



# Tomo 03

## *Ciencias Naturales*

ARTÍCULOS DEL CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN ACADEMIA JOURNALS LOS MOCHIS 2024  
ELIBRO ONLINE CON ISSN 1946-5351 | VOL. 16, NO. 01, 2024

Paper	Título	Autores	Primer Autor	Página
MCH028	Degradación de Rojo Congo en Agua por una Lacasa Inmovilizada a un Soporte Híbrido Fotocatalítico y Magnético	Ing. Gabriela Rangel Duarte Dra. Jazmín Méndez Hernández Dr. José Santos Cruz Dr. Miguel Ramos López Dr. José Alberto Rodríguez Morales Dr. Aldo Amaro Reyes	Rangel Duarte	3.1

# Degradación de Rojo Congo en Agua por una Lacasa Inmovilizada a un Soporte Híbrido Fotocatalítico y Magnético

Ing. Silvia Gabriela Rangel Duarte<sup>1</sup>, Dra. Jazmín Edith Méndez Hernández<sup>2</sup>, Dr. José Santos Cruz<sup>3</sup>,  
Dr. Miguel Angel Ramos López<sup>4</sup>, Dr. José Alberto Rodríguez Morales<sup>5</sup>, Dr. Aldo Amaro Reyes<sup>6</sup>

**Resumen**— Los colorantes azo, son abundantes en efluentes de la industria textil, al desecharse pueden causar problemas ambientales. Las lacasas son una alternativa eficiente para eliminarlos, y el usarla inmovilizada hace viable su aplicación industrial. En este trabajo, se evaluó la lacasa inmovilizada a un soporte de dióxido de titanio:magnetita (TD: Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) para degradar rojo Congo en agua usando luz solar y lámpara UV. Se evaluaron tres soportes TD: Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> con proporciones 1:1, 1:2 y 2:1. Se observó que el soporte de relación 2:1 fue más eficiente en la remoción de rojo Congo (400 mg L<sup>-1</sup>) comparado con los otros, logrando 100% de remoción a los 75 min con luz solar y en 8 min con lámpara UV. El soporte híbrido por sí mismo elimina eficientemente el colorante. La lacasa inmovilizada será capaz de mejorar la degradación de rojo Congo en agua comparada tanto con el material híbrido como con la lacasa libre.

**Palabras clave**— Colorantes azo, inmovilización enzimática, soporte híbrido, lacasa, rojo Congo

## Introducción

Los colorantes azo son el grupo más amplio de colorantes sintéticos aromáticos usados en la industria textil (Sreedharan y Bhaskara Rao, 2019). La descarga de estos colorantes y sus subproductos tóxicos, mutagénicos y de alta persistencia pueden conducir a serios problemas ambientales (Sun et al., 2022). Las enzimas como la lacasa son una alternativa eficiente para tratar estos efluentes. Sin embargo, su aplicación industrial es obstaculizada por la pérdida de actividad catalítica, causada por su desnaturalización debido a las condiciones de operación (Jun et al., 2019). Una manera de evitar ese problema es inmovilizar la enzima a un soporte sólido, consiguiendo aumentar la estabilidad y rendimiento, dándole la ventaja de poder reutilizarse, y haciendo viable su aplicación en la industria (Ladole et al., 2020). En años recientes, se han desarrollado materiales híbridos para la inmovilización enzimática, estos materiales combinan las características y propiedades de los materiales orgánicos e inorgánicos para maximizar sus beneficios (Zdarta et al., 2018). En el presente trabajo se determinará la degradación de rojo Congo en agua mediante el uso de lacasa inmovilizada a un soporte híbrido fotocatalítico magnético. En el presente trabajo, se evaluó la degradación de rojo Congo en agua por una lacasa inmovilizada a un soporte híbrido fotocatalítico y magnético.

## Metodología

### Síntesis del soporte

La síntesis del dióxido de titanio (TD) se obtuvo por síntesis sonquímica de acuerdo con Calvo-Ramos et al. (2020). Bajo estas condiciones, el TD se obtuvo en fase anatasa. El soporte se sintetizó usando la metodología propuesta por Díaz-Hernández et al. (2018). Se evaluaron tres relaciones de material TD:magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) que permita la mayor degradación de colorante, las relaciones fueron 1:1, 2:1 y 1:2. El rendimiento de los sólidos (% p/p) obtenidos se determinó multiplicando por 100 la relación en peso de sólidos finales con los iniciales.

<sup>1</sup> La ing. Silvia Gabriela Rangel Duarte es estudiante de posgrado en la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. [gabirand@hotmail.com](mailto:gabirand@hotmail.com)

<sup>2</sup> La Dra. Jazmín Edith Méndez Hernández es Profesora e Investigadora en el Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, CDMX. [jazminedmehe@gmail.com](mailto:jazminedmehe@gmail.com)

<sup>3</sup> Dr. José Santos Cruz es Profesor e Investigador en la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. [jsantos@uaq.edu.mx](mailto:jsantos@uaq.edu.mx)

<sup>4</sup> E Dr. Miguel Angel Ramos López es Profesor e Investigador en la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. [agromyke@yahoo.com](mailto:agromyke@yahoo.com)

<sup>5</sup> El Dr. José Alberto Rodríguez Morales es Profesor e Investigador en la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. [jose.alberto.rodriguez@uaq.mx](mailto:jose.alberto.rodriguez@uaq.mx)

<sup>6</sup> El Dr. Aldo Amaro Reyes es Profesor e Investigador en la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. [aldo.amaro@uaq.edu.mx](mailto:aldo.amaro@uaq.edu.mx) (autor correspondiente)

### *Evaluación del efecto de la radiación UV sobre el soporte en la degradación de rojo Congo*

Se evaluó el efecto de la radiación UV sobre los soportes en la degradación de rojo Congo usando una lámpara UV de 254 nm y luz solar de acuerdo con la metodología empleada por Calvo-Ramos et al. (2020).

### *Inmovilización de la enzima al soporte*

La inmovilización de la enzima en el soporte se obtuvo mediante el proceso descrito por Díaz-Hernández et al. (2018), donde se evaluaron los pH 4 a 6 para determinar su efecto en la inmovilización. Se determinó el rendimiento de inmovilización, la eficiencia de inmovilización y la recuperación de la actividad de acuerdo con Sheldon y Van Pelt (2013).

### *Medición de la actividad enzimática*

Se determinó la actividad enzimática con 2,2'-azino-bis(3-etilbenzo-tiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS) de acuerdo con la metodología de Méndez-Hernández et al. (2012). El contenido de proteína soluble se midió mediante el ensayo de Bradford (1976) con albúmina de suero bovino como estándar.

### *Efecto del pH y temperatura sobre la actividad lacasa*

Para evaluar el efecto del pH sobre la actividad de la enzima inmovilizada y la enzima libre, se usó ABTS 0.5 mM en valores de pH de 3 a 9 a temperatura ambiente ( $\approx 20$  °C). Para la enzima libre se adicionaron 150  $\mu$ L de lacasa a una concentración de 0.4 mg L<sup>-1</sup> en 150  $\mu$ L de ABTS. Posteriormente se midió la actividad por espectrofotometría a 415 nm, la absorbancia se registró cada 10 s durante 2 min. Mientras que para la enzima inmovilizada se adicionaron 16.9 mg de soporte con enzima en 25 ml de ABTS, posteriormente se midió la actividad cada 2 min durante 20 min. La evaluación de temperatura se realizó en ABTS 0.5mM, al pH establecido de acuerdo con los resultados obtenidos en la prueba anterior, y fue aquel donde se observó mayor actividad de lacasa. El rango de temperatura fue de 30 a 90 °C, y se procedió a medir por el método anteriormente descrito (Amaro-Reyes et al., 2019) (Méndez-Hernández et al., 2018).

## **Resultados**

### *Síntesis del soporte*

Para este trabajo se sintetizaron tres soportes con las relaciones de material inorgánico TD:Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> de 1:1, 1:2 y 2:1. Con estas proporciones se pretendió observar la interacción de los materiales en condiciones de igualdad y cuando se favorecía a uno sobre otro, en la degradación del colorante. La relación de material inorgánico-orgánico, TD@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>:Qitosano, fue de 2:1 para todos los soportes. Para la síntesis del soporte se siguió la metodología propuesta por Díaz-Hernández et al. (2018), la cual se modificó para hacer la incorporación del TD al soporte. A diferencia de la síntesis de Díaz-Hernández et al. (2018), en donde, se sintetiza la Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> y al mismo tiempo se incorpora el quitosano, en este trabajo los materiales se sintetizaron por separado, y se mezclaron hasta el momento de la síntesis del soporte. El rendimiento de sólidos teórico en la reacción de síntesis del soporte se obtuvo sumando los sólidos iniciales. Al finalizar la síntesis se pesaron los sólidos obtenidos y se calculó el porcentaje con respecto al rendimiento teórico. En promedio se obtuvo un rendimiento real de sólidos del 73.59%.

### *Evaluación del efecto de la radiación UV sobre el soporte en la degradación de rojo Congo*

Con la finalidad de evaluar el efecto de la radiación UV sobre los soportes sintetizados se empleó luz solar y una lámpara UV de 254 nm, con concentraciones de rojo Congo de 400 y 600 mg L<sup>-1</sup>. Los resultados obtenidos se presentan en las Figuras 1 y 2.

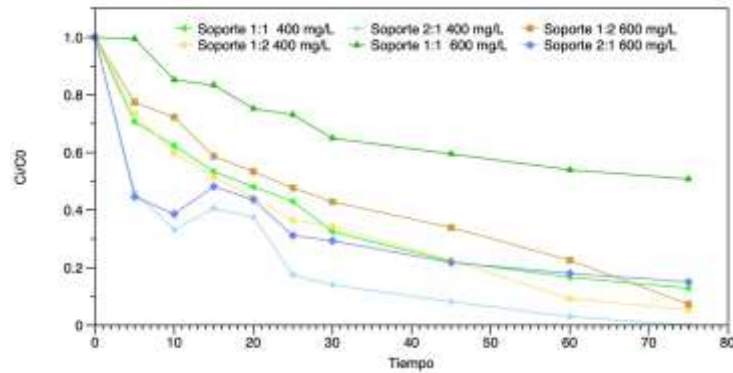


Figura 1. Evaluación del efecto de la luz solar sobre los soportes a una concentración de colorante de 400 mg L<sup>-1</sup> y 600 mg L<sup>-1</sup>. Los datos representan el análisis de medias de la repetición para n=3.

Como se observa en la Figura 1, con luz solar la mayor remoción de colorante se tuvo a la concentración de 400 mg L<sup>-1</sup>, donde a los 75 minutos de la evaluación con el soporte de relación 2:1 se obtuvo la completa eliminación del colorante, con el soporte 1:2 a los 75 min se tuvo el 96% de eliminación, mientras que el soporte 1:1 logro una eliminación del 93% a los 90 min. Para la concentración de 600 mg L<sup>-1</sup> se obtuvo una remoción de más del 80% con los soportes 2:1 y 1:2, con el soporte 1:1 se logró una remoción del 60%.

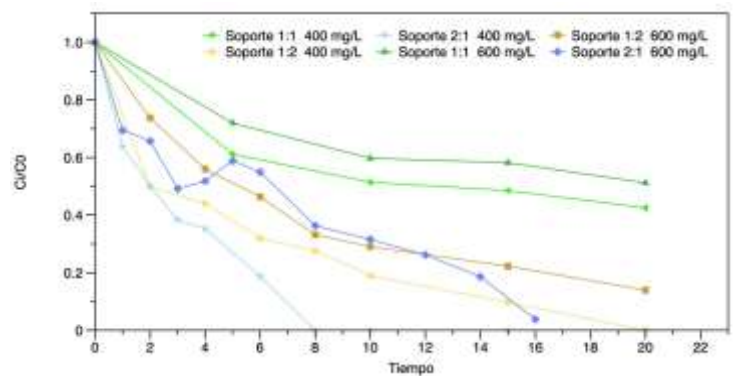


Figura 2. Evaluación del efecto de la luz UV sobre los soportes utilizando una lámpara UV de 254 nm a una concentración de colorante de 400 mg L<sup>-1</sup> y 600 mg L<sup>-1</sup>. Los soportes representan el análisis de medias de la repetición para n=3.

En la Figura 2, que corresponde al uso de una lampara UV de 254 nm, para la concentración de 400 mg L<sup>-1</sup> se logró la eliminación del colorante a los 8 minutos con el soporte de relación 2:1, y a los 20 minutos con el soporte de relación 1:2, mientras que con el soporte 1:1 solo se logró cerca del 50% de remoción en 25 minutos. Para la concentración de 600 mg L<sup>-1</sup> se obtuvo una remoción de más del 90% con el soporte 2:1 en 16 minutos, con el soporte 1:2 se consiguió una remoción de más del 80% en 20 minutos, y el soporte 1:1 logro poco más del 40% en 25 minutos.

De lo anterior podemos inferir que el soporte de relación 2:1 presenta una remoción más eficiente del colorante en agua con respecto a los otros dos soportes. Y que el uso de la lampara UV incrementa la rapidez de eliminación del colorante al compararlo con la luz solar. Con los datos obtenidos se calculó el tiempo de degradación media del colorante de acuerdo con la Ecuación 4:

$$\text{Tiempo de degradación media} = \frac{\ln \frac{1}{2}}{K} \quad (4)$$

Donde K corresponde a la pendiente que se obtiene al graficar el logaritmo natural de la concentración inicial entre la concentración en el tiempo i, contra el tiempo. En la Figura 3 se presenta el tiempo de degradación media del colorante por los soportes.

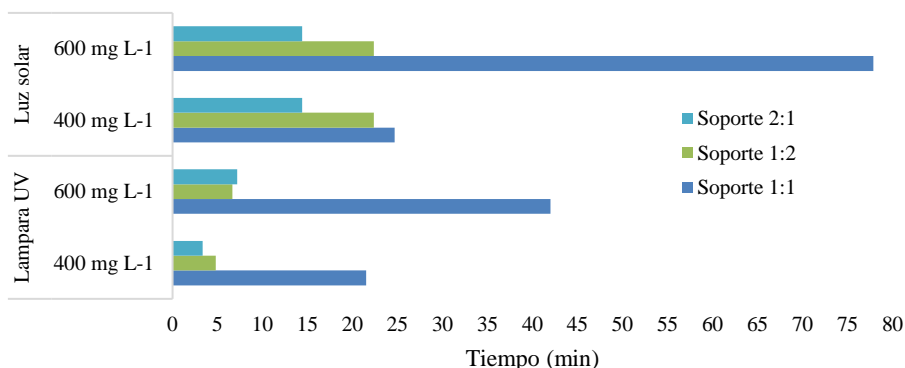


Figura 3. Tiempo de degradación media del rojo Congo obtenido con cada tipo de soporte al evaluar con luz solar y lámpara UV de 254 nm

El tiempo de degradación media indica cuanto tiempo requiere el soporte para degradar la mitad de la concentración del colorante en la solución. Como se observa en la Fig. 3 el soporte 2:1 es el que lo consigue en menor tiempo, después le sigue el soporte 1:2, y finalmente el soporte 1:1.

#### Inmovilización de la enzima al soporte

El efecto del pH en el entrecruzamiento de la enzima con el soporte se evaluó a valores de pH de 4, 5 y 6 usando una solución tampón de citrato-fosfato. Esto con la intención de seleccionar el pH al cual las condiciones de inmovilización fueran las más adecuadas para la lacasa. Se midió la actividad de la enzima inmovilizada y libre por espectroscopia usando ABTS como sustrato, se tomó muestra cada 2 min durante 20 min para la enzima inmovilizada y cada 10 s durante 2 min para la enzima libre. El rendimiento de inmovilización, la eficiencia de inmovilización y la recuperación de la actividad se calcularon siguiendo el método de Sheldon y Van Pelt (2013) y se muestran en la tabla 4.

	pH 4	pH 5	pH 6
<b>Actividad inmovilizada</b>	0.02	0.05	0.04
<b>Rendimiento de inmovilización %</b>	75.66	175.94	152.19
<b>Eficiencia de inmovilización %</b>	17.40	8.50	10.48
<b>Recuperación de la Actividad %</b>	13.16	14.96	15.96

Tabla 1. Evaluación de la actividad, rendimiento y eficiencia de inmovilización, y recuperación de actividad de la lacasa inmovilizada a diferentes valores de pH.

Los parámetros calculados tiene la intención de indicar qué tan exitosa fue la inmovilización de la enzima al soporte, en la tabla 4 se observa que estos parámetros son muy similares entre las 3 condiciones evaluadas. Al aplicar el análisis ANOVA no se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Sin embargo, se puede observar que a pH 5 existe mayor actividad inmovilizada y rendimiento de inmovilización comparado con los otros valores. A este pH de inmovilización se obtuvieron valores de actividad enzimática más consistentes y reproducibles al compararlo con los otros valores evaluados. Debido a lo antes mencionado se seleccionó el valor de pH 5 para realizar la inmovilización de la enzima al soporte.

#### Efecto del pH y temperatura sobre la actividad lacasa

Con la intención de evaluar si al inmovilizar la lacasa al soporte esta adquiría mayor estabilidad al compararla con la enzima libre se evaluó su actividad a diferentes valores de pH y temperatura. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 5 y 6

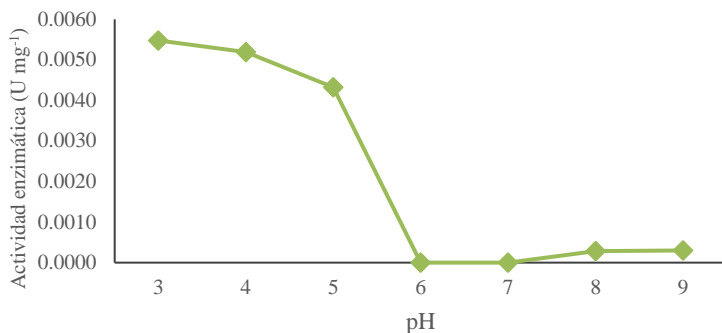


Figura 5. Efecto del pH sobre la actividad enzimática de la lacasa inmovilizada. Los datos representan el análisis de medias de la repetición para n=3.

Como se puede observar en la figura 5 la enzima inmovilizada tiene actividad en los valores de pH 3 al 5. Estos valores se eligieron para medir el efecto de la temperatura sobre la enzima inmovilizada

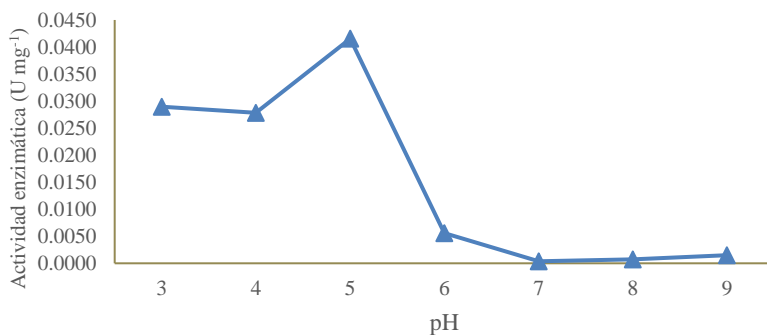


Figura 6. Efecto del pH sobre la actividad enzimática de la lacasa libre. Los datos representan el análisis de medias de la repetición para n=3.

En la figura 6 se puede apreciar la actividad de la enzima libre, la cual tiene la mejor actividad en el pH 5. Este valor será utilizado para evaluar el efecto de la temperatura sobre la e lacasa libre.

### Análisis

#### *Evaluación del efecto de la radiación UV sobre el soporte en la degradación de rojo Congo*

El soporte de relación 2:1 demostró ser más eficiente para degradar el colorante en agua, comparado con las otras relaciones evaluadas, esto se puede atribuir a que al tener mayor cantidad de TD su actividad fotocatalítica al incidirle luz es mayor comparada con los otros soportes y por lo tanto su capacidad para degradar el contaminante aumenta. Lo cual concuerda con resultados obtenidos por Shi, Zhang, Ma, Xiang, y Li (2019), donde evaluaron un soporte de microesferas de quitosano con TiO<sub>2</sub>, y observaron que la remoción bajo luz visible de anaranjado de metilo fue aumentando conforme lo hacia el porcentaje de TiO<sub>2</sub> en el soporte hasta llegar a un máximo de 3%. Sorprendentemente, en comparación con el trabajo antes citado, en donde usaron una concentración de colorante de 40 mg L<sup>-1</sup> y lograron una remoción del 98% en 120 min, el soporte generado en este trabajo degradó el 100% del colorante en 75 min (luz solar) al ser evaluado con una concentración de 400 mg L<sup>-1</sup>, es decir, una concentración 10 veces mayor. Por otra parte, en el trabajo de Badvi y Javanbakht (2021), donde evalúan la degradación de azul de metileno usando TiO<sub>2</sub> inmovilizado en nanopartículas de zeolita (ZSM-5) con níquel, en sus resultados obtenidos usando luz UV consiguen la remoción del 99% de azul de metileno (1000 mg L<sup>-1</sup>) en 120 min, al comparar con el soporte 2:1 usando luz UV se consigue el 100% de degradación para el colorante rojo Congo a los 8 min a una concentración de 400 mg L<sup>-1</sup>, aquí vale la pena destacar el tiempo del experimento. Para Badvi y Javanbakht (2021) les toma 15 veces más tiempo y apenas degradan 2.5 veces más concentración de colorante.

## Conclusiones

El soporte híbrido con características fotocatalíticas y magnéticas mostró por sí mismo ser una alternativa viable para la remoción del colorante azo rojo Congo en agua, consiguiendo 100% de remoción del contaminante solo con luz solar en 75 min. Y posiblemente pueda ser empleado para el tratamiento de aguas con colorante tipo azo. La unión de la enzima con el soporte se espera favorezca la estabilidad de esta durante el proceso de tratamiento de agua, y permitirá el reuso del sistema. Además de que la incorporación de la enzima al soporte incrementará la remoción del rojo Congo. Los resultados obtenidos hasta el momento indican que el soporte híbrido puede emplearse en la remoción de colorantes azo en agua.

## Referencias

- Amaro-Reyes, A., Díaz-Hernández, A., Gracida, J., García-Almendárez, B. E., Escamilla-García, M., Arredondo-Ochoa, T., y Regalado, C. (2019). Enhanced performance of immobilized xylanase/filter paper-ASE on a magnetic chitosan support. *Catalysts*, 9(11), 966. doi:10.3390/catal9110966
- Badvi, K., & Javanbakht, V. (2021). Enhanced photocatalytic degradation of dye contaminants with TiO<sub>2</sub> immobilized on ZSM-5 zeolite modified with nickel nanoparticles. *Journal of Cleaner Production*, 280, 124518. doi:10.1016/j.jclepro.2020.124518
- Calvo-Ramos, D. K., Vega-González, M., Esparza-Muñoz, R. A., Santos-Cruz, J., De Moure-Flores, F. J., y Mayén-Hernández, S. A. (2020). Obtaining and characterization of tio<sub>2</sub>-go composites for photocatalytic applications. *International Journal of Photoenergy*, 2020, 1-9. doi:10.1155/2020/3489218
- Díaz-Hernández, A., Gracida, J., García-Almendárez, B. E., Regalado, C., Núñez, R., y Amaro-Reyes, A. (2018). Characterization of magnetic nanoparticles coated with chitosan: A potential approach for enzyme immobilization. *Journal of Nanomaterials*, 2018, 1-11. doi:10.1155/2018/9468574
- Jun, L. Y., Yon, L. S., Mubarak, N., Bing, C. H., Pan, S., Danquah, M. K., Abdullah, E.C., y Khalid, M. (2019). An overview of immobilized enzyme technologies for dye and phenolic removal from wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(2), 102961. doi:10.1016/j.jece.2019.102961
- Ladole, M. R., Pokale, P. B., Patil, S. S., Belokar, P. G., y Pandit, A. B. (2020). Laccase immobilized peroxidase mimicking magnetic metal organic frameworks for industrial dye degradation. *Bioresource Technology*, 317, 124035. doi:10.1016/j.biortech.2020.124035
- Méndez-Hernández, J. E., Ramírez-Vives, F., Solís-Oba, M., Solís-Oba, A., Sobrino-Figueroa, A. S., y Loera, O. (2012). Detoxification and mineralization of Acid Blue 74: Study of an alternative secondary treatment to improve the enzymatic decolorization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(5), 805-814. doi:10.1007/s11274-012-1235-7
- Sheldon, R. A., y van Pelt, S. (2013). Enzyme immobilisation in biocatalysis: Why, what, and how. *Chem. Soc. Rev.*, 42(15), 6223–6235. doi:10.1039/c3cs60075k
- Shi, X., Zhang, X., Ma, L., Xiang, C., & Li, L. (2019). Tio<sub>2</sub>-doped chitosan microspheres supported on cellulose acetate fibers for adsorption and photocatalytic degradation of methyl orange. *Polymers*, 11(8), 1293. doi:10.3390/polym11081293
- Sreedharan, V., y Bhaskara Rao, K. V. (2019). Biodegradation of textile azo dyes. *Nanoscience and Biotechnology for Environmental Applications*, 22, 115-139. doi:10.1007/978-3-319-97922-9\_5
- Sun, L., Mo, Y., y Zhang, L. (2022). A mini review on bio-electrochemical systems for the treatment of azo dye wastewater: State-of-the-art and prospects. *Chemosphere*, 294, 133801. doi:10.1016/j.chemosphere.2022.133801
- Zdarta, J., Meyer, A., Jesionowski, T., y Pinelo, M. (2018). A general overview of support materials for enzyme immobilization: Characteristics, properties, practical utility. *Catalysts*, 8(2), 92. doi:10.3390/catal8020092