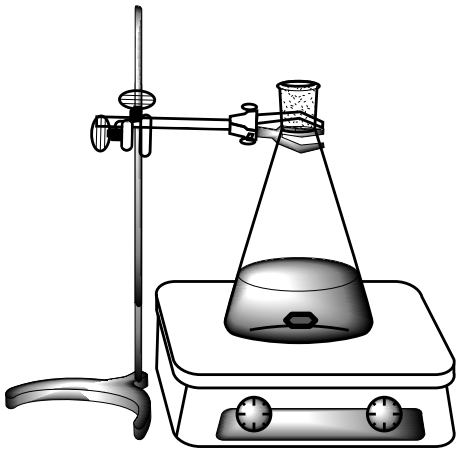


Figura 2.2 Distribución del sistema para la impregnación de AH en Zeolitas

Las ZMAH en las que se observó un cambio de coloración más evidente se les aplicó la caracterización y la aplicación correspondiente.

2.2 Caracterización del material.

Espectroscopia Infrarroja con transformadas de Fourier-Reflectancia Total Atenuada (FTIR /ATR).

Para comprobar la impregnación superficial de las zeolitas con los AH, se eligió como primera instancia un análisis mediante FTIR THERMOFISHER scientific, en la figura 2.2 se muestra el espectro IR, de Leonardita que reporta la Sociedad Internacional de Sustancias Húmicas (IHSS), el cual proveen información estructural de las moléculas del material. Cada grupo funcional o estructura de una molécula muestra una frecuencia de vibración que puede ser establecida como su "huella dactilar". Se utilizó la técnica de ATR para mejorar su reproducibilidad y facilitar el manejo de las muestras. Este análisis tiene como principio proyectar un rayo infrarrojo que será reflejado internamente en un cristal ópticamente denso de gran índice de reflectivo a cierto ángulo, este haz termina

interactuando con la muestra y la energía restante se procesa en el detector. En este caso las señales de 3400 cm^{-1} indican el grupo funcional R-OH, las señales 2919 cm^{-1} y 2850 cm^{-1} corresponden a los grupos metilos y metilenos, también el grupo C=O en la señal 1713 cm^{-1}, y la señal de 1609 que pertenece a los C=C.

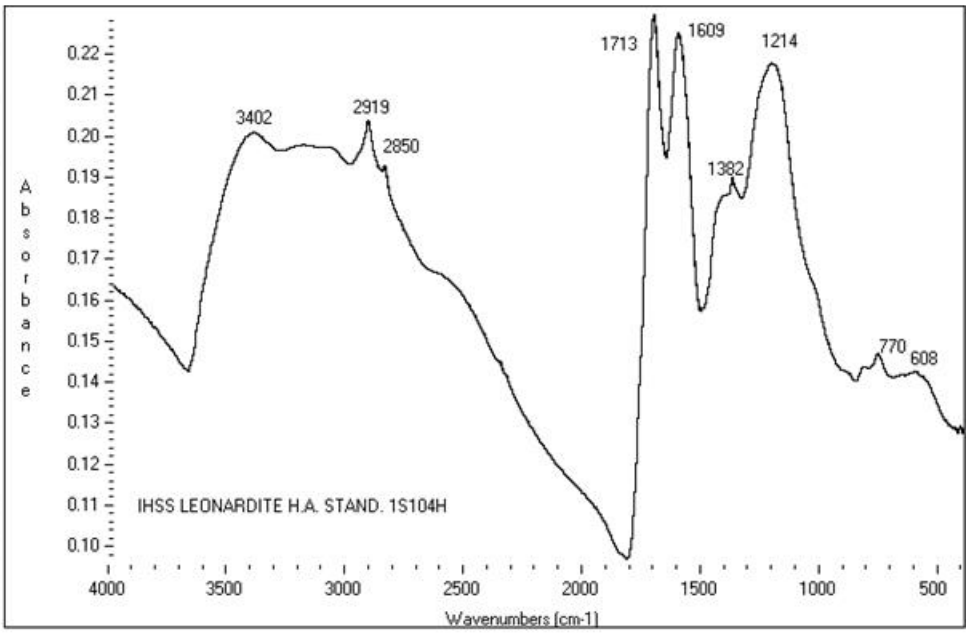


Fig. 2.3 Espectro IR de Leonardita estándar [4]

Determinación de carbono orgánico total (COT)

Para la cuantificación de AH depositados en la zeolita mediante impregnación, se determinó el COT de las soluciones básicas de AH antes y después de la impregnación. Para esto, primer se realizó una separación del carbono inorgánico en forma de CO_2 (g) proveniente de carbonatos y bicarbonatos de la muestra acidificada; después la materia orgánica es oxidada produciendo igualmente CO_2 (g) [26]. En este estudio se utilizó un analizador de carbono orgánico total Shimadzu modelo TOC-L que en el que se aplica el método de oxidación por combustión catalizada a 680 °C. Las muestras de las soluciones iniciales fueron diluidas en la proporción 1:50 debido a su alta concentración. Se construyó una curva de calibración en el intervalo de 25 – 150 ppm a partir del análisis de muestras diluidas de un estándar de AH a 1000 ppm, para determinar el COT de los analitos se aplicó una sustracción entre la concentración de AH en la solución inicial y la solución obtenida

$$COT_{ZM} = COT_{SI} - COT_{R}$$

Dónde:

COT_{SI} = Carbono orgánico total de la solución inicial.

COT_{R} = Carbono orgánico total de los residuos.

COT_{ZM} = Carbono orgánico total de las zeolitas modificadas

El resultado de la operación se dividió entre la masa de zeolita presente en la impregnación para obtener el parámetro de cantidad absorbida (*a*).

Análisis elemental

Se utilizaron 2 mg de ZMAH previamente triturada y un equipo LECO truspec micro CHNS analyzer. Las muestras fueron introducidas en el carrusel del equipo en cápsulas de plata, el equipo se calibró y acondicionó con cistina estándar que fungió a la vez como blanco, los resultados se obtuvieron mediante procesador.

Fisisorción de nitrógeno

Para observar el cambio en la superficie del material zeolítico se aplicó la fisisorción de nitrógeno en fase gas, la cual consiste en poner en contacto al material con gas nitrógeno estándar. Mediante interacciones físicas las moléculas de este gas son sorbidas en la superficie del material, esto provoca la desviación del comportamiento ideal del nitrógeno gaseoso adaptándose a los procesos de desorción. A partir de este fenómeno y de los modelos matemáticos de BET, Langmuir, t-plot y BHJ, se puedo obtener la superficie específica, tamaño y volumen de poro. Para evaluar la cantidad adsorbida y desorbida, las muestras fueron molidas y cribadas en tamices de 20 y 30, posteriormente se vertió el material en un porta-muestras vacío y seco previamente pesado, se tomó el peso nuevamente y finalmente se alojó en el sistema Micromeritics ASAP2020, para la

evaluación, ajustando a los modelos de adsorción para determinar la superficie específica y el volumen y distribución de poro.

2.3 Aplicación de estudio electroquímico

Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: 0.01 M $K_4[Fe(CN)_6]$ y 0.01 M $K_3[Fe(CN)_6]$; 10% v/v de H_2SO_4 y electrolito fondo de 0.1 M KCl, Carbón black y parafina marca SIGMA-ALDRICH. Las soluciones se prepararon usando agua tridestilada y desionizada en un Barnstead E-Pure de Thermo Scientific, 18.3 MΩ *cm*.

Preparación de electrodos de pasta de carbón (EPC)

El carbón se trituró en un mortero y tamizó a través de una malla 120, posteriormente se sometió a una temperatura de 90 °C durante 30 minutos dentro de una estufa. Al mismo tiempo la parafina fue fundida a la misma temperatura, transcurridos los 30 minutos, se mezclaron y maceraron ambos componentes en cada caja Petri empleando una espátula de acero inoxidable. Para obtener una pasta homogénea de carbón-parafina, el proceso de maceración se repitió 10 veces, cada uno con duración de 5 minutos en el intervalo de 45 °C a 90 °C y con pausas de 5 minutos en reposo. Los pesos empleados de cada componente fueron los apropiados para que la composición de la pasta carbón-parafina fuera de 65% carbón. La pasta homogénea se compactó dentro de una jeringa acondicionada y el contacto eléctrico se realizó a través de un alambre de cobre. Un corte transversal de la jeringa proporcionó la superficie de carbón-parafina donde se depositaron la ZMAH, así como también zeolita natural y zeolita tratada con KOH y NH_4OH (Figura 2.3).

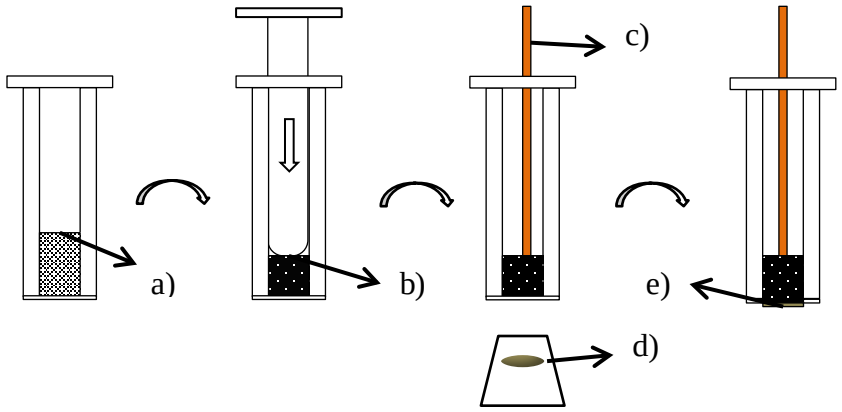


Figura 2.4 Proceso de elaboración de EPC modificado con ZMAH, a) Pasta semi-líquida de carbón-parafina, b) Pasta sólida y compacta de carbón-parafina, c) Alambre de cobre, d) Película de ZMAH sobre portaobjetos, e) Polvo de ZMAH adherido a la superficie de la pasta carbón-parafina.

Para la modificación de los EPC, las muestras de ZMAH se pulverizaron y tamizaron a través de cribador de malla 120 y el polvo obtenido se empleó para preparar una suspensión de 0.0238 g en 1 mL de agua desionizada. Sobre un portaobjetos se colocaron 150 μL de la suspensión y se metió a la estufa durante 5 min a 90 °C para evaporar el agua (Figura 2.3d); de esta manera se obtuvo una película uniforme del ZMAH. Para la modificación superficial del EPC, se colocó el corte transversal de la jeringa sobre la película de ZMAH y se aplicó presión. Antes y después del contacto con la película de ZMAH, la pasta de carbón se reblandeció manteniendo al electrodo en la estufa a 90 °C durante 2 min. La cantidad de ZMAH depositada sobre el EPC se obtuvo a través de la ganancia en peso del EPC y de la perdida en peso del portaobjetos.

La caracterización de los EPC modificado con ZMAH (ZMAH/EPC) se realizó con un potenciostato-galvanostato modelo 263a de la marca Princeton Applied Research (PAR) acoplado a una computadora mediante una interface y con el software PowerSuite versión 2.40. Los *e*xperimentos fueron realizados en una celda Pyrex con tres electrodos y un volumen de 10 mL de electrolito fondo (0.1 M KCl). Como electrodo de trabajo se empleó EPC o ZMAH/EPC, como electrodo de referencia Ag/AgCl (3M KCl) el electrodo de referencia y como electrodo auxiliar se empleó un alambre de platino (Figura 2.4). Para un conocimiento rápido de los posibles procesos redox en la interface electrodo-electrolito, se

aplicó voltamperometría cíclica (VMC) como técnica de caracterización. EL intervalo de potencia empleado para el ciclado fue de -0.2 V a 1.2 V a una velocidad de 50 mVs^{-1}. Para analizar la habilidad capacidad de intercambio de electrones de las ZMAH, se empleó el par ion metálico Fe^{3+}/Fe^{2+} del sistema $[Fe(CN)_6]^{-3}/[Fe(CN)_6]^{-4}$, el cual es reversible e independiente del valor de pH del medio electrolítico.

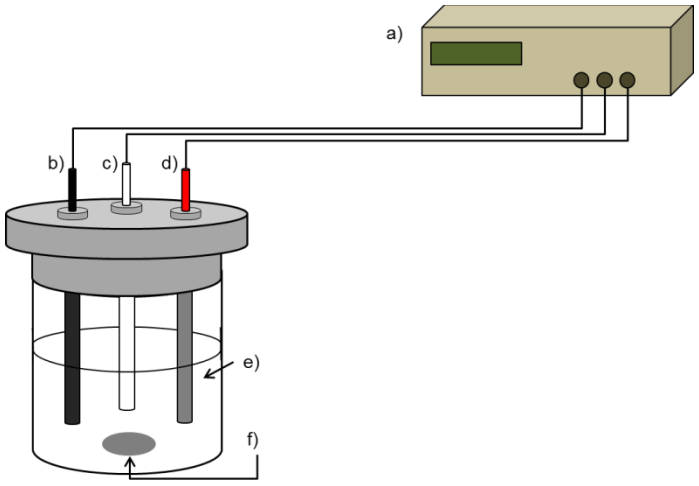


Figura 2.5 Esquema del sistema de análisis electroquímico, a) Potenciostato-galvanostato, b) electrodo de trabajo (ZMAH/EPC), c) Electrodo de referencia (Electrodo Ag/AgCl), d) electrodo auxiliar (alambre de platino), e) Electrolito fondo: 0.1 M KCl más $K_4[Fe(CN)_6]$ y $K_3[Fe(CN)_6]$, ambas sales a 0.01 M, f) Agitador magnético.

2.4 Biodegradación de Iopromida en consorcio ZMAH-lodos.

Preparación de ensayos

Con el fin de estudiar la propiedad de mediación redox de las zeolitas impregnadas de ácido húmico (ZMAH) y su impacto en un proceso biotecnológico, se aplicó el material en una reacción de deshalogenación de un fármaco vía bacteriana, el proceso se llevó acabo en viales oscurecidos y etiquetados de 50 mL, donde se vertió un volumen de la solución basal (Tabla 2.3), la solución tiene como función proveer sales y minerales para los consorcios bacteriano, apoyar en los procesos fisiológicos de estos y asegurar así la funcionalidad. Se

realizaron experimentos donde interactuó cada una de las ZMAH y el consorcio bacteriano contenido en el lodo (Tabla 2.4), los ensayos fueron realizados por triplicado.

Tabla 2.3 Composición de solución basal y solución elementos traza

Especies (sol. Basal)	**Concentración (g/L^{-1})**
Glucosa	1
$NaHCO_3$	2.5
K_2HPO_4	0.25
$MgCl_2*6H_2O$	0.2
NH_4Cl	0.1
$CaCl_2*2H_2O$	0.01
HCl	1 mL/L
Sol. traza	1 mL/L
Especies (sol. Traza)	**Concentración (mg/L)**
H_3BO_3	50
$FeCl_2*4H_2O$	2000
$ZnCl_2$	50
$MnCl_2*4H_2O$	50
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}*4H_2O$	50
$AlCl_3*6H_2O$	90
$CoCl_2*2H_2O$	2000
$NiCl_2*6H_2O$	50
$CuCl_2*2H_2O$	30
$NaScO_3$	100
EDTA	1000
HCl	1 mL/L

Tabla 2.4 Ensayos realizados para degradación de iopromida vía bacteriana.

Experimentos	Material	Lodo	Código
Control estéril	CMK	No	CEC
Control estéril	EMK	No	CEE
Lodo solo	Ninguno	Si	LS
Lodos + ZN	Clin. Nat.	Si	LCN
Lodos + ZN	Eri. Nat.	Si	LEN
Lodos + ZMAH	CMK	Si	LCM
Lodos + ZMAH	EMK	Si	LEM

Los viales se encapucharon con tapones de caucho y se sellaron con aros de aluminio. Para generar una atmósfera anaerobia se burbujeo con gas mixto de N_2/CO_2 en una proporción 1:4 durante 5 minutos y después se inyecto solución concentrada de glucosa hasta alcanzar la concentración de 1 gL^{-1}. Finalmente los viales fueron puestos en pre-incubamiento por 24 horas en una cámara con temperatura controlada a 28 °C; al terminar la pre-incubación se inyectó nuevamente glucosa y se introdujo una solución concentrada de iopromida para lograr un valor de 1000 ppb. Nuevamente los viales se regresaron a la cámara de temperatura controlada y se tomaron muestras de la solución cada tercer día. Los ensayos tienen como finalidad determinar cómo afecta la presencia de los ZMAH y las zeolitas naturales el proceso de biodegradación, además los controles estériles nos indicaron que interacción ocurren entre la iopromida y las ZMAH.

Medición de Iopromida restante

La verificación en los cambios de concentración del compuesto iodado fueron medidos en un equipo de HPLC Agilent 1260 Infinite, previo al análisis se realizó la calibración de la señal de iopromida con soluciones a 80, 100, 200, 400, 600, 800 y 1000 ppb, con la configuración siguiente: velocidad de flujo 0.500 mL/min, presión 69.28 bar, temperatura

de columna 30-29 °C, longitud de onda 190-300 nm y tamaño del paso 2 nm. La señal de la iopromida se manifestó al minuto 11.47, se extrajo una alícuota de 2 mL de cada vial, empleando filtro con nitrocelulosa y se vertieron en viales de 2 mL para su análisis.

Análisis de los productos de la biodegradación de iopromida

Los productos derivados de la biodegradación de iopromida, fueron determinados empleando un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas LC-MS marca Agilent, con una columna Zorbax Eclipse XDB-C18; la fase móvil consistió, en una mezcla de H_2O/acetonitrilo más 0.1% de ácido fórmico, con un flujo de 1 mL/min. Los análisis fueron tomados a polaridad positiva y negativa, empleando el espectrómetro de masas con el uso de soluciones estándar de iopromida a concentraciones de 10, 25, 50, 100, 150, 200 ppb. Cada alícuota de muestra biodegradada se tomó a través de un filtro con nitrocelulosa. Los componentes de las soluciones después de ser detectados pasaron al sistema de espectrómetro de masas (EM) para finalizar el análisis.

Estudio cinético de la degradación de Iopromida

Con el fin de observar la parte cinética de la degradación y verificar si la presencia de los materiales con AH inmovilizado aceleró la capacidad de ataque de los agentes microbianos sobre la iopromida, se realizó un procesamiento matemático a los datos recopilados de la degradación usando la formulación de los órdenes de reacción [27] para obtener su coeficiente de correlación.

Los órdenes de reacción parten de la ley de velocidad:

$$v = \frac{dc}{dt}$$

De la ley de velocidad se derivaron la formulación para las reacciones orden cero:

$$\frac{dc}{dt} = k_0$$

Su forma alterna es:

$$c - c_0 = k_0 t$$

Al igual las reacciones primero orden:

$$v = -\frac{d[\mathrm{A}]}{dt} = \frac{d[\mathrm{B}]}{dt} = k_1[\mathrm{A}]$$

Su forma alterna es:

$$\ln \frac{[\mathrm{A}]}{[\mathrm{A}]_0} = -k_1 t$$

Donde A = a la concentración de iopromida.

Para las reacciones de segundo orden donde solo actúa la segunda potencia de una especie se aplica la fórmula:

$$v = k_2[\mathrm{A}]^2$$

Su forma alterna es:

$$\frac{1}{[\mathrm{A}]} - \frac{1}{[\mathrm{A}]_0} = k_2 t$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Espectros infrarrojos de ZMAH

Los espectros infrarrojo de la clinoptilolita natural (CN) y erionita natural (EN) se muestran en las figuras 3.1 y 3.2 respectivamente. En ambos espectros se pueden observar bandas de absorción de baja intensidad en las frecuencias de 3743, 3610 y 1635 cm^{-1} vinculadas, de acuerdo a la literatura, al agua zeolítica. Por otro lado la banda de absorción de mayor intensidad que se presenta a 1021 cm^{-1} corresponde a la vibración por tensión de los grupos Si-O(Si) y Si-O(Al), en tanto que las vibraciones en el intervalo de 500-700 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de la red de átomos [28-29]. En los espectros de las muestras CMNa, CMNa70 y CMK70 (Figura 3.1), se observan bandas de absorción a 2985 cm^{-1} y 2897 cm^{-1} correspondientes a la vibración por tensión del enlace C-H pertenecientes a grupos metilo y metileno [30] hay que advertir que el espectro del CN también se observan estas señales similares, esto es posible a que el material de manera natural albergara estos compuestos en su matriz; además de una banda ancha entre 1500 y 1400 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones por flexión de los grupos antes mencionados, pero también al agua en la zeolita.

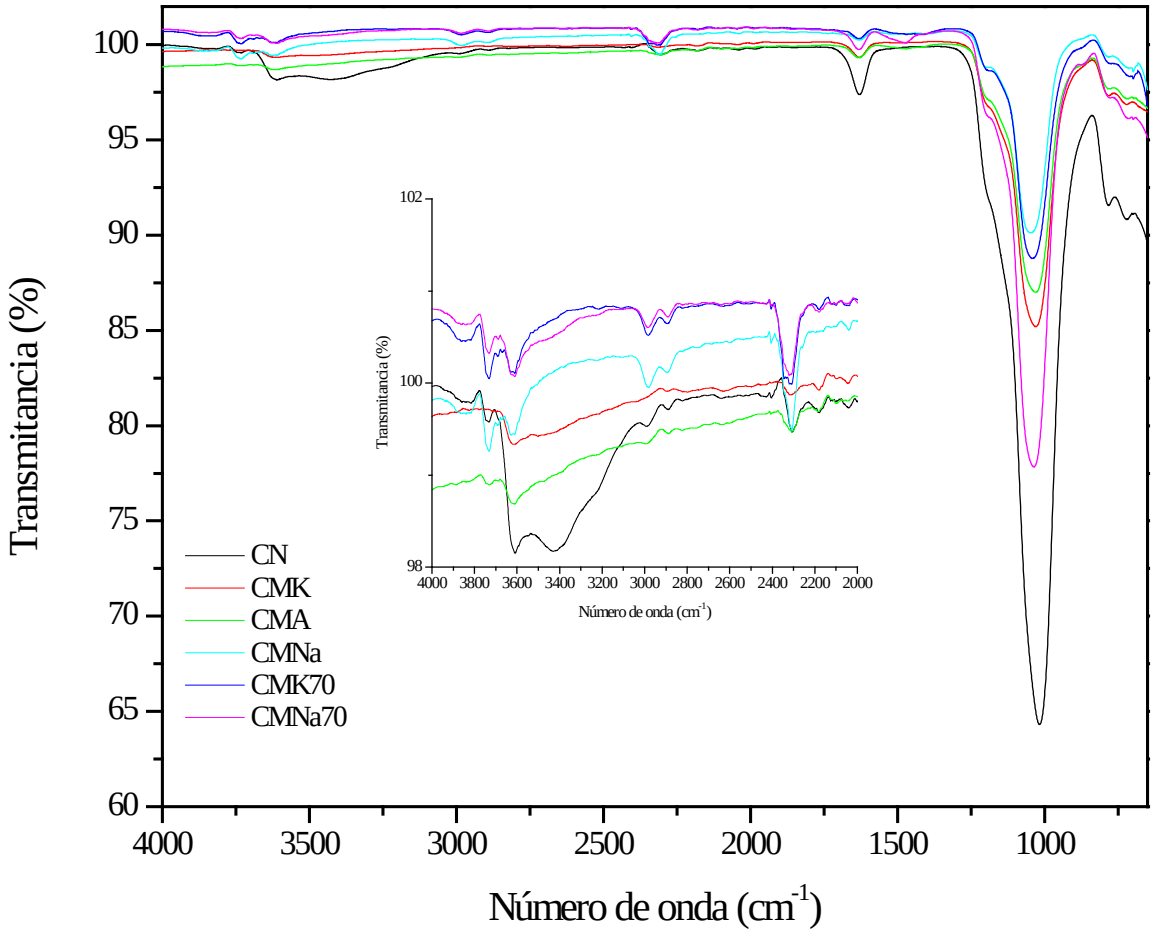


Figura 3.1 Espectros IRTF/RTA de clinoptilolita: CN, CMA, CMNa, CMK, CMNa70, CMK70.

En los espectros de las muestras EMNa, EMK, EMNa70 y EMK70 (Figura 3.2) también logran apreciarse las bandas de absorción correspondientes a la tensión y flexión de los grupos metilo y metileno. Finalmente se asume que la baja intensidad de las vibraciones correspondientes a estos grupos se debe a la mayor cantidad de material zeolítico presente en las ZMAH; sin embargo el espectro de la zeolita modificada con AH en KOH, presenta una banda a 1430 cm^{-1} que corresponde a la vibración C-OH de grupos fenólicos, esta muestra presenta un gran incremento de la banda en 1019 cm^{-1} la cual corresponde a la vibración Si-O del tetraedro, sin embargo también puede atribuirse a la vibración C-OH de polisacáridos, los resultados por espectroscopia infrarroja no son contundentes ya que varias de las bandas de los AH se solapan con las de las zeolitas (Anexo B), por lo que se determinó utilizar solo los materiales modificados en KOH (EMK,CMK), ya que fue el material que presentó mayor diferencia en su espectro respecto a la erionita natural y los

materiales en NH_4OH (EMA y CMA), ya que ha sido reportado que la presencia de amonio ayuda a la retención de sustancias húmicas en las zeolita [24], por lo que, se determinó el contenido de carbón presente en la zeolita mediante mediante COT, y análisis elemental para corroborar la inmovilización de materia orgánica en la superficie del material zeolítco.

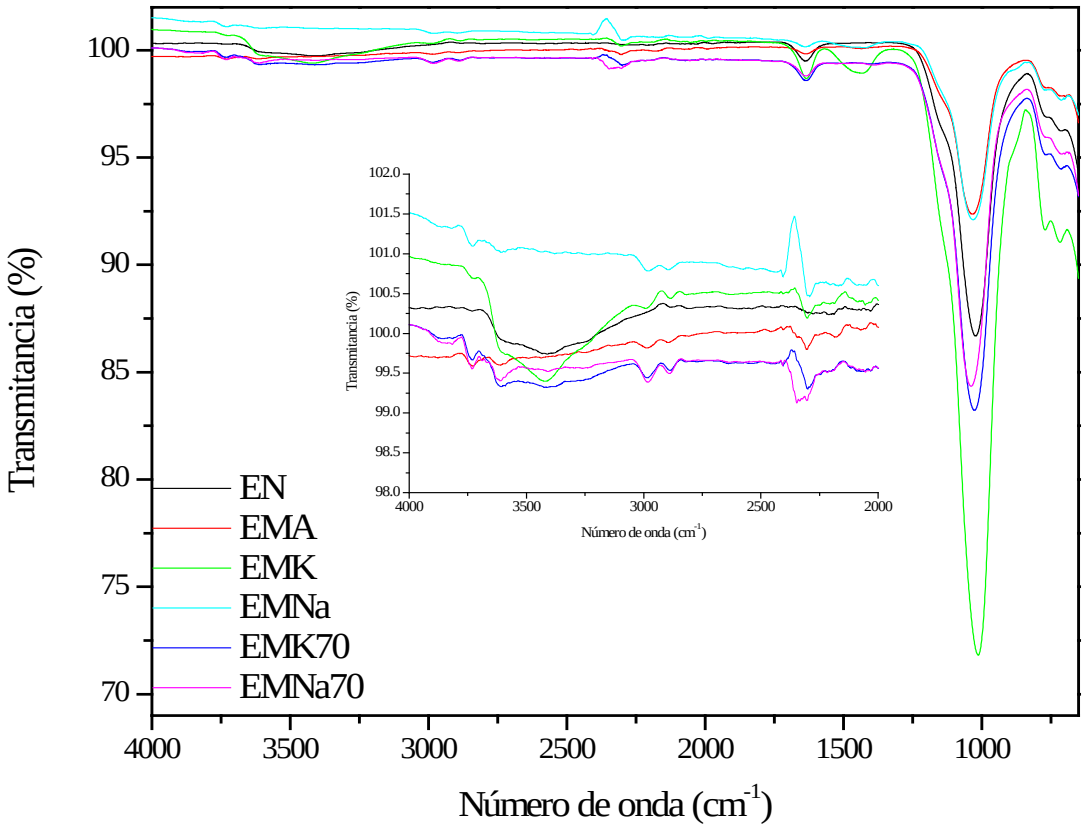


Figura 3.2 Espectros FTIR-ATR de erionita: EN, EMA, EMNa, EMK, CMNa70, CMK70.

3.2 Determinación carbón orgánico total (COT)

El análisis COT (Tabla 3.1) mostró la cantidad de AH en la solución después de su contacto con el material, ya que en todos los casos hay una disminución en la concentración de AH inicial con respecto al final, cabe mencionar que la cantidad de carbono disuelto en la solución de 1000 ppm de leonardita es del 37% que equivaldría al AH disuelto en las soluciones básicas de KOH y NH_4OH, lo que implicaría que la solubilidad del AH es dependiente del pH, además se verifico que los materiales que secuestraron más materia

orgánica entre 0.9 y 2.3%, estos valores congruentes a los obtenidos al análisis elemental realizados directamente sobre el material.

Tabla 3.1. Mediciones de COT en soluciones de AH inicial, final, y cantidad adsorbida

Material	**Ci (ppm)**	**Cf (ppm)**	**a, mg/g**
EMA	370.8	279.6	0.91
CMA	370.8	180.3	1.9
EMK	369.4	129.4	2.36
CMK	369.4	260.6	1.08

3.3 Composición elemental del ZMAH

El análisis elemental de las muestras (Tabla 3.2) determinó la presencia de átomos de carbono, nitrógeno, hidrógeno y azufre en la leonardita y todas las muestras modificadas contienen carbono, el valor de C en la Leonardita corresponde al reportado por el proveedor 49% es C en los materiales impregnados van de CMK<EMK< CMA<EMA, sobre todo en la muestra de CMK donde C constituye más de un 2%, que también fue el material sufrió un cambio superficial más notorio, el H obtenido proviene tanto del agua contenida en la zeolita y ambiental que no fue expulsada en el secado, también de los posibles grupos funcionales orgánicos presentes, como los vistos en los espectros de FTIR-ATR, se puede agregar que las zeolitas estuvieron inmersas en soluciones básicas donde los iones de ^{-}OH, pudieron incrustarse dentro de la red zeolítica, y en las muestras de CMA y EMA el ion NH_4^+ pudo intercambiarse con los cationes de la zeolita, por lo que las cantidades de H variaban de un material a otro, el N se encontró una mayor cantidad en las muestras de CMA y EMA, respecto a CMK y EMK, ya que las primeras estuvieron en contacto con la solución de NH_4OH, no obstante, las segundas también presentaron nitrógeno en baja cantidad por la presencia de grupos funcionales de N en los AH, vale mencionar que la cantidad de C, N, H en todos los materiales que tuvieron contacto con el AH es muy bajo (>3%) que responde a las señales poco visibles de metilos y metilenos en el FTIR-ATR.

Como puede observarse los valores no concuerdan exactamente con los obtenidos por COT, esto puede ser debido a que parte de los ácidos húmicos no estaban retenidos de manera específica por lo que fueron removidos durante los lavados.

De acuerdo a los resultados podemos decir que se pueden adsorben los AH posiblemente debido a la porosidad de la zeolita tomada como soporte y que en la solución de NH_4OH hay un intercambio iónico por el ion NH_4^+ y los cationes de la zeolita.

Tabla 3.2. Análisis elemental de ZMAH

Muestra	**Peso muestra (mg)**	**N (%)**	**C (%)**	**H (%)**	**S (%)**
Leonardita	2.1865	0.910025	48.997	3.7901	ND
EMA	2.099	0.37304	1.7637	1.1539	ND
CMK	2.011	0.074726	2.1347	0.36428	ND
EMK	1.997	0.05568	1.9375	0.73741	ND
CMA	2.096	0.19148	1.8355	0.08860	ND

3.4 Fisisorción de ZMAH

Los datos obtenidos (Tabla 3.3) de la adsorción de N_2 muestran que de los materiales a base del soporte de clinoptilolita se ajustan (R^2= 0.999) al modelo de BET, mientras que en los materiales con soporte de erionita, se ajustó mejor al modelo de Langmuir (R^2= 0.999), al comparar la superficie específica de cada material, se observó un aumento en la superficie mesoporosa de la clinoptilolita impregnada con AH, que sugiere que la presencia del compuesto húmico forma estructuras que aumentan la superficie del material, en cambio la superficie de la erionita fue disminuida al inmovilizarse el AH, debido a que es un material microporoso, el AH al no poder ingresar en los poros los sella, estos microporos proporcionaron la mayor parte de la superficie específica, por lo que, al estar deshabilitados esta disminuya considerablemente.

Tabla 3.3 Datos de la fisisorción de materiales zeoliticos naturales e impregnados con AH usando diferentes modelados.

Material	**Clinoptilolita**			**Erionita**		
	Natural	CMK	CMA	Natural	EMK	EMA
$S_{BET,}$ m^2/g	22.194	26.857	31.323	322.227	173.674	226.343
R^2	0.999	0.999	0.999	0.997	0.999	0.998
$S_{Langmuir,}$ m^2/g	39.278	151.028	57.051	430.085	259.651	297.819
R^2	0.987	0.581	0.984	0.999	0.999	0.999
Área $_{MP}$ (t-plot), m^2/g	6.216	6.416	6.987	290.067	137.599	190.176
$D_{p(BJH),}$ desorción, Å	29-42	26-42	24-47	23-35	23-42	22-42
$V_{p\ (BJH)}$) cm^3/g	0.09394	0.1023	0.11952	0.04544	0.04955	0.04787

Nota: $\mathbf{S}_{\boldsymbol{BET}}$: superficie especifica por el método de *BET*, $\mathbf{S}_{\boldsymbol{Langmuir}}$: superficie especifica por el método *Langmuir*, $\mathbf{D}_{\mathbf{p(BJH)}}$: diámetro de poro, $\mathbf{V}_{\mathbf{p\ (BJH)}}$: Volumen de poro.

Además que la cantidad adsorbida de N_2 varía con respecto al material base, ya que los materiales de erionita adsorben casi el doble que los de clinoptilolita, esto es debido a una mayor cantidad de mesoporos donde el gas se aglutina y condensa, lo cual promueve una mayor adsorción.

Las isotermas de adsorción (Figura 3.3) mostraron ser tipo IV (a), según la clasificación de la IUPAC, donde la condensación capilar se acompaña de histéresis. Esto ocurre cuando el ancho de poro excede de un cierto ancho crítico, que es dependiente del sistema de adsorción y de la temperatura; para el nitrógeno la adsorción poros cilíndricos a 77 K la histéresis comienza en ocurrir de poros más anchos que ~ 4 nm.

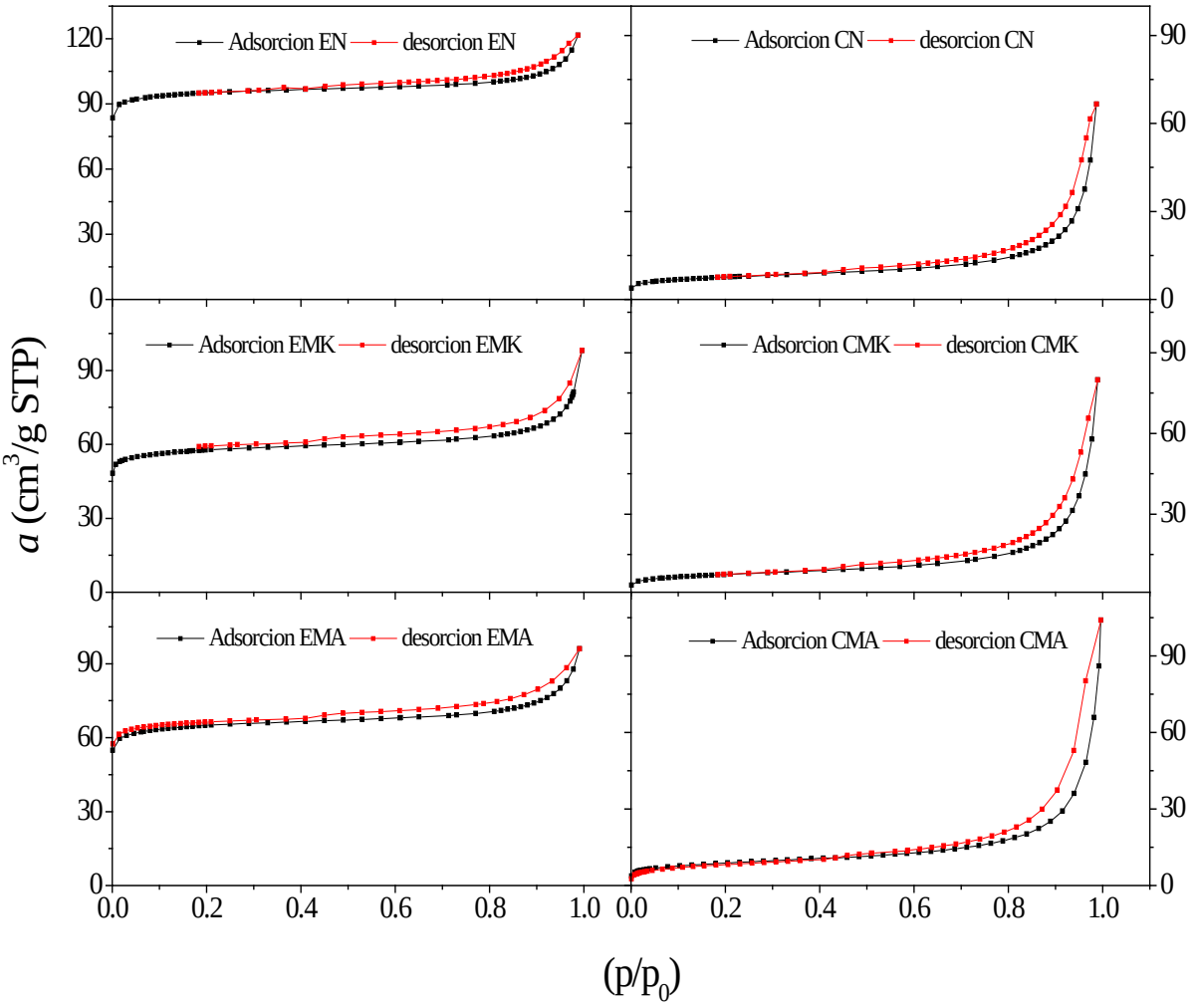


Figura 3.3 Isotermas de adsorción de N_2 en muestras de CN, CMK, CMA, EN, CMK y CMA.

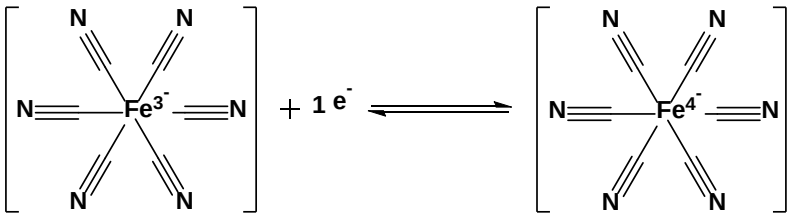
Por el lado de los lazos de histéresis son tipo H4, que son asociados con el llenado de microporos de agregados cristalinos de zeolitas y algunas zeolitas mesoporosas que nos dice que son sólidos con un rango en tamaños de poros entre 20 y 500 Å [30], donde la rama superior que es característica de los isotermas tipo IV no aparece, esto nos dice que la capacidad adsorción en estos materiales sobrepasa a la presión del sistema, también no hay un cierre del lazo o también llamada histéresis de baja presión en los materiales de, EMK y EMA, más bien exhiben una histéresis que persiste a bajas presiones y que retiene una poción del adsorbato como se ha propuesto [31-32] que partículas distorsionan y abren cavidades donde eran inaccesibles a las moléculas de adsorbato y como esta distorsión al no

ser elástica algunas de las moléculas quedan atrapadas o se desorben muy lentamente, a menos que la temperatura del medio se eleve.

En los resultados de distribución de poro (Anexo C) se observó un aumento en el volumen de poro en un diámetro alrededor de 42 Å en los materiales con AH inmovilizados, como en el caso de los materiales CMK, EMK y EMA, esto indicaría la formación de mesoporosidades creadas por la impregnación de AH en la superficie de las zeolitas, esto se correlaciona al aumento de la superficie especifica de la clinoptilolita que es un material originalmente mesoporoso y la erionita que al cerrarse sus microporos disminuyó, en el caso del CMA y EMA se aprecia una disminución del tamaño de poro.

3.5 Estudio electroquímico

A partir de la respuesta voltamperométrica de los electrodos ZMAH/EPC (Figura 3.4), se pueden observar los picos característicos de óxido-reducción del sistema $[Fe(CN)_6]^{3-}$ / $[Fe(CN)_6]^{4}$; el cual es un sistema reversible en interfaces electrodo-electrolito con favorable conductividad eléctrica, es independiente del valor de pH del medio electrolítico y requiere la transferencia de un solo electrón de acuerdo a la siguiente reacción:



Los criterios de reversibilidad mediante voltamperometría cíclica para éste y cualquier sistema redox son: diferencia de potencial (ΔE) inferior a 120 mV entre el potencial del pico anódico (o de oxidación, E_p^a) y el potencial de pico catódico (o de reducción, E_p^c); cociente igual a uno entre la corriente del pico anódico (I_p^a) y del pico catódico (I_p^c); valor pequeño del potencial formal estándar ($E^{\circ\prime} = \frac{E_p^a + E_p^c}{2}$); altos valores de corriente y un valor alto de la constante de velocidad transferencia de carga (k), éste último no fue determinado en la caracterización voltamperométrica de los electrodos. La presencia de los picos de óxido-reducción en los voltamperogramas de cada uno de los electrodos indica la actividad del recubrimiento de ZMAH en la transferencia electrónica; sin embargo los

resultados extraídos (tabla 3.4) muestran diferencias en la efectividad de la transferencia electrónica en el proceso redox. De acuerdo a los criterios de reversibilidad se observa (tabla 3.5) que el recubrimiento CMK sobre EPC es el que se encuentra en primer lugar en dos de los criterios de reversibilidad, en tanto que el recubrimiento de CMA sobre EPC aparece en segundo lugar; en tres de los criterios de reversibilidad. Bajo este análisis se deduce que, la efectividad de participación de los recubrimientos de ZMAH en el proceso redox $[Fe(CN)_6]^{3-}$ / $[Fe(CN)_6]^{4-}$ es la siguiente: CMK > CMA > EMK > EMA.

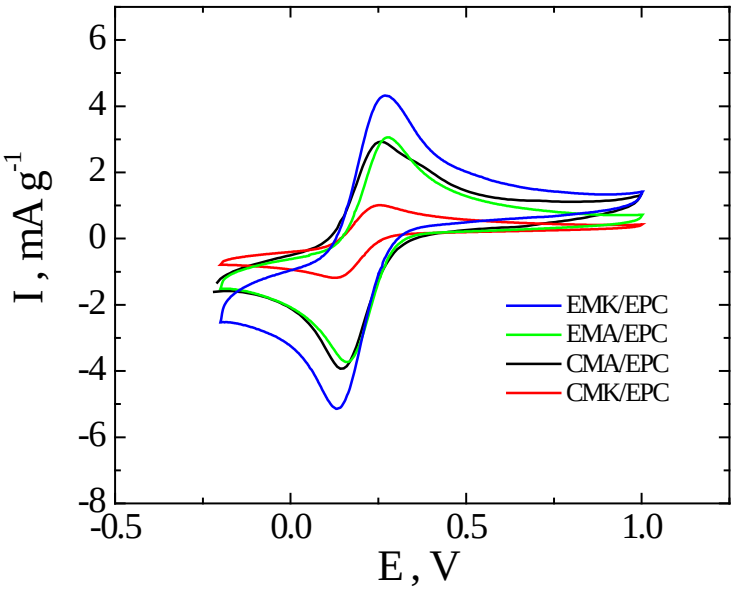


Figura 3.4. Voltamperogramas a 50 mV s^{-1} del proceso redox Fe^{3+}/Fe^{2+} sobre los electrodos de ZMAH/EPC en 0.1 M KCl como electrolito fondo más 0.01 M $K_4[Fe(CN)_6]$ y 0.01 M $K_3[Fe(CN)_6]$.

Tabla 3.4. Parámetros voltamperométricos de los EPC modificados superficialmente con CMA, CMK, EMA y EMK, empleados para determinar su efectividad en la reversibilidad del par redox $[Fe(CN)_6]^{3-}$ / $[Fe(CN)_6]^{4-}$.

Electrodo	$\mathbf{E_p^a}$ **mV**	$\mathbf{E_p^c}$ **mV**	**E°´ mV**	**ΔE mV**	I_p^a / I_p^c
CMA	259	142	200.5	117	0.75
CMK	256	123	189.5	133	0.85
EMA	280	161	220.5	112	0.82
EMK	270	132	201.0	138	0.84

Tabla 3.5 Orden creciente de efectividad de los electrodos ZMAH/EPC en la reversibilidad del par redox $[Fe(CN)_6]^{3-}$ / $[Fe(CN)_6]^{4-}$.

Parámetro	**Efectividad**			
E°´	EMA	EMK	CMA	CMK
I_p^a	CMK	EMA	CMA	EMK
ΔE	EMK	CMK	CMA	EMA
I_p^a / I_p^c	CMA	EMA	EMK	CMK

3.6 Biodegradación de Iopromida en consorcio ZMAH-lodos.

Transformación de iopromida en medio anaerobio

Con el estudio electroquímico se pudo comprobar que, la zeolita modificada con ácidos húmicos actúa como mediador redox. Para comprobar su efectividad como mediador redox se hicieron ensayos en un proceso de degradación de iopromida en presencia de lodos de un consorcio bacterianos anaerobio (Figura 3.5). En todos los ensayos tanto en los que se encontraba la zeolita y los lodos por separado, la concentración de la iopromida disminuyó considerablemente, en el caso de los experimentos de los consorcios ZMAH-lodos, el día 6 la concentración empezó con un decaimiento mayor hasta solo quedar el 20% de la concentración inicial, mientras que los ensayos CEC y CEE, la concentración de 1000 ppb disminuyó un 75 % de la concentración de iopromida en 5 días, en este caso es posible decir que las ZMAH son responsables de la sustracción del compuesto iodado de la matriz liquida, posiblemente los AH impregnados en su superficie tienen afinidad por las sustancias orgánicas y los mediadores redox que tienen afinidad por los compuestos polihalogenados [33], esto se confirmó al verificar que no había productos de transformación (PT), que se mostrara posteriormente, en los demás casos LEN, LCN, LCM, LEM es posible que la concentración se mantuviera debido a que los agentes

degradadores dentro de los lodos se incubaran y se distribuyeran por los ZMAH, para después empezar el consumo de iopromida.

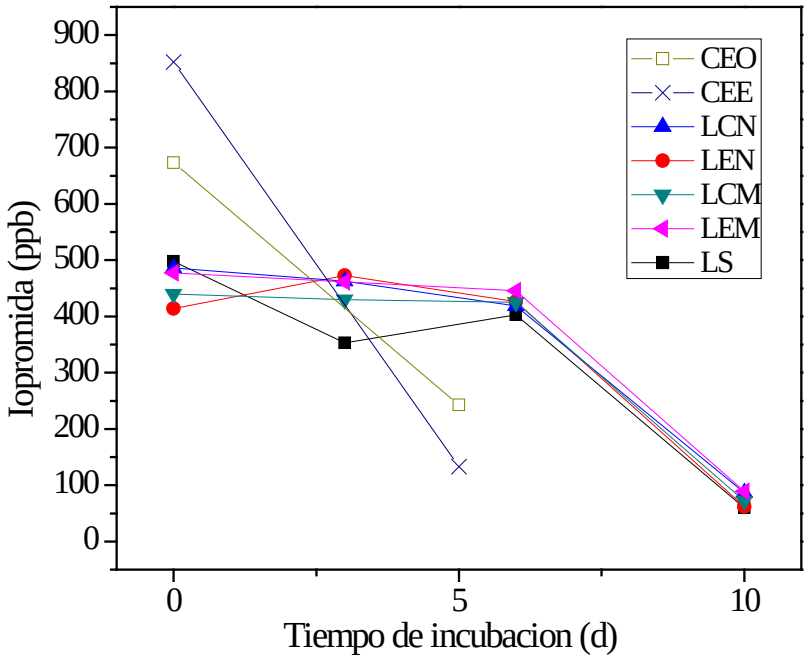


Figura 3.5 Series de tiempo de la concentración de iopromida en atmosfera anaerobia.

Como se pudo verificar la concentración de iopromida se mantuvo constante cerca de 6 d, debido a la acción biológica de los lodos, esto se puede aseverar ya que los ensayos, al momento del muestreo, liberaban presión de gases de desecho, que indica la actividad microbiana, en general todos los ensayos donde se aplicó el lodo mostraron comportamientos parecidos.

Hay que resaltar que en los ensayos estériles con clinoptilolita y erionita modificada se observa una prominente disminución en la concentración de iopromida, se argumenta una interacción de adsorción entre el compuesto iodado y la superficie del ZMAH, por interacciones débiles, por lo cual sustrajo de la matriz la iopromida disuelta, provocando la caída de concentración.

Estudio cinético de la degradación de Iopromida

A los datos obtenidos del proceso de biodegradación se aplicó la formulación para los órdenes de reacción, para después ser graficados contra el tiempo (Anexo D) y se calculara la línea de tendencia mediante el método de mínimos cuadrados, este procedimiento indicó que de los modelos cinéticos propuesto ninguno se ajustó al comportamiento de la biodegradación, esto debido a la cantidad de datos disponibles, los fenómenos de adsorción y desorción provocados por la presencia de las zeolitas naturales y modificadas, y las diversas reacciones de los agentes microbianos, por lo tanto no fue posible determinar el orden de reacción para los diferentes ensayos de biodegradación realizados.

Identificación de productos de transformación.

Con el fin de apreciar el proceso de biodegradación y en cómo es afectado por la presencia o ausencia de las ZMAH, se obtuvieron los productos de transformación, a partir de los cromatogramas obtenidos de la separación por cromatografía liquida de las soluciones restantes (Figura 3.6), y también proponer las rutas de reacción (Figuras 3.7) que siguió la iopromida en su interacción con los microorganismos presentes en los lodos y en base en trabajos realizados en otros compuestos iodados como el diatrizoato [34].

En los cromatogramas, se puede apreciar los diferentes componentes de los residuos de la biodegradación, tanto las sales del medio basal, la iopromida y sus productos y residuos degradados de esta, al comparar los cromatogramas negativos (Figura 3.6b) se pudo observar una series de picos entre los minutos 3 al 8, mientras que estas misma señales no aparecieron en los controles estériles, esto implicó que las sustancia detectadas por la cromatografía de líquidos son productos de la biodegradación, y que estas señales coinciden en tiempo e intensidad con el ensayo LS, como una huella digital, en lo restante del cromatograma no se hallaron diferencias notables.

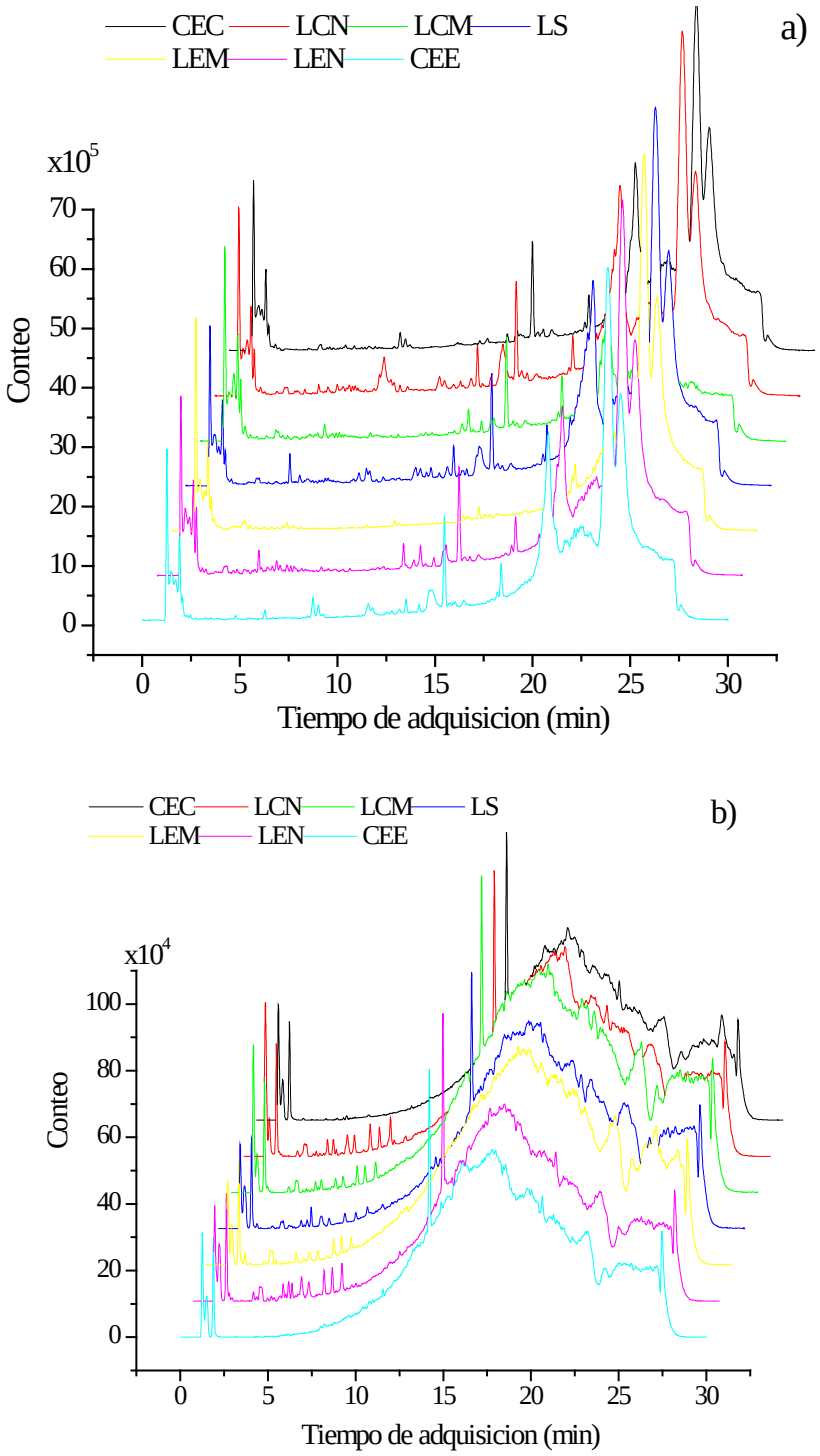
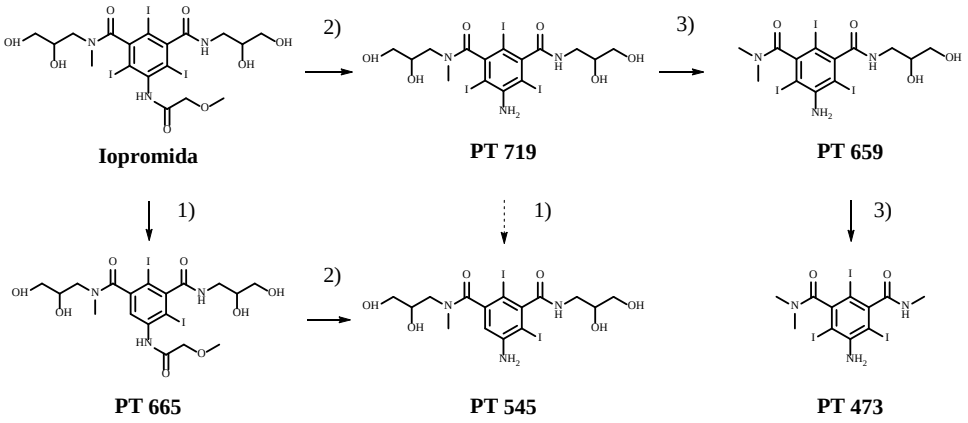


Figura 3.6. Análisis cromatográfico de los diferentes ensayos de la biodegradación en polaridad **a)** positiva y **b)** negativa.

En el caso de los cromatogramas positivos (Figura 3.6a) las señales son menos diferenciables, en los cromatogramas con de LCM y LEM, muestran menos señales a comparación del cromatogramas de LS, LCN Y LEN, que presentaron señales en el intervalo de 2.5 a 7.2 (min) y 10.7 a 15.33 (min), también los gráficos de CEE y CEO, presentan señales aisladas y que no los relacionan entre sí, estas diferencias se deberían a que los productos de LCM y LEM tienen carga positiva, por lo que no fueron detectados, esto da a entender que aunque todos los ensayos se realizó la biodegradación, este proceso se lleva en diferentes mecanismos.

Uno de los productos obtenidos en todos los ensayos fue el ion iodo, que indica la deshalogenación de la iopromida, en los siguientes experimentos se ve una diversificación, por ejemplo en el caso del ensayo LS dando se obtuvieron los PT 719 y PT 473, estos implican que los agentes degradadores se involucran más en la desglicolización que en la eliminación del iodos, mientras que al estar presente la zeolitas naturales en los ensayo LCN y LEN, aparecen los PT 719, PT 665, PT 593, que son compuestos poco degradados tanto de desiodización como de desacilación, en el caso particular del LEN, aparece señales del PT 413, esto probablemente a que las ZN contenían las moléculas de iopromida en sus superficie y así los microorganismos de los lodos podían ser degradarlos con facilidad.

a)



b)

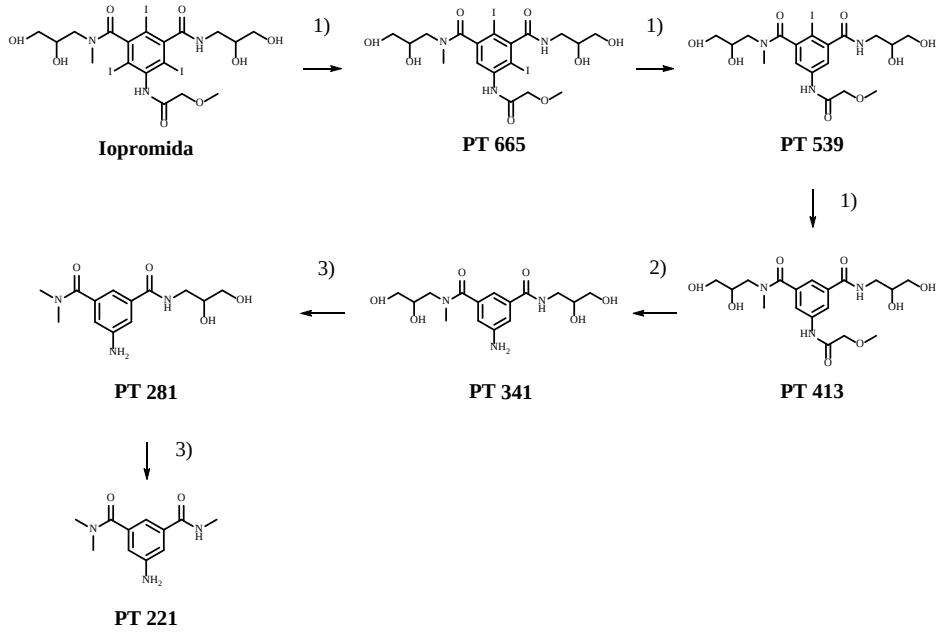


Figura 3.7 Ruta propuesta en la degradación de iopromida de los ensayos, a) LS, LEN, LCN y b) LCM, LEM: 1) desiodización, 2) desacetilación, 3) desglicolización,

En el caso de los experimentos LCM y LEM, se pudo, detectar la presencia de PT 221 y PT 281 que son moléculas muy degradadas, que se supone sufrieron procesos de desiodización, desacilación y desglicolización, esto implicaría que la presencia de ZMAH en la solución produjo una mejora en la degradación de iopromida, posiblemente por la presencia de mediadores redox en las zeolitas que en poca concentración ya que los análisis anteriores no mostraron un rastro significativo y estos aumentaron la actividad microbiana de los lodos, hay que mencionar que en el ensayo de LEM, también se verifico el PT 473, que confirmaría, que los compuestos de erionita impregnado con ácidos húmicos, tienden a favorecen tanto la ruta completa de desiodización por un lado, y desacetilación y desglicolización por el otro, posiblemente sea las características porosas, también como la capacidad de catálisis, que en este caso favorecería el secuestro de la molécula de iopromida, dando lugar al eventual rompimiento de grupos funcionales hidrocarbonados y halogenuros.

4. CONCLUSIONES

- Los procesos de inmovilización de ácidos húmicos sobre zeolitas naturales realizados dieron como resultado la agregación de la materia orgánica sobre la matriz zeolítica, bajo las condiciones de concentración de leonardita a 1000 ppm en solución básica de KOH, a temperatura ambiente, trasciende que la clinoptilolita fue el soporte que mayor cantidad adsorbió, esto se confirmó mediante los análisis aplicados.
- De acuerdo a los datos obtenido con la pruebas electroquímicas se concluye que la efectividad de los recubrimientos de ZMAH en el proceso redox $[Fe(CN)_6]^{3-}$ / $[Fe(CN)_6]^{4-}$ es la siguiente: CMK > CMA > EMK > EMA.
- Los materiales ZMAH mostraron propiedades de mediación redox e influyen en los procesos de biodegradación de contaminantes en este caso iopromida, en favorecer rutas de eliminación de grupos funcionales como el iodo y las cadenas laterales, resultando en compuesto de menor reactividad y bajo peso molecular.

5. BIBLIOGRAFÍA

[1] Alvarez L.H., Cervantes F. J., Gortares P., *Avances en la Aplicación de Mediadores Redox Durante la (Bio)Transformación de Contaminantes Recalcitrantes*, BioTecnología, (2013), Vol. 17 No. 3.

[2] Jal P.K., Patel S., Mishra B.K., *Chemical modification of silica surface by immobilization of functional groups for extractive concentration of metal ions*, Talanta, (2004), Vol. 62, p. 1005–1028.

[3] Stevenson F.J., (1994). *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. John Wiley & Sons, Inc., New York.

[4] http://www.humicsubstances.org/ International Humic Substances Society (Natural Organic Matter Research)

[5] Sutton R., Sposito G. *Molecular structure in soil humic substances: the new view*. Environmental Science and Technology, (2005), Vol. 39, p. 9009–9015.

[6] Steelink C., Aiken G.R., McKnight D.M., Wershaw R.L., MacCarthy P., *Elemental Characteristics of Humic Substances*, Humic Substances in Soil, Sediment, and Water, (1985), p. 457–476.

[7] Schulten H.R., Schnitzer M., *The chemistry of soil organic nitrogen: a revie*, Biol. Fertil Soils, (1998), Vol. 26 p. 1-15.

[8] Mirza M.A., Agarwal S.P., Rahman M.A., Rauf A., Ahmad N., Alam A., Iqbal Z., *Role of humic acid on oral drug delivery of an antiepileptic drug*, *Drug Dev. Ind. Pharm.* (2011), Vol. 37, (3), p. 310–319.

[9] Gomes de Melo B.A., Lopes Motta F., Andrade Santana M.H., *Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments*, Material Science (2016), Vol. C 62, p. 967-974.

[10] Pirsson, L.V. On mordenite. Am. J. Sci. (1890), Vol. 140, p. 232-237.

[11] http://www.iza-online.org/ International Zeolite Association (Commission on Natural Zeolites)

[12] Mumpton, F.A. Clinoptilolite redefined. Am. Mineral. (1960), Vol. 45, p. 351-369.

[13] Favvas E.P., Tsanaktsidis C.G., Sapalidis A.A., *Clinoptilolite, a natural zeolite material: structural characterization and performance evaluation on its dehydration properties of hydrocarbon-based fuels.* Microporous and mesoporous materials, (2016), Vol. 225, p. 385-391.

[14] Rakić V., Rajić N., Daković A., Auroux A., *The adsorption of salicylic acid, acetylsalicylic acid and atenolol from de aqueous solutions onto natural zeolites and clays: Clinoptilolite bentonite and kaolin*, Micro. and Mesoporous Mat., No. (2013), Vol.166, p. 185-194

[15] Alberti A., Martucci A., Galli E., Vezzalini G., *A reexamination of the crystal structure of erionite*. Zeolites, (1997), Vol. 19, p. 349-352.

[16] Peterson D.L., Helfferich F., Blytas G.C. , J. Phys. Chem. Solids, (1965), Vol. 26, p. 835.

[17] Tsitsishvili G.V., Andronkashvili T.G., (1992), Natural Zeolites, Ed. Horwood.

[18] Wang MS, Liao LB, Zhang XL, Li ZH *Adsorption of low concentration humic acid from water by palygorskite.* Appl Clay Sci. doi:10.1016/j.clay.2011.09.012

[19] Cervantes F.J., Gonzalez-Estrella J., Márquez A., Alvarez L.H., Arriaga S., *Immobilized humic substances on an anion exchange resin and their role on the redox biotransformation of contaminants,* Bioresource Technology, (2011), Vol. 102, p. 2097-2100.

[20] Laor Y., Farmer W. J., Aochi Y., Strom P.F.. *Phenanthrene binding and sorption to dissolved and to mineral-associated humic acid.* Water Res. (1998), Vol. 32, p. 1923.

[21] Zhan Y.J. Lin J. Li, *Preparation and characterization of surfactant-modified hydroxyapatite/zeolite composite and its adsorption behavior toward humic acid and copper (II),* Environ. Sci. Pollut. Res., doi 10.1007/s11356-012-1136-1, 2012.

[22] Bouyarmane H, Asri SE, Rami A, Roux C, Mahly MA, Saoiabi A, Coradinc T, Laghzizil A., *Pyridine and phenol removal using natural and synthetic apatites as low cost sorbents: influence of porosity and surface interactions.* J Hazard Mater, (2010), Vol. 181, p. 736–741.

[23] Laor Y., Zolkov Ch., Armon R., *Immobilizing humic acid in a sol-gel matrix: A new tool to study humic-contaminants sorption interactions. Environ. Sci. Technol.*, (2002), Vol. 36, p. 1054-1060.

[24] Zucolotto, V.; Ferreira, M.; Cordeiro, M. R.; Constantino, C. J. L.; Balogh, D. T.; Zanatta, A. R.; Moreira, W. C.; Oliveira, O. N., Jr. *Unusual interactions binding iron tetrasulfonated phthalocyanine and poly(allylamine hydrochloride) in layer-by-layer films*. J. Phys. Chem. B (2003),Vol. 107, p. 3733-3737

[25] Rebhun M., Kalabo R., Grossman L., Manka J., Rav-Acha Ch., *Sorption of organics on clay and synthetic humic-clay complexes simulating aquifer processes.* Water Res. (1991), Vol. 26, p. 79-84.

[26] Harris D.C., (2003). *Análisis químico cuantitativo*. New York, U.S.A.: W. H. Freeman and Company.

[27] Tinoco Jr. I., Sauer K., Wang J.C., (1978). *Fisicoquímica: Principios y aplicaciones en las ciencias biológicas*. Prentice-Hall Inc.

[28] Mozgawa W., *The influence of some heavy metals cations on the FTIR spectra of zeolites*, J. Mol. Struc., (2000), Vol. 55, p. 299-304.

[29] Neckers D.C., Doyle M.P. (1977). *Química Organica Volumen 1*. Jhon Wiley & Sons, Inc.

[30] Gregg S. J., K. Sing S. W., (1982). *Adsorption, Surface Area and Porosity*. Ed. 2. Auflage, Academic Press, London

[31] Arnell J. C., McDermott H. L., *Proceeding of the Second International Congress on Surface Activity*, (1957), Vol. II, p. 113, Butterworths, London

[32] Bailey A., Cadenhead D.A., Davies D.H., Everett D.H., Miles A.J. *Trans. Faraday Soc.* (1971), Vol. 67, p. 231.

[33] Van deer Zee F.P., Cervantes F.J., *Impact and application of electron shuttler on the redox (bio) transformation of contaminants: A review*, Biotechnology Advances, (2009), Vol. 27, p. 256-277.

[34] Redeker M., Wick A., *Removal of the iodinated X-ray Contrast Medium Diatrizoate Anaerobic Transformation*, Environ. Sci. Technol., (2014), Vol. 48, pp. 10145−10154.

ANEXOS

ANEXO A. Determinación de condiciones de inmovilización de AH

Las condiciones de inmovilización de AH en zeolitas naturales fueron determinadas previamente. La figura A.1 muestra, las curvas cinéticas de adsorción de leonardita en erionita, determinada por espectroscopía, de acuerdo a las curvas el proceso puede fue reproducible y se pudo observar que se alcanza el equilibrio en la adsorción a las ocho horas, ajustándose la cinética a un modelo de pseudo-segundo orden, con una capacidad de adsorción máxima de 0.056 mg/g y una constante de velocidad k = 15.9 mg/g h.

Por otro lado en la figura A.2 se presenta el porcentaje de contenido de carbón en la zeolita a las diferentes concentraciones de AH. Lo cual puede ser representado como una isoterma de adsorción, según la clasificación de Giles [35], la isoterma de adsorción de AH en la erionita es clase L subgrupo 3, lo cual indica que el adsorbente y el adsorbato tienen gran atracción intermolecular, y se forma una segunda capa adsorbida sobre la primera. Por otro lado la clinoptilolita presenta una isoterma clase L, similar a la erionita pero, subgrupo max, en lo que indica según Moillet y Giles, que a disoluciones muy concentradas las fuerzas adsorbato-adsorbato causan desorción, como puede observarse, para las dos zeolitas, la concentración de 1000 ppm es la concentración máxima que puede soportar la superficie de la zeolita, ya que para mayores concentraciones, la erionita presenta la formación de multicapas y la clinoptilolita, la desorción.

Un factor importante en la retención de los ácidos húmicos en las zeolitas es la misma disolución del ácido, por lo que esta fue probada en diferentes concentraciones del medio básico, encontrando que la concentración 0.1 M es la adecuada para disolver el ácido húmico (Figura, A.3).

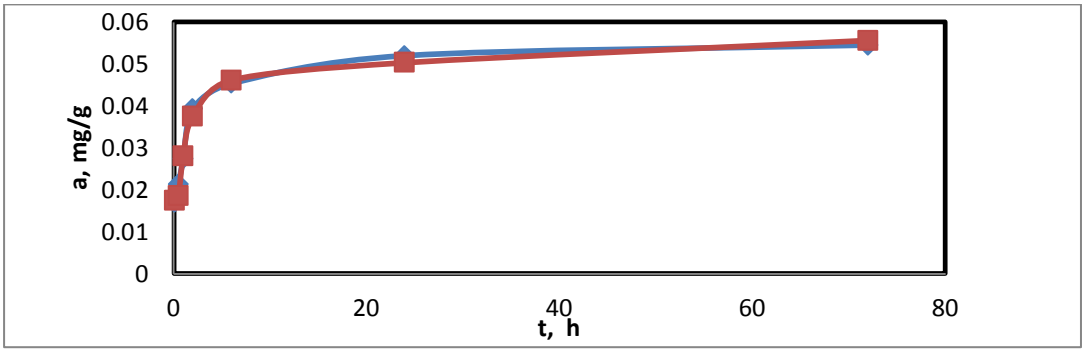


Figura A.1 Cinética de adsorción (con duplicdo) de AH en erionita en disolución de KOH 0.01M, determinada por espectroscopia UV-Vis a 245 nm.

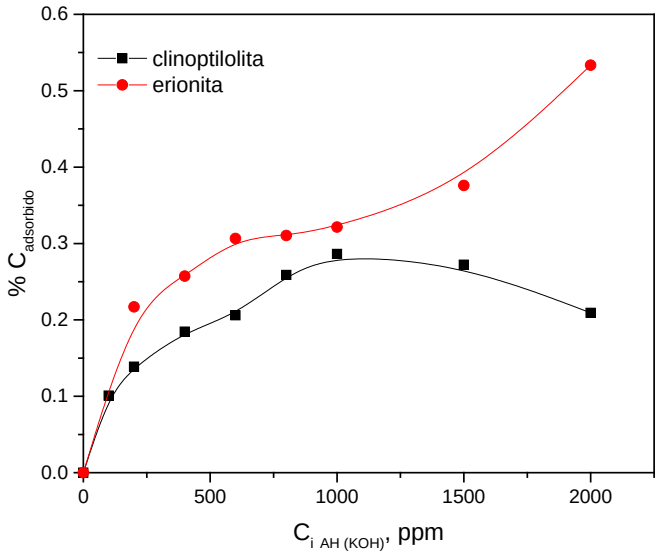


Figura A.2 Porcentaje de carbón adsorbido a diferentes concentraciones de AH en KOH en las zeolitas.

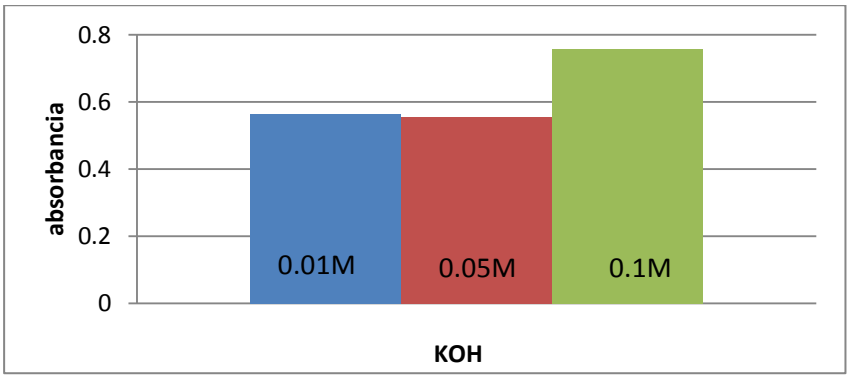


Figura A.3 Comparación de absorbancia de AH disuelto en KOH a diferentes concentraciones.

ANEXO B. Espectros de materia prima

Para determinar si, el ácido húmico fue o no impregnado, sobre la superficie de la zeolita se utilizó la espectroscopía IR. En la figura B.1, se presentan los espectros de los materiales precursores de ZMH, como puede observarse que las bandas de correspondientes a la Leonardita, pueden ser apantalladas por las bandas de los grupos de las zeolitas, siendo la banda correspondiente a los grupos alifáticos los más percibirles, que demostrarían la presencia de los ácidos húmicos impregnados.

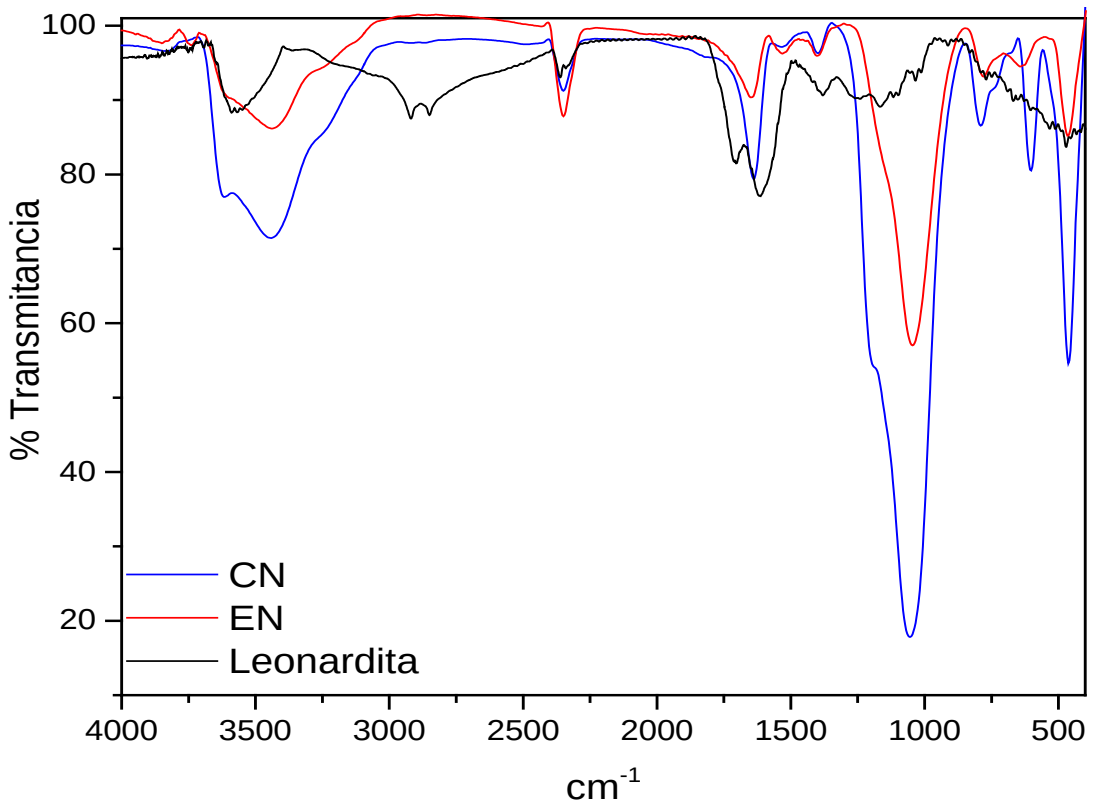


Figura B.1 Espectroscopía IR de AH (Leonardita) y las zeolitas naturales CN y EN

ANEXO C. Distribución de tamaño de poro por el método BJH.

En las siguientes figuras se presentan los diagrama de distribución de tamaño de poro de las zeolitas, naturales y modificadas por el método BJH haciendo uso de los datos de adsorción de N_2 (figura C.1), y desorción (figura C.2), en la erionita se puede observar un incremento en el tamaño de poro debido a la presencia de los ácidos húmicos, se adsorben sobre la superficie externa bloqueando la microporosidad, mientras que en la clinoptilolita se observa la aparición de poros de menor tamaño, lo cual puede deberse a la formación de microporosidad debida a la presencia del AH, ya que contrariamente a la erionita la clinoptilolita es mesoporosa.

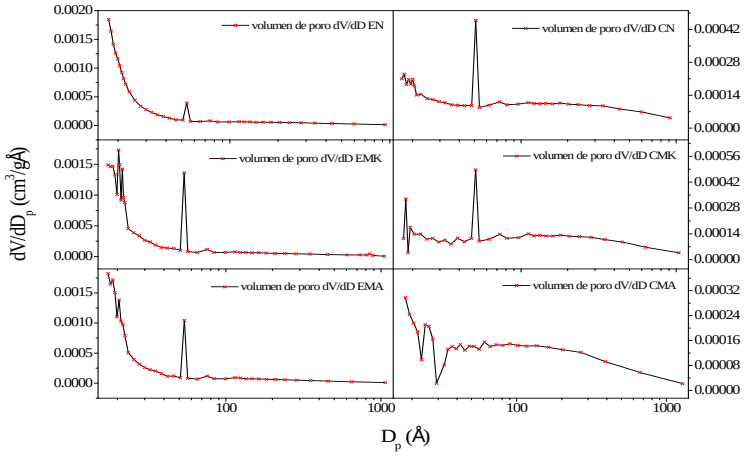


Figura C.1 Diagrama de distribución de poro de las zeolitas naturales e impregnadas con AH en base a la adsorción.

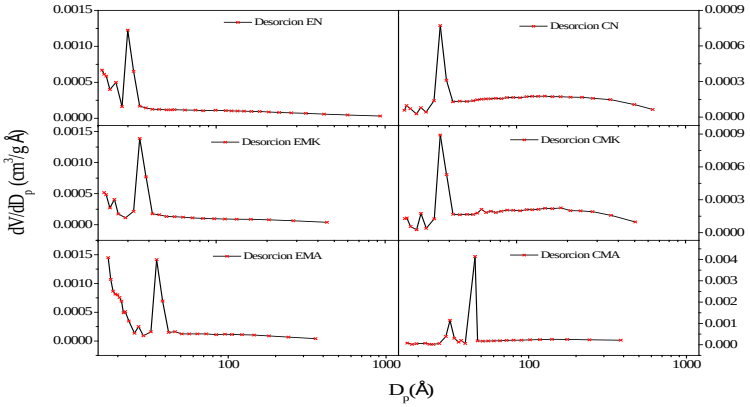
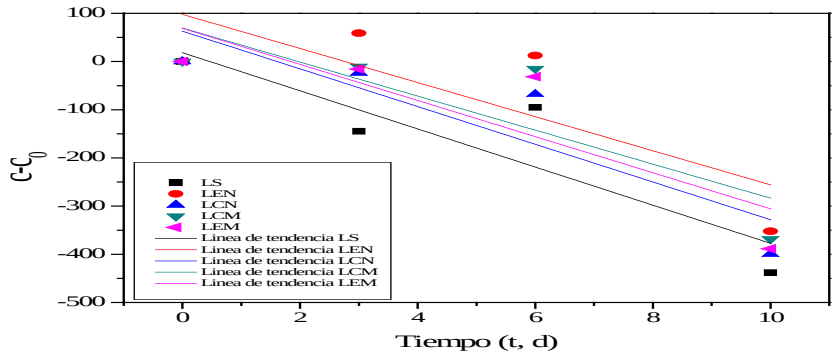


Figura C.2 Diagrama de distribución de poro de las zeolitas naturales e impregnadas con AH en base a la desorción.

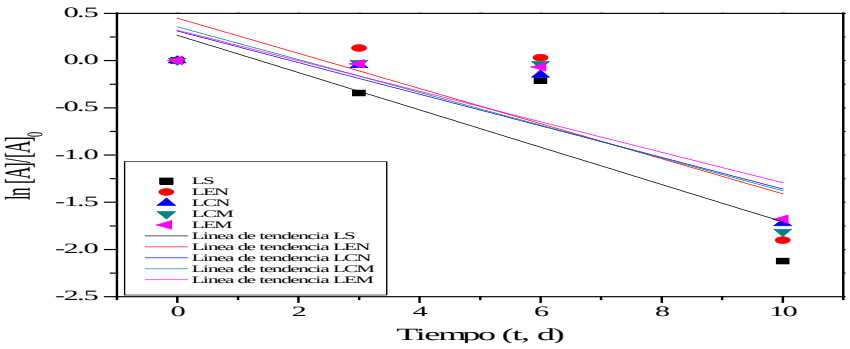
ANEXO D. Ajustes a modelos cinéticos teóricos de la degradación de la iopromida en sistema biológico.

En las figura D.1 se muestran los ajustes a los modelos cinéticos de orden cero, uno y dos de la biodegradación de la iopromida usando como mediadores redox ZMAH, sin embargo no hay una correlación total con ninguno. Es decir la degradación de iopromida durante el tiempo de monitoreo, no puede ajustarse a un solo modelo, sin embargo la remoción fue considerable.

a)



b)



c)

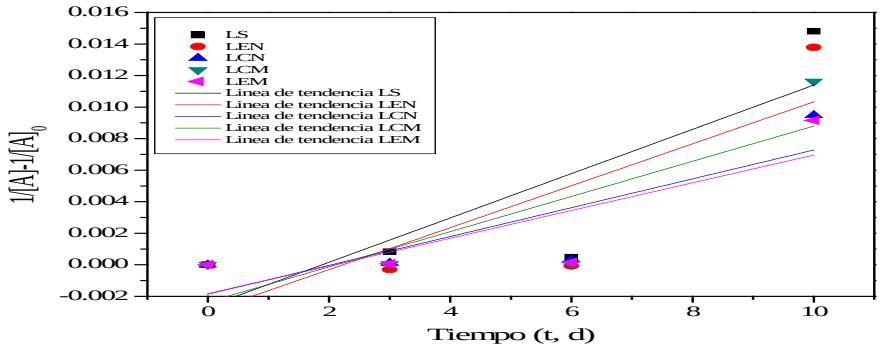


Figura D.1. Gráficos de la cinética de degradación de iopromida para los modelos de: **a)** orden cero, **b)** primer orden **c)** segundo orden de reacción.

ANEXO E. Clasificación de productos de la biodegradación.

En este apartado se muestra los productos degradados propuestos, organizados de manera descendiente en su relación carga-masa, comparados a los productos identificados en las espectrometrías de masas realizados a los residuos de los ensayo de la biodegradación.

z/m	PT	Ensayo						
791	Iopromida	LEN	LCN	LS	LEM	LCM	CEE	CEC
731	TP4							
719	TP5	LEN	LCN	LS				
671	TP6							
665	TP1	LEN	LCN					
659	TP7	LEN					CEE	
605	TP4-I	LEN	LCN		LEM	LCM	CEE	CEC
599	TP8							
593	TP5-I	LEN	LCN					
545	TP6-I	LEN						CEC
539	TP2							
533	TP7-I		LCN		LEM			
479	TP4-2I							
473	TP8-I	LEN		LS	LEM			
467	TP5-2I							
419	TP6-2I			LS				
413	TP3	LEN			LEM			CEC
407	TP7-2I							
353	TP4-3I	LEN						
347	TP8-2I							
341	TP5-3I							CEC
293	TP6-3I							
281	TP7-3I				LEM			
221	TP8-3I					LCM		