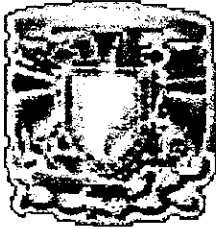


00551



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DEL SULFATO EN LA BIODEGRADACIÓN
ANAEROBIA DE ACETATO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS
(BIOQUÍMICA)**

P R E S E N T A

MARÍA DE LOURDES BERENICE CELIS GARCÍA

MÉXICO, D.F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Efecto del sulfato en la biodegradación anaerobia de acetato

Comité tutorial:

Directora: Dra. Ing. Ma. del Carmen Durán de Bazúa

Asesor: Dr. Ilangovan Kuppussamy

Asesor: Dr. Oscar Monroy Hermosillo

Jurado:

Presidente: Dra. Amelia Farrés González-Saravia

Vocal: Dra. Susana Saval Bohórquez

Secretario: Dr. Oscar Monroy Hermosillo

Suplente: Dr. Germán Buitrón Méndez

Suplente: Dr. Arturo Navarro Ocaña

Este trabajo fue realizado en las instalaciones del Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental (PIQAYQA) de la Facultad de Química, conjunto "E" y con el apoyo de la beca-crédito otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

A Ruth y Juan José

A Graciela

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE TABLAS	i
NOMENCLATURA	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Problemática	1
1.2 Objetivo e hipótesis	5
2. FUNDAMENTACIÓN	6
2.1 Degradación anaerobia bajo condiciones metanógenas	6
2.2 Degradación anaerobia bajo condiciones de sulfatorreducción	8
2.3 Toxicidad del sulfuro de hidrógeno	11
2.4 Competencia entre las bacterias sulfatorreductoras y bacterias metanógenas	15
2.4.1 Competencia por acetato	16
2.4.1.1 Afinidad por acetato	17
2.4.1.2 Efecto de la temperatura	19
2.4.1.3 Concentración de sulfato	19
2.4.1.4 Propiedades de inmovilización de las bacterias	20
2.4.1.5 Tipo de inóculo y duración del experimento	20
2.4.1.6 Valor de pH	21
2.5 Comparación de las propiedades del CH ₄ y del H ₂ S	21
2.6 Aspectos tecnológicos del tratamiento anaerobio de aguas	22
2.6.1 Remoción de la materia orgánica solamente	23
2.6.2 Remoción de la materia orgánica en presencia de sulfatorreducción	23
2.6.3 Remoción de compuestos azufrados	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	26
3.1 Reactor UASB	26
3.2 Determinación de la actividad metanógena específica	28
3.3 Determinación de la actividad sulfatorreductora específica	28
3.4 Métodos analíticos	29
3.4.1 Alcalinidad	29
3.4.2 Sólidos suspendidos volátiles	32
3.4.3 Determinación de metano	33
3.4.4 Determinación de sulfato	33
3.4.5 Demanda química de oxígeno	34
3.4.6 Determinación de H ₂ S gaseoso	35

3.5	Cálculos	35
3.5.1	Porcentaje de DQO usada por las bacterias metanógenas y sulfatorreductoras	35
3.5.2	Cálculo de las actividades metanógena y sulfatorreductora	37
3.5.3	Cálculo del porcentaje de HS ⁻ presente en el medio	38
3.5.4	Cálculo del sulfuro total en el líquido	39
3.5.5	Cálculo de la DQO equivalente para el metano	39
3.5.6	Cálculo de la DQO equivalente para el acetato de sodio	39
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1	Operación del reactor	41
4.2	Evolución del pH y de la alcalinidad	42
4.3	Remoción de DQO y producción de metano	47
4.4	Remoción de sulfato	53
4.5	Porcentaje de DQO utilizada por las BM y las BSR	59
4.6	Actividades metanógena y sulfatorreductora	62
5	CONCLUSIONES	67
6	RECOMENDACIONES	68
	BIBLIOGRAFÍA	69
	ANEXO A MEMORIAS DE CÁLCULO	
A.1	Hoja de cálculo para el porcentaje de remoción de DQO	73
A.2	Hoja de cálculo para alcalinidad y alfa	75
A.3	Hoja de cálculo para remoción de sulfatos	79
A.4	Hoja de cálculo para la conversión de DQO por las BSR y las BM	80
A.5	Hoja de cálculo para la producción de metano	83

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página	
Figura 2.1	Etapas de la degradación anaerobia	7
Figura 3.1	Diagrama del reactor UASB y sistema para medir biogás	27
Figura 4.1	Evolución del pH en el reactor	42
Figura 4.2	Porcentaje de HS^- en el líquido	44
Figura 4.3	Evolución de la alcalinidad y del factor alfa en el reactor	46
Figura 4.4	Eficiencia de remoción de DQO con respecto al tiempo	48
Figura 4.5	Carga orgánica volumétrica y velocidad de remoción de DQO	49
Figura 4.6	Carga orgánica volumétrica y velocidad de remoción de DQO con respecto a las diferentes relaciones $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$	50
Figura 4.7	Producción de metano a diversas relaciones de $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$	52
Figura 4.8	Concentración de sulfato en el influente, en el efluente y porcentaje promedio de remoción de sulfato	54
Figura 4.9	Porcentaje de DQO usada por las BM y las BSR	59
Figura 4.10	Actividad metanogénica específica y actividad sulfatorreductora específica	64
Figura 4.11	Porcentaje de DQO utilizada por las BM y las BSR vs. $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$	65

ÍNDICE DE TABLAS

	Página	
Tabla 2.1	Concentraciones (mg/L) de sulfuro no ionizado (H_2S) y sulfuro total (ST) que causan 50% de inhibición de la metanogénesis, sulfatorreducción o degradación de sustratos específicos	13
Tabla 2.2	Factores que influyen en la competencia entre las BM y BSR	16
Tabla 2.3	Cambios de energía libre estándar para las reacciones metanogénicas y de reducción de sulfato	17
Tabla 2.4	Datos cinéticos y de crecimiento de las BM acetotróficas y las BSR acetotróficas	18
Tabla 3.1	Composición del medio basal de alimentación	27
Tabla 3.2	Composición del medio basal para determinar las actividades metanogénica y sulfatorreductora	29
Tabla 4.1	Etapas de operación del reactor	41
Tabla 4.2	Concentración de H_2S , HS^- y ST para las etapas $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 1.25 y 0.625	57
Tabla 4.3	Actividad metanogénica específica	62
Tabla 4.4	Actividad sulfatorreductora específica	63
Tabla 4.5	Concentraciones de H_2S disuelto, HS^- y H_2S total para la actividad sulfatorreductora	64

NOMENCLATURA

BM	Bacterias metanógenas
BSR	Bacterias sulfatorreductoras
CH ₄	Metano
DQO	Demanda química de oxígeno
H ₂ S	Ácido sulfhídrico
HS ⁻	Sulfuro
ST	Sulfuro total
SO ₄ ²⁻	Sulfatos
DQO/SO ₄ ²⁻	Relación entre demanda química de oxígeno y sulfatos
Reactor UASB	Reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (upflow anaerobic sludge blanket)

)

RESUMEN

Las aguas residuales ricas en sulfato son generadas por muchos procesos industriales que usan grandes cantidades de ácido sulfúrico o de sulfato. Un grave problema para el tratamiento anaerobio de las aguas residuales ricas en sulfato es la producción de ácido sulfhídrico (H_2S). Este compuesto es generado por las bacterias sulfatorreductoras (BSR). Al producirse H_2S en el sistema anaerobio pueden surgir problemas como la corrosión en las tuberías, los motores y en los calentadores del sistema, mal olor y, sobre todo, inhibición de las bacterias anaerobias. Esto provoca baja producción de metano y ocasiona un efecto negativo en el balance de energía del sistema, y en consecuencia disminuye los beneficios que tiene el tratamiento anaerobio sobre el tratamiento aerobio. Hasta qué punto predomina la sulfatorreducción sobre la metanogénesis depende de la relación del contenido de materia orgánica medida como demanda química de oxígeno sobre el sulfato (DQO/SO_4^{2-}) y también del tipo de sustrato orgánico. Si el sustrato es acetato, las propiedades cinéticas y termodinámicas de las bacterias sulfatorreductoras acetotróficas (BSR) y de las bacterias metanógenas (BM) que utilizan acetato juegan un papel en la competencia entre estos grupos. En el presente trabajo el objetivo fue: (1) Estudiar el efecto de la concentración de sulfato en la competencia por acetato entre las BSR y las BM. Los experimentos se realizaron en un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés), de 2.4 litros de volumen de trabajo y la temperatura de operación fue de $30^\circ C$. El reactor se alimentó con agua sintética que consistía de un medio mineral, acetato de sodio como fuente de carbono y se adicionó sulfato de sodio como fuente de sulfato. La demanda química de oxígeno se fijó en 2000 mg/L. Las diferentes relaciones DQO/SO_4^{2-} a las que el reactor fue sometido fueron 10, 5, 2.5, 1.25 y 0.625. Para alcanzar dichas relaciones se varió la concentración de sulfato de sodio en la alimentación sin modificar la concentración de acetato de sodio. El inóculo fue lodo obtenido de un reactor anaerobio que trata agua residual de un proceso cervecero. La actividad metanógena inicial del lodo fue de 0.5430 gDQO- CH_4 /día g SSV y no presentaba actividad sulfatorreductora. El reactor fue operado por un periodo de 300 días. En los primeros 3 meses el reactor se aclimató al sulfato mediante el aumento gradual de la concentración del mismo hasta llegar a la relación de DQO/SO_4^{2-} de 10. Las bacterias metanógenas fueron las que predominaron sobre las bacterias sulfatorreductoras durante las diferentes etapas del experimento, presentando porcentajes de remoción de DQO de 95.6, 90.0, 89.9, 87.3 y 86.1% para las etapas de DQO/SO_4^{2-} de 10, 5, 2.5, 1.25 y 0.625 respectivamente. No hubo un dominio de las bacterias sulfatorreductoras aún teniendo una alta concentración de sulfato en el medio (3200 mg/L en la última etapa). Al final del experimento, el lodo presentó una actividad sulfatorreductora de 0.1786 gDQO- H_2S /gSSV día y la actividad metanógena fue de 0.4836 gDQO- CH_4 /gSSV día lo que significó una reducción del 11% con respecto a la actividad metanógena inicial. La concentración de sulfato utilizada en la última etapa del experimento ($DQO/SO_4^{2-} = 0.625$) fue de 3200 mg/L y ésta no resultó ser inhibitoria para las bacterias, puesto que todavía se llevó a cabo la remoción de DQO y su respectiva conversión.

ABSTRACT

Sulfate-rich wastewaters are generated by many industrial processes that use sulfuric acid or sulfate-rich feedstocks. A major problem for the anaerobic treatment of sulfate-rich wastewaters is the production of H_2S . This compound is generated by sulfate-reducing bacteria (SRB). Problems may arise from H_2S production in any anaerobic system, such as corrosion in the piping engines and boilers of the system, bad odor, inhibition of anaerobic bacteria and low methane production bringing a negative effect on the energy balance of the system and decreasing the benefits over the aerobic methods. To what extent sulfate reduction predominates over methanogenesis, depends on the content of dissolved organic matter measured as chemical oxygen demand to sulfate ratio (COD/SO_4^{2-}) of the wastewater and the type of organic substrate as well. If the organic substrate is acetate, the kinetic and thermodynamic properties of the sulfate reducing bacteria (SRB) and the methanogenic bacteria play a role in the competence between these two groups. In the present work the objective was: (1) To study the effect of sulfate concentration in the competence for acetate between SRB and MB. The experiments were performed in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor of 2.4 liters of working volume. The operation temperature was $30^\circ C$. The reactor was fed with a basal medium solution, using sodium acetate as the carbon source. The sulfate was added as sodium sulfate. The COD was fixed at a concentration of 2000 mg COD/L. The different COD/sulfate working ratios were 10, 5, 2.5, 1.25 and 0.625. To obtain these ratios, the feeding amount of sodium sulfate was modified while the acetate concentration was the same. The reactor was seeded with sludge obtained from a reactor treating brewery wastewaters. The sludge had a methanogenic activity of 0.5430 gCOD- CH_4 /day gVSS and there was not sulfidogenic activity detected. The reactor was operated for a 300-day period. In the first 3 months the amount of sodium sulfate was gradually increased to allow the acclimatation of the reactor up to the working COD/SO_4^{2-} ratio of 10. During the steps of the experiment methanogenic bacteria were the group that predominated. The COD percentages removed were 95.6, 90.0, 89.9, 87.3 and 86.1% for the 10, 5, 2.5, 1.25 and 0.625 COD/SO_4^{2-} ratios respectively. There was not a predominance of sulfate-reducing bacteria over methanogens, even at a high concentration of sulfate in the media (3200 mg/L in the last step). At the end of the experiment the sludge had a sulfidogenic activity of 0.1786 g COD- H_2S /g VSS day, and a methanogenic activity of 0.4836 g COD- CH_4 /g VSS day, which meant an 11% reduction compared with the methanogenic activity at the beginning of the experiment. The concentration of sulphate used in the last period of the experiment ($COD/SO_4^{2-} = 0.625$) was 3200 mg/L and was apparently still not fully inhibitory for the bacteria, since COD removal still occurred along with its conversion to methane.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Problemática

Con el creciente desarrollo industrial y urbano, el impacto de las actividades del hombre en los ciclos naturales se ha vuelto importante. De igual forma, la necesidad de manejar adecuadamente los desechos generados por el hombre y mantener en equilibrio dichos ciclos adquiere importancia día con día. El ciclo del agua, el más importante para la vida, es uno de los más afectados por el hombre. El tratamiento de aguas residuales es un proceso por el cual se trata de mantener este ciclo en equilibrio.

Los procesos biológicos tienen una gran aplicación en el tratamiento de las aguas residuales pues resultan ser más económicos que los físicos o químicos. Los métodos aerobios se usan ampliamente para la remoción o conversión de contaminantes orgánicos que demandan oxígeno y compuestos con azufre o nitrógeno.

Antes de la década de los setenta, el tratamiento anaerobio de aguas residuales no era considerado como una alternativa factible y atractiva al tratamiento aerobio. Hasta entonces los procesos anaerobios se usaban casi exclusivamente para la digestión de residuos sanitarios y residuos de ganado. El proceso anaerobio se consideraba muy inestable y sensible para el tratamiento de aguas residuales y, debido a la baja tasa de crecimiento de las bacterias anaerobias, se creía que no sería aplicable para altas cargas orgánicas. Sin embargo, durante las últimas décadas, el interés en la aplicación del tratamiento anaerobio a gran escala ha aumentado rápidamente. Este interés se debió, por un lado, al incremento en los costos de la energía y por otro, a la legislación cada vez más estricta para las descargas de aguas residuales industriales.

Contrario a los sistemas de tratamiento anaerobio, los sistemas de tratamiento aerobio necesitan una gran cantidad de energía para mantener el sistema aireado y, además, se producen grandes cantidades de lodos residuales durante el proceso de purificación. La aplicación de los sistemas anaerobios de tratamiento de aguas residuales aumentó con el desarrollo de nuevos tipos de reactores anaerobios con una alta retención de biomasa, como el proceso de contacto anaerobio, el filtro anaerobio, el reactor de lecho fluidificado y el de lecho de lodos de flujo ascendente (UASB, por sus siglas en inglés). En estos sistemas, el tiempo de retención de los sólidos está desacoplado del tiempo de residencia del líquido, por

lo que se mantiene una alta concentración de biomasa en el reactor. El sistema anaerobio que se utiliza más ampliamente es el reactor UASB, un sistema desarrollado en Holanda por Lettinga y colaboradores (1980). La operación exitosa bajo estas condiciones requiere de biomasa activa con una buena capacidad de sedimentación (Thaveesri et al., 1990)

En los reactores UASB, la biomasa es retenida en forma de agregados, llamados gránulos, formados por la autoinmovilización de las bacterias. La retención de la biomasa activa dentro del sistema permite un buen desarrollo del proceso de tratamiento a altas cargas orgánicas y la turbulencia natural causada por el influente y la producción de biogás promueve un buen contacto de la biomasa con el agua residual.

El tratamiento anaerobio se desarrolló inicialmente para el tratamiento de aguas residuales domésticas y de la industria alimentaria. Sin embargo, conforme la tecnología se ha ido mejorando, se ha puesto atención en la aplicación a otros tipos de aguas residuales. El efecto de los diferentes constituyentes de las aguas residuales industriales como aldehídos, metales pesados, hidrocarburos halogenados, hidrocarburos aromáticos, ácidos grasos de cadena larga, compuestos azufrados y constituyentes de madera, han recibido mucha atención por parte de los investigadores. Parece ser que frecuentemente muchos de los compuestos tóxicos regulan la aplicabilidad del tratamiento anaerobio.

En muchos casos, las bacterias anaerobias pueden tolerar altas concentraciones de dichos compuestos tóxicos o pueden adaptarse a las concentraciones tóxicas. Además, los compuestos tóxicos pueden ser transformados por las bacterias en otros de menor toxicidad y, para ciertos compuestos, las condiciones ambientales (p.ej., pH) pueden minimizar el efecto inhibitorio.

La reducción microbiana de sulfatos (SO_4^-) o sulfitos (SO_3^-) representa un gran problema en el tratamiento anaerobio de aguas residuales con un alto contenido de estos aniones. Algunos efluentes industriales cuyo tratamiento anaerobio se considera económicamente atractivo, tienen un alto contenido de sulfatos, sulfitos u otros compuestos azufrados oxidados. Las aguas residuales municipales y de las fábricas procesadoras de papa tienen un contenido de 50 a 200 mg/L de sulfatos y son tratadas satisfactoriamente en reactores UASB. Sin embargo pueden surgir problemas cuando el agua residual tratada contiene una alta concentración de sulfatos o sulfitos.

Existen otros efluentes, como los que se originan en la industria de la fermentación, en donde la principal fuente de contaminación por sulfato es el uso de ácido sulfúrico para controlar el pH.

El H_2SO_4 es relativamente económico y puede estar concentrado hasta en un 96%. Además, muchos productos de fermentación (p.ej., ácidos orgánicos como el ácido cítrico y el ácido tartárico) se recuperan precipitándolos con sulfato de calcio. Aunado a esto, los compuestos azufrados se usan para blanquear (dióxido de azufre en la fabricación de azúcar) o como captadores de oxígeno para prevenir la coloración del producto como es el caso del sulfito en la producción de almidón (Lens et al., 1998).

La melaza, un subproducto de la industria del azúcar, se usa como sustrato para muchas fermentaciones, como en la producción de ácido cítrico o la producción de alcohol etílico. Las aguas residuales de la producción de ácido cítrico usando melazas de remolacha contienen 30 g/L de demanda química de oxígeno (DQO) y de 2.5 a 4.5 g/L de sulfato (Svardal et al., 1993). Las aguas residuales que se originan en la producción de etanol a partir de las melazas de caña tienen una DQO y concentración de sulfato en promedio de 50.6 y 2.9 g/L, respectivamente (Carrondo et al., 1983). Las aguas residuales provenientes de destilerías en la producción de vino tienen concentraciones de 17g/L de DQO y de 1 a 4 g/L de sulfato (Ehlinger et al., 1992).

Las más altas concentraciones de sulfato presente en las aguas residuales se encuentran en las corrientes de desecho de las fábricas productoras de aceite comestible. El ácido sulfúrico se usa para recuperar los ácidos grasos volátiles de una agua de proceso muy alcalina. Estas "aguas ácidas" contienen hasta 50g/L de sulfato e insuficiente materia orgánica para alcanzar una sulfatorreducción completa (Hoeks et al., 1984).

Durante el tratamiento anaerobio de estas aguas, además de la generación de metano, también tendrá lugar la reducción de los sulfatos a sulfuro de hidrógeno (H_2S), como un segundo paso en el proceso de la mineralización anaerobia. La reducción de los sulfatos tiene varias desventajas:

- Las bacterias metanógenas y sulfatorreductoras competirán por los sustratos, pues una parte de los compuestos orgánicos serán usados para la reducción de los sulfatos y no

estarán disponibles para la generación de metano, dando como resultado un decremento en la producción del mismo lo que afecta negativamente el balance total de energía del proceso. Además la calidad del biogás se ve reducida, pues una parte del H₂S producido termina como H₂S en el biogas, por lo que tendrá que ser removido del biogas.

- El sulfuro producido causará problemas de corrosión de motores y calentadores, además de los ductos de transportación de los gases. Por lo que se incrementarán los costos de mantenimiento del sistema.
- El sulfuro de hidrógeno es tóxico y puede inhibir varios tipos de bacterias anaerobias, incluyendo las metanógenas, acetogénicas y las sulfatorreductoras afectando la eficiencia del proceso, lo cual puede llevar a una falla total del mismo.
- En el efluente también habrá cierta cantidad de sulfuro de hidrógeno que causará mal olor y dará como resultado una baja eficiencia de purificación, pues el sulfuro necesitará de cierta cantidad de oxígeno para su estabilización y afectará la capacidad de demanda química de oxígeno del cuerpo receptor en el que el efluente del reactor anaerobio sea descargado. Esto hace necesario un post-tratamiento del efluente para la remoción del sulfuro.

También existen ventajas:

- La reducción de sulfatos puede usarse junto con técnicas de remoción de sulfuros como un método biotecnológico para la remoción de sulfatos (Buisman et al., 1990).
- Los sulfuros metálicos tienen muy baja solubilidad, una propiedad que puede aprovecharse para precipitar metales pesados tóxicos como Co, Ni, Pb y Zn. La precipitación de estos sulfuros metálicos puede reducir los problemas potenciales de toxicidad causados por metales pesados en el proceso anaerobio.
- Los problemas causados en las aguas residuales que contienen sulfitos pueden evitarse por medio de la reducción de los sulfito a sulfuros (Ney et al., 1990).

1.2 OBJETIVO E HIPÓTESIS

Objetivo

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la concentración de sulfato en la degradación anaerobia de acetato en un reactor metanogénico tipo UASB y en la competencia que se genera por acetato entre las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas.

Hipótesis

La materia orgánica puede convertirse a metano aún a una relación de demanda química de oxígeno (DQO) a sulfato ($\text{SO}_4^{=}$) menor a 10, en donde se tendrían concentraciones de H_2S disuelto mayores que la concentración crítica para llevar a cabo un proceso metanogénico estable. La conversión de los sustratos orgánicos a H_2S y CO_2 se llevará a cabo completamente a una relación DQO/ SO_4 menor a 0.67.

2 FUNDAMENTACIÓN

2.1 Degradación anaerobia bajo condiciones metanógenas

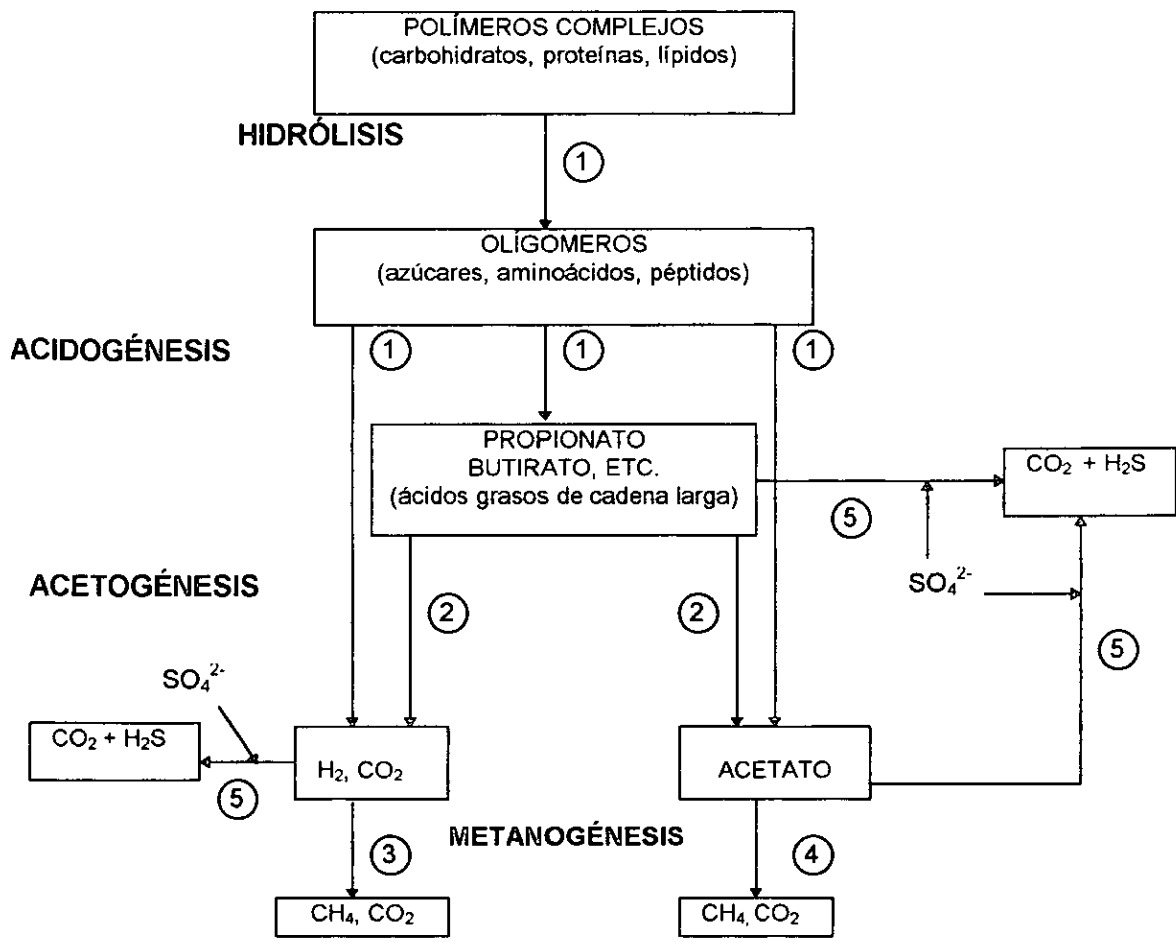
En los reactores metanogénicos la degradación de la materia orgánica a metano y dióxido de carbono se lleva a cabo en varias etapas y por medio de varias vías metabólicas, a través de las cuales la materia orgánica compleja se degrada a dióxido de carbono y metano como productos finales.

En la figura 2.1 se ilustra este proceso y, en general, pueden distinguirse 4 etapas:

1. **Hidrólisis.** Los polímeros como carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos son hidrolizados por bacteria anaerobias fermentativas, en monómeros y oligómeros, como azúcares, aminoácidos, péptidos, polioles y ácidos grasos de cadena larga.
2. **Acidogénesis.** Los productos de la hidrólisis son fermentados y se convierten en ácidos grasos volátiles, hidrógeno, dióxido de carbono, pequeñas cantidades de etanol y ácido láctico.
3. **Acetogénesis.** La oxidación de los ácidos grasos volátiles que se formaron en la acidogénesis genera acetato, hidrógeno y dependiendo de la longitud de la cadena de los ácidos grasos también a dióxido de carbono.
4. **Metanogénesis.** El metano se forma a partir de la descarboxilación del acetato por bacterias metanógenas acetotróficas (BMA) o por la hidrogenación del dióxido de carbono llevada a cabo por las bacterias metanógenas hidrogenotróficas (BMH).

En la figura 2.1 también se muestran las diferentes bacterias que intervienen en la degradación anaerobia.

Cuando el sulfato se encuentra presente en el medio ocurre la sulfatorreducción, generando H_2S y CO_2 como productos finales a partir de los ácidos grasos de cadena larga, acetato e hidrógeno.



1. Bacterias anaerobias fermentativas
2. Bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno
3. Bacterias metanógenas productoras de hidrógeno
4. Bacterias metanógenas acetotróficas
5. Bacterias sulfatorreductoras

Figura 2.1 Etapas de la degradación anaerobia (Ferry, 1993)

Se sabe que los ácidos grasos volátiles son intermediarios importantes en la degradación anaerobia de la materia orgánica bajo condiciones metanógenas. Los intermediarios más importantes en el proceso de digestión son acetato, propionato y butirato; cerca del 70% de los equivalentes reductores formados durante el proceso se transfieren por medio del acetato a metano. La importancia del propionato y butirato depende del tipo de digestor y de la

naturaleza de los compuestos orgánicos. La completa oxidación del propionato y butirato puede representar del 20 al 30% del metano formado (Oude-Elferink et al., 1994).

En general, deben existir interacciones balanceadas entre los grupos microbianos en el digestor para una operación eficiente. Si no existe una "coordinación" entre los consumidores de ácido y los productores de éstos, puede provocarse una reducción en el pH, que ocasiona toxicidad por los ácidos grasos no ionizados (Zinder, 1993).

Las bacterias metanógenas (BM) pueden utilizar un pequeño número de compuestos simples, la mayoría de los cuales contienen un solo átomo de carbono y muchas de estas bacterias usan solo uno o dos sustratos. El acetato es el producto final de muchas rutas fermentativas y como se mencionó es el precursor más importante de metano en los digestores. Se ha encontrado que solo dos géneros de organismos metanogénicos son capaces de usar el acetato: *Methanosarcina* y *Methanotherix*.

De estas dos bacterias metanógenas acetotróficas, *Methanosarcina* también puede usar otros sustratos, teniendo la capacidad de aprovecharlos más rápido y con mayor rendimiento, pero solo puede usar el acetato a relativamente altas concentraciones (hasta 1mM). El género *Methanotherix* puede considerarse como especialista pues solo utiliza acetato, lo usa lentamente y con un rendimiento bajo y lo puede aprovechar hasta en muy bajas concentraciones (5 μ M). El género *Methanosarcina* se verá favorecido bajo condiciones en las que una alta carga orgánica lleve a una repentina acumulación de acetato, mientras que *Methanotherix* será favorecido en un hábitat más estable, como un biorreactor operando eficientemente bajo condiciones estables, con una baja concentración de acetato. Las observaciones en lodo granular y biopelícula hechas hasta ahora indican que *Methanotherix* es el metanógeno acetogénico predominante en los reactores anaerobios. El tiempo de duplicación para *Methanotherix* es de 3.5 días, mientras que para *Methanosarcina* es de 1-2 días (Zinder, 1993).

2.2 Degradación anaerobia bajo condiciones de sulfatorreducción

Cuando el sulfato está presente en el agua residual, las bacterias sulfatorreductoras (BSR) son capaces de acoplar la oxidación de compuestos orgánicos e hidrógeno a la

reducción de sulfato. Comparadas con las bacterias metanógenas las BSR son muy diversas en términos de sus posibilidades metabólicas. Las BSR son anaerobios estrictos, que tienen la habilidad de usar el sulfato como aceptor final de electrones para la oxidación de hidrógeno y de varios compuestos orgánicos. Dado que la reducción de los compuestos inorgánicos sirve para la conservación de energía, el proceso se llama "reducción disimilatoria" o catabólica (Zehnder, 1988).

Los donadores de electrones oxidados por las BSR son casi siempre compuestos de bajo peso molecular. Dentro de esos se encuentran: lactato, hidrógeno, formiato, acetato, propionato, butirato, ácidos grasos lineales de cadena larga, ácidos grasos ramificados, metanol, etanol, butanol, ácidos dicarboxílicos, compuestos aromáticos, ácidos orgánicos cíclicos saturados, colina, aminoácidos, azúcares y glicerol entre otros. El sulfuro de hidrógeno (H_2S) es normalmente el único producto secretado por medio del metabolismo disimilatorio del azufre. Bajo condiciones anaerobias, el H_2S es energéticamente la forma más estable del azufre, del mismo modo que el azufre es la forma más estable bajo condiciones aerobias. En condiciones sulfurogénicas puede ocurrir lo siguiente:

1. Oxidación de los ácidos grasos con más de dos átomos de carbono por las BSR, donde se pueden distinguir dos grandes grupos metabólicos: Grupo (a) que comprende especies que oxidan sus sustratos incompletamente siendo acetato y ácido sulfhídrico los productos finales y el grupo (b) en donde se encuentran las bacterias sulfatorreductoras que, en principio, son capaces de oxidar completamente los sustratos orgánicos incluyendo el acetato dando CO_2 y H_2S como los productos finales.
2. Oxidación de acetato por bacterias sulfatorreductoras acetotróficas y oxidación de hidrógeno molecular por BSR hidrogenotróficas.

Dentro del grupo (a), están los géneros *Desulfotomaculum*, *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfobulbus* y *Thermodesulfobacterium*. Aparentemente, todas estas BSR no tienen un mecanismo enzimático, como el del ácido cítrico, que les permita la oxidación del acetato originado de los sustratos y por lo tanto es excretado. Solo compuestos de dos carbonos, como el oxalato y la glicina, que están más oxidados que el acetato, así como compuestos de un carbono como formiato y metanol, son oxidados completamente. Al grupo (b) pertenecen los géneros *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema* y *Desulfobacterium* que, en principio, son capaces de oxidar todos sus sustratos a CO_2 . La efectividad al utilizar

acetato no es la misma en todos los oxidadores completos. La mayoría de las BSR oxidadoras completas crecen significativamente con más lentitud que las BSR oxidadoras incompletas. El tiempo de duplicación alcanzado por las primeras bajo condiciones óptimas es a menudo de 20 horas o más. Solo con algunos sustratos ciertos oxidadores completos pueden alcanzar tiempos de duplicación de aproximadamente 10 horas (Zehnder et al., 1980).

Las BSR pueden crecer también como acetógenos en ausencia de sulfato u otros aceptores inorgánicos de electrones. Algunos de los compuestos que pueden ser fermentados por las BSR son piruvato, lactato, etanol, fumarato, malato, fructosa, serina y colina, entre otros. Los productos que se obtienen de la fermentación pueden ser, dependiendo del tipo de sustrato, acetato, CO₂, H₂, propionato y lactato. Algunas especies de *Desulfovibrio* que no pueden fermentar etanol o lactato, pueden crecer con estos compuestos en ausencia de sulfato si se cultivan junto con bacterias metanógenas hidrogenotróficas. En este tipo de asociaciones simbióticas, las sulfatorreductoras sirven como bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno (Oude-Elferink et al., 1994).

Los biorreactores utilizados en el tratamiento de aguas residuales son ecosistemas muy complejos que contienen muchas especies bacterianas. En estos cultivos mixtos y en presencia de sulfatos, las bacterias metanógenas y acetotróficas productoras de hidrógeno tienen que competir con las bacterias sulfatorreductoras por sustratos como hidrógeno, acetato, propionato y otros ácidos grasos. La producción de H₂S y CH₄, que son los productos finales de los procesos de mineralización anaerobia, estará determinada por el resultado de dicha competencia. La importancia de esta competencia aumenta con un decremento en la relación DQO/SO₄⁼ del agua residual.

Si la materia orgánica se oxida por medio de la sulfatorreducción pueden aceptarse 8 electrones por cada molécula de sulfato:



Dado que una molécula de oxígeno solo puede aceptar 4 electrones, la capacidad receptora de electrones de 2 moles de O₂ (64 g) equivale a 1 mol de SO₄⁼ (96 g). Es decir, 0.67g de O₂ por gramo de SO₄⁼. Esto significa que, para los efluentes con una relación DQO/sulfato de 0.67, teóricamente existe suficiente sulfato disponible para remover la materia

orgánica completamente vía sulfatorreducción. Para relaciones de DQO/sulfato menores que 0.67, la cantidad de materia orgánica es insuficiente para una reducción completa del sulfato presente y se tendrá que adicionar más sustrato si el objetivo del tratamiento es la remoción del sulfato. Por el contrario, para aguas residuales con una relación DQO/sulfato que exceda 0.67, solo se alcanzará una reducción completa si, además de la sulfatorreducción, también se lleva a cabo la metanogénesis (Lens et al., 1998).

2.3 Toxicidad del sulfuro de hidrógeno

La producción de sulfuro de hidrógeno es el mayor problema asociado con el tratamiento de aguas residuales ricas en sulfato. El sulfuro producido se distribuye en el reactor anaerobio en forma de S^{2-} , HS^- y H_2S en solución, H_2S en el biogás y sulfuros metálicos insolubles de acuerdo con el equilibrio físico y químico. El sulfuro en solución es un ácido débil y se disocia como sigue:



A pH neutro solo la primera disociación es importante. El valor de pKa para la primera ecuación de equilibrio de H_2S es aproximadamente 6.9 a 30°C. En consecuencia, las variaciones pequeñas del pH en el intervalo de 6-8 afectarán significativamente la concentración de H_2S . El equilibrio entre H_2S en solución y el H_2S en la fase gaseosa está gobernado por la ley de Henry:



El coeficiente de absorción α del H_2S es cercano a 1.99 a 30°C. De esta forma, el acarreo de H_2S por el biogás producido puede reducir significativamente la concentración de H_2S en la fase líquida.

El sulfuro de hidrógeno (H_2S) es tóxico para muchas bacterias anaerobias y su acumulación puede causar una severa inhibición del proceso de purificación o puede causar

hasta una falla total del proceso. Muchos estudios sobre la toxicidad del sulfuro se enfocan en la inhibición de las bacterias metanógenas.

Se presume que el efecto inhibitorio del sulfuro es causado por el H_2S no disociado porque solo las moléculas neutras pueden penetrar la membrana celular. El mecanismo exacto de la inhibición por el H_2S no ha sido aclarado aún. Una vez que el H_2S ha atravesado la pared celular, puede desnaturalizar proteínas nativas o (co)enzimas claves en el metabolismo, a través de la formación de entrecruzamientos de sulfuro y disulfuro entre las cadenas polipeptídicas. El H_2S puede interferir con el metabolismo asimilatorio del azufre, a la vez que también puede afectar el pH intracelular (Lens et al., 1998).

La toxicidad del sulfuro es más compleja en reactores con células inmovilizadas. Estudios bajo condiciones termofílicas y mesofílicas mostraron que el lodo granular es inhibido en menor medida por el H_2S que los lodos suspendidos a valores de pH neutros y bajos; mientras que la inhibición es muy similar a valores de pH altos (Tabla 2.1). Estos efectos se han atribuido a los gradientes de pH dentro del gránulo, aunque esto no pasaría en aguas residuales bien amortiguadas. Sin embargo, las condiciones locales de crecimiento pueden ser diferentes de las del seno del líquido debido a limitaciones en la transferencia de masa, explicando por qué los reactores de biopelícula que operan a valores de pH neutros pueden tolerar altas concentraciones de sulfuro.

La inhibición de las bacterias metanógenas depende de las características del lodo. En lodos suspendidos, la inhibición está determinada por la concentración de H_2S en el líquido, a valores de pH altos y bajos, tal y como lo reportan McCartney y Oleszkiewicz (1993), quienes encontraron que existe un 50% de inhibición a concentraciones desde 50 a 130 mg/L. En cambio, en los lodos granulares la inhibición está dictada por la concentración de sulfuro total ($TS = H_2S + HS^- + S^{2-}$) y se encontró un 50% de inhibición a concentraciones de H_2S total de 250 y 90 mg/L, a valores de pH entre 6.4 - 7.2 y 7.8 - 8.0, respectivamente (Tabla 2.1). La inhibición de las bacterias metanógenas es significativamente más alta a valores de pH altos comparados con la que se tiene a valores bajos de pH (Lens et al., 1998). También se ha encontrado que las bacterias metanógenas son más sensibles que las acidogénicas a la inhibición por H_2S en lodos granulares (Shin et al., 1995) y en lodos suspendidos (Oleszkiewicz et al., 1989).

TABLA 2.1

Concentraciones (mg/L) de sulfuro no ionizado (H₂S) y sulfuro total (TS) que causan 50% de inhibición de la metanogénesis, sulfatorreducción o degradación de sustratos específicos. (Lens et al., 1998)

Tipo de lodo	Substrato	T (°C)	pH	H ₂ S (mg/L)	TS (mg/L)	Ref.
Metanogénesis						
Lodo suspendido	Acetato	35	6.5-7.4	125	NR	6
			7.7-7.9	100	NR	
Lodo suspendido	Lactato/acetato	35	7.2-7.6	NR	240	3
Lodo suspendido	Lactato	35	7.0	100	270	4
			8.0	100	1258	
Lodo suspendido	Acetato	55	6.3-6.4	18	33	8
			7.1-7.2	21	78	
			7.9-8.0	24	400	
Lodo granular	Acetato	30	6.4-6.6	246	357	2
			7.0-7.2	252	810	
			7.8-8.0	90	841	
Lodo granular	Acetato	30	7.2-7.4	184	564	9
			8.1-8.3	38	590	
Lodo granular	Acetato	55	6.3-6.4	54	81	8
			7.1-7.2	75	338	
			7.9-8.0	24	450	
Biopelícula	Acetato	35	7.7	>1000	NR	1
	Acetato/etanol		7.3	>1000	NR	
Sulfatorreducción						
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Lactato	35	7.0	250	500	5
Lodo suspendido	Lactato/acetato	35	7.2-7.6	NR	83	3
Lodo suspendido	Lactato	35	7.0	>300	NR	4
			8.0	185	2244	
Lodo granular	Acetato	30	7.2-7.4	171	615	9
			8.1-8.3	57	1125	
Sustratos específicos						
Lodo suspendido	Propionato	35	6.5-7.4	100	NR	6
			7.7-7.9	60	NR	
Lodo suspendido	Butirato	35	6.5-7.4	235	NR	6
			7.7-7.9	>200	NR	
Lodo suspendido	Lactato	35	6.5-7.4	320	NR	6
			7.7-7.9	390	NR	
Lodo granular	Propionato	30	7.0-7.5	140	NR	7

Nota: NR, no reportado

Referencias: 1. Isa et al. (1986b)

2. Koster et al. (1986)

3. McCartney y Oleszkiewicz (1991)

4. McCartney y Oleszkiewicz (1993)

5. Okabe et al. (1992)

6. Oleszkiewicz et al. (1989)

7. Rinzema y Lettinga (1988b)

8. Visser et al. (1993a)

9. Visser et al. (1996)

En quimiostatos, el crecimiento de *Desulfovibrio desulfuricans* en lactato se inhibió en un 50% a una concentración de H₂S de 250 mg/L a pH 7. Se encontró también que la inhibición completa del crecimiento de *Desulfovibrio* sp. en lactato fue a una concentración de 550mg/L de H₂S a pH de 6.2 a 6.6. En un reactor sulfurogénico de lecho fijo que trataba una mezcla de acetato y sulfato, la falla del proceso ocurrió a una concentración de H₂S mayor a 50 mg/L. Esto sugiere una susceptibilidad más alta de las bacterias sulfatorreductoras acetotróficas (BSRA). En un intervalo de pH entre 7.5 y 9.0, la inhibición por sulfuro de las BSRA está dictada por la concentración total de sulfuro más que por la concentración de H₂S, en lodo granular y suspendido.

Además del pH, la relación de DQO/sulfato también tiene influencia sobre la susceptibilidad del lodo a la toxicidad por H₂S, debido al desarrollo de diferentes asociaciones de bacterias en el lodo. Cabe destacar que las BSR que usan acetato se inhiben más por el H₂S disuelto total que las BM acetotróficas. Esto apoya las observaciones frecuentes de que las BM a menudo predominan sobre las BSR (Oude-Elferink et al., 1994). Se ha observado que para llevar a cabo un proceso metanogénico estable, la concentración de H₂S libre no debe exceder de 150 mg/L. Para aguas residuales con una proporción DQO/sulfato mayor a 10, la concentración de H₂S se mantiene debajo del valor crítico (150 mg/L) y se obtiene una degradación anaerobia satisfactoria; mientras que para aguas residuales con una relación DQO/sulfato menor a 10 se tienen que tomar medidas especiales para alcanzar un buen tratamiento (Rinzema y Lettinga, 1988 a, b).

En otros estudios (McCartney y Oleszkiewicz, 1991) se encontró una acumulación de propionato a concentraciones de H₂S que excedían los 110 mg/L y una mayor inhibición de las BSR comparada con la observada en las BM durante la degradación de lactato por un lodo floculento cultivado en lactato y acetato con una relación DQO/sulfato de 3.7. En contraste, para un lodo que se mantuvo creciendo a una relación DQO/sulfato de 1.6 y 0.8, no ocurrió acumulación de propionato con concentraciones de H₂S arriba de 325 mg/L y las BSR fueron menos sensibles al sulfuro que las BM (McCartney y Oleszkiewicz, 1993). Estas diferencias en la tolerancia al sulfuro de hidrógeno se atribuyeron al desarrollo de consorcios sintróficos más frágiles a altas relaciones de DQO/sulfato, en contraste con las poblaciones tolerantes al sulfuro en los lodos cultivados a relaciones DQO/sulfato menores o iguales a 1.6. En el último caso, la degradación de acetato fue el paso más afectado por el H₂S. Esto también se observó

en cultivos mixtos de bacterias (Uberoi y Bhattacharya, 1995) y en lodo granular sulfurogénico (Omil et al., 1996, 1997).

2.4 Competencia entre las bacterias sulfatorreductoras y bacterias metanógenas

La inhibición aparente de la metanogénesis no se explica satisfactoriamente ni por el efecto tóxico del sulfuro de hidrógeno en los metanógenos, ni por un cambio desfavorable en los potenciales redox debido al sulfato. El efecto del sulfato se explica más plausiblemente si la metanogénesis y la reducción del sulfato se consideran como reacciones de degradación alternativa que compiten por sustratos comunes. Mientras el sulfato esté presente, el flujo de electrones hacia la reducción de sulfato será la reacción favorecida (Zehnder, 1988).

Si se compara la reducción de sulfato con otros procesos de degradación que tengan aceptores externos de electrones, se puede observar que existe una "jerarquía" de las rutas degradadoras microbianas alternas. Mientras el oxígeno esté presente como aceptor de electrones, la desnitrificación, reducción de sulfato y metanogénesis se inhiben.

La desnitrificación comienza después de que se ha consumido el oxígeno y la reducción de sulfato después de que se ha terminado el nitrógeno. Finalmente ocurre la metanogénesis, que es parte de una reducción catabólica o desasimilatoria del CO_2 . La secuencia de estas reacciones concuerda con la secuencia de sus cambios de energía libre, que disminuye de la respiración a la metanogénesis. Esto también se refleja en el hecho de que el producto de un aceptor de electrones de "bajo nivel" puede, al menos teóricamente, ser oxidado con cualquier aceptor de electrones de "alto nivel". Sin embargo, la termodinámica es insuficiente para explicar la preferencia de una reacción sobre la otra en poblaciones microbianas, por lo que también tienen que tomarse en cuenta los efectos fisiológicos de los aceptores de electrones y la cinética (Zehnder, 1988)

Las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas son capaces de utilizar acetato e hidrógeno como sustratos. Las propiedades cinéticas de ambas especies pueden usarse para predecir el resultado de la competencia por estos sustratos comunes. Los parámetros cinéticos del modelo de Monod, como la afinidad por el sustrato (K_s) y la tasa de crecimiento específica (μ_{max}) se pueden aplicar a las bacterias que crecen en suspensión. Cuando el crecimiento

microbiano es despreciable, como suele ocurrir en reactores con una concentración alta de biomasa, se puede usar la cinética de Michaelis-Menten para predecir qué tipo de microorganismo tiene el sistema enzimático más apropiado para degradar sustratos. Por lo tanto, las relaciones V_{max}/K_m y μ_{max}/K_s proporcionan un indicio de la consecuencia de la competencia a bajas concentraciones de sustrato. Las bacterias con la proporción μ_{max}/K_s más alta tendrán una ventaja cinética. (Oude-Elferink et al., 1994). La tabla 2.2 lista algunos factores importantes, propuestos por Speece (1996), que tienen influencia en la competencia entre las bacterias metanógenas y las sulfatorreductoras.

Tabla 2.2 Factores que influyen en la competencia entre las BM y BSR. (Speece, 1996)

-
- *Concentración de sulfato en la alimentación
 - *Concentración de sustrato carbonoso en la alimentación
 - *Tasa máxima específica de utilización
 - *Constante de velocidad media
 - *Termodinámica/energía libre de reacción
 - *Disponibilidad de nutrientes
 - *Propiedades de adhesión
 - *Proximidad de las células
 - *Temperatura
 - *Tipo de sustrato
 - *Condiciones estables prolongadas
-

2.4.1 Competencia por acetato

Al analizar la competencia entre las BSR y BM en la naturaleza, se tienen que visualizar las cinéticas de consumo de hidrógeno y acetato. Estos son usados por las metanógenas directamente y son los intermediarios clave a través de los cuales la materia orgánica en los sedimentos y digestores es canalizada hacia la metanogénesis. También para la sulfatorreducción en sedimentos, el acetato y el hidrógeno son los principales donadores de electrones.

En la tabla 2.3 se muestran las principales reacciones de sulfatorreducción y metanogénesis junto con sus correspondientes cambios de energía libre estándar. Se puede observar que la reacción más favorecida es la de reducción de sulfato con el acetato como agente reductor.

Tabla 2.3 Cambios de energía libre estándar para las reacciones metanógenas y de reducción de sulfato (Modificada de Oude-Elferink et al., 1994)

	ΔG° (kJ/mol)
Reacciones metanógenas	
$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-33.9
$\text{CH}_3\text{COOH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31.0
Reacciones de reducción de sulfato	
$4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-38.1
$\text{CH}_3\text{COOH} + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-47.6

Algunos de los factores que pueden afectar la metanogénesis y la reducción de sulfato a partir de acetato se discuten a continuación.

2.4.1.1 Afinidad por acetato

De los datos cinéticos y termodinámicos que se presentan en las tablas 2.3 y 2.4, puede observarse que las BSR presentan valores más altos de V_{\max}/K_m que las BM, lo que representa una ventaja desde el punto de vista cinético de las BSR sobre las BM. Como se ha mencionado, *Methanothrix* sp es la bacteria metanógena acetoclástica más importante en los reactores de alta tasa; este tipo de bacteria tiene una afinidad mayor por el acetato que *Methanosarcina* sp, siendo su K_s alrededor de 0.4 mM. En los biorreactores *Methanosarcina* sp solo está presente en altos números cuando los reactores se operan a una concentración alta de acetato o cuando se operan a bajos valores de pH. La bacteria sulfatorreductora acetoclástica más abundante que se aisló en un reactor en donde la mayor parte del acetato se degradó vía sulfatorreducción fue una bacteria parecida a *Desulfobacterium* (Oude-Elferink et al., 1994).

Las bacterias sulfatorreductoras acetoclásticas (BSRA) ganan más energía de consumo de acetato que las bacterias metanógenas acetoclásticas (BMA). Además, las BSRA tienen tasas de crecimiento mayores que las BMA, especialmente a bajas concentraciones de acetato. Por lo tanto si existe una cantidad disponible de sulfato, se espera tener un predominio de las BSRA sobre las BMA.

Tabla 2.4 Datos cinéticos y de crecimiento de las BM acetotróficas y las BSR acetotróficas. (Modificada de Oude-Elferink et al., 1994)

Cepa bacteriana	Ks (mM)	μ_{max} (1/d)	Rendimiento ^a (g/mol Ac [*])	Km (mM)	Vmax ($\mu\text{mol}/\text{min g}$)
Sulfatorreductoras					
<i>Desulfobacter</i>					
<i>D. posgatei</i>	nd	0.72-1.11	4.3-4.8	0.07-0.23	53
<i>D. curvatus</i>	nd	0.79	nd	nd	nd
<i>D. latus</i>	nd	0.79	nd	nd	nd
<i>D. hydrogenophilus</i>	nd	0.92	nd	nd	nd
<i>Desulfotomaculum</i>					
<i>D. acetoxidans</i>	nd	0.65-1.39	5.6	nd	nd
<i>D. desulfobacterium</i> sp	nd	<0.7	nd	nd	nd
Metanógenas					
<i>Methanosarcina</i>					
<i>M. barkeri</i> 227	5.0	0.46-0.69	2.0-3.4	nd	nd
<i>M. barkeri</i> MS	nd	0.50	nd	nd	nd
<i>M. barkeri</i> fusaro	nd	nd	nd	3.0	nd
<i>M. mazei</i> T18	nd	0.49-0.52	nd	nd	nd
<i>M. mazei</i> S6	nd	0.53	1.94	nd	nd
<i>Methanotherix</i>					
<i>M. soehngenii</i> Opfikon	0.46-0.7	0.08-0.29	1.1-1.4	1.2	42
<i>M. soehngenii</i> FE	0.46	0.19	nd	0.39	38
<i>M. concilii</i> GP6	1.2	0.21-0.69	1.1-1.2	0.84	16

^aEl rendimiento está dado en gramos de células secas por g mol

^{*}Ac=acetato

nd=no disponible

2.4.1.2 Efecto de la temperatura

Las bacterias mesofílicas metanógenas y sulfatorreductoras proliferan a intervalos de temperatura similares. Consecuentemente, ambas poblaciones tienen una respuesta parecida a los cambios de temperatura entre 10 y 50 °C. Pruebas intermitentes (batch) con lodo granular mesofílico (30°C), mostraron que las BSR son mucho menos sensibles a choques ("shocks") a altas temperaturas (65°C por 8-9 h) comparadas con las BM. En reactores continuos, un decremento en la temperatura del reactor de 35 a 25°C para un período de tiempo prolongado (30 d) incrementó la fracción de flujo de electrones usados por las BSR de 43 a 80% (Lens et al., 1998).

Rintala y Lettinga (1992) observaron que el acetato era convertido por las bacterias metanógenas cuando el reactor operaba a 37°C a una alta concentración de sulfato, mientras que el acetato era degradado principalmente por las bacterias sulfatorreductoras cuando el reactor se operaba 55°C, usando un inóculo mesofílico. La operación a 55°C dará como resultado un decremento en la población mesofílica y entonces se desarrollará una población con SRB y BM termofílicas. Esto puede indicar que las BM son más sensibles a incrementos en la temperatura que las BSR.

2.4.1.3 Concentración de sulfato

El crecimiento de las BSRA depende de las concentraciones de acetato y sulfato, mientras que el crecimiento de las BMA solamente depende de la concentración de acetato. A altas concentraciones de sulfato, las BSRA pueden predominar sobre las BMA. Por el contrario, el crecimiento de las BSRA será limitado en sulfato a bajas concentraciones de sulfato, lo cual puede permitir que las BMA predominen sobre las BSRA. Además del efecto directo de la concentración de sulfato sobre las tasas de crecimiento de las BSRA, los diferentes tipos metabólicos de SRB pueden competir por el sulfato disponible a bajas concentraciones de sulfato. Con la excepción de algunas especies de *Desulfobacter*, el crecimiento de las BSR oxidadoras completas con acetato como único sustrato es generalmente bajo comparado con otros sustratos. Las BSR tienden a oxidar el H₂ y el propionato a bajas concentraciones o altas relaciones de DQO/sulfato, mientras que el acetato es aprovechado por las BMA. De hecho, las BMA predominan a relaciones de DQO/sulfato que exceden 2.7, mientras que las BSRA se convierten en los organismos predominantes a relaciones de DQO/sulfato menores a 1.7 (Choi

y Rim, 1991). A relaciones intermedias de DQO/sulfato (1.7–2.7), las BMA y las BSRA compiten activamente por los sustratos disponibles.

En los reactores que se operan con un exceso de sulfato, la limitación por sulfato de las BSRA y la competencia entre los diferentes tipos de BSR son probablemente menos importantes. Sin embargo, la limitación por transferencia de masa puede crear una limitación en las capas profundas de una biopelícula o un gránulo. Para gránulos provenientes de un reactor UASB, Overmeire et al. (1994) calcularon que la limitación de transferencia del sulfato en un gránulo puede ocurrir a concentraciones de sulfato cerca de 300 mg/L en el seno del líquido, también depende del tamaño del gránulo y de la tasa de reducción de sulfato. Por lo tanto, las bacterias metanógenas proliferan en las zonas limitadas por sulfato.

2.4.1.4 Propiedades de inmovilización de las bacterias

Además de las propiedades de crecimiento de las bacterias y sus cinéticas de conversión, la habilidad de las BSRA y BMA de inmovilizarse en partículas sólidas inertes o dentro de los gránulos de lodo también afectará el resultado de la competencia entre estos organismos. De acuerdo a Isa et al. (1986a,b), la habilidad de colonización de las BM les permite competir exitosamente con las BSR en filtros anaerobios. En contraste, Yoda et al. (1987), suponen que las BSR y las BM tienen una habilidad de inmovilización equivalente. Por otro lado, se ha encontrado también que las BSR y las BM tienen una capacidad de inmovilización comparable en reactores UASB operando a 0.65 m/h, sugiriendo que las propiedades cinéticas de crecimiento de las BSRA y las BMA por el acetato podrían ser los factores clave en la competencia. Sin embargo, Omil et al. (1996), encontraron que al operar un reactor sulfurogénico UASB, a una velocidad de 6m/h, las bacterias metanógenas proliferaron y esto podría ser atribuido a un lavado selectivo de las BSR.

2.4.1.5 Tipo de inóculo y duración del experimento

El resultado de la competencia entre las bacterias que utilizan acetato también depende de la duración del período de aclimatación a altas concentraciones de sulfato, Visser et al. (1993b) encontraron que fueron necesarios de 250 a 400 días para incrementar la porción de acetato utilizado por las BSR de 50 a 90% en reactores UASB alimentados con una mezcla de acetato y ácidos grasos volátiles con un exceso de sulfato. Eso puede atribuirse al largo

período de tiempo necesario para alcanzar un estado estacionario en los reactores anaerobios de alta tasa, donde la retención del lodo puede ser tan grande como 0.5 o 1 año. En consecuencia, se requerirán largos períodos de tiempo para que un tipo de bacterias pueda predominar sobre otras especies, especialmente si el número de una de las especies competidoras es mucho menor comparado con la otra.

2.4.1.6 Valor de pH

El pH óptimo para las bacterias sulfatorreductoras acetogénicas es entre 7.3 y 7.6 y para las bacterias metanógenas entre 6.5 y 7.8. Sin embargo, las BSRA pueden tolerar valores de pH mayores que las BMA. Esto fue confirmado en experimentos en lote para las propiedades cinéticas de las BSRA y las BMA, los cuales indicaron que las BSRA ganan la competencia a un pH mayor a 7.7 (Visser et al., 1996). En contraste, las BMA tienen mejores propiedades de crecimiento a niveles de pH por debajo de 6.9, indicando que las BMA predominarán sobre las BSRA a valores de pH bajos. Las BSRA y las BMA tienen velocidades de crecimiento comparables a valores de pH entre 6.9 y 7.7 y se inhiben por el sulfuro de igual forma. En ese intervalo de pH, el resultado de la competencia depende de la concentración de sulfato en el seno del líquido.

Existe también la posibilidad de una influencia indirecta del pH ya que la toxicidad del sulfuro depende también del pH. Un decremento en el pH de 8 a 7 dio como resultado un incremento en la concentración de H_2S de 50 a 240 mg/L. Esto redujo la fracción de DQO utilizado por las BM de 41 a 5% en un reactor UASB alimentado con una mezcla de ácidos grasos volátiles y una relación de DQO/sulfato de 0.5 (Omil et al., 1996)

2.5 Comparación de las propiedades del CH_4 y del H_2S

El metano es inodoro y no tóxico para el consorcio microbiano y casi insoluble en agua (aproximadamente 18 mg/L por atmósfera de presión parcial a 35°C). Después de la combustión produce solo CO_2 y H_2O . Por otro lado, el H_2S presenta un olor desagradable, es muy soluble en el agua y corroe los metales, presentando un número de problemas

potenciales debido a sus propiedades. Los indoles, tioles y mercaptanos son más olorosos, pero estos se producen en mucho más bajas cantidades comparados con el H₂S. La producción de ácido sulfhídrico, además, desvía la energía en el donador de electrones hacia H₂S y, por lo tanto, estequiométricamente se reduce la producción de CH₄.

Un factor aún más serio en los criterios de diseño, es que el H₂S es tóxico para la mayoría de las bacterias a concentraciones relativamente bajas y es fatalmente tóxico para los humanos causando la muerte en 30 minutos a concentraciones gaseosas de solo 800-1000 ppm. Puede ocurrir la muerte instantáneamente a concentraciones más altas, mucho más rápido que con la exposición a cianuro. El H₂S también paraliza el centro respiratorio y a estas concentraciones tan altas también paraliza los nervios olfativos, nulificando la percepción del signo de alerta, que es el olor característico del gas a huevo podrido, aumentando el peligro de una intoxicación (Speece, 1996).

La producción de SO_x por la combustión del H₂S puede impactar adversamente la regulación de contaminación del aire de las industrias. Además, si el gas se tiene que quemar en un sistema de combustión interna, la garantía del motor puede limitar el contenido de H₂S en el gas a menos de 1373 mg/m³ (60 granos/100 ft³) (Metcalf y Eddy, 1991). Por último, como ya se ha mencionado, la presencia de H₂S en el efluente líquido después del tratamiento anaerobio puede necesitar de un tratamiento posterior.

2.6 Aspectos tecnológicos del tratamiento anaerobio de aguas residuales conteniendo sulfatos

La estrategia que debe aplicarse con la finalidad de llevar a cabo un tratamiento exitoso de aguas residuales que contengan sulfatos está relacionada con el objetivo del tratamiento, el cual puede ser la remoción de la materia orgánica, la remoción del sulfato o la remoción de ambos.

A continuación se hace una descripción breve de los procesos para el tratamiento anaerobio de aguas residuales que contienen sulfatos.

2.6.1 Remoción de la materia orgánica solamente

Tomado en cuenta los problemas potenciales relacionados con los procesos de reducción de sulfato, podría considerarse que la supresión de la sulfatorreducción y la conversión completa de la materia orgánica a metano es la configuración del proceso más adecuada.

Una forma de llevar a cabo lo anterior es utilizando inhibidores específicos de la sulfatorreducción (p.ej. análogos del sulfato, elementos de transición o antibióticos). Los análogos del sulfato (molibdato) interfieren con la generación de ATP de las BSR. Por otro lado se ha encontrado que las BSR son afectadas por metales de transición (cobre, zinc, manganeso, cobalto, níquel y cadmio) a concentraciones muy bajas en comparación con las BM. También se ha investigado el uso potencial de antibióticos usando cultivos puros de BM y BSR como la gentamicina. Sin embargo, hasta ahora no se ha encontrado ningún inhibidor selectivo que pueda ser usado a gran escala en los reactores anaerobios. Esto implica que la sulfatorreducción no puede impedirse en la práctica (Lens et al., 1998).

2.6.2 Remoción de materia orgánica en presencia de sulfatorreducción

Todos los diseños de biorreactores desarrollados para el tratamiento metanogénico del agua pueden aplicarse al tratamiento de aguas residuales ricas en sulfato, en donde la materia orgánica es removida vía sulfatorreducción y metanogénesis en una proporción que depende de la relación de DQO/SO_4^{2-} del agua residual. En principio, para aguas residuales con una relación DQO/SO_4^{2-} menores de 0.67 existe una cantidad suficiente de sulfato para llevar a cabo una completa remoción de la materia orgánica por medio de la biomasa sulfurogénica solamente. Para relaciones menores a 0.67, la cantidad de materia orgánica para una sulfatorreducción completa no es suficiente y entonces debe adicionarse más sustrato. Por otro lado para relaciones DQO/SO_4^{2-} mayores de 0.67 la remoción completa de la materia orgánica solo puede alcanzarse si además de la sulfatorreducción también ocurre la metanogénesis.

Sin embargo, es difícil predecir la falla del reactor durante el tratamiento metanogénico de este tipo de aguas residuales. A pesar de la investigación intensiva en las últimas dos décadas no hay datos suficientes para formular pautas prácticas para determinar la competencia entre

las BSR y las BM (Lens et al., 1998). Además de los métodos para aumentar la capacidad degradativa de un lodo, el control del proceso se beneficiaría con un modelo que prediga hasta dónde se llevará a cabo la metanogénesis o la sulfatorreducción, mientras se digiere la materia orgánica de una agua residual rica en sulfatos.

Rinzema y Lettinga (1988a) desarrollaron un modelo matemático basado en el equilibrio fisicoquímico y considerando que la concentración de H_2S no debería exceder 150 mg/L para un proceso metanogénico estable. Validando el modelo con datos reportados en la literatura encontraron que, a una relación DQO/SO_4^{2-} de 10, la concentración de H_2S en el reactor nunca excedería el valor crítico de 150 mg/L. A relaciones DQO/SO_4^{2-} menores de 10 se reportaron fallas del proceso mientras que en otros casos el proceso podía continuar sólo si se tomaban precauciones para prevenir la toxicidad del sulfato. Las medidas apropiadas para prevenir la inhibición por sulfuro son (Lens et al., 1998):

- Dilución del influente: En algunos casos la concentración de sulfuros en el reactor puede reducirse diluyendo el influente con agua libre de sulfato, por ejemplo.
- Elevación del pH del reactor: Operar el reactor a un pH elevado (>7.5) puede reducir la concentración del H_2S .
- Precipitación de los sulfuros en el digestor: El fierro es el metal pesado usado más comúnmente para este fin.
- Arrastre de los sulfuros: Los sulfuros pueden arrastrarse directamente del reactor anaerobio usando un filtro anaerobio como un paso de pre-tratamiento en el cual el sulfato y el sulfito se reducen. Los métodos de arrastre requieren una cuidadosa regulación del pH para minimizar la liberación del CO_2 del agua residual, cuya concentración puede variar entre 2% (pH 8) y 30% (pH 7), lo que podría afectar el equilibrio de la alcalinidad y eventualmente llevar a una inestabilidad del reactor.
- Separación de la producción de sulfuros de la metanogénesis: El proceso de producción de sulfuros se puede aislar de la producción de metano aplicando una digestión en dos etapas, consistiendo en una etapa de pre-acidificación con sulfatorreducción y, a continuación, la

etapa metanógena. Los sulfuros se pueden remover en el primer paso o bien entre las dos etapas. Debido al pH bajo en el reactor de acidificación (5-6.5), el acarreo del H₂S se lleva a cabo con relativa facilidad.

2.6.3 Remoción de compuestos azufrados

Existen varias técnicas, dependiendo del tipo de compuesto azufrado del que se trate:

- *Técnicas de remoción de sulfatos.* Para aguas residuales, la remoción biológica de sulfatos representa una buena opción. La remoción biológica consiste en dos pasos con la reducción (desasimilatoria) en el primero del sulfato a sulfuro. El sulfuro producido en la primera etapa, puede oxidarse después a azufre elemental (S⁰). Este proceso combinado ha sido aplicado en la desulfuración de aguas residuales industriales ricas en sulfato. También puede integrarse con la remoción de metales pesados y la desulfuración de gases residuales (Lens et al., 1998).
- *Técnicas de remoción de sulfuros.* Si no se requiere la remoción de sulfato, se puede utilizar un pos-tratamiento aerobio para convertir el sulfuro en sulfato al final de la unidad de tratamiento anaerobia. Los procesos de oxidación para la remoción de sulfuro son; aireación, oxidación electroquímica, cloración, ozonización, y tratamiento con permanganato de potasio o peróxido de hidrógeno. En todos estos procesos de oxidación el azufre elemental, el tiosulfato y el sulfato son los productos finales, en una proporción que varía dependiendo del pH.
- *Tratamiento microaerobio.* Otra manera de utilizar las capacidades de las BSR para degradar la materia orgánica, es el uso de reactores con condiciones aerobias/anaerobias combinadas. Esto permite una mineralización completa de ciertos xenobióticos, cuando las bacterias aerobias (facultativas) utilizan los productos de la degradación de las bacterias sulfatorreductoras. Bajo ciertas condiciones puede desarrollarse una simbiosis entre las bacterias sulfatorreductoras y las bacterias aerobias, como por ejemplo bacterias sulfuro-oxidantes. Las condiciones microaerofílicas pueden crearse en los reactores UASB dosificando cantidades controladas de oxígeno a las aguas residuales ricas en sulfato.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Reactor "UASB"

Los experimentos fueron realizados en un reactor de vidrio bajo el principio del sistema desarrollado por Lettinga (1980) y conocido por sus siglas en inglés como UASB (por *upflow anaerobic sludge blanket*, anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente), el volumen total fue de 2.7 L y el de operación de 2.4 L. El reactor era una columna con el extremo inferior en forma cónica, por donde se llevó a cabo la alimentación. En la parte superior del reactor se colocó un embudo invertido que permitió la separación sólido-líquido-gas. El sistema experimental se muestra en la figura 3.1. La temperatura de operación fue de 30°C y se mantuvo constante recirculando agua caliente como se muestra en la figura 3.1. El tiempo de residencia hidráulica (TRH) fue de 1 día. El reactor se inoculó con 47 g de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en base seca. El lodo inoculado se obtuvo de un reactor anaerobio que opera en una cervecería comercial y contenía 27.83 g SSV/L. El biogas producido en el reactor, se midió por la técnica de desplazamiento de líquido. Se usó una botella conteniendo una solución saturada de NaCl (30 % p/v) en agua destilada, acidificada con HCl a un pH de alrededor de 3, para impedir la disolución del CO₂; se usó rojo de metilo como indicador para verificar cualquier cambio de pH debido al CO₂ disuelto en forma de HCO₃⁻.

El reactor se alimentó con un medio basal cuya composición se muestra en la tabla 3.1. El substrato orgánico consistió en acetato de sodio a una concentración de 2 g DQO/L. Al medio se le adicionó sulfato en forma de Na₂SO₄. El experimento consistió de 6 etapas, que están marcadas por las diferentes relaciones de DQO/SO₄²⁻. La primera etapa fue de adaptación al sulfato y se llevó a cabo del día 0 al 68, donde se aumentó gradualmente la concentración de sulfato desde 0 mg/L hasta 100 mg/L, en el día 69 la concentración de sulfato se incrementó a 200 mg/L con lo cual se inició la segunda etapa en que la relación DQO/SO₄²⁻ fue de 10. En el día 149, se aumentó de nuevo la concentración de sulfato con la que se alcanzó una relación DQO/SO₄²⁻ de 5. La siguiente etapa se inició en el día 198, cuando se incrementó la concentración de sulfato otra vez, teniendo una relación DQO/SO₄²⁻ de 2.5. Para llegar a la etapa en que la relación de DQO/SO₄²⁻ fue de 1.25 la concentración de sulfato se aumentó de

nuevo en el día 238. La última etapa del experimento se llevó a cabo a partir del día 276 y, en esta etapa, la relación DQO/SO_4^- fue de 0.625.

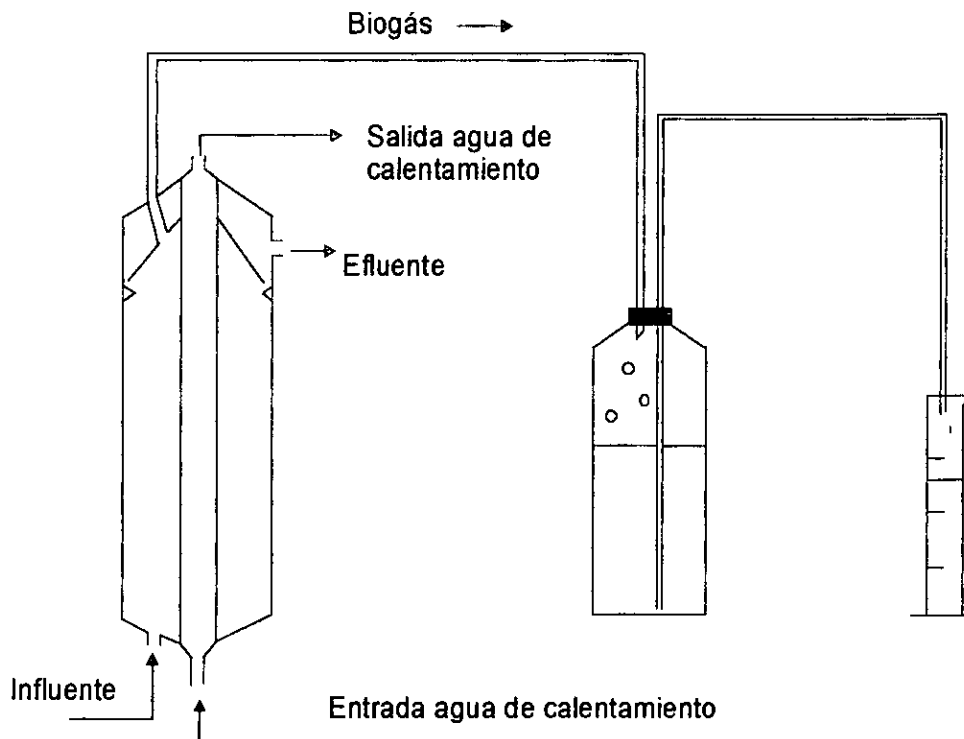


Figura 3.1 Diagrama del reactor UASB y sistema para medir el biogás producido

Tabla 3.1 Composición del medio basal de alimentación, modificado de Visser et al. (1993 c)

Compuesto	mg/L	Solución de elementos traza	mg/L
NH ₄ Cl	1044	FeCl ₂ ·4H ₂ O	2000
KCl	270	MnCl ₂ ·4H ₂ O	785.94
KH ₂ PO ₄	169	EDTA	500
MgCl ₂ ·6H ₂ O	150	H ₃ BO ₃	50
Extracto de levadura	18	ZnCl ₂	50
Solución de elementos traza	1 mL/L	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	50
		AlCl ₃ ·6H ₂ O	90.47
		NiCl ₂ ·6H ₂ O	50
		CoCl ₂ ·4H ₂ O	71
		CuCl ₂ ·4H ₂ O	50
		HCl 36%	1 mL

El medio de alimentación se preparó con agua corriente de la llave. Con este medio, se aseguró una adecuada dotación de nutrimentos así como de los principales elementos traza que se reportan como estimulantes para las bacterias metanógenas (Speece, 1996).

3.2 Determinación de la actividad metanógena específica

La actividad metanógena está definida como la velocidad de producción de metano por de un lodo bajo condiciones óptimas ($\text{gCH}_4\text{-DQO/g SSV día}$). De la misma manera, la actividad sulfatorreductora se define como la velocidad de producción de H_2S (Alpheenar, 1994).

La actividad metanógena específica de los lodos se determinó en botellas de suero de 60 mL, selladas con un tapón de neopreno y un anillo de aluminio. Cada botella contenía 12.5 mL de medio basal (Tabla 3.2) y 4 g SSV/L aproximadamente. Se agregaron 400 μL de una solución stock de ácido acético (62.5g/L) previamente neutralizado a pH 7 con NaOH, para tener una concentración de 2 gDQO/L. Las botellas se gasearon por 5 minutos con una mezcla 80% N_2 -20% CO_2 , la presión se equilibró dejando escapar el exceso de gas a un recipiente con agua por medio de una manguera conectada a la botella, evitando así el exceso la presión en las botellas. A continuación las botellas se incubaron a 30°C. Después de 3 días de incubación, con el fin de medir la actividad metanógena se agregó la cantidad necesaria de acetato (200 μL del stock) para tener una concentración de acetato de 1 gDQO/L en la botella. Las botellas fueron gaseadas de nuevo con una mezcla de 80% nitrógeno-20% dióxido de carbono durante 5 minutos y la presión se equilibró como se describió anteriormente. Posteriormente, las botellas se incubaron a 30°C. El contenido de metano en cada botella se determinó aproximadamente cada hora y media por un período mínimo de 8 horas. El pH del medio al inocular las botellas fue de 7.1 unidades.

3.3 Determinación de la actividad sulfatorreductora específica

La actividad sulfatorreductora específica se determinó de la misma forma que la actividad metanógena, en botellas de suero de 60 mL selladas con un tapón de neopreno y un anillo de aluminio. Se utilizó el mismo medio basal (12.5 mL). Las bacterias metanógenas fueron inhibidas agregando ácido 2-bromoetanosulfónico a una concentración final de 50mM. El sulfato fue agregado como Na_2SO_4 a una concentración final de $4\text{gSO}_4^{=}/\text{L}$. La concentración

usada de DQO fue de 2 gDQO/L y la cantidad de SSV fue de aproximadamente 4 gSSV/ L por botella. Las botellas fueron gaseadas con una corriente gaseosa de 80% N – 20% CO₂ por 5 minutos; posteriormente, se equilibró la presión de la misma manera que en la determinación de la actividad metanógena. Las botellas fueron incubadas por 3 días a una temperatura de 30°C. Al término de este período se agregaron 200µL del stock de acetato para tener una concentración de DQO de 1 g/L. Posteriormente se gasearon las botellas y se equilibró la presión como se describió anteriormente. La cantidad de H₂S se determinó en las botellas aproximadamente cada hora y media.

Tabla 3.2 Composición del medio basal para determinar la actividad metanógena. Modificado de Visser (1993c)

Compuesto	mg/L	Solución de elementos traza	mg/L
NaHCO ₃	2000	FeCl ₂ ·4H ₂ O	2000
NaH ₂ PO ₄ ·4H ₂ O	703.25	MnCl ₂ ·4H ₂ O	785.94
K ₂ HPO ₄	600	Resazurina	500
MgSO ₄ ·7H ₂ O	280	EDTA	500
NH ₄ Cl	111	H ₃ BO ₃	50
CaCl ₂	4.68	ZnCl ₂	50
Extracto de levadura	20	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	50
Solución de elementos traza	1 mL/L	AlCl ₃ ·6H ₂ O	90.47
		NiCl ₂ ·6H ₂ O	50
		CoCl ₂ ·4H ₂ O	71
		CuCl ₂ ·4H ₂ O	50
		HCl 36%	1 mL

Tanto en el caso de la actividad metanógena y de la actividad sulfatorreductora, al final del experimento se determinó la concentración de SSV y el pH. Las muestras de gas fueron tomadas con una jeringa con seguro de gas para garantizar que se estaba analizando una porción isobárica del espacio gaseoso de las botellas.

3.4 Métodos analíticos

3.4.1 Alcalinidad

Es esencial tener una alcalinidad suficiente para un control apropiado del pH. La alcalinidad se deriva del rompimiento de compuestos orgánicos y se presenta principalmente

en forma de bicarbonatos, los cuales están en equilibrio con el dióxido de carbono en el gas a un pH dado. La relación entre la alcalinidad, el dióxido de carbono en el gas y el pH está representada por las siguientes reacciones:



La concentración del ión hidrógeno $[\text{H}^+]$ y el pH del sistema puede calcularse de la siguiente ecuación de equilibrio para la ionización de H_2CO_3

$$[\text{H}^+] = k_1 \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{HCO}_3^-]} \quad (3-3)$$

A valores de pH entre 6.6 -7.4 y un contenido de dióxido de carbono en el gas de 30-40% en volumen, la alcalinidad como bicarbonato estará entre 1000 y 5000 mg/L como CaCO_3 . La concentración en el sistema debe ser de aproximadamente 3000 mg/L como CaCO_3 . La alcalinidad de bicarbonato es aproximadamente igual a la alcalinidad total del sistema anaerobio. Una proporción de la alcalinidad aparece como alcalinidad de "sales de ácidos volátiles", que resulta de la reacción de ácidos volátiles con el bicarbonato presente, dando como resultado dióxido de carbono.

A bajas concentraciones de ácidos volátiles, la alcalinidad bicarbonática representa aproximadamente a la alcalinidad total; sin embargo, conforme la concentración de ácidos volátiles se reduce, la alcalinidad bicarbonática es más baja que la alcalinidad total. Aproximadamente, 83.3% de la concentración de ácidos volátiles contribuye en la alcalinidad como alcalinidad de "sales de ácidos volátiles" (Metcalf y Eddy 1991).

La alcalinidad del efluente se determinó por el método reportado por Powell y Archer (1989) en la etapa de adaptación del lodo a los sulfatos, cuando este método se comparó con el tradicional y se observó que se obtenía el mismo resultado se decidió continuar determinando la alcalinidad por el método tradicional que es más sencillo. En un vaso de precipitado de 50 mL se colocaron 10 mL de muestra y se midió el pH. El pH se llevó hasta 11.8 agregando NaOH 0.1N. Posteriormente, se realizó una titulación potenciométrica con H_2SO_4 0.1N a valores de pH de 9.4, 6.9, 4.8 y 2.2. En este punto, la muestra se burbujeó con

aire para eliminar el CO₂ de la solución La muestra se retrotituló con NaOH a valores de pH de 4.8 y 6.9. La alcalinidad total expresada en mg de CaCO₃/L se obtiene de las siguientes fórmulas:

$$\text{Alcalinidad mg CaCO}_3/\text{L} = 5 \times 10^4 (C_{\text{in tot}}) \left(\frac{1}{1+10^{(\text{pKbic} - \text{pHm})}} \right) - \left(\frac{1}{1+10^{(\text{pKbic} - \text{pHf})}} \right) \quad (3-4)$$

donde:

pKbic=6.35, pHm= pH de la muestra, pHf= pH final

C_{in tot}=carbono inorgánico total = ½ ([HCO₃⁻] + [CO₃⁼])

$$[\text{CO}_3^{=}] = 1/V_m \times V_1 [\text{Na}] / (A - B) \quad (3-5)$$

$$A = 1 / (1 + 10^{(\text{pKcarb} - \text{pH}_2)}) \quad (3-6)$$

$$B = 1 / (1 + 10^{(\text{pKcarb} - \text{pH}_3)}) \quad (3-7)$$

donde:

pKcarb= 10.33; pH₂=11.8; pH₃=9.4

V_m= volumen de la muestra

V₁= volumen para titular de 11.8 a 9.4

[Na]= normalidad del ácido

$$[\text{HCO}_3^{-}] = \{V_2 \times [\text{Na}] - (V_m \times [\text{AGV}] \times (C - D))\} / \{V_m \times (E - F)\} \quad (3-8)$$

donde:

$$C = 1 / (1 + 10^{(\text{pKac} - \text{pH}_4)})$$

$$D = 1 / (1 + 10^{(\text{pKac} - \text{pH}_5)})$$

$$E = 1 / (1 + 10^{(\text{pKbic} - \text{pH}_4)})$$

$$F = 1 / (1 + 10^{(\text{pKbic} - \text{pH}_5)})$$

pKac=4.7; pKbic=6.35; pH₄=6.9; pH₅=4.8;

V₂= volumen de ácido necesario para pasar de pH 6.9 a 4.8

[AGV]=1/V_m X {(V₃ X [Nb]) / (G - H)}

[Nb]=normalidad del álcali

$$G = 1 / (1 + 10^{(\text{pKac} - \text{pH}_8)})$$

$$H = 1 / (1 + 10^{(\text{pKac} - \text{pH}_7)}) \quad \text{pH}_7=4.8; \text{pH}_8=6.9$$

V₃= volumen de álcali necesario para pasar de pH 4.8 a 6.9

$$\text{Factor alfa} = \alpha = ([\text{AGV}] \times 60) / (\text{Alcalinidad} \times 1000) \quad (3-9)$$

Como se mencionó anteriormente, en las etapas posteriores al período de adaptación, la alcalinidad se determinó por un método más sencillo (método tradicional) en donde se hace

una titulación de la muestra a un pH de 5.75 y 4.3. La ventaja del método es que ambas determinaciones pueden hacerse sobre la misma muestra y es mucho más rápido que el descrito anteriormente.

En un vaso de precipitado de 50 mL se colocan 10 mL de muestra y se titulan con ácido sulfúrico 0.1 N hasta un pH de 5.75, se sigue con la titulación hasta un pH de 4.3.

Cálculos:

$$\text{mg CaCO}_3/\text{L} = (A \times B \times N) / M \quad (3-10)$$

donde:

A= mL de ácido gastados para llegar al pH 4.3

B= 50000 (eq CaCO₃)

N= normalidad del ácido sulfúrico

M= mL de muestra

La capacidad de amortiguamiento α se calcula de la siguiente manera

$$\alpha = [A_{4.3} + A_{5.75}] / A_{4.3} \quad (3-11)$$

donde:

A_{4.3} = mL de ácido usados para llegar a pH 4.3

A_{5.75} = mL de ácido para llegar a pH 5-75

3.4.2 Sólidos suspendidos volátiles

Los sólidos suspendidos volátiles se determinaron de acuerdo a la técnica reportada en los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales APHA, AWWA, WPCF (1992).

Se filtra una muestra bien mezclada por un filtro estándar de fibra de vidrio y el residuo retenido en el mismo se seca a un peso constante de 103-105°C. Posteriormente, este residuo se incinera en una mufla a peso constante a una temperatura de 550 ± 5°C. Los sólidos remanentes representan los sólidos totales fijos disueltos o en suspensión, mientras que la pérdida de peso por ignición representa los sólidos volátiles.

$$\text{mg SSV/L} = [(A-B) \times 1000] / \text{volumen de muestra} \quad (3-12)$$

A= peso del residuo seco + peso del filtro

B= peso del filtro

3.4.3 Determinación de metano

El metano en el biogás se determinó en un cromatógrafo de gases (Fisher Gas Partitioner modelo 1200) equipado con un detector de conductividad térmica y doble columna (Poropack Q con malla molecular 5A) que emplea helio como gas acarreador a un flujo de 25 mL/min. La temperatura del detector fue de 150°C. El volumen de muestra inyectado fue de 500µL.

Se tomaban muestras de biogás con una jeringa desechable (3 mL) y se inyectaban dentro de un tubo con tapón de hule y tapón de rosca perforado, completamente lleno con solución salina saturada. La solución salina era desplazada por el gas a través de una aguja de purga. De la fase gaseosa contenida en el tubo se tomaba la muestra para ser inyectada en el cromatógrafo.

El metano en la actividad metanógena se determinó en un cromatógrafo de gases Gow-Mac equipado con un detector de conductividad térmica y una columna de acero inoxidable empacada con Carbosphere que emplea helio como gas a acarreador a un flujo de 30 mL/min. Las temperaturas del inyector, columna y detector fueron 170, 140 y 190°C respectivamente. El volumen de muestra inyectado fue de 100 µL.

3.4.4 Determinación de sulfato

El contenido de sulfatos en el influente y en el efluente se determinó por el método gravimétrico con combustión de residuos, de acuerdo a la técnica de los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales (APHA, AWWA, WPCF, 1992). El sulfato precipita en una solución de HCl como sulfato de bario (BaSO_4) por adición de cloruro de bario (BaCl_2). La precipitación se realiza cerca de la temperatura de ebullición y, tras un período de digestión, el precipitado se filtra, se lava con agua destilada hasta eliminar el exceso de Cl^- , se somete a combustión a 800°C y se pesa como BaSO_4 .

La cantidad de sulfatos de obtiene de la siguiente ecuación:

$$\text{mg SO}_4^{2-}/\text{L} = [\text{mg BaSO}_4 \times 411.6]/\text{mL de muestra} \quad (3-13)$$

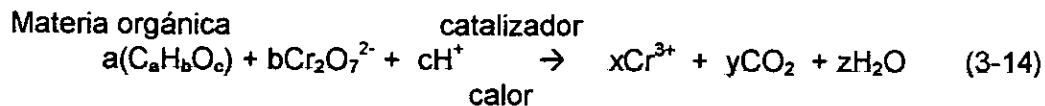
en donde:

$$[\text{Peso molecular SO}_4^{2-}/\text{Peso molecular BaSO}_4] \times 1000 = 411.6$$

3.4.5 Demanda química de oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno es una medida experimental del grado de reducción de una mezcla de compuestos y puede ser usada para hacer balances de materia y energía. Puede definirse como la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar la materia orgánica a CO₂ y agua. La relación entre la DQO y la cantidad de electrones (e⁻) disponibles en una mol de carbono de un compuesto dado para transferirse al O₂ es constante para la mayor parte de los compuestos orgánicos. A la cantidad de e⁻ disponibles en una mol de C de un compuesto dado que pueden transferirse al O₂ se le denomina grado de reducción y equivale a 0.25 mol de O₂ u 8 g de DQO.

Para determinar la DQO se utilizó un micro-método colorimétrico (Oaxaca-Grande, 1997). El método se basa en que el equivalente de oxígeno de la materia orgánica que puede ser oxidada se mide usando un agente químico fuertemente oxidante en un medio ácido. Se ha encontrado que el dicromato de potasio es excelente para este propósito. La prueba debe realizarse a una temperatura elevada. Además, se requiere de un catalizador (sulfato de plata) para ayudar en la oxidación de los compuestos orgánicos. La reacción principal usando dicromato como agente oxidante puede estar representada de una forma general por la siguiente ecuación (sin balancear):



En un tubo de ensaye con tapón de rosca se colocaron 2 mL de muestra y se adicionó 1 mL de solución de dicromato de potasio (0.21N)* y 3 mL de solución de sulfato de plata (10.12g) en ácido sulfúrico. Los tubos se taparon y se pusieron a digerir en un horno a una

temperatura de 165°C por 30 minutos. Se preparó un blanco utilizando 2 mL de agua destilada. Una vez enfriadas a temperatura ambiente, las muestras se centrifugaron a 3500 rpm por 30 minutos. Se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm (GBC UV/VIS 911) en una celda de cuarzo y la concentración de DQO se obtuvo de la curva patrón correspondiente. Las concentraciones empleadas en la curva patrón fueron en mg/L de DQO: 50, 100, 200, 320, 400, 600 y 800. Para la construcción de la curva patrón se utilizó hidrogenofalato de potasio; además, también se probaron diferentes concentraciones de glucosa para corroborar dicha curva.

*Se disuelven en agua destilada 10.216g de $K_2Cr_2O_7$, se adicionan 167 mL de H_2SO_4 concentrado y 33.3g de Hg_2SO_4 , se afora a 1 L con agua destilada.

3.4.6 Determinación de H_2S gaseoso

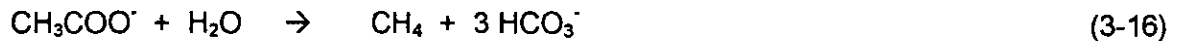
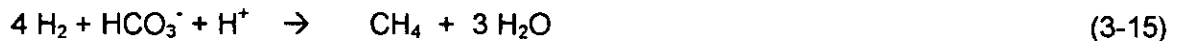
El ácido sulfhídrico en el gas se midió en un cromatógrafo de gases Varian 3400CX, equipado con una columna capilar Poraplot Q (Chrompack) de 25m X 0.32 mm, y un detector fotométrico de flama. El gas acarreador fue helio. Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 150 y 210°C respectivamente. El tamaño de la muestra fue de 1 mL.

3.5 Cálculos

3.5.1 Porcentaje de DQO usada por las bacterias metanógenas y sulfatorreductoras (Alpheenar, 1994)

En la degradación anaerobia de la materia orgánica en la presencia de sulfato, los electrones liberados (en términos de DQO) son usados por las bacterias sulfatorreductoras y las bacterias metanógenas. El flujo de electrones se puede calcular usando las siguientes ecuaciones:

Bacterias metanógenas:



La DQO de metano está dada por:



Dado que 1 mol de metano producido equivale a 64 g de DQO la cantidad de DQO utilizada por las bacterias metanógenas corresponde a:

$$\text{DQO}_{\text{BM}} = \text{moles de metano producido} \times 64 \text{ (g DQO)} = A \quad (3-18)$$

Bacterias sulfatorreductoras:



La DQO de H₂S está dada por:



De la ecuación anterior se puede hacer notar que son necesarios 0.666 g DQO para reducir 1 g de SO₄²⁻ (64 g DQO/ 96 g SO₄²⁻)

Por lo tanto, 1 mol de sulfato reducido equivale a 1 mol de H₂S producido y esto equivale a 64 g de DQO. La cantidad de sustrato usado por las bacterias sulfatorreductoras está dada por:

$$\text{DQO}_{\text{BSR}} = \text{moles de sulfato reducido} \times 64 \text{ (g DQO)} = B \quad (3-22)$$

El porcentaje de DQO usado por las BM está dado por:

$$\% \text{DQO}_{\text{BM}} = A / (A+B) \times 100 \quad (3-23)$$

El porcentaje de DQO usado por las BSR está dado por:

$$\% \text{DQO}_{\text{BSR}} = B / (A+B) \times 100 \quad (3-24)$$

Cálculo de la carga volumétrica

$$DQO_{carga} = \phi DQO_{infl} \quad (3-25)$$

Cálculo de la conversión de DQO orgánico:

$$DQO_{conv} = \phi (DQO_{infl} - DQO_{eff}) \quad (3-26)$$

$$DQO_{conv,bsr} = \phi (SO_{4,inf} - SO_{4,eff})(0.66) \quad (3-27)$$

$$DQO_{conv,bm} = \phi [(DQO_{infl} - DQO_{eff}) - (SO_{4,inf} - SO_{4,eff})(0.66)] \quad (3-28)$$

Donde:

$DQO_{infl, eff}$ = demanda química de oxígeno en el influente, efluente (g/L)

DQO_{carga} = carga volumétrica, medida como DQO (gDQO/d)

SO_4 = concentración de sulfato (g SO_4 /L)

bm = bacterias metanógenas

bsr = bacterias sulfatorreductoras

ϕ = velocidad de flujo del influente (L/d)

3.5.2 Cálculo de las actividades metanógena y sulfatorreductora

La actividad metanógena específica (AME) se calculó a partir de la pendiente (moles CH_4 /h) que resultó de graficar el número de moles de metano obtenidas vs el tiempo, como lo muestra la siguiente ecuación:

$$AME = P (24) / FC (V) (SSV) \quad (3-29)$$

donde:

AME = [gDQO CH_4 /g SSV día]

P=pendiente [moles CH_4 /h]

24 = [h/día]

FC= factor de corrección para temperatura y presión estándar [0.35 mL CH₄/g DQO]

V = volumen de líquido [L]

SSV = concentración de SSV [g/L]

De la misma manera, la actividad sulfatorreductora específica (ASE) se calculó con la pendiente de la línea que se obtuvo al graficar las moles de H₂S producido vs tiempo:

$$ASE = P (24) / FC (V) (SSV) \quad (3-30)$$

donde:

ASE = [gDQO H₂S/g SSV día]

P=pendiente [moles H₂S/h]

24 = 24 h/día

FC= factor de corrección para temperatura y presión estándar [0.35 mL H₂S/g DQO]

V = volumen de líquido [L]

SSV = concentración de SSV [g/L]

3.5.3 Cálculo del porcentaje de HS⁻ presente en el medio

El sulfuro de hidrógeno es un ácido débil y se ioniza en el agua como sigue:



$$K_1 = (HS^-)(H^+) / (H_2S) = 10^{-7.0} \quad (3-32)$$

De la ecuación anterior:

$$HS^- / H_2S = [1 / (1 + 10^{pK_1 - pH})] \quad (3-33)$$

El porcentaje de HS⁻ en el líquido será entonces el resultado de la ecuación (3-33) multiplicado por 100.

3.5.4 Cálculo del sulfuro total en el líquido

A partir de la concentración molar de sulfuro en el gas se puede obtener la concentración molar de la especie HS^- en el líquido usando la siguiente ecuación de equilibrio:

$$\frac{[\text{HS}^-][\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{S}]} = 10^{-7} \quad (3-34)$$

se calcula primero la concentración de HS^- a un pH dado de la siguiente forma:

$$[\text{HS}^-] = \frac{[\text{H}_2\text{S}] \times 10^{-7}}{[\text{H}^+]} = \frac{[\text{H}_2\text{S}] \times 10^{-7}}{10^{-\text{pH}}} \quad (3-35)$$

las concentraciones molares de H_2S y de HS^- se convierten a g/L y el sulfuro total (g/L) será la suma de ambas especies:

$$\text{ST (g/L)} = \text{H}_2\text{S (g/L)} + \text{HS}^- \text{ (g/L)} \quad (3-36)$$

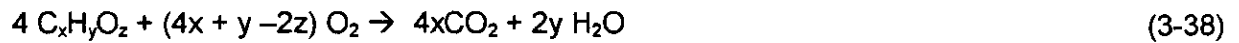
3.5.5 Cálculo de la DQO equivalente para el CH_4



De la ecuación anterior se puede determinar que por cada mol de CH_4 consumida (22.4 L a 0°C), se necesitan 2 moles de oxígeno molecular (64g), así que 0.35 L de CH_4 (22.4/64) a 0°C y 760 mmHg de presión equivalen a 1 g de DQO degradado. De la misma forma que 2.857 g de DQO equivalen a 1 L de CH_4 .

3.5.6 Cálculo de la DQO equivalente para el acetato de sodio.

Para determinar el equivalente teórico de DQO para el acetato de sodio se utilizó la siguiente ecuación (Tarvin y Buswell, 1934):



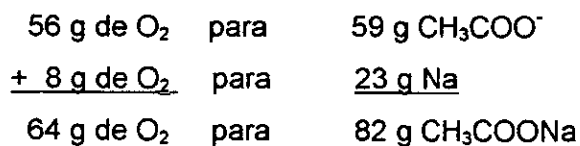
Para hacer el cálculo se utilizó primero la parte orgánica del acetato de sodio, es decir $C_2H_3O_2$; al hacer el cálculo para la fórmula anterior se obtuvo lo siguiente:



Posteriormente, se calculó la cantidad de oxígeno necesaria para oxidar un mol de sodio:



Con los datos anteriores se obtiene la equivalencia que se busca:



Por lo tanto, la equivalencia teórica de DQO para el acetato de sodio es 0.7804 g DQO/ g CH_3COONa .

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Operación del reactor

El reactor se operó por un período de 300 días. Las etapas de operación se muestran en la tabla 4.1 junto con las relaciones de DQO/SO_4^{2-} que se establecieron durante la realización del experimento. La concentración de acetato se mantuvo constante (y con ella, la concentración de DQO) y se fue variando la concentración de sulfato para poder alcanzar las diferentes relaciones de DQO/SO_4^{2-} . La forma en la que se llevó a cabo esta variación fue básicamente duplicando la cantidad de sulfato en la alimentación, como se puede apreciar en la tabla 4.1.

Tabla 4.1 Etapas de operación del reactor

Días de operación	DQO (g/L)	SO_4^{2-} (g/L)	DQO/SO_4^{2-}
0-68	Adaptación del lodo al sulfato		
69-149	2	0.2	10
150-198	2	0.4	5
199-238	2	0.8	2.5
239-276	2	1.6	1.25
276-300	2	3.2	0.625

En la etapa de adaptación al sulfato la concentración de éste se fue aumentando gradualmente. Del día 0 al día 20 el reactor se operó sin adicionarle sulfato, del día 21 al 40 la concentración de sulfato fue de 50 mg/L. A partir del día 41, la concentración de sulfato se duplicó a 100 mg/L. Finalmente, en el día 69 la concentración de sulfato se aumentó a 200 mg/L con lo que se alcanzó la relación de 10.

Conforme se iba aumentando la concentración de sulfato se notaba cada vez más la presencia de H_2S debido a su olor característico en el agua residual de salida del reactor. Hacia las últimas 2 etapas del experimento, el efluente presentaba cierto color amarillento. Además, en la salida del efluente se notaba la presencia de una película de color amarillo

alrededor de la manguera lo que presumiblemente podría ser azufre, en la pinza de metal que se usaba a la salida era evidente la corrosión causada por el H_2S . Como criterio de estabilización se determinó que, por lo menos durante 5 tiempos de residencia hidráulica consecutivos (TRH=1 día), los valores en el efluente de DQO, pH y alcalinidad tuvieran una variación de solo $\pm 10\%$.

4.2 Evolución del pH y de la alcalinidad

En la figura 4.1 se muestra la evolución del pH en el efluente del reactor con respecto al tiempo. Las líneas verticales señalan en dónde comienzan las distintas relaciones de DQO/SO_4^{2-} y en la parte superior de la gráfica se muestran los valores para dichas relaciones. Cabe destacar que el reactor se operó sin ningún tipo de control de pH por lo que se dejó que éste evolucionara naturalmente. Puede observarse que el pH varió entre 7.8 y 8.5 que es un intervalo más amplio que el óptimo para la producción de metano, el cual está entre 7 y 8 unidades. El incremento del pH en la etapa de adaptación podría ser el resultado de la estabilización del sistema y de la adición de sulfato.

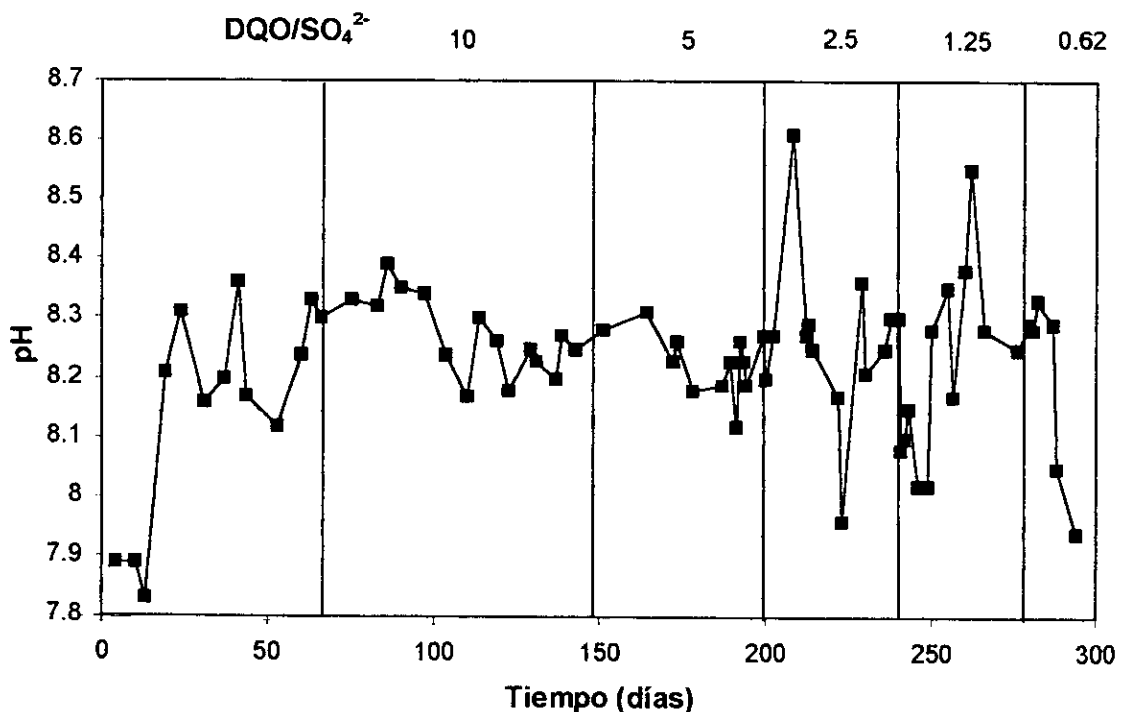


Figura 4.1 Evolución del pH en el reactor

En la etapa cuya relación DQO/SO₄²⁻ fue de 10, puede apreciarse que el reactor alcanzó un estado estacionario, puesto que la variación del pH fue sólo del 3% y, comparado con la etapa de adaptación, tuvo un comportamiento más estable. En esta etapa el valor de pH mínimo y máximo en el efluente del reactor fue de 8.17 y 8.39, respectivamente. Algo que hay que tomar en cuenta es que la escala del pH es logarítmica y que ligeras variaciones en éste, pueden representar grandes cambios en la disociación de las especies presentes en el medio. Esto es de suma importancia en este trabajo pues la toxicidad del H₂S sobre las bacterias depende en gran medida del pH.

Tanto en la etapa DQO/SO₄²⁻ igual a 10 como en la de 5, se nota un comportamiento similar. Primero se da un incremento del valor de pH al iniciar la etapa y, posteriormente, un ligero descenso. En ambos casos podría considerarse que se trata de un estado estacionario, puesto que la variación en los valores de pH no fue mayor al 5%. En las etapas posteriores se pueden apreciar mayores variaciones en el pH del efluente, aunque en ningún caso estas variaciones fueron mayores a un 10%. La variación que existió entre el valor más alto y el más bajo de pH fue de 8%, 6% y 5% para las etapas de DQO/SO₄²⁻ de 2.5, 1.25 y 0.625, respectivamente. Las variaciones en el pH podrían repercutir más en la inhibición de las bacterias ya que, en estas últimas etapas, la cantidad de sulfatos presente en el medio era mayor.

Se sabe que el H₂S disuelto en el líquido es más tóxico que el HS⁻, el sulfuro de hidrógeno es un ácido débil y, como ya se dijo, se ioniza en el agua como sigue:



$$K_1 = (\text{HS}^-)(\text{H}^+) / (\text{H}_2\text{S}) = 10^{-7.0} \quad (4-2)$$

A un valor de pH mayor a 8, el porcentaje de HS⁻ resulta ser más del 86%, con la consecuente disminución del porcentaje de H₂S (no ionizado). En la figura 4.2 se muestran los porcentajes calculados para la especie HS⁻ para cada etapa, basándose en los resultados de pH obtenidos. Puede observarse que la cantidad de HS⁻ estuvo entre un 89.7 y un 97%. Por esto tal vez no hubo una inhibición total de las bacterias metanógenas y sulfatorreductoras durante el experimento. El reactor estuvo operando con un porcentaje de HS⁻ en el líquido de hasta 97% lo que en términos de la toxicidad del H₂S representa una gran ventaja, sobre todo

para las bacterias metanógenas, porque la especie más tóxica (H_2S no ionizado) estuvo presente en una cantidad mínima (3-10%).

Speece (1996) recomienda incrementar el pH como una medida de control de los sulfuros. Dado que la constante de ionización del H_2S es equivalente a aproximadamente 6.8-7.0, lo cual es muy cercano al pH de operación de un reactor anaerobio, un incremento en el pH cambia significativamente la ionización de H_2S a HS^- . Esto implica que un incremento de 0.3 unidades de pH duplican la relación $[\text{HS}^-]/[\text{H}_2\text{S}]$. Lo anterior incrementa la cantidad de HS^- que sale del reactor con el efluente líquido y da como resultado una baja concentración de H_2S en el gas así como en el líquido.

Sin embargo, es necesario destacar que, en el caso de la inhibición de las BSR, se ha encontrado que dicha inhibición está regulada por la cantidad de sulfuro total (ST); es decir, por la suma de las especies H_2S y HS^- , mientras que la inhibición de las BM es causada por la concentración del H_2S no disociado (Hilton y Oleszkiewicz, 1988).

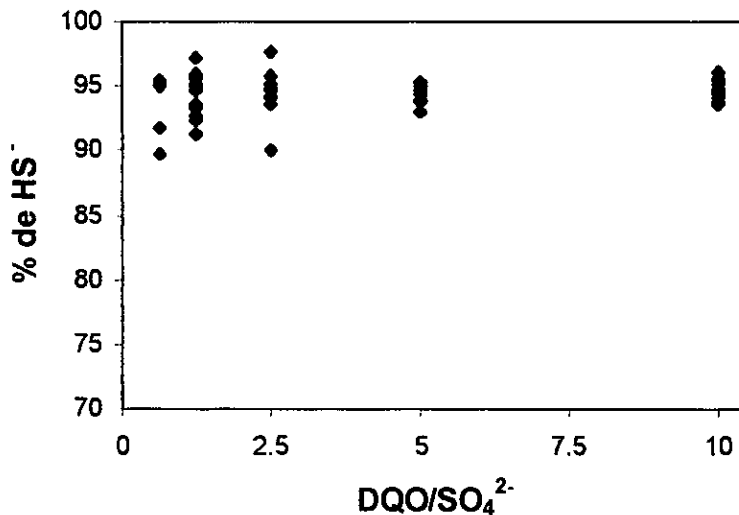


Figura 4.2 Porcentaje de HS^- en el líquido

El pH no solo resulta ser importante en cuanto al efecto que pueda tener sobre la toxicidad del H_2S , sino que también tiene repercusión en las velocidades de crecimiento de las bacterias.

Se considera que las bacterias metanógenas predominantes en los reactores anaerobios son de la especie *Methanothrix soehngenii* (Visser, 1995). El pH óptimo, mínimo y máximo para el crecimiento de dicho microorganismo es 7.1-7.8, 6.8 y 8.3, respectivamente. Para *Methanosarcina* sp., otra bacteria metanógena acetotrófica, los valores de pH óptimo, mínimo y máximo son 6.5-7.5, 5.5 y 8.0, respectivamente (König y Stetter, 1984). Por otro lado, las bacterias sulfatorreductoras que se han aislado hasta ahora, muestran un pH óptimo en el intervalo de 7.3 a 7.6 y los valores máximos y mínimos son 6.0 y 9.0 respectivamente (Widdel y Pfennig, 1984). De los datos anteriores se puede observar que las BSR toleran valores más altos de pH que las BM. Dado que el reactor estuvo operando a valores muy cercanos y, en ocasiones, mayores que los máximos para las BM puede decirse que las BM estuvieron bajo condiciones de "estrés", lo que también pudo tener una repercusión considerable al momento de la competencia por el acetato.

Con respecto a la velocidad de crecimiento, es claro que el pH al que estuvo operando el reactor fue más favorable para las bacterias sulfatorreductoras que para las bacterias metanógenas; sin embargo, Hilton y Oleszkiewicz (1988) reportan que la combinación de valores altos de pH con altas concentraciones de sulfuro serían favorables para las bacterias metanógenas, puesto que la concentración de H_2S sería lo suficientemente baja, tal como se mostró anteriormente (Figura 4.2). En el presente estudio se encontró que las bacterias metanógenas no fueron inhibidas totalmente, lo que está en concordancia con lo reportado en la literatura.

Visser (1995), por otro lado, reporta que el pH y la concentración de sulfuros juegan un papel importante en la competencia entre las BSR y las BM. Sus estudios indican que, para valores de pH mayores a 7.7, las BSR predominarán sobre las BM, pues bajo estas condiciones las BSR tienen mayores tasas de crecimiento y son inhibidas en menor medida que las BM. Sin embargo, él mismo sugiere la validación de sus resultados con experimentos a largo plazo en sistemas continuos.

Con base en los valores de pH, no es posible establecer si en este trabajo existió un predominio de las bacterias metanógenas sobre las bacterias sulfatorreductoras.

Con respecto a la alcalinidad (Figura 4.3), puede observarse que en la etapa de adaptación se mantiene muy estable y dentro del intervalo óptimo para la digestión 1500-3000 (Metcalf y Eddy, 1991). La mayor parte del tiempo la alcalinidad se mantuvo entre 1500 y 2300 mg CaCO₃/L, con la excepción de la etapa DQO/SO₄²⁻ igual a 5 en donde la alcalinidad bajó hasta 1249 mg CaCO₃/L. Podría pensarse que el descenso en la alcalinidad se debió a la acumulación de acetato dentro del reactor pero las eficiencias de remoción de acetato en esta etapa estuvieron entre 81 y 92%, por lo que una acumulación de acetato quedaría descartada.

El aumento de la alcalinidad hacia la etapa 2.5 pudo ser originado por la cantidad de sulfato presente en el medio. La alcalinidad a partir de los sulfatos se origina de acuerdo a la siguiente ecuación:



Se produce un mol de bicarbonato por cada media mol de sulfato reducido.

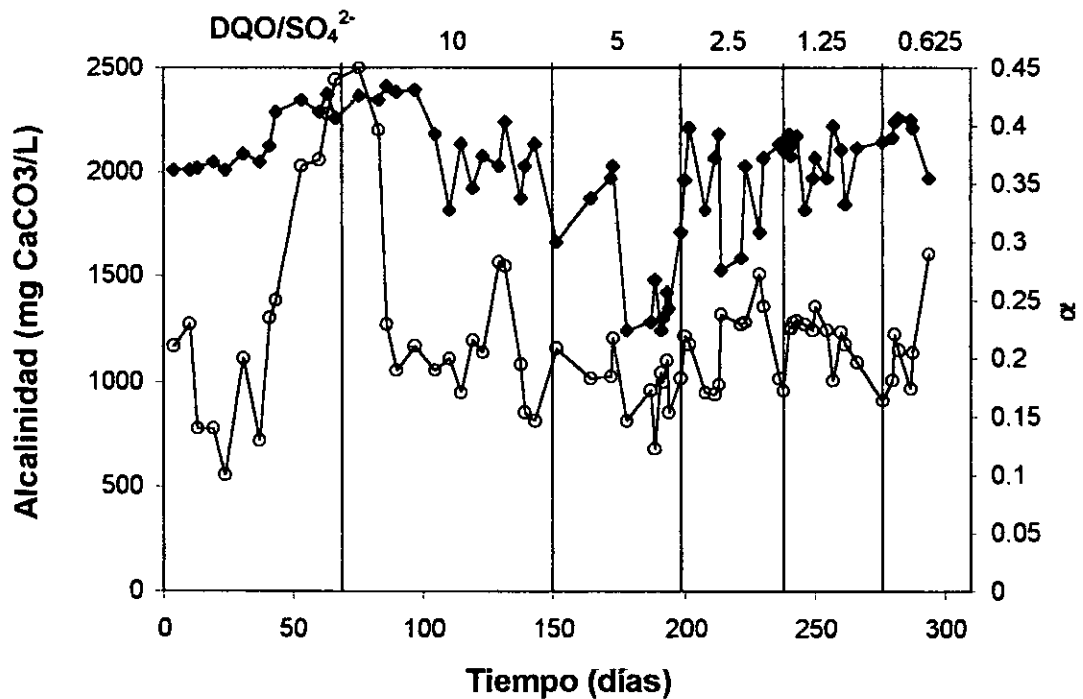


Figura 4.3 Evolución de la alcalinidad (♦) y del factor alfa (○) en el reactor

Además, en el biogas la cantidad de CO_2 que estaba presente era mínima, menos del 10%. Lo anterior hace suponer que la mayoría del CO_2 se encontraba disuelto en forma de HCO_3^- . A pesar de que el reactor no fue controlado en cuanto a pH y alcalinidad se refiere, el comportamiento de estos dos parámetros se mantuvo en el orden de los valores esperados y recomendados para el proceso metanogénico.

En la figura 4.3 también puede observarse la evolución del factor α con respecto al tiempo. Se aprecia que en la etapa previa a la relación $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ con valor de 10, el factor alfa incrementó notablemente, alcanzando un valor hasta de 0.45. Sin embargo la recuperación del reactor fue rápida y cabe señalar que en esta situación se permitió la evolución del reactor libremente, es decir no se adicionó bicarbonato de sodio al reactor. Posteriormente, se observa una estabilización en las etapas subsecuentes manteniéndose en un intervalo entre 0.15 y 0.28. Estos valores son aceptables si se toma en cuenta que el pH del reactor no fue controlado.

4.3 Remoción de DQO y producción de metano

En la figura 4.4 se muestra el % de conversión de DQO con respecto al tiempo, se puede apreciar que la remoción baja al inicio de cada etapa y luego se recupera de nuevo, esto puede interpretarse como periodos de adaptación no tanto a la carga orgánica que era la misma en todas las etapas (2gDQO/L) sino a la cantidad de sulfato adicionado.

Es muy notorio el aumento que se tiene al pasar de la etapa de adaptación a la etapa de $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ igual a 10. Dicho aumento puede ser atribuido a una mayor participación de las bacterias sulfatorreductoras en la degradación de la DQO.

Si se observan las relaciones de $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 10 a 2.5 se aprecia una tendencia a la baja del porcentaje de DQO removido y, en cambio, se observa un aumento del porcentaje de DQO removido en las etapas de $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 1.25 y 0.625, en donde la cantidad de carbono puede considerarse como insuficiente para las bacterias. Por lo anterior, la relación $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 1.25 parece ser que es la relación en donde las bacterias metanógenas podrían ser inhibidas por la cantidad de sulfatos presente 1600 mg/L y en donde también se podría estar

dando una fuerte competencia entre las BM y las BSR. Lo anterior concuerda con lo observado por Choi y Rim (1991) en donde la eficiencia de remoción de DQO decreció desde una relación DQO/SO_4^{2-} 13.3 hasta una de 1.0 y existió un aumento en la remoción de DQO al bajar la relación DQO/SO_4^{2-} de 1.7 hasta 0.4 en una unidad anaerobia de contacto.

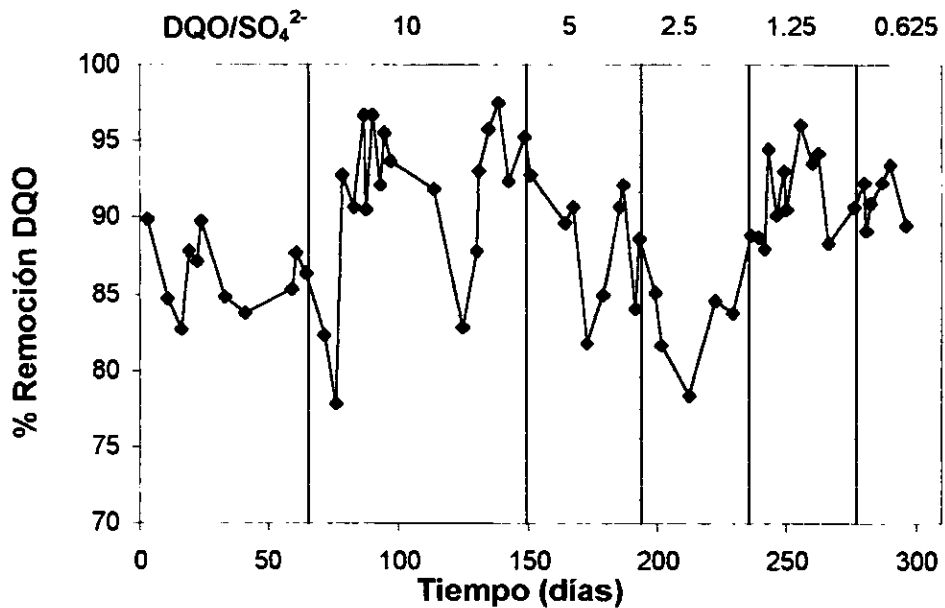


Figura 4.4 Eficiencia de remoción de DQO con respecto al tiempo

En general, el reactor presentó buenas eficiencias de remoción de DQO, teniendo máximos porcentajes de remoción entre 96 y 97% en el período en que la relación de DQO/SO_4^{2-} fue de 10, mostrando que a esta relación se puede llevar a cabo el proceso metanogénico sin ningún problema de tipo inhibitorio o de competencia entre las bacterias, tal como está establecido en la literatura (Rinzema y Lettinga, 1988 a,b).

En la etapa correspondiente a la relación DQO/SO_4^{2-} de 5, los porcentajes de remoción estuvieron entre 81.72 y 92.84%. Para la siguiente etapa (2.5), el porcentaje máximo de remoción que se alcanzó fue de 88.8% y el mínimo fue de 78.36%. Para las etapas correspondientes a las relaciones 1.25 y 0.625, los porcentajes de remoción se mantuvieron dentro de los mismos valores observados en las etapas previas, siendo los máximos de 96.02 y 93.40% y los mínimos de 88.70 y 89.11%, respectivamente. En estas dos últimas etapas los porcentajes de remoción de DQO son un poco más altos con respecto a las dos etapas

anteriores, debido a que la relación de DQO/SO_4^{2-} era mucho menor. Se esperaba una disminución en la remoción de DQO debida a las altas concentraciones de sulfato con las que se estaba operando el reactor. En la literatura se reportan eficiencias de remoción de DQO orgánico del 99% para reactores UASB con relaciones de DQO/SO_4^{2-} de 10.39, 3.62 y 0.5 (Visser, 1995). Por otro lado Choi y Rim (1991) reportan eficiencias de remoción entre el 80 y el 85% para un reactor de película fija, con relaciones de DQO/SO_4^{2-} de 0.4 y 0.8 en el influente.

La evolución general del reactor durante el experimento se muestra en la figura 4.5 en donde se puede apreciar que la velocidad de remoción de DQO fue dominada por la carga orgánica impuesta en el reactor y se observa que existen variaciones hacia los inicios de las diferentes etapas. Estas variaciones pudieron deberse a la modificación de las relaciones DQO/SO_4^{2-} .

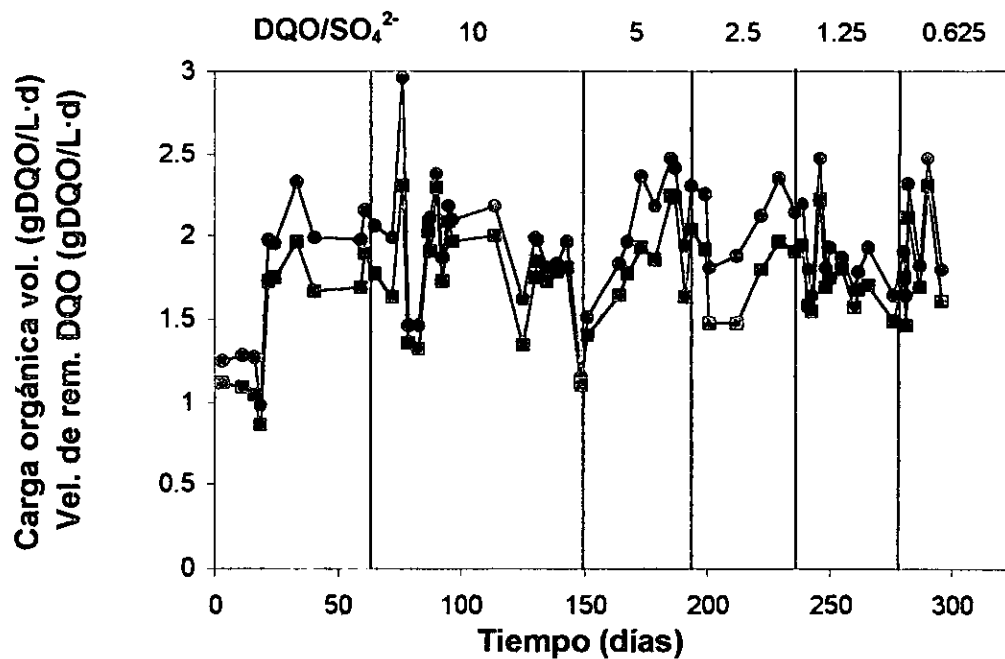


Fig. 4.5 Carga orgánica volumétrica (●) y velocidad de remoción de DQO (■)

De la etapa DQO/SO_4^{2-} igual a 5 en adelante, la velocidad de remoción permaneció constante y se puede observar un ligero aumento con respecto a la relación DQO/SO_4^{2-} de 10. Esto se puede apreciar muy bien en la figura 4.6, en donde se muestran los promedios de la

carga orgánica y la velocidad de remoción con respecto a las diferentes relaciones de DQO/SO_4^{2-} . El tiempo de residencia hidráulica del reactor fue de 1 día, como ya se ha mencionado.

Dado que la actividad metanógena del lodo permaneció constante, el aumento en la velocidad de remoción que se observa en la etapa de adaptación puede atribuirse a un incremento en la concentración de la biomasa, y podría asumirse que las BSR contribuyeron en mayor medida a este incremento, puesto que sus velocidades de crecimiento son mayores que las de las BM.

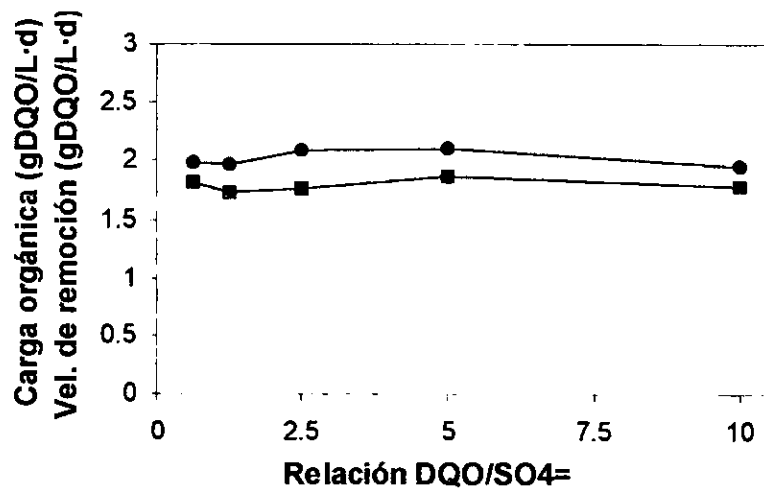


Figura 4.6 Carga orgánica y velocidad de remoción de DQO con respecto a las diferentes relaciones DQO/SO_4^{2-} : (●) Carga orgánica, (■) velocidad de remoción de DQO

En la figura 4.7 se muestra la producción de gas metano expresada como LCH_4/L día, con respecto a las diferentes relaciones de DQO/SO_4^{2-} . Teóricamente, el metabolismo completo de 1kg de DQO producirá 0.25 kg de CH_4 pues la DQO equivalente del metano es 64 g de $O_2/16$ g de CH_4 . El número de moles producidas será de $250 \text{ g}/16\text{g} = 15.6$ moles. Como el volumen de una mol de gas es de 22.4 L, el volumen total de gas producido a condiciones estándar de temperatura y presión es:

$$V = 22.4 \text{ L/mol} \times 15.6 \text{ moles} = 349 \text{ L} = 0.35 \text{ m}^3$$

Por lo anterior, la máxima producción teórica de metano a condiciones estándar de temperatura y presión es de $0.35 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg DQO}$. En la literatura se reportan datos de producción de biogas del orden de 0.37 a $0.5 \text{ m}^3 \text{ CH}_4/\text{kg}$ de DQO removido (Souza et al., 1992; Pohland, 1992), probablemente a las condiciones de sus experimentos.

La producción de metano teórica se calculó de la siguiente manera:

$$Q_{\text{CH}_4} \text{ teórica [L/ L día]} = \{F [\text{DQOremovido} - (\text{SO}_4^{\text{=}}\text{removido})(0.6666)](0.35)\} / \text{L reactor}$$

donde:

$$F = \text{flujo influente } 2.469 \text{ L/día}$$

$$\text{DQO removido} = \text{DQOinfluyente} - \text{DQOefluente [g/L]}$$

$$\text{SO}_4^{\text{=}} \text{ removido} = \text{SO}_4^{\text{=}}\text{influyente} - \text{SO}_4^{\text{=}}\text{efluente [g/L]}$$

$$0.66 = 64 \text{ g DQO} / 96 \text{ g SO}_4^{\text{=}}$$

$$0.35 \text{ L/g DQO} = \text{máxima producción de metano @ } 1 \text{ atm y } 25^\circ\text{C}$$

$$\text{L reactor} = 2.4\text{L}$$

Para calcular la producción experimental de metano a condiciones estándar se utilizó la siguiente ecuación:

$$Q_{\text{CH}_4} \text{ experiemetal [L/L día]} = (\text{L CH}_4/\text{día}) / (\text{L reactor})$$

El volumen de CH_4 se calculó sustituyendo las moles de metano obtenidas en el cromatógrafo, en la ecuación de estado de los gases ideales a condiciones estándar de temperatura y presión. Luego, este volumen se multiplicó por los litros de biogas obtenidos al

día. En la Figura 4.7 puede observarse que la producción de metano experimental difiere de la producción de metano teórica. Esta variación puede atribuirse principalmente a una valoración poco confiable del metano en el biogás, debido a la metodología empleada, pues es necesario realizar varias mediciones de metano durante el día para garantizar una medición precisa, confiable y exacta (Monroy, 1999). Como se mencionó en el capítulo de "Materiales y métodos", las mediciones de metano en el biogás se realizaban tomando una muestra de biogás del reactor y colocando la muestra dentro de un tubo con una solución saturada de NaCl. De aquí se tomaba la muestra para ser inyectada al cromatógrafo. Las muestras no se leían inmediatamente sino que se almacenaban en cuarto frío y, aunque el metano no es muy soluble en agua, las mediciones son relativamente confiables y pueden ser tomadas en forma cualitativa más que cuantitativa, es decir como indicador de la presencia de metano en el biogás, como una primera aproximación.

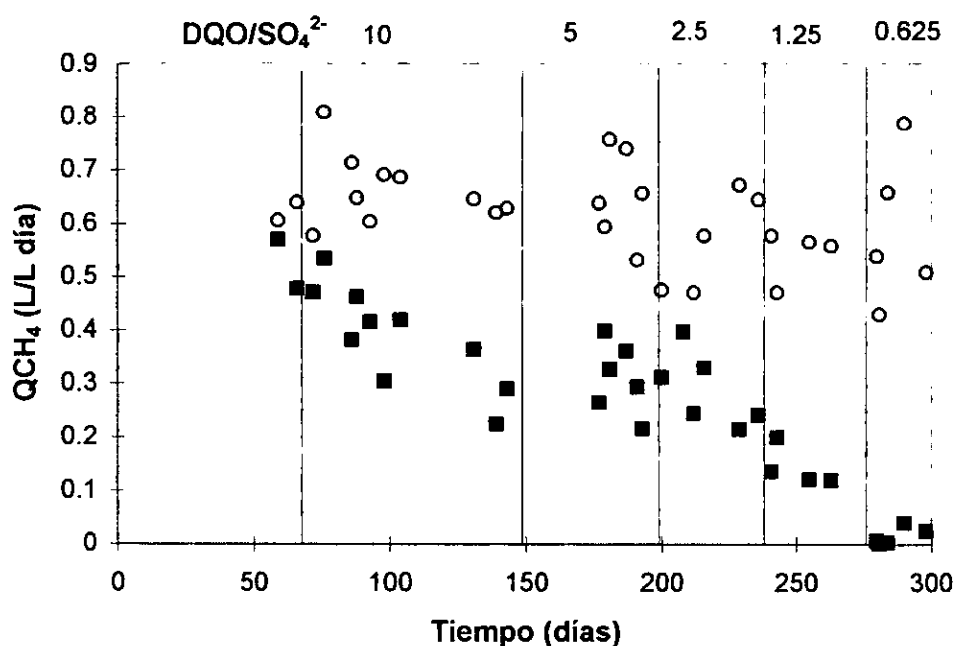


Fig. 4.7 Producción de metano a diversas relaciones de DQO/SO₄ con respecto al tiempo (■)experimental, (○) teórica

Dentro del cálculo teórico de producción de metano se está considerando la DQO utilizada por las bacterias sulfatorreductoras. Además, los valores de remoción de DQO obtenidos

fueron aceptables (de más del 80%), por lo que una inhibición sobre las bacterias metanógenas no ocurrió en este sistema.

Por lo anterior, los cálculos realizados para la cuantificación de los porcentajes de DQO utilizados por las bacterias metanógenas y las bacterias sulfatorreductoras se realizaron tomando en cuenta la producción teórica de metano.

4.4 Remoción de sulfatos

La figura 4.8 muestra la evolución de la concentración de sulfatos y el porcentaje de remoción de sulfatos a lo largo del experimento. Puede apreciarse perfectamente la disminución que existió en el porcentaje de remoción de sulfatos durante el experimento.

En las etapas con DQO/SO_4^{2-} de 10 a 1.25 existía un exceso de sustrato con respecto al sulfato, mientras que en la etapa 0.625 teóricamente existía suficiente sulfato para poder oxidar la mayoría del acetato vía sulfatorreducción. Al operar el reactor con un exceso de sulfatos, la limitación por sulfato y la competencia por éste ya no son tan relevantes. Sin embargo, puede ocurrir que exista limitación por sulfatos para las BSR en el gránulo del lodo, aún a concentraciones de SO_4^{2-} que podrían considerarse altas, debido a limitaciones de transferencia de masa del sulfato hacia la biomasa. Nielsen (1987) reporta que una biopelícula de aproximadamente 300 μm en espesor, será limitada por sulfatos si la concentración de sulfato en el seno del líquido es menor de 50 mg/L.

Por otra parte, Visser (1995) reporta que la afinidad aparente de las BSR en el lodo granular indicó que a concentraciones de sulfatos menores a 350 mg/L el crecimiento de las BSR en los gránulos de lodo estará limitado por sulfatos.

Durante la etapa 10, el valor promedio de porcentaje de remoción de sulfato fue de 52.9%. Durante esta etapa del experimento, el proceso de reducción de sulfatos probablemente estuvo limitado por el sulfato debido a una limitación en su transporte en los gránulos del lodo, pues la concentración de sulfatos en el influente era sólo de 200 mg/L.

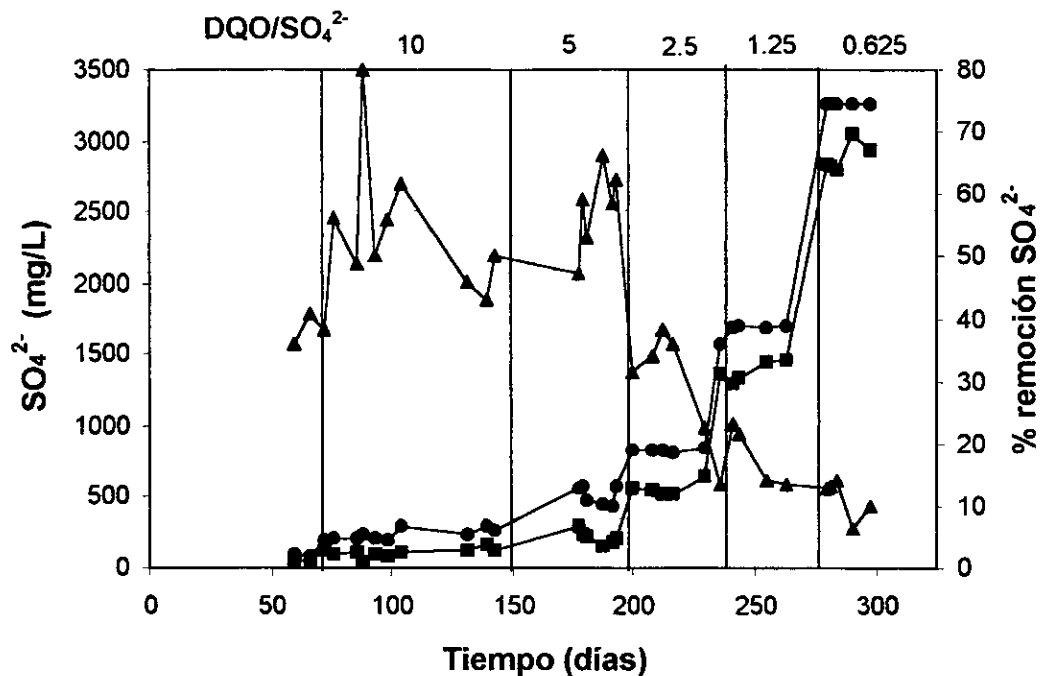


Fig. 4.8 Concentración de sulfato (mg/L) en el influente (●), en el efluente (■) y porcentaje promedio de remoción de sulfato (▲)

En la relación DQO/SO₄²⁻ de 5, el valor promedio que se obtuvo fue de 57.6%. En esta etapa, el aumento en la remoción de sulfatos podría atribuirse a que existía una mayor cantidad de sulfatos en el medio. Para la siguiente etapa, el valor promedio de remoción de sulfatos fue de 32.4%, en la etapa DQO/SO₄²⁻ igual a 1.25 el valor obtenido de remoción de sulfatos fue de 17% y, finalmente, para la última etapa (DQO/SO₄²⁻=0.625) el promedio de remoción de sulfatos fue sólo del 11.2%, todas estas con respecto a la cantidad total de sulfatos en el influente. Si embargo, la cantidad neta de sulfato transformada es relativamente similar entre cada una de las etapas experimentales.

Los datos de Visser (1995) reportan porcentajes de remoción de sulfatos del orden del 82% para un reactor UASB con una relación DQO/SO₄²⁻ de 10.39 y del orden del 70% para un reactor UASB con relación DQO/SO₄²⁻ de 2, que son más altos que los obtenidos en este trabajo. Al comparar los resultados con los obtenidos por Choi y Rim (1991), se observa un comportamiento similar. Estos autores reportan porcentajes de remoción de aproximadamente 60, 50 y 30% para relaciones de DQO/SO₄²⁻ de 1.0, 0.8 y 0.4, respectivamente, y sugieren que

la disminución en los porcentajes de remoción se debe a una inhibición no competitiva a una concentración de 2000 mg/L de sulfato. La disminución en la remoción de sulfato obtenida en la fase 0.625 de DQO/SO₄²⁻, estaría totalmente apoyada en esta hipótesis pues la concentración de sulfato que se tenía en esta etapa era de 3200 mg/L.

Respecto de la remoción de sulfato podría argumentarse que existió un predominio en la utilización del acetato, siendo las BM predominantes sobre las BSR y, dado que al inicio el lodo no presentaba actividad sulfatorreductora, puede decirse que las condiciones del experimento resultaron ser más adversas para que las BSR pudieran predominar sobre las metanógenas, a pesar de que en el medio existía suficiente sulfato que degradar. Hulshoff Pol (1998) señala que las bacterias sulfatorreductoras acetoclásticas presentan una baja afinidad por el acetato, mientras que Omil et al., (1996) encontraron que un lodo sulfurogénico disminuía su eficiencia de remoción de sulfatos de 45% a 29% cuando las bacterias metanógenas proliferaban en el lodo.

Puede concluirse que no hubo suficiente población de bacterias sulfatorreductoras que tomaran la DQO, produciendo H₂S que inhibiera el sistema. El lodo se adaptó a la cantidad de sulfato pero la presencia de una concentración cada vez mayor de este sustrato no aumentó la población de BSR.

Con respecto a la inhibición de las bacterias metanógenas por el sulfato, en la literatura se reporta que la operación de un reactor con influentes que contenían de 2 a 4 g/L de sulfato, tuvo un desempeño regular (Harada et al., 1994). Por otra parte, Karhadkar et al. (1987) condujeron experimentos de toxicidad anaerobia del sulfato sobre las bacterias metanógenas y observaron que no existió inhibición de las bacterias metanógenas aún a una concentración de sulfatos de 5000 mg/L. La concentración máxima de sulfatos con la que se estuvo operando el reactor fue de 3200 mg/L, por lo que quedaría descartada la inhibición de las bacterias metanógenas debida a la concentración de sulfatos.

Resulta interesante el hecho de que a partir de la etapa DQO/SO₄²⁻ igual a 5 hasta la etapa 0.625, la cantidad de sulfato removido en promedio resultó ser muy similar, 293.51 mg/L, 268.80 mg/L, 287.26 mg/L y 367.17 mg/L, respectivamente. En la etapa con DQO/SO₄²⁻ de 10, la cantidad removida de sulfato fue menor (124.64 mg/L). Esto se aprecia muy bien en la figura

4.8, donde, a pesar de existir suficiente sulfato en la alimentación, las bacterias no fueron capaces de degradar más DQO. Lo anterior puede atribuirse a la población bacteriana sulfatorreductora que, aunque no fue cuantificada, refleja una actividad sulfatorreductora relativamente constante.

Para que se reduzca 1 g de sulfato teniendo como agente reductor al acetato se necesitan 1.49 g de DQO. Lo anterior quiere decir que, para que se hubiera llevado a cabo una total reducción del sulfato que se adicionaba al influente, la cantidad de DQO en la alimentación debió de ser por lo menos 3 veces mayor a la cantidad de DQO con la que se estuvo trabajando, que fue de 2 g/L de DQO. El hecho de que la cantidad de sulfato removido haya permanecido más o menos constante a partir de la etapa 5 significa que, finalmente, las BSR no pudieron predominar sobre las BM. Si se supone que la mayoría de las bacterias sulfatorreductoras presentes en el reactor eran bacterias acetotróficas, el hecho de que éstas no hayan degradado más sulfato se debe a que este tipo de bacterias tiene una baja afinidad por el acetato (Hulshoff Pol, 1998).

En cuanto a la inhibición por sulfuro de hidrógeno de las bacterias metanógenas y sulfatorreductoras, es necesario aclarar que no se pudo realizar un mayor número de mediciones de H₂S en el gas con la regularidad que se había propuesto, debido a problemas de índole logística, pudiendo solamente hacer determinaciones en las dos últimas etapas del experimento.

La tabla 4.2 muestra los valores obtenidos de H₂S (no ionizado), HS⁻ y sulfuro total (ST) en el líquido. El cálculo de las distintas especies se realizó a partir de la concentración de H₂S en el gas y, suponiendo que para un sistema en equilibrio, el H₂S no ionizado en el líquido se encuentra en equilibrio con el H₂S en la fase gaseosa, de tal manera que existe una relación entre la composición del H₂S en el gas y en el líquido, el pH no tiene efecto sobre esta relación, pero sí determina la cantidad de sulfuro disuelto en la fase líquida. A partir de la siguiente ecuación pueden llevarse a cabo los cálculos correspondientes (Speece, 1996).



Despejando se obtiene:

$$[\text{HS}^-] = \{(\text{H}_2\text{S}) (10^{-7})\} / [\text{H}^+] \quad (4-6)$$

Una vez obtenida la concentración de HS^- solo es necesario sumar la concentración de H_2S y se obtiene la concentración de ST.

Tabla 4.2 Concentración de H_2S , HS^- y ST para las etapas $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 1.25 y 0.625

$\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$	H_2S gas [M]	H_2S líq [mg/L]	HS^- [mg/L]	ST [mg/L]
1.25	0.00045987	15.6355	269.8655	285.5010
1.25	0.00047738	16.2308	280.1405	296.3713
1.25	0.00048616	16.5294	285.2944	301.8239
1.25	0.00040946	13.9216	141.4904	155.4121
1.25	0.00032623	11.0916	191.4397	202.5314
0.625	0.0005932	20.1687	418.5188	438.6876
0.625	0.00055242	18.7821	389.7443	408.526

McCartney y Oleszkiewicz (1993), señalan que es complicado evaluar el sistema de los sulfuros en medio acuoso, debido a la disociación en el equilibrio del sulfuro soluble, el equilibrio entre el sulfuro presente en el gas y en el líquido y las solubilidades de varios sulfuros metálicos. Por otra parte, Speece (1996) señala que realizar un balance de materia sobre el sulfuro en el tratamiento anaerobio es difícil puesto que existe un abatimiento del sulfuro debido a varias razones, como son: La concentración de SO_4^{2-} en el influente y efluente, la concentración de H_2S en el gas de salida, el ST en el efluente, la síntesis microbiana de azufre y la precipitación interna del sulfuro u otros compuestos azufrados.

En la tabla 4.2 se aprecia que las cantidades de H_2S en el líquido resultaron ser no inhibitorias cuando se les compara con las concentraciones reportadas en la literatura que causan un 50% de inhibición sobre la sulfatorreducción o la metanogénesis. En el caso de la metanogénesis, los valores reportados muestran una gran variación siendo de 24 mg/L, 38 mg/L, 90 mg/L y 100 mg/L, respectivamente (McCartney y Oleszkiewicz 1993, Koster et al., 1986, Visser et al., 1993a, Oleszkiewicz et al., 1989). El hecho de que el porcentaje de H_2S no ionizado sea muy bajo se debe principalmente al pH, como se ha visto anteriormente. A valores altos de pH (>8), el porcentaje de H_2S no ionizado tiende a ser menor de 80%. Lo anterior podría verse como una ventaja para los dos tipos de bacterias pues, en principio, es el H_2S no ionizado el que presumiblemente causa la inhibición sobre ellas. Sin embargo, es

importante no perder de vista un detalle y es que las bacterias sulfatorreductoras y metanógenas en lodo granular son inhibidas principalmente por el sulfuro total (ST) más que por el H_2S no disociado. Varios autores reportan lo anterior: Koster et al. (1986) para BM en lodo granular, Oleszkiewicz et al. (1989) para BSR en lodo suspendido y Visser et al. (1996) para BSR y BM en lodo granular. Por lo tanto, no podrá esperarse una reducción en la inhibición por sulfuro a un pH alto; por el contrario, a valores de pH altos la concentración de sulfuro total en el reactor aumenta y, en consecuencia, se tendrá una mayor inhibición de ambos tipos de bacterias. Las concentraciones, que causan un 50% de inhibición sobre las BM son 450 mg/L, 590 mg/L y 841 mg/L, respectivamente (Visser et al., 1993a, Visser et al., 1996, Koster et al., 1986) a valores de pH entre 7.8 y 8.3 teniendo acetato como sustrato.

Como puede observarse en la tabla 4.2, ninguno de los resultados obtenidos de sulfuro total resulta ser inhibitorio para las bacterias metanógenas. De esta forma, la posible inhibición por sulfuro de hidrógeno sobre ellas no parece ser significativa.

Por otro lado, Hilton y Oleszkiewicz (1988) concluyeron que las BSR fueron inhibidas en proporción a la concentración de ST y no por la concentración de sulfuro de hidrógeno no ionizado, mientras que la utilización de acetato por las BM fue inhibida más por el sulfuro de hidrógeno que por el ST. También observaron que, en presencia de altas concentraciones de ST y a un pH alto, el flujo de electrones era orientado hacia la metanogénesis. Esto podría ser la explicación de por qué las BSR degradaron tan poco sulfato. Por lo que se pudo observar en las dos últimas etapas, la cantidad de ST era mucho mayor que la cantidad de H_2S no ionizado y esto, presumiblemente, pudo favorecer que las bacterias metanógenas dominaran sobre las sulfatorreductoras.

En el caso de la inhibición de las BSR por sulfuro de hidrógeno, se encuentran muy pocas referencias. Visser et al. (1996) reporta que una concentración de 1,125 mg/L de ST causa el 50% de inhibición de la actividad en lodo granular, mientras que 921 mg/L de sulfuro total inhibe en un 50% el crecimiento de las BSR. Analizando los resultados obtenidos en este estudio, es claro que las concentraciones de sulfuro total obtenidas (155-438 mg/L) son menores a las que resultan ser inhibitorias para las BSR en lodo granular y a un pH de 8.

4.5 Porcentaje de DQO utilizado por las BM y las BSR

Los porcentajes de DQO utilizados por las bacterias metanógenas y sulfatorreductoras se muestran en la figura 4.9 con respecto a las diferentes etapas de DQO/SO_4^{2-} . Los porcentajes promedio de utilización de DQO por las bacterias metanógenas fueron 95.62, 90.05, 89.88, 87.30 y 86.15% para las relaciones de DQO/SO_4^{2-} de 10, 5, 2.5, 1.25 y 0.625 respectivamente. Como se había mencionado anteriormente, el reactor presentó una buena remoción de DQO.

Puede observarse que el porcentaje de utilización de DQO por las bacterias metanógenas es mucho mayor que el porcentaje de DQO utilizado por las bacterias sulfatorreductoras. Visser et al. (1993b) reportan una remoción de DQO por parte de las BM de aproximadamente 95% en un reactor con una relación de 10.39 de DQO/SO_4^{2-} . En los experimentos realizados por Omil et al. (1996) en un reactor inoculado con lodo sulfurogénico, en el que las BSR habían sido las predominantes, las bacterias metanógenas fueron capaces de proliferar cuando el inóculo utilizado contenía mayor cantidad de acetato, debido a la gran capacidad que tienen de crecer sobre acetato. Cabe mencionar que, aún con una relación de DQO/SO_4^{2-} de 0.47, las BM utilizaron el 41% de la DQO.

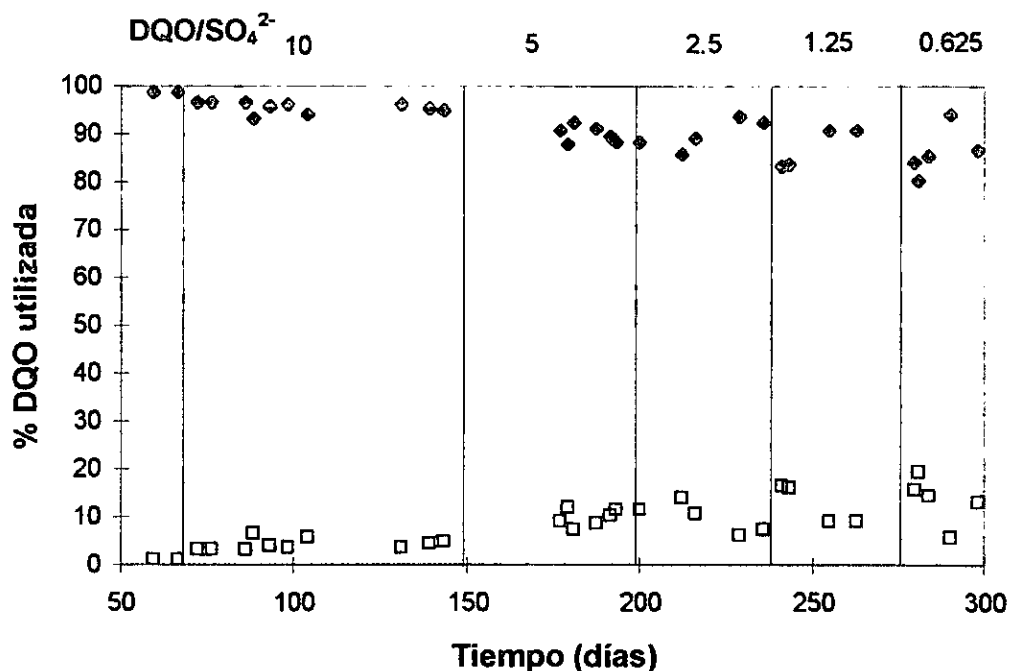


Figura 4.9 Porcentaje de DQO usada por las BM (◆) y las BSR (□)

Con respecto a la competencia entre las BM y las BSR por acetato en reactores anaerobios, la literatura muestra resultados inconsistentes. Tanto una conversión completa del acetato a metano, aún con un exceso de sulfato 10 g/L (Hoeks et al. 1984), como un predominio de las BSR (Alpheenar et al., 1993; Omil et al., 1996; Stucki et al., 1993). Por otro lado, Choi y Rim (1991) reportan un predominio de las BSR sobre las BM a una relación de DQO/SO_4^{2-} mayor que 2.7, mientras que a relaciones de DQO/SO_4^{2-} entre 1.7 y 2.7 las BM y las BSR se vuelven muy competitivas.

Visser et al. (1993b) también muestran que a relaciones de DQO/SO_4^{2-} de 3.6 y 0.6 en diferentes reactores operados por 170 días, los porcentajes de remoción de DQO por las BSR fueron de 17 y 20%, respectivamente. En estudios realizados en un reactor sometido a cambios en la relación DQO/SO_4^{2-} de 2, 1 y 0.62, los porcentajes de DQO removida por las BSR pasaron del 23% al 100% en la última etapa del experimento, después de un largo período de operación, siendo este de 1200 días en total (Visser, 1995).

La comparación entre los dos experimentos mencionados indica que las BSR sí pueden llegar a predominar sobre las BM, aunque para que esto suceda se necesita un largo período de tiempo. Otros autores encontraron un comportamiento similar. Harada et al. (1994) reportan el predominio de las BSR después de un largo período de tiempo.

En cuanto a los resultados obtenidos en el presente estudio, puede observarse que las BSR no lograron utilizar más del 20% de la DQO, por lo que, como ya se mencionó antes, puede decirse que no existió un predominio de dichas bacterias sobre las BM. Estas últimas utilizaron entre el 80 y 98% de la DQO, lo que demuestra que no existió una inhibición de las bacterias metanógenas aún a una relación de DQO/SO_4^{2-} igual a 0.625. Lo anterior concuerda con los autores que han reportado el predominio de las bacterias metanógenas aún a bajas relaciones de DQO/SO_4^{2-} (Visser, et al. 1993b).

La competencia entre las BSR y las BM por acetato en los reactores anaerobios está influenciada, tanto por la composición del influente, como por las condiciones del proceso. Además, también influyen las propiedades cinéticas y de inmovilización de las bacterias. Hulshoff Pol (1998) señala tres tipos de factores que afectan la competencia entre las BSR y las BM en reactores anaerobios: Composición del inóculo, composición del influente y las

condiciones de operación. Es interesante que, además de la composición del inóculo, este autor considera el tiempo en el que se corre el experimento como un factor importante.

Algunos autores (Isa et al., 1986 a, b) han tratado de explicar el predominio de las BM sobre las BSR, argumentado que puede existir una mejor capacidad de inmovilización de las bacterias metanógenas sobre las sulfatorreductoras, lo que daría como resultado un lavado selectivo de las BSR. En el presente estudio el hecho de que las bacterias sulfatorreductoras no hayan logrado predominar sobre las BM puede atribuirse a que la población de BSR no se incrementó lo suficiente. Aunque no se tienen los elementos necesarios para afirmar que se debió a un lavado selectivo de las bacterias, esta podría ser la causa más probable de que la población de BSR no haya aumentado. El tipo de inóculo utilizado también tiene una influencia en la competencia entre las BM y las BSR. En este caso, el lodo utilizado para inocular el reactor contenía un número muy bajo de bacterias sulfatorreductoras. Esto se ve reflejado en el hecho de que no se detectó actividad sulfurogénica a partir de acetato en el inóculo.

En la figura 4.9 puede observarse que fueron necesarios más de 100 días para que las bacterias sulfatorreductoras pudieran incrementar el porcentaje de la DQO utilizada, de aproximadamente el 5% al 10% hacia el día 177. Lo anterior, junto con lo reportado en la literatura proporciona una idea del tiempo necesario para que las BSR lleguen a predominar en el reactor. Además, existe otro factor que debe tomarse en cuenta y es el largo tiempo de retención de la biomasa que se da en los reactores tipo UASB, que puede ser entre 6 meses y un año, sobre todo si al inicio del experimento el número de BSR es muy pequeño, como en el caso de este estudio. Visser (1995) reporta que fueron necesarios 400 días antes de que el porcentaje de DQO utilizado por las BSR pasara del 50% al 90%, en un reactor alimentado con acetato. De esta manera no es difícil entender por qué no se encontró un predominio de las BSR en el reactor y se aprecia que el tiempo en el que se corre el experimento juega un papel importante en la competencia entre los dos grupos bacterianos.

Bajo las condiciones de operación, composición del influente y composición del inóculo utilizadas en este estudio, las bacterias sulfatorreductoras no lograron predominar sobre las bacterias metanogénicas.

4.6 Actividades metanógena y sulfatorreductora

Al final de cada etapa se tomó una muestra de lodo del reactor y a esta muestra se le determinó, por un lado, la actividad metanógena y, por otro, la sulfatorreductora. Las tablas 4.3 y 4.4 muestran los resultados obtenidos en dichas pruebas.

Tabla 4.3 Actividad metanógena específica

DQO/SO ₄ ²⁻	gSSV/L	gDQO/L	Actividad (gDQO-CH ₄)/gSSV día
Inóculo	3.5	1	0.5430
10	4.456	1	0.5642
5	4.45	1	0.4848
2.5	4.384	1	0.4016
1.25	3.9648	1	0.4870
0.62	4.07	1	0.4836

Puede observarse que la actividad metanógena específica presentada por el lodo permaneció constante a lo largo del experimento. Los resultados obtenidos están dentro de los valores reportados en la literatura. Alphenaar (1994) reporta valores de actividad metanógena específica entre 0.32 y 1.11 g DQO-CH₄/g SSV día y Visser (1993) reporta valores entre 0.25 y 1.15 g DQO-CH₄/g SSV día. En esta prueba sólo se determinó la cantidad presente de metano en el espacio gaseoso de la botella; sin embargo, el resultado de esta prueba puede complementarse con la determinación de H₂S y la utilización del sustrato con respecto al tiempo, pues de esta forma se podría obtener la actividad específica total del lodo. Y también podrían calcularse los porcentajes de utilización de la DQO por cada especie de bacterias.

Con respecto a la actividad sulfatorreductora, se aprecia que hubo un aumento considerable. En el inóculo no se observó actividad sulfatorreductora mientras que, al pasar a la relación DQO/SO₄²⁻ de 10 se tenía una actividad de 0.028 gDQO-H₂S/gSSV día y en la relación DQO/SO₄²⁻ de 5, la actividad había aumentado hasta 0.1819 gDQO-H₂S/gSSV. Es decir, la actividad sulfatorreductora aumentó al existir una mayor concentración de sulfato en el medio de alimentación del reactor. Si se comparan los valores encontrados en este estudio con los reportados en la literatura: 0.35, 0.85 (Alphenaar, 1994) y 0.25, 0.38, 0.48 (Visser, 1995), se observa que son menores aunque se encuentran dentro del mismo orden de

magnitud. El aumento en la actividad sulfatorreductora coincide con las observaciones realizadas por Visser (1995), en donde el lodo inoculado carecía de actividad sulfatorreductora y se incrementó hasta 0.5 g DQO /g SSV día después de 750 días de operación del reactor.

En el caso de este estudio, el incremento en la actividad sulfatorreductora no fue tan alto, pero puede considerarse como sustancial pues fue suficiente para que el porcentaje de DQO removido por las BSR pasara de aproximadamente 5% al inicio del experimento, a 13.85% al final del mismo.

Tabla 4.4 Actividad sulfatorreductora específica

DQO/SO ₄ ²⁻	gSSV/L	gDQO/L	Actividad (gDQO-H ₂ S)/gSSV día
Inóculo	3.436	1	0
10	4.429	1	0.028
5	4.861	1	0.1819
2.5	4.781	1	0.1802
1.25	3.11.9	1	0.1581
0.62	3.725	1	0.1786

Cabe destacar que no se encontró metano presente en el espacio gaseoso de las botellas. Éste se determinó al final de la prueba, por lo que la inhibición de las bacterias metanógenas con el ácido 2-bromoetanosulfónico fue satisfactoria y toda la degradación del substrato fue completamente debida a la sulfatorreducción. La actividad sulfatorreductora permaneció constante entre las etapas con una relación de DQO/SO₄²⁻ de 5 a 0.625. Lo anterior puede observarse en la figura 4.10, en donde también se muestra la actividad metanógena con respecto a las distintas relaciones de DQO/SO₄²⁻ en el reactor.

Con respecto a la actividad sulfatorreductora específica es preciso mencionar también, que el tiempo que el lodo inoculado tardó en desarrollar una actividad sulfatorreductora aceptable fue de aproximadamente 150 días.

La técnica empleada para la determinación de las actividades metanógena y sulfatorreductora permite que el pH se mantenga constante a lo largo de la prueba. Esto es

importante sobre todo en la determinación de la actividad sulfatorreductora en donde el mismo H_2S producido podría inhibir a las bacterias.

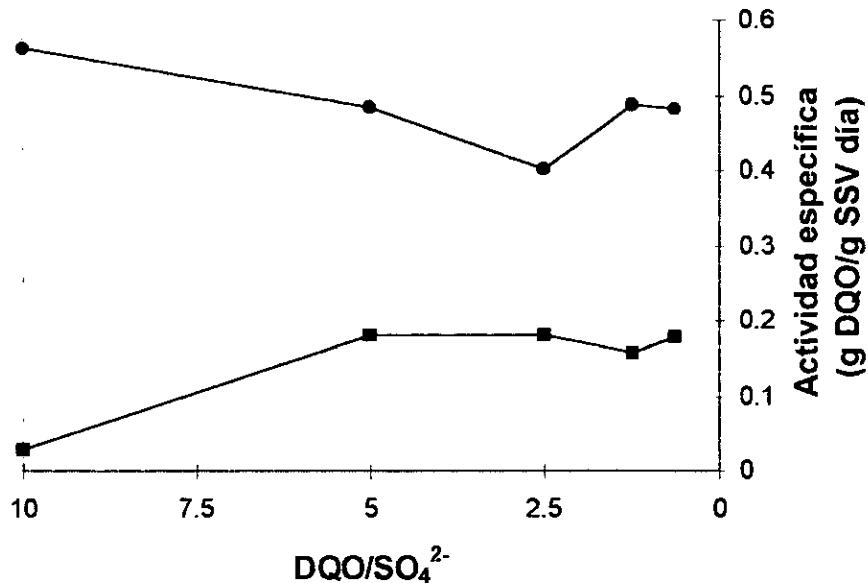


Figura 4.10 Actividad metanógena específica (●) y actividad sulfatorreductora específica (■)

Los datos correspondientes a la cantidad de HS^- , H_2S disuelto y H_2S total para cada relación de DQO/SO_4^{2-} se muestran en la tabla 4.5. Al comparar los datos con las concentraciones de H_2S disuelto y H_2S total que son inhibitorias para la sulfatorreducción usando lodo granular y acetato como sustrato (Tabla 3.2), puede observarse que ninguna de las concentraciones obtenidas de H_2S disuelto o H_2S total resultaron ser inhibitorias en la determinación de la actividad sulfatorreductora, por lo que puede concluirse que la prueba se llevó a cabo sin ninguna interferencia de tipo inhibitorio.

Tabla 4.5 Concentraciones de H_2S disuelto, HS^- y H_2S total

DQO/SO ₄ ²⁻	pH final	H ₂ S gas [M]	HS ⁻ [mg/L]	H ₂ S liq [mg/L]	H ₂ S Total [mg/L]
10	7.12	8.87×10^{-5}	3.8597	3.0166	6.8764
5	7.18	3.4×10^{-4}	16.9873	11.5635	28.5508
2.5	7.21	2.33×10^{-4}	12.4781	7.9271	20.4052
1.25	7.15	1.41×10^{-4}	6.5771	4.7974	11.3745
0.625	7.20	1.82×10^{-4}	11.4228	6.1764	15.6775

En la técnica para la determinación de las actividades se utiliza acetato como sustrato, porque en la digestión de la materia orgánica aproximadamente 70% del metano es producido a partir de acetato (Oude-Elferink et al., 1994) y, además, el acetato fue el sustrato carbonoso utilizado en la operación del reactor. Al llevar a cabo la prueba a una concentración de 1000 mg DQO/L de acetato se evita que ocurran problemas de transferencia de masa en el lodo (Koster et al., 1986). La ausencia de limitación en la transferencia del sustrato significa que todas las bacterias presentes en los gránulos están saturadas con sustrato, de tal manera que las actividades metanógena y sulfatorreductora son las máximas alcanzables.

En la Figura 4.11 se muestran los porcentajes promedio de utilización de DQO por las BM y las BSR con respecto a las diferentes relaciones de DQO/SO_4^{2-} . Puede observarse que el incremento en el porcentaje de DQO utilizado por las BSR no fue significativamente diferente entre las etapas de DQO/SO_4^{2-} de 5 a 0.625.

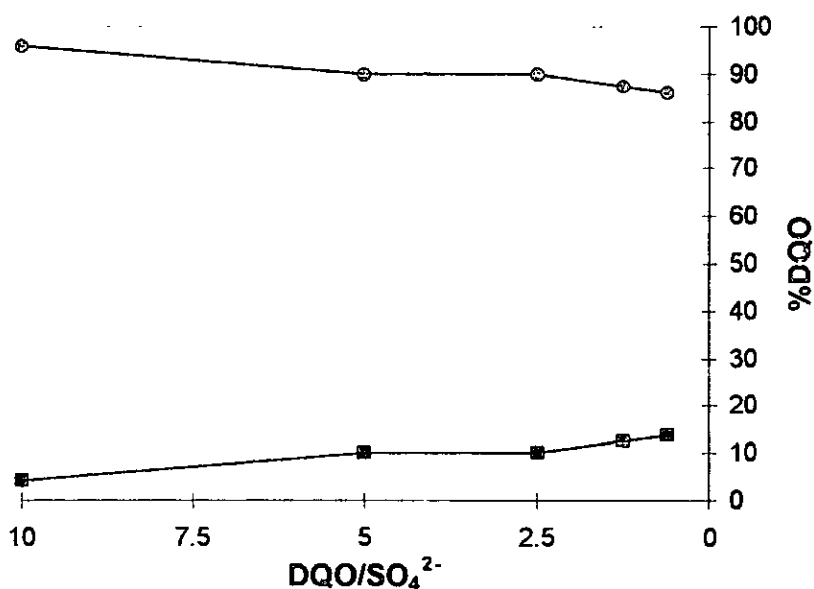


Figura 4.11 % de DQO utilizado por las bacterias metanógenas (●) y por las bacterias sulfatorreductoras (■)

El ligero incremento en la utilización de la DQO puede ser atribuido al tiempo de operación del reactor, lo que implica una mejor adaptación del lodo al sulfato, más que a la cantidad de sulfato en el medio. Puesto que la utilización de DQO se mantuvo constante conforme la relación de DQO/SO_4^{2-} disminuía, es decir, conforme la cantidad de sulfatos en el medio era mayor.

Para el intervalo entre las etapas de DQO/SO_4^{2-} de 10 y 5, el aumento en la utilización de la DQO se encuentra estrechamente relacionado con el aumento en la actividad sulfatorreductora, como puede apreciarse al comparar las Figuras 4.10 y 4.11. Esto quiere decir que al tener un lodo con una mayor actividad sulfatorreductora la cantidad de DQO utilizada por las BSR sería mayor.

Con respecto al porcentaje de utilización de DQO por las BM es claro que estas dominaron sobre las BSR y que el cambio en la relación de DQO/SO_4^{2-} no afectó considerablemente a este grupo bacteriano.

Dadas las características del lodo y las propiedades de crecimiento de las BSR y las BM, además de las condiciones de operación del reactor, puede decirse que se necesitaría un largo período de tiempo antes de que las BSR pudieran predominar sobre las BM. Aún con una alta concentración de sulfato en el medio y con base en las observaciones realizadas por Visser (1995).

Como ya se ha mencionado, las BSR fueron capaces de adaptarse a la concentración de sulfato al igual que las bacterias metanógenas, puesto que hubo remoción de la materia orgánica y remoción de sulfato aún a altas concentraciones del mismo. Sin embargo, las bacterias sulfatorreductoras no pudieron competir efectivamente por el acetato con las bacterias metanógenas.

5 CONCLUSIONES

Los experimentos realizados en este trabajo permiten concluir lo siguiente:

- La estabilidad del reactor fue afectada por el incremento en la concentración de sulfatos en el medio de alimentación. El valor de pH (8-8.5) con el que el reactor estuvo operando fue muy importante pues marcó la diferencia entre la completa inhibición del sistema por la cantidad de H_2S no ionizado presente en el medio y la ausencia de inhibición del mismo, al bajar considerablemente la concentración de H_2S que, presumiblemente, es la especie causante de la inhibición en las bacterias. La concentración máxima de sulfuro total (ST) de 438.68 mg/L no fue inhibitoria para las BSR y las BM.

- En cuanto a la remoción de DQO, el reactor presentó valores aceptables a lo largo del experimento. Estos valores estuvieron entre 76% y 97% de remoción de DQO. Sin embargo, la producción de metano estuvo por debajo de la producción teórica.

- La actividad de las BSR no fue mayor que de las BM cuando estos dos grupos compiten por acetato, puesto que las primeras no fueron capaces de utilizar más del 20% de la DQO presente en la alimentación. Puede decirse que para las bacterias sulfatorreductoras no fue posible predominar sobre las bacterias metanógenas bajo las condiciones de operación y tiempo en el que se corrieron los experimentos.

- El lodo anaerobio inoculado logró adaptarse a la concentración de sulfato adicionada en el influente, sin embargo la población de bacterias sulfatorreductoras no se incrementó a lo largo de los experimentos realizados. Esto se ve reflejado en la actividad sulfatorreductora la cual permaneció constante a lo largo del experimento siendo de alrededor de 0.2 g DQO- H_2S /g SSV día.

- La adaptación del lodo inoculado a la presencia de sulfatos fue satisfactoria pues la actividad sulfatorreductora del mismo aumentó notablemente después de incrementar gradualmente la cantidad de sulfatos en la alimentación. Sin embargo, el incremento de esta

actividad ocurre lentamente. Por este motivo, si el objetivo del tratamiento es la remoción de sulfatos, es recomendable utilizar un lodo que presente actividad sulfatorreductora con una masa crítica de BSR.

- Aparentemente la concentración de 3,200 mg/L de sulfato resultó no ser inhibitoria para los dos géneros bacterianos involucrados en este experimento, puesto que la remoción de DQO se llevó a cabo satisfactoriamente.

6. RECOMENDACIONES

- Los resultados obtenidos en este trabajo podrían complementarse realizando en un futuro experimentos con las relaciones de DQO/SO_4^{2-} entre 2.5 y 0.625, que es en donde eventualmente existen más posibilidades de que las BSR predominen dada la concentración de sulfato. Teniendo un buen control del pH y midiendo continuamente las cantidades de metano y ácido sulfhídrico en el biogas, así como el H_2S disuelto en el efluente.

- Se recomienda trabajar con un lodo que presente una alta actividad sulfatorreductora desde el inicio del experimento con el objeto de disminuir el tiempo en el que el lodo se adapta al sulfato y de tener una mayor cantidad de bacterias sulfatorreductoras que pudieran competir de una forma más evidente con las bacterias metanógenas.

- Otro punto importante es llevar a cabo una caracterización microbiológica sobre el lodo inoculado y su evolución a lo largo de las diferentes etapas. Para lograr esto, es recomendable utilizar el método del número más probable; que permite estimar cuantitativamente, las concentraciones de bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

APHA-AWWA-WPCF (1992) Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, España.

Alphenaar, P.A., Visser, A., Lettinga, G. (1993) The effect of liquid upward velocity and hydraulic retention time on granulation in UASB reactors treating wastewater with a high sulfate content. *Bioresource Technol.*, 43:249-258.

Alphenaar, P.A. (1994) *Anaerobic granular sludge: Characterization, and factors affecting its functioning*. Tesis doctoral. Wageningen Agricultural University, Wageningen, Países Bajos.

Buisman, C.J., Wit, B., Lettinga, G. (1990) Biotechnological sulphide removal in three polyurethane carrier reactors: Stirred reactor, biorotor reactor and upflow reactor. *Water Res.*, 24:245-251.

Carrondo, M.J.T., Silva, J.M.C. Figueira, M.I.I., Ganho, R.M.B., Oliveira, J.F.S. (1983). Anaerobic filter treatment of molasses fermentation wastewater. *Wat. Sci. Tech.* 15:117-126.

Choi, E., Rim, J.M. (1991) Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment. *Water Sci. Technol.*, 23:1259-1264.

Ehlinger, F., Guele, I., Ball, F.X., Prevot, C. (1992). Treatment of lees vinasses of red wine by methanogenic fermentation in presence of tannins and sulfides. *Wat. Sci. Tech.* 25: 275-284.

Ferry, J.G. (1993) *Methanogenesis, ecology, physiology, biochemistry and genetics*. Primera edición. Chapman & Hall. Nueva York. EEUUA.

Harada, H., Uemura, S., Momonoi, K. (1994) Interactions between sulphate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulfate. *Wat. Res.*, 28:355-367.

Hilton, B.L., Oleszkiewicz, J.A. (1988) Sulfide induced inhibition of anaerobic digestion. *J. Environ. Eng.*, 114:1377-1391.

Hoeks, F.W.J.M.M., Ten Hoopen, H.J.G., Roels, J.A., Kuenen, J.G. (1984) Anaerobic treatment of acid water (methane production in a sulfate-rich environment). *Progr. Ind. Microbiol.*, 20:113-119.

Hulshoff Pol, L.W. (1998). Treatment of sulfate-rich wastewaters: microbial and process technological aspects. En: *TMR Summer School Programme. The Biological Sulfur Cycle: Environmental Science and Technology*. Abril 19-24. Wageningen, Países Bajos.

Isa, Z., Grusenmeyer, S., Verstraete, W., (1986a) Sulphate relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: Technical aspects. *Appl. Environ. Microbiol.* 51:572-579.

- Isa, Z., Grusenmeyer, S., Verstraete, W., (1986b) Sulphate relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: Microbiological aspects. *Appl. Environ. Microbiol.* 51:580-587.
- Karhadkar, P.P., Audic, J.M., Faup, G.M., Khanna, P. (1987) Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis. *Wat. Res.*, 21:1061-1066.
- Koster, I.W., Rinzema, A., de Vegt, A.L., Lettinga, G. (1986) Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at different pH levels. *Wat. Res.*, 12:1561-1567.
- König, H., Stetter, K.O. (1984) Archaeobacteria. En: *Bergey Manual of Systematic Bacteriology*, vol. II, Williams & Wilkins, Baltimore, EEUUA, pp. 2771-2253.
- Lens, P.N.L., Visser, A., Janssen, A.J.H., Hulshoff Pol, L.W., Lettinga, G.(1998) Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology.* 28(1):41-81.
- Lettinga, G., van Velsen, A.F.M., Hobma, S.W., De Zeeuw, W., Klapwijk, A. (1980) Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnol. Bioeng.*, 22:699-734.
- McCartney, D.M., Oleszkiewicz, J.A. (1991) Sulfide inhibition of anaerobic degradation of lactate and acetate. *Wat. Res.*, 25:203-209.
- McCartney, D.M., Oleszkiewicz, J.A. (1993) Competition between methanogens and sulfate reducers: Effect of COD: sulfate ratio and acclimatation. *Wat. Environ. Res.*, 65:655-664.
- Metcalf, Eddy (1991) *Wastewater Engineering*. Tercera edición. McGraw-Hill. Nueva York. EEUUA.
- Monroy, H.O. (1999) Comunicación personal
- Ney, U., Macario, A.J.L., Conway de Macario, E., Aivasidis, A., Schobert, S.M., Sahm, H. (1990) Quantitative microbiological analysis of bacterial community shifts in high-rate anaerobic bioreactor treating sulfite evaporator condensate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56:2389-2398.
- Nielsen, P.H. (1987) Biofilm dynamics and kinetics during high rate sulfate reduction under anaerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 27-32.
- Oaxaca-Grande, A.M. (1997) *Estudio comparativo para la determinación de la demanda química de oxígeno entre el método estándar de refluo abierto y el método colorimétrico (rápido) de refluo cerrado*. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Orizaba. Orizaba, Veracruz, México.
- Okabe, S., Nielsen, P.H., Characklis, W.G. (1992) Factors affecting microbial sulfate reduction by *Desulfovibrio desulfuricans* in continuous culture: Limiting nutrients and sulfide concentrations. *Biotechnol. Bioeng.*, 40:725-734.

Oleszkiewicz, J.A., Marstaller, T., McCartney, D.M. (1989) Effects of pH on sulphide toxicity to anaerobic processes. *Environ. Technol. Lett.*, 10:815-822.

Omil, F., Lens, P.N.L., Hulshoff Pol, L.W., Lettinga G. (1996) Effect of upward velocity and sulphide concentration on volatile fatty acid degradation in a sulphidogenic granular sludge reactor. *Process Biochem.*, 31(7):699-710.

Omil, F., Lens, P.N.L., Hulshoff Pol, L.W., Lettinga, G. (1997) Characterization of biomass from a sulfidogenic, volatile fatty acid-degrading granular sludge reactor. *Enzyme Microbiol. Technol.*, 20:229-236.

Oude-Elferink, S.J.W.H., Visser, A., Hulshoff Pol, L.W., Stams, A.J.M. (1994) Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. *FEMS Microbiol. Rev.*, 5:119-136.

Overmeire, A., Lens, P., Verstraete, W. (1994) Mass transfer limitation of sulfate in methanogenic aggregates. *Biotechnol. Bioeng.*, 44:387-391.

Pohland, F.G. (1992) Anaerobic Treatment Fundamental Concepts, Applications and New Horizons. En: *Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes*. Water Quality Management Library Vol 7. Technomic Publishing Co. Lancaster, E.E.U.U.A.

Powell, G.E., Archer, D.B. (1988) On line titration method for monitoring buffer capacity and total volatile fatty acids levels in anaerobic digesters. *Biotechnol. Bioeng.* 33:570-577.

Rintala, J., Lettinga, G. (1992) Effects of temperature elevation from 37 to 55°C on anaerobic treatment of sulfate rich acidified wastewaters. *Environ. Technol.*, 13:801-812.

Rinzema, A., Lettinga, G. (1988a) Anaerobic treatment of sulfate containing wastewater. En: *Biotreatment systems*, Wise, D.L., Ed. Vol.3:65-109. CRC Press, Boca Raton.

Rinzema, A., Lettinga, G. (1988b) The effect of sulfide on the anaerobic degradation of propionate. *Environ. Technol. Lett.*, 9:83-88

Shin, H.S., Jung, J.Y., Bae, B.u., Paik, B.C. (1995) Phase-separated anaerobic toxicity assays for sulfate and sulfide. *Water Environ. Res.*, 67:802-806.

Souza, M.E., Fuzaro, G. Y Polegao, A.R. (1993) Thermophilic anaerobic digestion of vinasse in a pilot plant UASB reactor. *Wat. Sci. Technol.*, 25(7):213-222.

Speece, R.E. (1996) *Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters*. Primera edición, Archae Press. Tennessee, EEUUA.

Stucki, G., Hanselmann, K.W., Hürzeler, A. (1993) biological sulfuric acid transformation: reactor design and process optimization. *Biotechnol. Bioeng.*, 41:303-315.

Svardal, K., Götzendorfer, K., Nowak, O., Kroiss, H. (1993) Treatment of citric acid wastewater for high-quality effluent on the anaerobic-aerobic route. *Wat. Sci. Tech.* 28: 177-186.

- Tarvin, D., Buswell, A.M. (1934) The methane fermentation of organic acids and carbohydrates. *J.Amer.Chem.Soc.*, 56:1751-1755.
- Thaveesri, J., Liessens, B., Verstraete, W., Longry, R. (1990) Granular sludge growth under different reactor liquid surface tensions in lab-scale upflow anaerobic sludge blanket reactors treating wastewater from sugar-beet processing. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 43:1122-1127.
- Uberoi, V., Bhattacharya. (1995) Interactions among sulfate reducers, acetogens and methanogens in anaerobic propionate systems. *Water Environ. Res.*, 67:330-339.
- Visser, A., Nozhevnikova, A.N., Lettinga, G. (1993a) Sulfide inhibition of methanogenic activity at various pH levels at 55°C. *J.Chem.Technol.Biotechnol.* 57:9-13.
- Visser, A., Beeksma, I., van der Zee, F., Stams, A.J.M., Lettinga, G. (1993b) Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40:549-556.
- Visser, A., Alphenaar, P.A., Gao, Y., Lettinga, G. (1993c) Granulation and immobilization of methanogenic and sulfate-reducing bacteria in high rate anaerobic reactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 40:575-581.
- Visser, A. (1995) The anaerobic treatment of sulfate containing wastewater. *Tesis doctoral*. Wageningen Agricultural University, Wageningen, Países Bajos.
- Visser, A., Hulshoff Pol, L.W., Lettinga, G. (1996) Competition of methanogenic and sulfidogenic bacteria. *Wat. Sci. Technol.*, 33:99-110.
- Yoda, M., Kitagawa, M., Miyayii, Y. (1987) Long term competition between sulphate reducing bacteria and methane producing bacteria in anaerobic biofilm *Water Res.*, 21:1547-1556.
- Widdel, F. Pfennig, N. (1984) Dissimilatory sulfate- or sulfur reducing bacteria. En: *Bergey Manual of Systematic Bacteriology*, vol.I, Williams & Wilkins, Baltimore, EEUUA. pp. 663-679.
- Zehnder, A.J.B., Huser, B.A., Brock, T.D., Wuhrmann, K., (1980) Characterisation of an acetate-decarboxilating, non-hydrogen-oxidizing methane bacterium. *Arch. Microbiol.*, 124:1-11.
- Zehnder, A.J.B. (1988) *Biology of anaerobic microorganisms*. Primera edición. John Wiley & Sons. Nueva York. EEUUA.
- Zinder, S.H. (1993) Physiological ecology of methanogens. En: *Methanogenesis, ecology, physiology, biochemistry, and genetics*. Ed. James G. Ferry. Primera edición. Chapman & Hall. Nueva York. EEUUA.

ANEXO A
MEMORIAS DE CÁLCULO

ANEXO A.1

MEMORIA DE CÁLCULO PARA EL % DE REMOCIÓN DE DQO

Hoja 1 de 2

DQO INFL [mg/L] = DQO en el influente

DQO EFL [mg/L] = DQO en el efluente

 $\% \text{ remoción} = 100 - ((\text{DQO}_{\text{efl}} * 100) / \text{DQO}_{\text{infl}})$

Tiempo [días]

FECHA	TIEMPO	DQO INFL	DQO EFL	TIEMPO	% remoción
250398	3	1245.7	126.15	3	89.873164
50398	11	1282.84	195.96	11	84.724517
100398	16	1266.39	219.23	16	82.688587
130398	19	985.48	119.5	19	87.873929
160398	22	1977.62	254.14	22	87.1492
180398	24	1954.35	200.95	24	89.717809
260398	33	2322.43	352.04	33	84.841739
30498	41	1994.6409	325.12	41	83.700324
210398	59	1976.4402	289.32	59	85.361561
230498	61	2162.08	267.4	61	87.632
270498	65	2060.22	281.726	65	86.32541
40598	72	1987.3606	350.469	72	82.3654
80598	76	2958.21	654.71	76	77.868035
110598	79	1466.4271	106.2	79	92.757908
150598	83	1458.11	136.12	83	90.664627
190598	87	2098.04	69.64	87	96.680712
200598	88	2106.35	199.03	88	90.550953
220598	90	2372.89	76.28	90	96.785355
250598	93	1874.23	147.76	93	92.116229
270598	95	2186.71	97.895	95	95.523183
290598	97	2100.28	131.13	97	93.756547
150698	114	2179.97	176.05	114	91.924201
260698	125	1621.58	277.4068	125	82.892808
10798	130	1993.9074	242.50497	130	87.837702
20798	131	1980.6095	137.78926	131	93.043088
60798	135	1807.7455	74.627417	135	95.871796
100798	139	1831.6	45.54775	139	97.513226
140798	143	1965.32	149.97357	143	92.369
200798	149	1154.47	54.22	149	95.303473
220798	151	1508.5577	107.8704	151	92.849435
40898	164	1839.54	190.67	164	89.635
70898	167	1965.328	184.052	167	90.635
130898	173	2361.5778	431.5462	173	81.726361
190898	179	2186.6	330.46	179	84.887039
250898	185	2475.4275	229.37	185	90.734126
270898	187	2417.66	188.93	187	92.185419

MEMORIA DE CÁLCULO PARA EL % DE REMOCIÓN DE DQO
(continuación)

Hoja 2 de 2

DQO INFL [mg/L] = DQO en el influente

DQO EFL [mg/L] = DQO en el efluente

 $\% \text{ remoción} = 100 - ((\text{DQO}_{\text{efl}} * 100) / \text{DQO}_{\text{infl}})$

Tiempo [días]

FECHA	TIEMPO	DQO INFL	DQO EFL	TIEMPO	% remoción
310898	191	1941.119	310.2439	191	84.017265
20998	193	2302.1385	261.1435	193	88.656482
80998	199	2258.816	336.237	199	85.114458
100998	201	1810	332.02405	201	81.65613
210998	212	1887.92	408.54	212	78.360312
300998	222	2125.862	329.81	222	84.485822
71098	229	2351.52	381.578	229	83.773134
141098	236	2151.6419	240.9283	236	88.802583
191098	239	2191.6975	247.49	239	88.707839
211098	241	1801.048	216.27	241	87.991991
231098	243	1641.8945	90.4	243	94.494165
261098	246	2466.5999	241.02	246	90.228654
291098	249	1815.5165	125.1245	249	93.108049
301098	250	1931.2645	181.5516	250	90.59934
41198	255	1873.3905	74.4847	255	96.02407
91198	260	1677.08	107.87	260	93.567987
111198	262	1786.5795	103.4275	262	94.210865
161198	266	1931.2645	226.404	266	88.276904
261198	276	1641.89	152.6146	276	90.704944
301198	280	1902.3275	146.82725	280	92.281705
11298	281	1641.8945	178.6579	281	89.118795
21298	282	2321.914	210.4886	282	90.934694
71298	287	1829.985	141.03985	287	92.292841
101298	290	2466.599	162.7426	290	93.402146
161298	296	1801.048	188.7859	296	89.517997

ANEXO A.2

HOJA DE CÁLCULO PARA ALCALINIDAD y ALFA

Hoja 1 de 4

Tiempo [días]

Alcalinidad [mgCaCO3/L]

FECHA	TIEMPO	pH muestrænL	pH 5.7! mL	pH4.3	TIEMPO	Alcalinidad	Alfa
230298	0	8.32					
260398	4	7.89			4	2016.16	0.21
40398	10	7.89			10	2013.64	0.23
90398	15	7.83			13	2024.56	0.14
130398	19	8.21			19	2045.97	0.14
180398	24	8.31			24	2014.9	0.1
230398	31	8.16			31	2085.405	0.2
300398	38	8.2			37	2048.135	0.13
30498	41	8.36			41	2124.84	0.235
50498	43	8.17			43	2291.247	0.2494
140498	56	8.12			53	2347.64	0.3651
220498	60	8.24			60	2293.281	0.37
250498	63	8.33			63	2377.01	0.41
280498	66	8.3			66	2261.3	0.44
70598	75	8.33			75	2364.72	0.45
150598	83	8.32			83	2344.5	0.3961
180598	86	8.39			86	2412.35	0.23
220598	90	8.35			90	2382.401	0.19
290598	97	8.34			97	2391.62	0.21
50798	104	8.24	3.4	4.2	104	2186.1	0.190476
110798	110	8.17	2.8	3.5	110	1821.75	0.2
150698	114	8.3	3.4	4.1	114	2134.05	0.170732
200698	119	8.26	2.9	3.7	119	1925.85	0.216216
240698	123	8.18	3.18	4	123	2082	0.205
300698	129	8.25	2.8	3.9	129	2029.95	0.282051
20798	131	8.23	3.1	4.3	131	2238.15	0.27907
80798	137	8.2	2.9	3.6	137	1873.8	0.194444
100798	139	8.27	3.3	3.9	139	2029.95	0.153846
140798	143	8.25	3.5	4.1	143	2134.05	0.146341
220798	151	8.28	2.53	3.2	151	1665.6	0.209375
40898	164	8.31	2.94	3.6	164	1873.8	0.183333
120898	172	8.23	3.2	3.8	172	1977.9	0.157895
130898	173	8.26	3.1	3.9	173	2029.95	0.205128
180898	178	8.18	2	2.4	178	1249.2	0.166667
270898	187	8.19	2.1	2.5	187	1301.25	0.16
280898	189	8.23	2.5	2.8	189	1457.4	0.107143
310898	191	8.12	2	2.4	191	1249.2	0.166667
10998	192	8.26	2.1	2.5	192	1301.25	0.16
20998	193	8.23	2.1	2.8	193	1457.4	0.25
40998	194	8.19	2.2	2.6	194	1353.3	0.153846
80998	199	8.27	2.6	3.2	199	1665.6	0.1875
90998	200	8.2	2.9	3.75	200	1951.875	0.226667
110998	202	8.27	3.4	4.3	202	2238.15	0.209302
170998	208	8.61	2.9	3.5	208	1821.75	0.171429

ANEXO A.2

HOJA DE CÁLCULO PARA ALCALINIDAD y ALFA

Hoja 2 de 4

Tiempo [días]

Alcalinidad [mgCaCO₃/L]

FECHA	TIEMPO	pH muestra: mL	pH 5.7 mL	pH4.3	TIEMPO	Alcalinidad Alfa	
210998	212	8.27	3.3	4	212	2082	0.175
220998	213	8.29	3.4	4.1	213	2134.05	0.170732
230998	214	8.25	2.2	2.9	214	1509.45	0.241379
300998	222	8.17	2.4	3.1	222	1613.55	0.225806
11098	223	7.96	3	4	223	2082	0.25
71098	229	8.36	2.4	3.3	229	1717.65	0.272727
81098	230	8.21	3	3.85	230	2003.925	0.220779
141098	236	8.25	3.4	4.1	236	2134.05	0.170732
161098	238	8.3	3.4	4	238	2082	0.15
201098	240	8.3	3.2	4.1	240	2134.05	0.219512
211098	241	8.08	3.2	4.1	241	2134.05	0.219512
221098	242	8.1	3.2	4.1	242	2134.05	0.219512
231098	243	8.15	3.2	4.15	243	2160.075	0.228916
261098	246	8.02	2.7	3.5	246	1821.75	0.228571
291098	249	8.02	2.9	3.8	249	1977.9	0.236842
301098	250	8.28	3	3.95	250	2055.975	0.240506
41198	255	8.35	2.9	3.8	255	1977.9	0.236842
61198	257	8.17	3.6	4.3	257	2238.15	0.162791
91198	260	8.38	3.2	4.2	260	2186.1	0.238095
111198	262	8.55	2.5	3.2	262	1665.6	0.21875
161198	266	8.28	3.35	4.05	266	2108.025	0.17284
261198	276	8.25	3.5	4.1	276	2134.05	0.146341
301198	280	8.29	3.5	4.2	280	2186.1	0.166667
11298	281	8.28	3.4	4.3	281	2238.15	0.209302
21298	282	8.33	3.5	4.35	282	2264.175	0.195402
71298	287	8.29	3.6	4.35	287	2264.175	0.172414
81298	288	8.05	3.45	4.3	288	2238.15	0.197674
141298	294	7.94	2.7	3.8	294	1977.9	0.289474

ANEXO A.2

HOJA DE CÁLCULO PARA ALCALINIDAD y ALFA
 (continuación)
 Tiempo [días]
 Alcalinidad [mgCaCO3/L]

Hoja 3 de 4

Duplicados					promedio	promedio
pH muestr:	mL pH 5.7:	mL pH 4.3	Alcalinidad	Alfa	TIEMPO	alcalinidad alfa
					4	2016.16 0.21
					10	2013.64 0.23
					13	2024.56 0.14
					19	2045.97 0.14
					24	2014.9 0.1
					31	2085.405 0.2
					37	2048.135 0.13
					41	2124.84 0.235
					43	2291.247 0.2494
					53	2347.64 0.3651
					60	2293.281 0.37
					63	2377.01 0.41
					66	2261.3 0.44
					75	2364.72 0.45
					83	2344.5 0.3961
					86	2412.35 0.23
					90	2382.401 0.19
					97	2391.62 0.21
					104	2186.1 0.190476
					110	1821.75 0.2
					114	2134.05 0.170732
					119	1925.85 0.216216
					123	2082 0.205
					129	2029.95 0.282051
					131	2238.15 0.27907
					137	1873.8 0.194444
					139	2029.95 0.153846
					143	2134.05 0.146341
					151	1665.6 0.209375
					164	1873.8 0.183333
8.37	3	3.8	1977.9	0.210526	172	1977.9 0.184211
8.32	3	3.9	2029.95	0.230769	173	2029.95 0.217949
8.22	2.1	2.4	1249.2	0.125	178	1249.2 0.145833
8.11	2	2.45	1275.225	0.183673	187	1288.238 0.171837
8.12	2.5	2.9	1509.45	0.137931	189	1483.425 0.122537
8.13	1.9	2.4	1249.2	0.208333	191	1249.2 0.1875
8.2	2	2.5	1301.25	0.2	192	1301.25 0.18
8.31	2.3	2.7	1405.35	0.148148	193	1431.375 0.199074
8.19	2.2	2.6	1353.3	0.153846	194	1353.3 0.153846
8.25	2.8	3.4	1769.7	0.176471	199	1717.65 0.181985
8.11	3	3.8	1977.9	0.210526	200	1964.888 0.218596
8.26	3.3	4.2	2186.1	0.214286	202	2212.125 0.211794
8.61	2.9	3.5	1821.75	0.171429	208	1821.75 0.171429

ANEXO A.2

HOJA DE CÁLCULO PARA ALCALINIDAD y ALFA

Hoja 4 de 4

(continuación)

Tiempo [días]

Alcalinidad [mgCaCO₃/L]

Duplicados						promedio	promedio
pH muestramL	pH 5.75 mL	pH 4.3	Alcalinidad	Alfa	TIEMPO	alcalinidad	alfa
8.25	3.3	3.95	2055.975	0.164557	212	2068.988	0.169778
8.26	3.5	4.3	2238.15	0.186047	213	2186.1	0.178389
8.21	2.3	3	1561.5	0.233333	214	1535.475	0.237356
8.16	2.3	3	1561.5	0.233333	222	1587.525	0.22957
7.9	3	3.8	1977.9	0.210526	223	2029.95	0.230263
8.36	2.4	3.3	1717.65	0.272727	229	1717.65	0.272727
8.06	3	4.1	2134.05	0.268293	230	2068.988	0.244536
8.19	3.3	4.1	2134.05	0.195122	236	2134.05	0.182927
8.28	3.3	4.1	2134.05	0.195122	238	2108.025	0.172561
8.09	3.3	4.3	2238.15	0.232558	240	2186.1	0.226035
8.08	3	3.9	2029.95	0.230769	241	2082	0.225141
8.01	3.1	4.1	2134.05	0.243902	242	2134.05	0.231707
8.15	3.2	4.2	2186.1	0.238095	243	2173.088	0.233505
8.02	2.7	3.5	1821.75	0.228571	246	1821.75	0.228571
8.05	3	3.8	1977.9	0.210526	249	1977.9	0.223684
8.19	3	4	2082	0.25	250	2068.988	0.245253
8.37	3	3.8	1977.9	0.210526	255	1977.9	0.223684
8.18	3.4	4.25	2212.125	0.2	257	2225.138	0.181395
8.37	3.1	3.9	2029.95	0.205128	260	2108.025	0.221612
7.67	3.1	3.9	2029.95	0.205128	262	1847.775	0.211939
8.28	3.2	4.1	2134.05	0.219512	266	2121.038	0.196176
8.29	3.4	4.15	2160.075	0.180723	276	2147.063	0.163532
8.23	3.3	4.1	2134.05	0.195122	280	2160.075	0.180894
8.27	3.3	4.3	2238.15	0.232558	281	2238.15	0.22093
8.32	3.4	4.35	2264.175	0.218391	282	2264.175	0.206897
8.31	3.55	4.3	2238.15	0.174419	287	2251.163	0.173416
8.14	3.3	4.2	2186.1	0.214286	288	2212.125	0.20598
7.94	2.7	3.8	1977.9	0.289474	294	1977.9	0.289474

ANEXO A.3

HOJA DE CÁLCULO PARA EL % DE REMOCIÓN DE SULFATOS

Hoja 1 de 1

FECHA	TIEMPO(días)	mg/L SO4 influente	mg/L SO4 efluente	% remoción		mg/L SO4 removido
210498	59	91.37	58.44	36.0402758		32.93
280498	66	86.13	51.03	40.7523511		35.1
40598	72	203.594	126	38.1121251		77.594
80598	76	216.058	94.85	56.099751	promedio	121.208
180598	86	206.015	105.65	48.7173264	52.925114	100.365
200598	88	241.19	48.5688	79.8628467		192.6212
250598	93	208.34	103.79	50.1823942	desv std	104.55
300598	98	193.88	85.62	55.8386631	11.6441295	108.26
50698	104	290.25	111.622894	61.5424999		178.627106
20798	131	232.1424	125.364	45.9969398	coef var	106.7784
100798	139	288.59	164.802	42.8940712	22.0011421	123.788
140898	143	265.34	132.658	50.0045225		132.682
170898	177	562.77	297.1752	47.1942001	promedio	265.5948
190898	179	574.4	234.612	59.1552925	57.6963816	339.788
210898	181	473.88	222.9587	52.9503883	desv std	250.9213
270898	187	443.139	149.8471	66.1850796	6.7491945	293.2919
310898	191	437.323197	181.419622	58.5158932	coef var	255.903575
20998	193	571.92183	216.3155	62.177436	11.6977778	355.60633
90998	200	823.15	563.24	31.5750471	promedio	259.91
170998	208	831.69	548.97	33.9934351	32.4246018	282.72
210998	212	835.303106	516.09	38.2152423	desv std	319.213106
240998	216	818.32	524.64	35.8881611	6.08648123	293.68
71098	229	839.664	651.15	22.4511233		188.514
141098	236	1567.87	1358.061	13.3817855	promedio	209.809
211098	241	1685.26855	1293.9349	23.2208481	17.1655332	391.33365
240998	243	1707.2858	1337.18	21.6780225	desv std	370.1058
41198	255	1682.77	1446.8	14.0227126	4.86009425	235.97
121198	263	1694.21	1465.08	13.5242975		229.13
301198	280	3256.962	2839.7472	12.8099376	promedio	417.2148
11298	281	3256.962	2829.3384	13.1295238	11.2735819	427.6236
41298	284	3256.962	2796.4104	14.1405273	desv std	460.5516
101298	290	3256.962	3051.1942	6.31778326	3.17345204	205.7678
181298	298	3256.962	2932.2384	9.97013782	coef var	324.7236
					28.1494565	

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANEXO A.4

HOJA DE CÁLCULO DE LA CONVERSIÓN DE DQO ORGÁNICA por las BM y las BSR

Hoja 1 de 3

f= 2.496 L/d (flujo del influente)

DQO conv=f(DQOinf-DQOefl)

DQObm=f [(DQOinf-DQOefl)-(SO4inf-SO4efl)0.666]

FECHA	TIEMPO(días)	mg/l DQO INFL	mg/l DQO EFL	mg/L DQO conv	mg DQO/día DQObm
210398	59	1976.4402	289.32	4211.05202	4211.05202
270498	65	2060.22	281.73	4439.11104	4439.11104
40598	72	1987.3606	350.46	4085.7039	4085.7039
80598	76	2958.21	654.71	5749.536	5749.536
190598	87	2098.04	69.64	5062.8864	5062.8864
200598	88	2106.35	199.03	4760.67072	4760.67072
250598	93	1874.23	147.76	4309.26912	4309.26912
290598	97	2100.28	131.13	4914.9984	4914.9984
150698	114	2179.97	176.05	5001.78432	5001.78432
20798	131	1980.6095	137.79	4599.67747	4599.67747
100798	139	1831.6	45.55	4457.9808	4457.9808
140798	143	1965.32	149.97	4531.1136	4531.1136
130898	173	2361.5778	431.5462	4817.35887	4817.35887
190898	179	2186.6	330.46	4632.92544	4632.92544
250898	185	2475.4275	229.37	5606.15952	5606.15952
270898	187	2417.66	188.93	5562.91008	5562.91008
310898	191	1941.119	310.24	4070.67398	4070.67398
20998	193	2302.1385	261.14	5094.33226	5094.33226
100998	201	1810	332.02	3689.03808	3689.03808
210998	212	1887.92	408.54	3692.53248	3692.53248
300998	222	2125.86196	329.81	4482.94569	4482.94569
71098	229	2351.52	381.58	4916.97024	4916.97024
141098	236	2151.64185	240.93	4769.13678	4769.13678
211098	241	1801.048	216.27	3955.60589	3955.60589
231098	243	1641.8945	90.4	3872.53027	3872.53027
41198	255	1873.3905	74.4847	4490.06888	4490.06888
111198	262	1786.5795	103.4275	4201.14739	4201.14739
301198	280	1902.3275	146.92725	4291.72962	4291.72962
11298	281	1641.8945	178.6579	3652.23855	3652.23855
21298	282	2321.914	210.4886	5270.1178	5270.1178
101298	290	2466.599	162.7426	5750.42557	5750.42557
161298	296	1801.048	188.7859	4024.2062	4024.2062

ANEXO A.4

HOJA DE CÁLCULO DE LA CONVERSIÓN DE DQO ORGÁNICA por las BM y las BSR

Hoja 2 de 3

f= 2.496 L/d (flujo del influente)

$$DQO_{obs} = f(SO4_{inf} - SO4_{efl})0.666$$

FECHA	TIEMPO(días)	mg/L SO4 influente	mg/L SO4 efluente	mg/L SO4 usado	mg DQO/día DQObsr
210498	59	91.37	58.44	32.93	54.79552
280498	66	86.13	51.03	35.1	58.4064
40598	72	203.594	126	77.594	129.116416
80598	76	216.058	94.85	121.208	201.690112
180598	86	206.015	105.65	100.365	167.00736
200598	88	241.19	48.57	192.62	320.51968
250598	93	208.34	103.79	104.55	173.9712
300598	98	193.88	85.62	108.26	180.14464
50698	104	290.25	111.62	178.63	297.24032
20798	131	232.1424	125.364	106.7784	177.679258
100798	139	288.59	164.802	123.788	205.983232
140798	143	265.34	132.658	132.682	220.782848
170898	177	562.77	297.1752	265.5948	441.949747
190898	179	574.4	234.612	339.788	565.407232
210898	181	473.88	222.9587	250.9213	417.533043
270898	187	443.139	149.8471	293.2919	488.037722
310898	191	437.323	181.42	255.903	425.822592
20998	193	571.92	216.3155	355.6045	591.725888
90998	200	823.15	563.24	259.91	432.49024
170998	208	831.69	548.97	282.72	470.44608
210998	212	835.303	516.09	319.213	531.170432
240998	216	818.32	524.64	293.68	488.68352
71098	229	839.664	651.15	188.514	313.687296
141098	236	1567.87	1358.061	209.809	349.122176
211098	241	1685.268	1293.93	391.338	651.186432
240998	243	1707.28	1337.18	370.1	615.8464
41198	255	1682.77	1446.8	235.97	392.65408
121198	263	1694.21	1465.08	229.13	381.27232
301198	280	3256.962	2839.7472	417.2148	694.245427
11298	281	3256.962	2829.3384	427.6236	711.56567
41298	284	3256.962	2796.4104	460.5516	766.357862
101298	290	3256.962	3051.1942	205.7678	342.397619
181298	298	3256.962	2932.2384	324.7236	540.34007

ANEXO A.4

HOJA DE CÁLCULO DE LA CONVERSIÓN DE DQO ORGÁNICA por las BM y las BSR

Hoja 3 de 3

TIEMPO(días)	% DQO BM	%DQO BSR
59	98.6987689	1.30123114
66	98.6842771	1.31572289
72	96.8398	3.16020003
76	96.4920628	3.5079372
86	96.701341	3.29865904
88	93.267342	6.73265804
93	95.9628606	4.03713937
98	96.3347976	3.66520241
104	94.0573143	5.94268567
131	96.1371366	3.8628634
139	95.37945	4.62055
143	95.1274043	4.87259573
177	90.8258911	9.17410886
179	87.7958918	12.2041082
181	92.5522447	7.44775531
187	91.2269349	8.77306508
191	89.5392607	10.4607393
193	88.3846232	11.6153768
200	88.2763411	11.7236589
208		
212	85.8477462	14.1522538
216	88.9947516	11.0052484
229	93.6203133	6.37968669
236	92.679552	7.32044796
241	83.5376311	16.4623689
243	83.9505898	16.0494102
255	90.7976227	9.20237731
263	90.9245669	9.07543308
280	84.1559009	15.8440991
281	80.5169991	19.4830009
284	85.4584301	14.5415699
290	94.0456995	5.95430051
298	86.5727539	13.4272461

ANEXO A.5

HOJA DE CÁLCULO PARA LA PRODUCCIÓN DE METANO

Hoja 1 de 3

$$Q \text{ CH}_4[\text{L/L día}] = f\left[\frac{((\text{DQO}_{\text{in}} - \text{DQO}_{\text{ef}}) - (\text{SO}_4_{\text{in}} - \text{SO}_4_{\text{ef}}) \cdot 0.666)[0.35]}{V_{\text{reactor}}}\right]$$

$$L \text{ CH}_4/\text{g DQO} = 0.35$$

$$\text{DQO conv} = \phi (\text{DQO}_{\text{in}} - \text{DQO}_{\text{ef}})$$

$$V_{\text{reactor}} = 2.4 \text{ L}$$

FECHA	TIEMPO(días)	mg/l DQO INFL	mg/l DQO EFL	mg/L DQO conv	mg DQO/día CH4	L/L día QCH ₄ Teórico
210398	59	1976.4402	289.32	4211.05202	4156.2565	0.60612074
270498	65	2060.22	281.73	4439.11104	4380.70464	0.63885276
40598	72	1987.3606	350.46	4085.7039	3956.58748	0.57700234
80598	76	2958.21	654.71	5749.536	5547.84589	0.80906086
190598	87	2098.04	69.64	5062.8864	4895.87904	0.71398236
200598	88	2106.35	199.03	4760.67072	4440.15104	0.64752203
250598	93	1874.23	147.76	4309.26912	4135.29792	0.60306428
290598	97	2100.28	131.13	4914.9984	4734.85376	0.69049951
150698	114	2179.97	176.05	5001.78432	4704.544	0.68607933
20798	131	1980.6095	137.79	4599.67747	4421.99821	0.64487474
100798	139	1831.6	45.55	4457.9808	4251.99757	0.62008298
140798	143	1965.32	149.97	4531.1136	4310.33075	0.6285899
130898	173	2361.5778	431.5462	4817.35887	4375.40913	0.6380805
190898	179	2186.6	330.46	4632.92544	4067.51821	0.59317974
250898	185	2475.4275	229.37	5606.15952	5188.62648	0.75667469
270898	187	2417.66	188.93	5562.91008	5074.87236	0.74008555
310898	191	1941.119	310.24	4070.67398	3644.85139	0.53154083
20998	193	2302.1385	261.14	5094.33226	4502.60637	0.6566301
100998	201	1810	332.02	3689.03808	3256.54784	0.47491323
210998	212	1887.92	408.54	3692.53248	3222.0864	0.4698876
300998	222	2125.86196	329.81	4482.94569	3951.77526	0.4698876
71098	229	2351.52	381.58	4916.97024	4603.28294	0.57630056
141098	236	2151.64185	240.93	4769.13678	4420.0146	0.6713121
211098	241	1801.048	216.27	3955.60589	3304.41946	0.64458546
231098	243	1641.8945	90.4	3872.53027	3221.34384	0.4818945
41198	255	1873.3905	74.4847	4490.06888	3874.22248	0.46977931
111198	262	1786.5795	103.4275	4201.14739	3819.87507	0.56499078
301198	280	1902.3275	146.82725	4381.72862	3687.4832	0.55706511
11298	281	1641.8945	178.6579	3652.23855	2940.67288	0.53775797
21298	282	2321.914	210.4886	5270.1178	4503.75994	0.42884813
101298	290	2466.599	162.7426	5750.42557	5408.02796	0.65679832
161298	296	1801.048	188.7859	4024.2062	3483.86613	0.78867074

ANEXO A.5

HOJA DE CÁLCULO PARA LA PRODUCCIÓN DE METANO

Hoja 2 de 3

FECHA	TIEMPO(días)	mg/L SO4 influente	mg/L SO4 efluente	cm CH4	Tiempo(días)	moles CH4
210498	59	91.37	58.44	12.1	59	1.1435E-05
280498	66	86.13	51.03	11.3	66	1.0538E-05
40598	72	203.594	126	12.7	72	1.2107E-05
80598	76	216.058	94.85	14.5	76	1.4125E-05
180598	86	206.015	105.65	12.6	86	1.1995E-05
200598	88	241.19	48.57	14	88	1.3564E-05
250598	93	208.34	103.79	11.8	93	1.1099E-05
300598	98	193.88	85.62	11.3	98	1.0538E-05
50698	104	290.25	111.62	10.5	104	9.6414E-06
20798	131	232.1424	125.364	9.2	131	8.1843E-06
100798	139	288.59	164.802	9.2	139	8.1843E-06
140798	143	265.34	132.658	10.1	143	9.1931E-06
170898	177	562.77	297.1752	9.9	177	8.9689E-06
190898	179	574.4	234.612	9	179	7.9602E-06
210898	181	473.88	222.9587	10	181	9.081E-06
270898	187	443.139	149.8471	9.3	187	8.2964E-06
310898	191	437.323	181.42	10	191	9.081E-06
20998	193	571.92	216.3155	7.7	193	6.5031E-06
90998	200	823.15	563.24	11.2	200	1.0426E-05
170998	208	831.69	548.97	9.7	208	8.7448E-06
210998	212	835.303	516.09	8.6	212	7.5118E-06
240998	216	818.32	524.64	9.3	216	8.2964E-06
71098	229	839.664	651.15	7.5	229	6.2789E-06
141098	236	1567.87	1358.061	7.9	236	6.7272E-06
211098	241	1685.268	1293.93	5.9	241	4.4856E-06
240998	243	1707.28	1337.18	7.9	243	6.7272E-06
41198	255	1682.77	1446.8	5.5	255	4.0372E-06
121198	263	1694.21	1465.08	5.1	263	3.5889E-06
301198	280	3256.962	2839.7472	2.1	280	2.2634E-07
11298	281	3256.962	2829.3384	1.9	281	2.1743E-09
41298	284	3256.962	2796.4104	2	284	1.1426E-07
101298	290	3256.962	3051.1942	3	290	1.2351E-06
181298	298	3256.962	2932.2384	2.6	298	7.8677E-07

ANEXO A.5

HOJA DE CÁLCULO PARA LA PRODUCCIÓN DE METANO

Hoja 3 de 3

moles CH₄ = (cm CH₄ - 1.89806011)/892183.508L CH₄ = [moles(0.08295 atm L/mol K)(273.15 K)]/1atm

molesCH ₄ /L	LCH ₄ /Lbiogas	Lbiogas/día	LCH ₄ /día	QCH ₄ exper	Tiempo(días)
0.0228696	0.51817465	2.64	1.36798107	0.56999211	59
0.02107625	0.47754123	2.4	1.14609894	0.47754123	66
0.02421461	0.54864971	2.057	1.12857246	0.47023852	72
0.02824966	0.64007491	2	1.28014982	0.53339576	76
0.02399045	0.54357053	1.68	0.9131985	0.38049937	86
0.02712881	0.61467902	1.8	1.10642224	0.46100927	88
0.02219709	0.50293711	1.98	0.99581549	0.41492312	93
0.02107625	0.47754123	1.53	0.73063808	0.30443253	98
0.01928289	0.43690781	2.3	1.00488795	0.41870331	104
0.0163687	0.3708785	2.35	0.87156447	0.36315186	131
0.0163687	0.3708785	1.45	0.53777382	0.22407242	139
0.01838622	0.41659109	1.67	0.69570713	0.28987797	143
0.01793788	0.40643274	1.56	0.63403507	0.26418128	177
0.01592036	0.36072014	2.65	0.95590837	0.39829516	179
0.01816205	0.41151192	1.9	0.78187264	0.32578027	181
0.01659286	0.37595767	2.3	0.86470265	0.36029277	187
0.01816205	0.41151192	1.71	0.70368538	0.29320224	191
0.01300616	0.29469083	1.75	0.51570896	0.21487873	193
0.02085208	0.47246205	1.58	0.74649004	0.31103752	200
0.01748954	0.39627438	2.4	0.95105852	0.39627438	208
0.01502368	0.34040343	1.72	0.5854939	0.24395579	212
0.01659286	0.37595767	2.1	0.78951111	0.32896296	216
0.01255782	0.28453248	1.8	0.51215846	0.21339936	229
0.0134545	0.30484919	1.89	0.57616496	0.24006873	236
0.00897111	0.20326563	1.6	0.32522502	0.13551042	241
0.0134545	0.30484919	1.56	0.47556473	0.19815197	243
0.00807444	0.18294892	1.58	0.2890593	0.12044138	255
0.00717776	0.16263221	1.76	0.2862327	0.11926362	263
0.00045269	0.01025689	1.44	0.01476992	0.00615413	280
4.3486E-06	9.853E-05	1.72	0.00016947	7.0613E-05	281
0.00022852	0.00517771	1.39	0.00719701	0.00299876	284
0.00247021	0.05596948	1.71	0.09570782	0.03987826	290
0.00157353	0.03565277	1.58	0.05633138	0.02347141	298