

00586



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**Efecto de la temperatura en la actividad
metanogénica y sulfato-reductora de
consorcios microbianos en condiciones
anaerobias.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS
(INGENIERÍA QUÍMICA)**

P R E S E N T A :

M. EN C. ALEJANDRA CASTRO GONZÁLEZ

TUTORA Y ASESORA:

DRA. -ING. MARIA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA



MÉXICO, D.F.

ENERO 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

COMITÉ TUTORAL

Dra.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa-Facultad de Química, UNAM
Dra. Georgina Fernández Villagómez, Facultad de Ingeniería-DEPFI-UNAM
Dr. Daniel Hernández Castillo, DRPSC-DCTA-CIMA

JURADO ASIGNADO:

Presidente	Dr. Simón González Martínez (Instituto de Ingeniería, UNAM)
Primer Vocal	Dr. Oscar Monroy Hermosillo (UAM-I)
Segundo Vocal	Dra. María Teresa Orta Ledesma (Instituto de Ingeniería, UNAM)
Tercer Vocal	Dra. Blanca Jiménez Cisneros (Instituto de Ingeniería, UNAM)
Secretario	Dr. Alfonso Durán Moreno, Facultad de Química, UNAM
Primer Suplente	Dr. Adalberto Noyola Robles (Instituto de Ingeniería, UNAM)
Segundo Suplente	Dra. Georgina Fernández Villagómez, Facultad de Ingeniería-DEPg, UNAM

Sitio donde fue desarrollado el tema:

Laboratorio E-301, Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental, Facultad de Química, UNAM

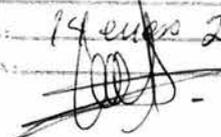
Sustentante:


M. en C. Alejandra Castro González

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: *Alejandra Castro González*

FECHA: *14 de febrero 2004*

FIRMA: 

Tutor principal:


Dra.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa



Para ti lectora, para ti lector
para ella y para los que alcanzaré



A G R A D E C I M I E N T O S

Con inmenso respeto y admiración, la autora agradece a la Dra.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa, asesora global de este proyecto, asimismo, por su comprensión, atención, apoyo y tiempo prestado para el desarrollo de este trabajo.

Con gratitud a la Dra. Georgina Fernández Villagómez y al Dr. Daniel Hernández Castillo por su tiempo, comprensión, atención y apoyo como parte de mi comité tutorial para el seguimiento del desarrollo de la investigación.

En la fase de establecimiento de la metodología en el estudio de las actividades metanogénica y sulfato-reductora, la autora agradece la ayuda e interés de la interpretación de resultados, procedimientos y cálculos químicos empleados en esta metodología por la M. en C. Irma Delfin Alcalá. Asimismo el equipo de medición facilitado para la medición de gases por la Dra. Georgina Fernández Villagómez para esta misma fase.

En la fase de establecimiento del método cromatográfico para la medición de gases, la autora agradece la ayuda mecánica, analítica, intelectual y creativa del Dr. Miguel Angel Ríos Enríquez.

En la parte analítica de las mediciones de C, N, y S en el equipo Carlo Erba, la autora agradece la ayuda técnica del Ing. Rodolfo Castillo para calibración, mantenimiento, manejo del equipo e integración de resultados.

Para el arranque del desarrollo experimental, la autora agradece la donación del inóculo anaerobio por la Cervecería Cuauhtémoc, S.A. Asimismo, en la etapa de diseño y construcción de los tres reactores anaerobios se agradece al Ing. Eduardo Pineda por la colaboración del Taller de Vidrio de la Facultad de Química de la UNAM en el suministro de materiales para la construcción de los reactores.

Se agradece al CONACYT la beca de posgrado otorgada para la realización de esta investigación. Asimismo, la DGEP otorgó a través de su Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado, el pago de reactivos, asistencia a congresos y visitas académicas relacionadas con esta investigación. Se agradece a la Oficina Alemana de Intercambio Académico (DAAD), así como al Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería su apoyo para la estancia académica en la Universidad Técnica de Berlín y la visita a la Universidad Agrícola de Wageningen en Holanda.

Los fondos para esta investigación se obtuvieron de la Facultad de Química de la UNAM y de los proyectos puntuales con diferentes ingenios azucareros.



RESUMEN

La generación de aguas residuales que contienen sulfatos es un problema mundial. Su depuración anaerobia es limitada y se piensa que uno de los factores que influyen es la generación de H_2S . En esta investigación se estudió el efecto de la temperatura sobre la metanogénesis y la sulfato-reducción en reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA) a 35, 45 y 55°C, adaptados a una alimentación de aguas residuales de la industria alcoholera llamadas vinazas. Las vinazas tienen una concentración de sulfatos de 15,000 mg/L y contenidos de materia orgánica, medida como demanda química de oxígeno soluble (DQOs), de alrededor de 120,000 mg/L. La composición química de las vinazas hasta hoy es desconocida. El trabajo fue dividido en cinco etapas: 1) Adaptación de biomasa anaerobia a vinazas en condiciones mesofílicas (35°C), en un RALLFA de 10 L de volumen de trabajo, alcanzándola en 600 días. Se inició con 10% de vinazas y 90% de agua residual de la industria cervecera (de donde provenía la biomasa), hasta llegar a alimentar 100% de vinazas. El tiempo de residencia hidráulico, TRH era de un día al inicio y cuando se alcanzó una concentración inicial de 120,000 mgDQO/L se tenía un TRH de 10 días. 2) Adaptación de biomasa anaerobia de condiciones mesofílicas a mesofílicas intermedias y termofílicas (45 y 55°C, respectivamente), que se realizó en tres RALLFA de 1.6 L de volumen de trabajo, que se alcanzó en 300 días de operación. Se obtuvo una eficiencia de remoción de DQO 62, 71 y 78%, con 4.38, 5.01 y 5.51 gDQOremovida/Ldía, a 35, 45 y 55°C, respectivamente. Considerando el equilibrio de los gases producidos que se encuentran en las fases líquida y gaseosa, la generación de gases fue 0.066, 0.12 y 0.165 mol CH_4 /día y 0.0099, 0.0100, 0.0107 mol H_2S /día, a 35, 45 y 55°C. El rendimiento fue de 0.46, 0.65 y 0.85 kgDQO- CH_4 /kgDQOremovida, a 35, 45 y 55°C, respectivamente. 3) Pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora de la biomasa adaptada a vinazas, que se realizaron para las biomasas mesofílica y termofílica con otros sustratos (ácidos acético, propiónico y butírico) y para las propias vinazas. Fue corroborado que estas biomasas a pesar de estar adaptadas a vinazas, degradaron más rápidamente al ácido acético, con más dificultad al butírico, posteriormente a las vinazas y no pudieron metabolizar al ácido propiónico, a las tres temperaturas. 4) Aplicación de la ecuación de Arrhenius a la metanogénesis y sulfato-reducción en biomasa adaptada a vinazas en pruebas intermitentes para evaluar el efecto de la temperatura en la producción de gases, en la metanogénesis y la sulfato-reducción. Dio como resultado una E_a para la metanogénesis de 62.86 kJ/kgmol y para la sulfato-reducción de 48.09 kJ/kgmol. 5) Determinación de los parámetros cinéticos K_s , k , k_d , Y_b y $\mu_{m\acute{a}x}$ empleando la ecuación de Monod a las tres temperaturas, obteniendo los valores de: 88.97, 106.02 y 119.49gDQO/L para K_s ; de 0.03, 0.1 y 0.4 día⁻¹ para k ; 0.03, 0.04 y 0.06 día⁻¹ para k_d ; 0.04, 0.08 y 0.4 día⁻¹ para $\mu_{m\acute{a}x}$ a 35, 45 y 55°C, respectivamente. La conclusión global fue que la temperatura tiene un efecto positivo en la generación de metano por parte de las BM y que la generación de H_2S permanece igual, ya que la actividad de las BSR como competidores no fue incrementada ni disminuida significativamente por efecto de la temperatura.

Palabras clave: metanogénesis, sulfato-reducción, temperatura, mesofilia, termofilia, vinazas, sulfato, Arrhenius, cinética.



ABSTRACT

The generation of wastewaters with sulphate content in the alcohol industry is a world problem. The generation of H_2S in the biogas due to ion sulphate presence is one of the factors that influence the anaerobic degradation. In this research, the effect of the temperature on the methanogenesis and the sulphate-reducing on up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors at 35, 45, and 55°C was investigated. The anaerobic biomass was adapted to vinasses (wastewaters of ethyl alcohol industry) with a concentration of 15,000 $mgSO_4^{2-}/L$ and a dissolved organic matter contents measured as chemical oxygen demand soluble (CODs) of 120,000 mg/L. The research was divided into five steps: 1) Adaptation of anaerobic biomass to vinasses at mesophilic conditions (35°C). The inoculum was obtained from the beer industry. The adaptation of the anaerobic biomass to vinasses at mesophilic conditions (35°C) was carried out in 10-liter UASB reactor and was reached in 600 days of operation. The starting-up was with 10% vinasses and 90% wastewater until reaching 100% vinasses. Initial hydraulic residence time, HRT, was one day, and when the initial concentration of 120,000 $mgCOD/L$ was reached, there was a HRT of ten days. 2) Adaptation of mesophilic anaerobic biomass to intermediate mesophilic, and thermophilic conditions (at 45, 55°C, respectively). Three 1.6-liter UASB reactors were operated obtaining 62, 71, and 78% COD removal; 0.0065, 0.0075, and 0.0082 $kgCODs$ removal/day at 35, 45, and 55°C respectively. Time needed to reach a stable state was 300 days. The productivity with respect to methane was 0.46, 0.65, and 0.85 $kgDQO-CH_4/kgCOD$ removal, at 35, 45, and 55°C. Taking into account the equilibrium in the liquid and gas phases, the generation was: 0.066, 0.12, and 0.165 moles CH_4/day , and 0.0099, 0.0100, and 0.0107 moles H_2S/day , at 35, 45, and 55°C respectively. 3) Tests for methanogenic and sulphate-reducing activities of vinasses-adapted biomass were performed with other substrates: Acetic, propionic, and butyric acids, as well as vinasses itself. Although the biomass was adapted to vinasses, the acetic acid was degraded faster, with more difficulty butyric acid, and could not metabolize propionic acid at the three temperatures. 4) Application of the Arrhenius' equation for the study of the effect of the temperature on the adapted biomass for the methanogenesis and sulfate-reduction gave the following results: For the activation energy, E_a , 62.86 $kJ/kgmol$ for the methanogenesis, and 48.09 $kJ/kgmol$ for the sulfate-reduction. 5) Determination of the kinetic parameters K_s , k , Y_d , k_d , and μ_{max} employing the Monod equation at the three temperatures. The following results, for vinasses, were: K_s with values of 88.97, 106.02, and 119.49 $gCODs/L$; k with values of 0.03, 0.1, and 0.4 day^{-1} ; k_d with values of 0.03, 0.04, 0.06 day^{-1} ; μ_{max} with values of 0.04, 0.08, and 0.4 day^{-1} , at 35, 45, and 55°C, respectively. The global conclusion was that temperature has a positive effect on the generation of methane by methanogenic bacteria and that H_2S generation remained constant, because the sulphate-reducing bacteria competitive action was neither increased nor decreased within the temperature range studied.

Key Words: methanogenesis, sulphate-reducing, temperature, mesophilic, thermophilic, vinasses, sulphate, Arrhenius, kinetic.



Índice

<i>Agradecimientos</i>	iii
<i>Resumen</i>	iv
<i>Abstract</i>	v
<i>Índice de tablas</i>	viii
<i>Índice de figuras</i>	xii
<i>Nomenclatura</i>	xv
1 <i>Introducción</i>	1
1.1 <i>Hipótesis</i>	5
1.2 <i>Objetivo y metas</i>	5
2 <i>Fundamentación</i>	7
2.1 <i>Bacterias sulfato-reductoras (BSR)</i>	7
2.2 <i>Bacterias metanogénicas (BM)</i>	13
2.3 <i>Equilibrio anaerobio y competencia entre BSR y BM</i>	18
2.3.1 <i>Relación DQO/sulfatos</i>	20
2.3.2 <i>Concepto de flujo de electrones</i>	21
2.3.3 <i>Esquema estequiométrico</i>	22
2.3.4 <i>Degradación de ácido propiónico</i>	24
2.4 <i>Toxicidad de los sulfuros en la degradación anaerobia</i>	24
2.5 <i>Tratamiento anaerobio a condiciones mesofílicas</i>	28
2.5.1 <i>Arranque de reactores anaerobios</i>	28
2.5.2 <i>Tratamiento anaerobio de vinazas</i>	31
2.6 <i>Tratamiento anaerobio a condiciones termofílicas</i>	33
2.6.1 <i>Estrategias de arranque</i>	33
2.6.2 <i>Estrategias de adaptación de la biomasa</i>	34
2.7 <i>Control del equilibrio del pH en sistemas anaerobios</i>	38
2.7.1 <i>Alcalinidad como parámetro de control en la operación de reactores anaerobios para determinar acidificación</i>	39
2.8 <i>Efecto de la temperatura sobre consorcios metanogénicos y sulfato-reductores</i>	40
2.9 <i>Solubilidad de gases en agua</i>	46
2.10 <i>Cinética anaerobia</i>	47
2.11 <i>Aplicación de la ecuación de Arrhenius</i>	51
2.12 <i>Balance de materia con base en la DQO</i>	56
2.13 <i>Actividad metanogénica y sulfato-reductora</i>	59
3 <i>Material y métodos</i>	62



3.1	<i>Estrategias de arranque de los sistemas anaerobios</i>	63
3.1.1	<i>Adaptación del inóculo mesofílico a vinazas</i>	63
3.1.2	<i>Adaptación del inóculo de condiciones mesofílicas a termofílicas</i>	66
3.2	<i>Métodos de análisis de la fase gaseosa</i>	68
3.2.1	<i>Montaje de un método analítico para la cuantificación de H_2S en la fase gaseosa</i>	68
3.2.2	<i>Método de almacenamiento de biogás para la medición de gases CH_4, CO_2 y N_2</i>	69
3.2.3	<i>Métodos de almacenamiento de biogás para la medición de H_2S</i>	69
3.2.4	<i>Montaje de métodos cromatográficos para la medición de gases CH_4, CO_2, H_2S, N_2 y NH_3</i>	70
3.3	<i>Métodos de medición analítica de la fase líquida</i>	75
3.3.1	<i>Alcalinidad como parámetro de control en la operación de reactores anaerobios para determinar acidificación</i>	75
3.3.2	<i>Determinación de materia orgánica medida como demanda química de oxígeno</i>	76
3.3.3	<i>Determinación de N, C y S</i>	76
3.3.4	<i>Otros parámetros</i>	77
3.4	<i>Pruebas en viales: Actividad metanogénica y sulfato-reductora específicas</i>	77
3.5	<i>Pruebas en viales con vinazas para la obtención de las constantes cinéticas y la determinación de las constantes de la ecuación de arrhenius</i>	82
3.6	<i>Evaluación estadística</i>	82
4	<i>Resultados y discusión</i>	83
4.1	<i>Arranque del reactor anaerobio y adaptación de la biomasa a vinazas a condiciones mesofílicas</i>	83
4.1.1	<i>Inoculación</i>	83
4.1.2	<i>Parámetros operacionales de arranque</i>	84
4.1.3	<i>Seguimiento analítico</i>	88
4.2	<i>Arranque y adaptación del inóculo de condiciones mesofílicas a mesofílicas intermedias y termofílicas</i>	92
4.2.1	<i>Inoculación</i>	92
4.2.2	<i>Parámetros operacionales de arranque</i>	93
4.2.3	<i>Comportamiento físico-químico anaerobio</i>	95
4.2.4	<i>Equilibrio químico de gases</i>	113
4.2.4.1	<i>Toxicidad del ácido sulfhídrico disuelto</i>	119
4.2.4.2	<i>Componentes químicos de la vinaza</i>	122
4.2.4.3	<i>Otros posibles mecanismos de degradación</i>	123
4.2.4.4	<i>Relación DQO/sulfatos</i>	124
4.2.5	<i>Balances de masa en los reactores</i>	124
4.2.5.1	<i>Balances de carbono</i>	124
4.2.5.2	<i>Balances de azufre</i>	126
4.2.5.3	<i>Balances de DQO</i>	130
4.3	<i>Pruebas en viales</i>	132



4.3.1 Pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora	133
4.3.1.1 Ácido acético	138
4.3.1.2 Ácido propiónico, butírico y vinaza	139
4.3.1.3 Balances de S, C y DQO en las pruebas de actividades metanogénica y sulfato-reductora	143
4.3.2 Parámetros cinéticos	148
4.3.3 Constantes de rapidez de reacción	151
4.3.4 Obtención de la ecuación de Arrhenius a partir de los datos experimentales	153
4.3.5 Balances de materia en los viales para corroboración de los resultados en los reactores	156
4.3.5.1 Balances de carbono	157
4.3.5.2 Balances de azufre	158
4.3.5.3 Balances de DQO en los viales	159
4.4 Discusión general	161
5 Conclusiones	170
5.1 Conclusión general	170
5.2 Líneas de investigación futuras	170
BIBLIOGRAFÍA	173

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Efectos de la formación de sulfuros en reactores anaerobios (Lens y Hulshoff Pol, 2000)	2
Tabla 1.2 Factores que determinan la competencia entre las BSR y las BM en reactores anaerobios de alta tasa (Lens y Hulshoff Pol, 2000)	3
Tabla 1.3 Ventajas y desventajas de la metanogénesis en condiciones mesófilas y termófilas (modificado de Stronach y col, 1986)	4
Tabla 2.1 Industrias que generan aguas residuales con iones sulfatos (modificado de Lens y Hulshoff Pol, 2000)	8
Tabla 2.2 Desventajas del tratamiento anaerobio de aguas residuales con iones sulfatos por la generación de H ₂ S (Lens y col, 1998)	8
Tabla 2.3 Reacciones estequiométricas llevadas a cabo por las BSR (Lens y Hulshoff Pol, 2000)	9
Tabla 2.4 Clasificación y propiedades con respecto a la temperatura óptima de desarrollo de las BSR (Zehnder y col, 1982)	10
Tabla 2.4 Clasificación y propiedades con respecto a la temperatura óptima de desarrollo de las BSR (Zehnder y col, 1982) (continuación...)	11
Tabla 2.4 Clasificación y propiedades con respecto a la temperatura óptima de desarrollo de las BSR	



(Zehnder y col., 1982) (continuación...)	12
Tabla 2.5 Reacciones estequiométricas llevadas a cabo por las BM (Lens y Hulshoff Pol, 2000)	13
Tabla 2.6 Clasificación y propiedades con respecto a la temperatura óptima de desarrollo de las BM (Zehnder y col., 1982)	14
Tabla 2.6 Clasificación y propiedades con respecto a la temperatura óptima de desarrollo de las BM (Zehnder y col., 1982) (continuación...)	15
Tabla 2.6 Clasificación y propiedades con respecto a la temperatura óptima de desarrollo de las BM (Zehnder y col., 1982) (continuación...)	16
Tabla 2.6 Clasificación y propiedades con respecto a la temperatura óptima de desarrollo de las BM (Zehnder y col., 1982) (continuación...)	17
Tabla 2.7 Efecto de cambios en las condiciones de operación sobre la competencia entre las BSR y las BM: Incremento de la proporción de las BSR que remueven la DQO (%) (Hulshoff Pol y col., 1998)	20
Tabla 2.8 Predominio de competencia de las BSR versus las BM con respecto a la relación DQO/sulfatos	21
Tabla 2.9 Flujos de los electrones en diferentes sustratos y sus relaciones con las BSR y las BM (Isa y col., 1986a, b)	22
Tabla 2.10 Reacciones estequiométricas de los pasos involucrados en la degradación anaerobia de ácido propiónico en presencia de sulfatos (Uberoi y Bhattacharya, 1995)	24
Tabla 2.11 Escenarios de degradación anaerobia para el ácido propiónico en presencia de sulfatos (Uberoi y Bhattacharya, 1995)	25
Tabla 2.12 Concentraciones de H ₂ S en experimentos con BSR	27
Tabla 2.13 Concentraciones de H ₂ S en experimentos con BM	27
Tabla 2.14 Parámetros operacionales para el arranque de un RALFA (Lettinga y col., 1982; Salkinoja y col., 1983; Wu y col., 1988; Hulshoff Pol y col., 1986; Souza y col., 1992; Hulshoff Pol, 1987)	30
Tabla 2.15 Comparación de la operación de reactores anaerobios de alta tasa termofílicos para el tratamiento de las vinazas	32
Tabla 2.16 Características presentadas al adaptar una biomasa anaerobia mesofílica a condiciones termofílicas	34
Tabla 2.17 Medio de cultivo de Bryant y colaboradores (1971)	35
Tabla 2.18 Comparación del proceso anaerobio para el tratamiento de diversos sustratos con presencia de iones sulfatos	44
Tabla 2.19 Comparación del proceso anaerobio para el tratamiento de diversos sustratos con presencia de iones sulfatos con mediciones de actividad metanogénica y sulfato-reductora	46
Tabla 2.20 Constantes de Henry (Sander, 1999)	47



Tabla 2.21 Formulaciones para la solubilidad de gases en agua para una presión parcial de gas a 1 atm (HCP, 1991).....	47
Tabla 2.22 Modelos cinéticos empleados en procesos de tratamiento anaerobio microbiano (Jlusain, 1998)....	48
Tabla 2.23 Datos cinéticos para la conversión de sustratos orgánicos por biomasa anaerobia mesofílica modificada de Malina y Pohland (1992) y Hu y col. (2002).....	51
Tabla 2.24 Resultados de energías de activación de sistemas anaerobios en la literatura (Aspé y col., 1997; Veeken y Hamelers, 1999).....	55
Tabla 2.25 Resumen de escenarios acerca de la influencia de diferentes factores sobre la competencia entre las BSR y las BM (Kalyuzhnyi y Fedorovich, 1997).....	59
Tabla 2.26 Resumen de condiciones experimentales para la medición de la actividad metanogénica reportadas en la literatura	59
Tabla 2.27 Actividad metanogénica de diferentes tipos de inóculo con distintos sustratos y temperatura (Schmidt y Ahring, 1996).....	64
Tabla 3.1. Parámetros hidráulicos de arranque en el RALLFA para adaptar un inóculo anaerobio proveniente del tratamiento de aguas residuales de una industria cervecera a condiciones mesofílicas y alimentación con vinazas a flujo continuo	66
Tabla 3.2 Parámetros hidráulicos de arranque en los RALLFA a 45 y 55°C (condiciones mesofílicas intermedias y termofílicas).....	67
Tabla 3.3 Medio de cultivo para la actividad metanogénica y sulfato-reductora modificada de Soto y col. (1993), Balch y col. (1979) y Flaherty y col. (1998).....	81
Tabla 3.4 Sólidos en el inóculo proveniente de los reactores de 1.6 L, a 35, 45 y 55°C para iniciar las pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora	81
Tabla 4.1 Características fisico-químicas de las vinazas y aguas residuales de una cervecería almacenadas en un cuarto frío (4°C) (Castro-González, 1999).....	84
Tabla 4.2 Características fisico-químicas de la biomasa anaerobia para inocular el RALLFA para la adaptación a vinazas a condiciones mesofílicas.....	85
Tabla 4.3 Parámetros operacionales recomendados (Tabla 2.14) y usados en este trabajo para el reactor de 10 L	85
Tabla 4.4 Parámetros operacionales para el arranque del RALLFA de 10 L de volumen de trabajo para la adaptación a vinazas a condiciones mesofílicas y datos a PTIS.....	87
Tabla 4.5 Características fisico-químicas de vinazas generadas en diferentes partes del mundo.....	90
Tabla 4.6 Parámetros operacionales en el tratamiento anaerobio de vinazas en el mundo.....	90
Tabla 4.7 Parámetros operacionales para el arranque y la operación de un RALLFA	92
Tabla 4.8 Parámetros operacionales de los tres reactores de 1.6 L de volumen de trabajo a las tres temperaturas en estudio.....	93
Tabla 4.9 Resultados promedio en etapa estable de la adaptación del inóculo de condiciones mesofílicas a	



<i>termofílicas en reactores de 1.6 L de volumen de trabajo</i>	96
<i>Tabla 4.10 Resultados de otras investigaciones a condiciones mesofílicas y termofílicas</i>	104
<i>Tabla 4.11 Valores promedio del estudio del equilibrio químico de gases* en los reactores de 1.6 L de volumen de trabajo a las tres temperaturas</i>	114
<i>Tabla 4.12 Concentraciones de H₂S de inhibición y no inhibición para las BSR y BM</i>	120
<i>Tabla 4.13 Resultados promedio del balance de materia de carbono en la operación de los reactores de 1.6 L de volumen de trabajo a 35, 45 y 55°C</i>	125
<i>Tabla 4.14 Resultados promedio del balance de materia de azufre en la operación de los reactores de 1.6 L de volumen de trabajo a 35, 45 y 55°C</i>	127
<i>Tabla 4.15 Valores promedio del balance de DQO de los reactores de 1.6 L de volumen de trabajo a 35, 45 y 55°C</i>	130
<i>Tabla 4.16 Distribución de flujo de electrones para la metanogénesis y sulfato-reducción</i>	133
<i>Tabla 4.17 Rapidez de reacción en la generación de productos, CH₄ y H₂S en diferentes tipos de sustratos de pruebas realizadas en viales</i>	134
<i>Tabla 4.18 Resultados comparativos de las pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora para ácido acético, propiónico y butírico de la literatura con las de esta investigación</i>	135
<i>Tabla 4.19 Resultados comparativos de las pruebas de actividad metanogénica para ácido acético, propiónico y butírico a condiciones mesofílicas y termofílicas de la literatura con las de esta investigación</i>	136
<i>Tabla 4.20 Resultados comparativos de las pruebas de actividad metanogénica para ácido acético, propiónico y butírico a condiciones mesofílicas y presencia de sulfatos de un reactor con un tiempo de operación prolongado tomados de la literatura con los de esta investigación</i>	137
<i>Tabla 4.21 Resultados del balance de DQO en los reactores a 35, 45 y 55°C con respecto a las formulaciones por Alpheenar (1994) con respecto a los resultados en la presente investigación</i> ... 148	148
<i>Tabla 4.22 Parámetros cinéticos obtenidos para vinaza en el reactor anaerobio en pruebas realizadas en viales</i>	149
<i>Tabla 4.23 Rapidez de reacción obtenidas para la producción de CH₄ y H₂S en pruebas realizadas en viales</i>	152
<i>Tabla 4.24 Comparación de resultados de la constante de rapidez de reacción en la metanogénesis con otras investigaciones</i>	152
<i>Tabla 4.25 Energías de activación obtenidas para la producción de CH₄ y H₂S en pruebas realizadas en viales</i>	155
<i>Tabla 4.26 Comparación de resultados de la energía de activación en la metanogénesis con otras investigaciones</i>	155
<i>Tabla 4.27 Cuadro comparativo de energías de activación en los reactores de 1.6 L y viales por consumo de sustrato con la equivalencia a DQO</i>	156



<i>Tabla 4.28 Resultados promedios del balance de carbono de las pruebas realizadas en viales (volumen de trabajo 5 mL).....</i>	<i>157</i>
<i>Tabla 4.29 Resultados comparativos de los balance de carbono en viales y en los reactores de 1.6 L de volumen de trabajo a las tres temperaturas en estudio.....</i>	<i>158</i>
<i>Tabla 4.30 Resultados promedios del balance de azufre de las pruebas realizadas en viales.....</i>	<i>159</i>
<i>Tabla 4.31 Resultados comparativos de los balance de azufre en viales y en los reactores de 1.6 L de volumen de trabajo a las tres temperaturas en estudio.....</i>	<i>159</i>
<i>Tabla 4.32 Resultados promedio del balance de DQO en las pruebas realizadas en los viales</i>	<i>160</i>
<i>Tabla 4.33 Equivalente de DQO en los productos del biogás generado en las pruebas realizadas en viales (CH₄, CO₂ y H₂S).....</i>	<i>160</i>
<i>Tabla 4.34 Resultados comparativos de los balances de DQO en los viales y en los reactores de 1.6 L de volumen de trabajo a las tres temperaturas en estudio.....</i>	<i>161</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 2.1. Diagrama del equilibrio anaerobio en presencia de iones sulfatos (modificado de Rodríguez-Rivera, 1993).....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 2.2 Rutas de degradación anaerobia hipotéticas para este estudio</i>	<i>23</i>
<i>Figura 2.3 Relación del pH con la concentración de H₂S</i>	<i>27</i>
<i>Figura 2.4 Mediciones de la rapidez de producción inicial a diferentes temperaturas (Ahring, 1994).....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 2.5 Causas de la acidificación dentro del equilibrio anaerobio (Recopilación de Rojas-Chacón, 1988a, b).....</i>	<i>41</i>
<i>Figura 2.6 Dependencia de la constante de proliferación a la temperatura (Van Lier y col., 1993).....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 2.7 Relación entre las energías de activación y el calor de reacción (Crockford y Knight, 1964).....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 3.1 Diagrama del seguimiento analítico fisicoquímico llevado a cabo en los reactores de 1.6 y 10 L ..</i>	<i>62</i>
<i>Figura 3.2 Reactor anaerobio empleado para la adaptación de un inóculo anaerobio a vinazas.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 3.3 Diagrama del reactor anaerobio empleado para la adaptación de un inóculo anaerobio a vinazas.....</i>	<i>65</i>
<i>Figura 3.4 Fotografía de los reactores anaerobios empleados para la adaptación del inóculo a vinazas (reactor de 10 L) y para la adaptación a 45 y 55°C (reactores de 1.6 L).....</i>	<i>67</i>
<i>Figura 3.5 Fotografía de los reactores anaerobios empleados para la adaptación del inóculo de condiciones mesofílicas a termofílicas.....</i>	<i>68</i>
<i>Figura 3.6 Cromatograma de la columna Gas-Pro proporcionada por el proveedor.....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 3.7 Curva de calibración para CH₄ empleando el DIF (separador 1:5.2).....</i>	<i>72</i>



Figura 3.8 Curva de calibración del CH_4 empleando el detector de conductividad térmica (DCT).....	72
Figura 3.9 Curva de calibración de $CH_4 + N_2$ empleando en detector de conductividad térmica (DCT).....	72
Figura 3.10 Curva de calibración del N_2 empleando el detector de conductividad térmica (DCT).....	73
Figura 3.11 Curva de calibración del H_2S empleando el detector de conductividad térmica (DCT).....	73
Figura 3.12 Curva de calibración del CO_2 empleando el detector de conductividad térmica (DCT).....	74
Figura 3.13 Ejemplo de una hoja de resultados de un cromatograma de una muestra problema para CH_4 , CO_2 y H_2S empleado para este estudio.....	74
Figura 3.14 Ejemplo de una hoja de resultados de un cromatograma de una muestra problema para CH_4 con el DIF empleado para este estudio.....	75
Figura 3.15 Correlación de mgDQO/L versus %de carbono total para vinazas.....	76
Figura 3.16 Diagrama del arreglo técnico de los viales para medición de las actividades metanogénica y sulfato-reductora y arreglo para medir el biogás generado.....	80
Figura 4.1 Materia orgánica medida como demanda química de oxígeno en el influente y efluente del reactor anaerobio de 10 L de volumen para la adaptación de la biomasa anaerobia a vinaza.....	88
Figura 4.2 Remoción de materia orgánica medida como DQO en el reactor de 10 L de volumen para la adaptación de la biomasa anaerobia a vinaza.....	91
Figura 4.3 Rendimiento de producción de CH_4 a PTS en mgDQO- CH_4 /kgDQOremovida, obtenida en el reactor de 10 L de volumen para la adaptación de la biomasa anaerobia a vinaza.....	91
Figura 4.4 Valores de pH del influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35(●), 45 (▲) y 55°C (○).....	93
Figura 4.5 DQO soluble en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C.....	94
Figura 4.6 Remoción de DQO soluble en el efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C.....	94
Figura 4.7 Remoción de DQO soluble en efluente en relación con el volumen de CH_4 a PTS en el biogás de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C.....	99
Figura 4.8 Remoción de DQO soluble en efluente en relación con el volumen generado de H_2S a PTS en el biogás de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C y en el intervalo de eficiencias obtenido.....	99
Figura 4.9 Volumen de CH_4 a PTS en el biogás generado de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C.....	101
Figura 4.10 Volumen de H_2S a PTS en el biogás generado de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C.....	101
Figura 4.11 Volumen de CO_2 a PTS en el biogás generado de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C.....	102
Figura 4.12 Producción de biogás de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C en relación con la carga orgánica removida.....	102



<i>Figura 4.13 Producción de CH_4 de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C en relación con la carga orgánica removida</i>	103
<i>Figura 4.14 Producción de CH_4 en relación con el volumen del reactor y a la temperatura</i>	103
<i>Figura 4.15 Concentración de sulfatos en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	105
<i>Figura 4.16 Remoción de sulfatos en efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	106
<i>Figura 4.17 Remoción de sulfatos en relación con el volumen de CH_4 en el biogás a PTS de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	107
<i>Figura 4.18 Remoción de sulfatos en relación con el volumen de H_2S en el biogás a PTS de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	108
<i>Figura 4.19 Relación de alcalinidad como parámetro de control en el efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	108
<i>Figura 4.20 Concentración de carbono total en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	109
<i>Figura 4.21 Concentración de nitrógeno total en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	110
<i>Figura 4.22 Concentración de azufre total en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	111
<i>Figura 4.23 Concentración de sólidos suspendidos volátiles en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	112
<i>Figura 4.24 Concentración de sólidos totales volátiles en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	112
<i>Figura 4.25 Concentración de sólidos totales fijos en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	113
<i>Figura 4.26 Producción en moles de CH_4 en las fases gaseosa y líquida en los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	115
<i>Figura 4.27 Producción en moles de H_2S de las fases gaseosa y líquida en los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	117
<i>Figura 4.28 Producción total de CH_4 en moles (en las fases gaseosa y líquida) en los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	117
<i>Figura 4.29 Producción total de CO_2 en moles (en las fases gaseosas y líquida) en los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	118
<i>Figura 4.30 Producción de H_2S en moles (en las fases gaseosas y líquida) en los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C</i>	118
<i>Figura 4.31 Relación de la presencia de H_2S no ionizada con la producción de las BM y BSR</i>	120
<i>Figura 4.32 Representación gráfica del balance de carbono en porcentajes en los reactores a 35, 45 y 55°C</i>	126



<i>Figura 4.33 Balance de azufre en el influente y efluente líquido de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C.</i>	128
<i>Figura 4.34 Azufre en todas sus formas con respecto a la temperatura en los reactores en estudio</i>	129
<i>Figura 4.35 Pruebas en viales de las actividades metanogénica y sulfato-reductora de la biomasa adaptada a vinazas en tres sustratos y vinaza como "control" a las tres temperaturas en estudio</i>	134
<i>Figura 4.36 Representación del rol de intervención de las BSR y de las BM con la degradación de vinaza y los ácidos propiónico, butírico con respecto a la temperatura de acuerdo a los resultados de actividades metanogénica y sulfato-reductora</i>	140
<i>Figura 4.37 Representación gráfica del porcentaje de S empleado por las BSR de pruebas realizadas en viales</i>	143
<i>Figura 4.38 Porcentaje de C empleado por las BM y las BSR</i>	144
<i>Figura 4.39 Porcentaje de la DQO empleada por las BM y las BSR</i>	146
<i>Figura 4.40 Balance de DQO en la actividad metanogénica y sulfato-reductora a 35, 45 y 55°C, considerando porcentajes específicos para cada grupo de viales en la fase gaseosa, en la líquida y en la biomasa en suspensión</i>	147
<i>Figura 4.41 Relaciones de ecuaciones matemáticas para análisis de los parámetros cinéticos obtenidos</i>	150
<i>Figura 4.42 Efecto de la temperatura sobre la rapidez de reacción de la metanogénesis y sulfato-reducción</i>	153
<i>Figura 4.43 Energía de activación y constante de Arrhenius para: a) Metanogénesis ($E_a/R=7597$, $K_0=1.321 \times 10^9$) y b) Sulfato-reducción ($E_a/R=5815$, $K_0=1.18 \times 10^6$)</i>	154

NOMENCLATURA

AGV	Ácidos grasos volátiles
Asp	Actividad metanogénica específica del inóculo a 37°C ($\text{kgDQO-CH}_4/\text{kgSSVdía}$)
BA	Bacterias acetogénicas
BAF	Bacterias acetogénicas "fermentativas"
BAH	Bacterias acetogénicas hidrolíticas
BAMA	Bacterias anaerobias metanogénicas acetotróficas
BAMH	Bacterias anaerobias metanogénicas hidrogenofílicas
BAPA	Bacterias acetogénicas productoras de ácido acético
BAPH	Bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno
BES	Ácido 2- bromoetanosulfónico
BM	Bacterias metanogénicas
BMA	Bacterias metanogénicas acetotróficas
BMH	Bacterias metanogénicas hidrogenotróficas



BSR	<i>Bacterias sulfato-reductoras</i>
BSRA	<i>Bacterias sulfato-reductoras acetotróficas</i>
BSRH	<i>Bacterias sulfato-reductoras hidrogenotróficas</i>
Bx	<i>Carga orgánica másica kgDQO/kg SSV^{día}</i>
Bv	<i>Carga orgánica volumétrica kgDQO/m³día</i>
C	<i>Carbono total</i>
CH₄(t)	<i>Producción de metano acumulada en el tiempo t (en mL a STP)</i>
CH_{4,max}	<i>Producción máxima de metano (en mL a STP)</i>
CO₂	<i>Dióxido de carbono</i>
COT	<i>Carbónico orgánico total</i>
CY	<i>Concentración molar de CH₄ o H₂S en el efluente (mol CH₄ o H₂S /L)</i>
DIF	<i>Detector de ionización de flama (FID, flame ionization detector por sus siglas en inglés)</i>
DCT	<i>Detector de conductividad térmica (TCD, thermal conductor detector por sus siglas en inglés)</i>
DQO	<i>Demanda química de oxígeno</i>
DQO_s	<i>Demanda química de oxígeno soluble</i>
DQO_t	<i>Demanda química de oxígeno total</i>
DQO/sulfatos	<i>Relación de DQO-sulfatos</i>
DQO-CH₄gas	<i>Producción de metano de las BM en la fase gaseosa en equivalentes de DQO</i>
DQO-CH₄liquido	<i>Producción de metano de las BM en la fase líquida en equivalentes de DQO</i>
DQO-ΔSO₄	<i>Sulfatos reducidos en equivalentes de DQO</i>
Ea	<i>Energía de activación de la reacción (kJ/mol)</i>
FX	<i>Fracción de CH₄ o H₂S en el biogás</i>
H	<i>Constante de la ley de Henry</i>
HAc	<i>Ácido acético</i>
HPr	<i>Ácido propiónico</i>
HBu	<i>Ácido butírico</i>
HCO₃⁻	<i>Iones bicarbonato</i>
H₂S	<i>Ácido sulfhídrico</i>
H₂S (t)	<i>Producción de H₂S acumulada en el tiempo t (en mL a STP)</i>
H₂S_{max}	<i>Producción máxima de H₂S (en mL a STP)</i>
K_s	<i>Constante de velocidad media, concentración del sustrato para la media de la tasa máxima de proliferación (gDQO/L)</i>
k_{ref}	<i>Velocidad de reacción a la temperatura de referencia</i>
K_{CH₄}	<i>Constante de velocidad de metanogénesis de primer orden (día⁻¹)</i>
K_{H₂S}	<i>Constante de velocidad de sulfato-reducción de primer orden (día⁻¹)</i>
K_v	<i>Constante de velocidad de metanogénesis o sulfato reducción respectivamente (día)</i>
K_o	<i>Factor de frecuencia (día⁻¹)</i>
k	<i>Tasa máxima de utilización del sustrato por unidad de masa de microorganismos (gDQO/gSSV^{día})</i>
k_d	<i>Coficiente de descomposición endógena (día⁻¹)</i>
lavado	<i>Término utilizado de dos formas: 1) Eliminación de un compuesto químico en el efluente o biogás generado en la degradación anaerobia por medio de la aplicación de</i>



una reacción química o postratamiento y 2) Eliminación de un grupo de bacterias específico por medio del aumento de velocidad de flujo, arrastrando en el efluente a lo que se quiere eliminar

$M_{m\acute{a}x}$	Cantidad de DQO que puede degradar diariamente el reactor como máximo teórico (kgDQO/día)
MS	Molibdato de sodio
P_g	Presión parcial del gas en atmósferas
PM	Peso molecular del CH_4 (16 g/mol)
PTS	Presión y temperatura estándar, 0°C y 1 atm, por sus siglas en inglés (Standard Temperature and Pressure)
Q_{10}	Incremento relativo en la actividad después de incrementar la temperatura 10°C
$Q_{biog\acute{a}s}$	Flujo volumétrico de biogás producido a STP (temperatura y presión normal) (L/día)
Q_E	Flujo volumétrico del efluente (L/día)
Q_{gas-X}	CH_4 o H_2S en gas (mol CH_4 o H_2S -DQO/día)
Q_{gas-CH_4}	Metano en gas (mol CH_4 -DQO/día)
Q_{liq-CH_4}	Metano disuelto en el efluente (mol CH_4 -DQO/día)
Q_{gas-H_2S}	H_2S en gas (mol H_2S -DQO/día)
Q_{liq-H_2S}	H_2S disuelto en el efluente (mol H_2S -DQO/día)
Q_{liq-Y}	CH_4 o H_2S en líquido (mol CH_4 o H_2S -DQO/día)
R	Constante universal de los gases (kJ/mol K)
RAAC	Reactor anaerobio de actividad central
RABE	Reactor anaerobio bio-electroquímico
RAFAC	Reactor anaerobio de flujo ascendente "compartimentalizado"
RALLFA	Reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente
RALLFE	Reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo expandido
RALLGE	Reactor anaerobio de lecho de lodo granular expandido
RALLMAG	Reactor anaerobio de lecho de lodos microaerofílico granular
$SO_4^{2-}S$	Concentración de sulfatos en equivalentes de azufre
S	Azufre total
So-S	Concentración del sustrato inicial en el reactor (g/L)- Concentración final de sustrato en el reactor (g/L)
t	Tiempo (días)
T	Temperatura a la que se lleva a cabo el proceso
T_{ref}	Temperatura de referencia
TRC	Tiempo de retención celular
TRH	Tiempo de residencia hidráulica (días)
V	Volumen de la fase gaseosa (volumen del frasco)
V_{C114}	Producción de metano acumulada
V_L	Volumen de lodo de inóculo (m^3)
V_r	Volumen útil del reactor
V_{asc}	Velocidad ascensional (m/h)
X	Concentración de SSV de lodo de inóculo (kg SSV/ m^3 o g/L)
X_g	Fracción molar de equilibrio del gas disuelto
X_n	Fracción molar



Y_b	<i>Coefficiente de rendimiento máximo medido durante cualquier período finito de la fase de "crecimiento" o proliferación o desarrollo exponencial definido como la relación entre la masa de células formadas y la masa de sustrato consumido (gSSV/gDQO)</i>
Y_{xs}	<i>Coefficiente de rendimiento microorganismos-sustrato (gSSV/gDQO)</i>

GRIEGAS

α	<i>Relación de alcalinidad</i>
ΔE	<i>Diferencia de energías de activación</i>
ΔG	<i>Energía libre de Gibbs (kJ/mol)</i>
μ	<i>Tasa de proliferación específica (día⁻¹)</i>
$\mu_{\text{máx}}$	<i>Tasa máxima de "crecimiento" o proliferación específica (día⁻¹)</i>



Capítulo 1

1 INTRODUCCIÓN

Los procesos anaerobios han ganado popularidad en el tratamiento de aguas residuales industriales durante las últimas décadas. Cerca de 1000 reactores a escala industrial se han reportado en el año 2000 (Lens y Hulshoff Pol, 2000). Asimismo, el interés en el tratamiento de las aguas residuales de la industria alcoholera se ha incrementado.

Las aguas residuales que contienen materia orgánica y sulfatos son generadas por muchos procesos industriales que emplean ácido sulfúrico (por ejemplo, las industrias alimentarias y las de fermentación) o materias primas de alimentos ricas en sulfatos (por ejemplo, industria procesadora de mariscos). La presencia de sulfatos ha causado problemas en el tratamiento anaerobio metanogénico de estas aguas residuales industriales y de otras, incluyendo las corrientes de las aguas residuales de la industria alcoholera. Para la obtención de alcohol etílico en un ingenio azucarero, las melazas incristalizables se fermentan con *S. cerevisiae*, a un pH ácido alcanzado por la adición de ácido sulfúrico para evitar competencia de otras especies por los azúcares. El mosto fermentado es después destilado para obtener alcohol y otros productos. De este proceso de destilación, se obtiene un subproducto denominado vinazas, aguas residuales que son descargadas directamente a suelos o cuerpos acuíferos con un promedio de 6,000 a 20,000 mg/L de iones sulfatos y materia orgánica medida como demanda química de oxígeno total (DQO) de 40,000 a 150,000 mg/L (Durán y col., 1988).

En México, por cada litro de alcohol etílico producido se generan 12 litros de vinazas. Así, se estima que de la producción de 70,000 m³/año de alcohol se generan 840,000 m³/año de vinazas (Jiménez y col., 1995). La composición química de las vinazas provoca serios problemas ambientales manifestados principalmente por su descarga a cuerpos receptores como suelos o cuerpos de agua, como los ríos. Las vinazas incrementan la temperatura del cuerpo receptor (agua o suelo) y disminuye la cantidad de oxígeno disuelto disponible. También su acidez disminuye el pH, lo cual puede disolver algunos metales. La turbidez de los sólidos suspendidos restringe la penetración de la luz. Los sólidos suspendidos presentes en las vinazas disminuyen la permeabilidad del suelo o el lecho del río, obstruyendo su infiltración y provocando un proceso de degradación anaerobia dando como resultado olores desagradables. En resumen, los efectos ambientales de las vinazas pueden cesar la capacidad de purificación natural de los cuerpos receptores acuíferos o alterar la composición de los suelos (García y col., 1997; Bautista-Zúñiga y col., 2000).

Los sulfatos disueltos en las vinazas no son considerados una amenaza directa para los ecosistemas, pues es un compuesto químicamente inerte, no volátil y no tóxico en condiciones aerobias (Shin y col., 1995). Sin embargo, existe un gran interés acerca de la aplicación del tratamiento biológico anaerobio para este tipo de aguas residuales, debido a que, a condiciones anaerobias, las bacterias sulfato-reductoras (BSR) son capaces de emplear los sulfatos como un aceptor terminal de electrones de los compuestos orgánicos y de hidrógeno (Oude-Elferink



y col., 1994), lo cual, tiene como producto de la reacción a los sulfuros e incrementa considerablemente la complejidad de las rutas de biodegradación anaerobia (Widdel, 1988). Esto implica, que las BSR compiten por el sustrato que emplean las bacterias metanogénicas (BM) para la producción de CH₄. Además, el H₂S en el efluente reduce tanto la eficiencia de remoción de demanda química de oxígeno como la producción de metano.

Por consiguiente, el principal problema asociado con el tratamiento anaerobio de aguas residuales con sulfatos es la producción de sulfuros, porque son compuestos químicos tóxicos para las poblaciones bacterianas involucradas en el tratamiento. La Tabla 1.1 muestra las ventajas y desventajas del efecto de la formación de sulfuros en los reactores anaerobios.

Tabla 1.1. Efectos de la formación de sulfuros en reactores anaerobios (Lens y Hulshoff Pol, 2000)

Desventajas	Ventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Baja eficiencia de la remoción de DQO debido a la presencia de H₂S en el efluente • Corrosión • Acumulación de material inerte en el lodo (por ejemplo, sulfuros de metales) • Menor formación de metano • Necesidad de tratamiento del biogás para la remoción de H₂S, mal olor • Toxicidad potencial • Deterioro del sistema de postratamiento aerobio (efecto de "voluminosidad" (bulking) de los lodos activados, fotótrofos de proliferación excesiva) 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción biológica de iones sulfatos • Degradación de compuestos xenobióticos • Remoción de metales pesados • Precipitación de metales como sulfuros (FeS) formando buenos precursores para la granulación

El dominio de la sulfato-reducción sobre la metanogénesis depende de varios factores que pueden controlarse en la operación como lo muestra la Tabla 1.2. Existen medidas para prevenir la inhibición de la metanogénesis aunque es difícil predecir fallas del reactor durante el tratamiento metanogénico durante la aplicación de estas medidas. 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 BM y las BSR (Lens y col., 1998). Aunque se han estudiado muchos factores, como lo muestra la Tabla 1.2, aún no existen estrategias planteadas para muchos de estos factores. Uno de ellos, es el efecto de la temperatura sobre la actividad sulfato-reductora, que fue estudiado someramente por Visser y col. (1992) (Tabla 1.2).

Las investigaciones en este campo se han enfocado sobre la competencia entre las BM y BSR en condiciones mesofílicas. Datos experimentales en sedimentos marinos y sedimentos de agua fresca (Winfrey y Zeikus, 1977; Banat, 1981; Lovley y col., 1982) y en reactores completamente mezclados sin retención de biomasa (Middleton y Lawrence, 1977) mostraron que las BSR en diferentes concentraciones de sulfatos compiten con las BM por el sustrato



con la consecuente producción de H₂S en el biogás. Visser y col. (1992) investigaron la competencia en condiciones termofilicas (55°C) empleando ácido acético y sulfatos como sustratos en un reactor anaerobio obteniendo predominio de las BSR sobre las BM. Pero al emplear una mezcla de ácidos acético, propiónico y butírico fue encontrada una mayor actividad de las BM y disminución de la actividad sulfato-reductora. Ellos utilizaron una relación de DQO/sulfatos de 0.5 con una concentración de 2 gDQO/L.

Tabla 1.2 Factores que determinan la competencia entre las BSR y las BM en reactores anaerobios de alta tasa (Lens y Hulstioff Pof, 2000)

Factor	Referencia
Composición del inóculo	
• Tipo de inóculo	McCartney y Oleszkiewicz, 1991
• Composición bacteriana	Harada y col., 1994; Omil y col., 1998
• Propiedades de adhesión de las bacterias	Isa y col., 1986a, b
• Tiempo de las corridas experimentales	Harada y col., 1994; Omil y col., 1998
• Inoculación con una nueva especie bacteriana	Omil y col., 1997
Composición del influente	
• Tipo de DQO	Polprasert y Haas, 1995
• Concentración de ácido acético	Yoda y col., 1987
• Concentración de iones sulfato	Overmeire y col., 1994
• Concentración de sulfuros	Omil y col., 1996
• Concentración Ca ⁺² y Mg ⁺²	Smul y col., 1999
Condiciones operacionales	
• pH, licor mezclado	Visser y col., 1996; Smul y col., 1999
• Temperatura	Visser y col., 1992

A condiciones mesofilicas se han identificado 32 especies de BSR contra 33 especies de las BM mesofilicas, mientras que se han reportado 3 especies de BSR termofilicas contra 14 de las BM termófilas. Principalmente son los géneros: *Methanobacterium*, *Methanothrix* y *Methanosarcina* (Shigeki y Harada, 1993; Ahring, 1994; Jules y col., 1996; Griffin y col., 1998).

Independientemente de la competencia de las BSR con las BM, el tratamiento anaerobio termofilico de cualquier agua residual (45 a 65°C), permite la degradación de materia orgánica más eficientemente y una mayor eliminación de organismos patógenos (Fang y Chung, 1999). Otras ventajas con respecto a las condiciones mesofilicas se muestran en la Tabla 1.3.

Aunado a que los reportes sobre el efecto de la temperatura sobre las BSR son limitados, existen miles de plantas a escala industrial que se han instalado en la década pasada para el tratamiento de diferentes tipos de aguas residuales en condiciones mesofilicas. Sin embargo, su aplicación a tratamientos termofilicos de aguas residuales de industrias diversas es aún



limitada. El proceso se ha investigado para tratamientos termofílicos de aguas residuales a nivel de laboratorio (Wiegant, 1985; Van Lier y col., 1993; Shi y Forster, 1993; Fang y Lau, 1996) como también en reactores a escala piloto (Souza y col., 1992; Ohtsuki y col., 1994).

Tabla 1.3 Ventajas y desventajas de la metanogénesis en condiciones mesófilas y termófilas (modificado de Stronach y col., 1986)

Metanogénesis mesófila 20 a 40°C	Metanogénesis termófila 45 a 65°C
<ul style="list-style-type: none"> • Menos vapor de agua en el gas • Mayor población metanogénica • Menos CO₂ en el gas • Balance energético más favorable • Mayor experiencia en su aplicación 	<ul style="list-style-type: none"> • Mayor actividad (incremento de la velocidad de reacción) • Menor TRH y menor volumen del reactor • Menor formación de lodos • Eliminación de microorganismos patógenos • Equilibrio microbiano frágil • Mayor actividad metanogénica de la biomasa • Baja viscosidad, para el lavado de bacterias menos densas • Mayor requerimiento de energía para el incremento de la temperatura

Omil y col. (1997) probaron el efecto de la temperatura sobre las BSR y las BM elevando la temperatura por choques térmicos en una biomasa mesofílica. Utilizaron sustratos como ácido acético, propiónico y butírico, obteniendo aumentos en la actividad sulfato-reductora y disminución de la actividad metanogénica. Concluyeron que las BM requieren de un mayor tiempo de adaptación para obtener una conclusión fiel sobre el efecto de la temperatura en la competencia entre las dos especies microbianas.

Por lo descrito en los párrafos anteriores, el trabajo de Visser y col. (1992) sobre la respuesta de disminución de la actividad sulfato-reductora con la temperatura con una mezcla de sustratos determinados y por los estudios hechos después por el mismo autor y col. (1993b) y Omil y col. (1997) fue planteada la hipótesis de esta investigación, la cual fue enfocada a determinar la competencia de la actividad sulfato-reductora versus la metanogénica en condiciones termofílicas en una biomasa adaptada a termofilia y a un sustrato complejo.

Los objetivos planteados para probar la hipótesis propuesta implican en un concepto general, la adaptación de una biomasa anaerobia al sustrato y a la temperatura para estudiar la competencia entre las BSR y las BM. Una propuesta adicional de la autora de esta investigación fue experimentar con el lodo adaptado con los mismos sustratos empleados por Omil y col. (1997), para comparar el efecto de la temperatura sobre las BSR y las BM, ya que los resultados de Omil y colaboradores fueron obtenidos en un lodo no adaptado al sustrato ni a la temperatura.



1.1 HIPÓTESIS

El aumento de la temperatura de 35 a 55°C tiene un efecto positivo sobre la actividad metanogénica mientras que tiene un efecto negativo sobre las bacterias sulfato-reductoras.

1.2 OBJETIVO Y METAS

El objetivo general de esta investigación es:

- Determinar el efecto de la temperatura en un intervalo mesofílico y termofílico sobre la actividad metanogénica y sulfato-reductora en un sistema anaerobio para el tratamiento de un sustrato complejo

El programa de actividades para alcanzar este objetivo fue el siguiente:

1. Realizar una revisión bibliográfica sobre la degradación biológica de las vinazas, los mecanismos de competencia entre las BM y BSR, los fundamentos del efecto de la temperatura sobre las BM y las BSR en sistemas anaerobios y los fundamentos para el diseño de la metodología planteada con un promedio de 300 títulos de obras científicas de divulgación internacional en revistas y libros y en divulgaciones tecnológicas
2. Planear la estrategia de arranque de un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente para el tratamiento de las vinazas a 35°C
3. Adaptar la biomasa anaerobia a vinazas en un reactor anaerobio mesofílico de 10 L
4. Seguir analíticamente la operación hasta alcanzar condiciones estables midiendo pH, relación de alcalinidades, sólidos en todas sus formas, DQO soluble, sulfatos y, en los gases, CH₄ y CO₂ cromatográficamente y H₂S por una técnica modificada
5. Montar y utilizar una metodología para medición de C, N y S en un equipo de análisis elemental
6. Adaptar la biomasa anaerobia del reactor de 10 L a 35°C, a condiciones mesofílicas intermedias (45°C) y termofílicas (55°C)
7. Construir tres reactores anaerobios de 1.6 L de volumen útil para operarlos a las



8. Realizar el seguimiento analítico que garantice que los parámetros operacionales sean similares en los tres reactores (velocidad ascensional, carga orgánica volumétrica y másica y tiempo de residencia hidráulica)
9. Montar un método cromatográfico para la medición de gases CH_4 , H_2S , CO_2 , N_2 , NH_3
10. Seguir analíticamente la operación de los reactores de 1.6 L mediante varios parámetros fisicoquímicos, como el análisis elemental para C, S, N totales, relación de alcalinidades, DQO total y soluble, pH, sólidos en todas sus formas y sulfatos
11. Calcular por medio de la ley de Henry, las concentraciones en el equilibrio de CH_4 , H_2S , CO_2 en la fase líquida a partir de los datos de la fase gaseosa
12. Realizar balances de materia con base en el C, S y DQO para los resultados obtenidos a 35, 45 y 55°C
13. Plantear un diseño experimental empleando viales que simularan la operación de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C en pruebas a escala “micro”
14. Aplicar la ecuación de Arrhenius para determinar el efecto de la temperatura en la producción de CH_4 y de H_2S en los viales
15. Determinar los parámetros cinéticos empleando la ecuación de Monod en los viales
16. Realizar balances de materia con base en C, S y DQO en los viales comparando los resultados con los obtenidos en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C
17. Proponer una metodología para la medición de las actividades metanogénica y sulfato-reductora en los viales
18. Determinar las actividades metanogénica y sulfato-reductora de la biomasa adaptada a vinazas en ácidos acético, propiónico y butírico como sustratos
19. Realizar balances de materia con base en C, S y DQO obteniendo el porcentaje de consumo por las BSR y las BM en las pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora



Capítulo 2

2 FUNDAMENTACIÓN

En este capítulo se presentan los conceptos y fundamentos en los que se apoyó esta investigación, con base en otros estudios realizados con anterioridad, tanto en experiencias e investigaciones sobre reactores anaerobios (sulfato-reducción, metanogénesis, operación, vinazas y condiciones termofílicas) en laboratorios, industrias y consultorías ambientales, como en lo que la autora obtuvo en sus investigaciones previas (Castro-González, 1997; Castro-González y col., 2001). Estas experiencias se han realizado en diversas partes del mundo y los grupos de investigación se listaron en el inicio del apartado de bibliografía, al final de este documento.

2.1 BACTERIAS SULFATO-REDUCTORAS (BSR)

Este apartado describe a las BSR y sus funciones. En primer lugar, se muestran las industrias que generan aguas residuales con iones sulfatos y que pueden tratarse por sistemas biológicos anaerobios considerando que la presencia de sulfatos brinda algunas ventajas y muchas desventajas al tratamiento. En segundo lugar, se describen sus principales sustratos y su pH óptimo de proliferación y de funcionamiento. En tercer lugar es presentada la clasificación de estas bacterias con respecto a la temperatura y sustrato.

La Tabla 2.1 muestra la concentración de los iones sulfatos en las aguas residuales de diferentes procesos incluyendo la industria de destilación para producción de alcohol etílico. La Tabla 2.2 muestra que la presencia de H_2S en el tratamiento anaerobio genera, tanto problemas físicos en la estructura del reactor como microbiológicos en el funcionamiento de las bacterias involucradas en la degradación anaerobia. Asimismo, crea problemas de salud por la inhalación del H_2S y SO_x por los seres humanos.

Las BSR son bacterias anaerobias estrictas, gram negativas y se observan por contraste de fases en el microscopio. Obtienen energía para su proliferación por la oxidación de sustratos orgánicos empleando a los sulfatos como aceptores externos de electrones. Como resultado de esto, los sulfatos se reducen a H_2S . Asimismo, emplean iones sulfatos para oxidar los productos de la hidrólisis o acetogénesis. Como sustratos usan compuestos de bajo peso molecular como lactato, hidrógeno, ácidos grasos lineales de cadena corta, ácidos grasos de cadena larga y ramificados, metanol, etanol, butanol, ácidos dicarboxílicos, compuestos aromáticos, ácidos orgánicos cíclicos saturados, colina, aminoácidos, azúcares y glicerol. Muchas BSR degradan ácidos propiónico y butírico, algunas oxidan estos ácidos grasos completamente a CO_2 y otras los transforman simplemente simplemente a ácido acético. Otros



compuestos que pueden ser completa o incompletamente degradados por las BSR son cadenas divididas y ácidos grasos de cadena larga, etanol y otros alcoholes, ácidos orgánicos (ácidos láctico, succínico, maleárico) y compuestos aromáticos como ácido benzoico, catecol, fenoles y anilina. Aún compuestos sin un grupo funcional tales como el tolueno pueden degradarse por las BSR. Los metales pesados presentes se precipitan como sulfuros y, por lo tanto, se reduce el efecto tóxico para las BSR. Las BSR pueden metabolizar inhibidores orgánicos como compuestos aromáticos (tolueno, etilbenceno), alcanos, compuestos clorados (cloroformo), etc. (Widdel, 1988). Las reacciones llevadas a cabo por las BSR se presentan en la Tabla 2.3.

Tabla 2.1 Industrias que generan aguas residuales con iones sulfato (modificado de Lens y Hulshoff Pol, 2000)

Industria	Productos	Concentraciones
"Fermentación"	Ácido cítrico	30,000 mg DQO /L y 4,500 mg SO_4^{2-} /L
	Ácido tartárico	no reportado
	Alcohol etílico	80,000 mg DQO/L y 6,000 mg SO_4^{2-} /L
Destilerías	Vino y alcohol	17,000 a 150,000* mg DQO/L y 4,000 a 10,000 mg SO_4^{2-} /L
Aceiteras	Aceite comestible	50,000 mg SO_4^{2-} /L
Química	Productos químicos	200 a 50,000 mg SO_4^{2-} /L
Minera	Metal	100 a 20,000 mg SO_4^{2-} /L
Galvánica	Hierro galvanizado	200 a 50,000 mg SO_4^{2-} /L
Lavado de chimeneas de gas	Agua residual	1,000 a 2,000 mg SO_4^{2-} /L

* Durán y col. (1988)

Tabla 2.2 Desventajas del tratamiento anaerobio de aguas residuales con iones sulfato por la generación de H_2S (Lens y col., 1998)

Desventajas	Problemas ocasionados
H_2S en el biogás	Corrosión en tuberías, motores (normalmente hasta 3% y excepcional 10% v/v de H_2S)
Combustión del biogás	Producción de SO_x contaminante
H_2S en el ambiente anaerobio	Tóxico al afectar a las bacterias anaerobias, incluyendo a las metanogénicas, acetogénicas y sulfato-reductoras
Mal olor en el efluente	Daños a la salud de los seres que lo inhalan
H_2S tóxico celular	Atraviesa la pared celular desnaturalizando las proteínas celulares o coenzimas claves para el metabolismo celular y afecta el valor del pH intracelular

El pH óptimo de proliferación de las BSR está en el intervalo de 7.3 a 7.6 y son inhibidas a valores de pH de 6 y 9. Las BSR son inhibidas por la cantidad de sulfuros totales (H_2S , HS^- , etc) y por la presencia de H_2S no disociado (Hilton y Oleszkiewicz, 1988). Las BSR generan competencia con las BM a un pH mayor de 7.7 (Visser, 1995).



Tabla 2.3 Reacciones llevadas a cabo por las BSR, (Lens y Hulshoff Pol, 2000)

Reacción	ΔG (kJ/mol)
Acido láctico a ácido acético y sulfuro:	
$2\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}^+$	-160.8
$2\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + 3\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 6\text{HCO}_3^- + 3\text{HS}^- + \text{H}^+$	-255.3
Acido acético:	
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-47.6
Acido propiónico:	
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 3\text{H}_2$	76
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 0.75\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + 0.75\text{HS}^- + 0.25\text{H}^+$	-37.7
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 1.75\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 3\text{HCO}_3^- + 1.75\text{HS}^- + 0.5\text{H}^+ + 0.25\text{OH}^-$	-88.9
Acido butírico y otros:	
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{2n}\text{COO}^- + n/2\text{SO}_4^{2-} \rightarrow (n+1)\text{CH}_3\text{COO}^- + n/2\text{HS}^- + n/2\text{H}^+$	ND
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{2n+1}\text{COO}^- + n/2\text{SO}_4^{2-} \rightarrow n\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + n/2\text{HS}^- + n/2\text{H}^+$	ND
Metanol:	
$4\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	-314.6
$4\text{CH}_3\text{OH} + 3\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 4\text{HCO}_3^- + 3\text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	-364.4

ND= no determinados

La Tabla 2.4 muestra las especies de BSR considerando las sustancias que actúan como donadores de electrones, algunos requerimientos y su temperatura óptima de proliferación. En esta tabla puede verse que sólo 3 especies de 35 de las BSR están presentes a condiciones termofílicas, éstas son: *Desulfotomaculum nigrificans*, *Desulfovibrio thermophilus* y *Thermodesulfobacterium commune*. Por esta razón, como fue explicado en el apartado de introducción, fue una fuente que originó la hipótesis de este trabajo.

Las BSR pueden dividirse en dos grupos dependiendo del sustrato empleado (Lutgarde-Raskin y col., 1996):

Grupo I: Proliferan en presencia de lactato pero no pueden emplear ácidos acético, propiónico o butírico como únicos donadores de electrones y fuente de carbono. En este grupo resaltan los géneros *Desulfomonas* y *Desulfovibrio*.

Grupo II: Pueden utilizar algunos de los ácidos grasos volátiles, ácido benzoico o aún desarrollarse quimioautótrofamente con H_2 o ácido fórmico como donadores de electrones y CO_2 como única fuente de carbono. Los géneros representativos de este grupo son *Desulfobacter*, *Desulfococcus* y *Desulfosarcina*.



Tabla 2.4 Propiedades de las BSR y su temperatura óptima de desarrollo (Zehnder y col., 1982)

Especies	Temp. óptima °C	Donadores de electrones													Otros	Requerimiento de factor de proliferación	Requerimiento NCl (g/L)	Referencia
		oxalación	hierrogeno	ácido fórmico	ácido láctico	etanol	ácido acético	ácidos grasos: C átomos	ácido isobutírico	2-mercaptosuccinato	3-mercaptosuccinato	ácido succínico	ácido maléico	ácido benzoico				
<i>Desulfotomaculum</i>																		
<i>nigrificans</i>	55 (máx. 70)	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	fructosa	NC	-	Campbell y Postgate, 1965; Klemp y col., 1985; Postgate, 1984
<i>orientis</i>	37	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	metanol	NC	-	Campbell y Postgate, 1965; Klemp y col., 1985; Postgate, 1984
<i>ruminis</i>	37	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	alanina	pa, bi	-	Campbell y Postgate, 1965; Klemp y col., 1985; Postgate, 1984
<i>antarecticum</i>	20-30	i	nr	-	+	nr	-	-	nr	nr	nr	nr	nr	nr	glucosa	NC	-	Iizuka y col., 1969; Postgate, 1984
<i>acetoxidans</i>	35	c	-	-	-	+	+	4-5	+	-	-	-	-	-	butanol	bi	-	Postgate, 1984; Widdel y Pfennig, 1977, 1981.
<i>guttoidesum</i>	31	i	+	-	+	-	-	nr	nr	nr	nr	nr	-	nr	-	NC	-	Gogotova y Vainshtein, 1983
<i>sapomandens</i>	38	c	nr	+	-	+	(+)	4-18	+	-	+	(+)	(+)	+	fenilacetato	NC	-	Cord-Ruwisch y García, 1983
<i>Desulfovibrio</i>																		
<i>desulfuricans</i>	30-36	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	+	+	-	colina	Ninguno	-	Postgate, 1984; Postgate y Campbell, 1966
<i>vulgaris</i>	30-36	i	+	+	+	(+)	-	-	nr	nr	nr	+	+	-	oxamato	Ninguno	-	Postgate, 1984; Postgate y Campbell, 1966
<i>gigas</i>	30-36	i	+	+	+	(+)	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	nr	bi	-	Postgate, 1984; Postgate y Campbell, 1966
<i>africanus</i>	30-36	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	+	-	nr	Ninguno	-	Jones, 1971; Postgate, 1984; Postgate y Campbell, 1966
<i>saxigens</i>	30-36	i	+	+	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	+	-	nr	Ninguno	20	Postgate, 1984; Postgate y Campbell, 1966
<i>baculatus</i>	28-37	i	(+)	+	+	-	-	nr	nr	nr	nr	-	+	nr	nr	NC	-	Postgate, 1984; Postgate y Campbell, 1966; Rozanova y Nazina, 1976



Tabla 2.4 Propiedades de las BSR y su temperatura óptima de desarrollo (Zehnder y col., 1982) (continuación...)

Especies	Temp. óptima °C	Donadores de electrones													Otros	Requerimiento de factor de proliferación	Requerimiento NaCl (g/L)	Referencia
		oxalacético	hidrógeno	ácido fórmico	ácido láctico	etanol	ácido acético	ácidos grasos: C-átomos	ácido isobutírico	2-metilbutírico	3-metilbutírico	ácido succínico	ácido fumarico	ácido malático				
<i>sulfodismutans</i>	30-35	i	(+)	-	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	-	-	nr	bi, pt	-	Bak y Pfenning, 1987
<i>thermophilus</i>	65 (máx. 85)	i	+	+	+	-	-	-	nr	nr	nr	nr	-	nr	nr	NC	-	Postgate, 1984; Postgate y Campbell, 1966; Rozanova y Khudyakova, 1974
<i>sapovarans</i>	34	i	-	-	+	-	-	4-16	-	+	-	-	-	nr	Ninguno	-	Pfenning y Widdel, 1981; Postgate, 1984	
<i>baarsii</i>	35-39	c	-	+*	-	-	(+)	(3)-18	+	(+)	+	-	-	nr	Ninguno	-	Jansen y col., 1984; Pfenning y Widdel, 1981; Postgate, 1984	
<i>Desulfomonas</i>																		
<i>pigra</i>	37	i	+	-	+	+	-	-	nr	nr	nr	-	nr	-	r	pa	-	Moore y Holdeman, 1984; Moore y col., 1976
<i>Thermodesulfobacterium</i>																		
<i>commune</i>	70 (máx. 85)	i	+	nr	+	-	-	-	nr	nr	nr	nr	-	nr	nr	NC	-	Hatchikian y Zeikus, 1983; Zeikus y col., 1983
<i>Desulfobulbus</i>																		
<i>propionicus</i>	28-39	i	+	-	+	+	-	3	-	-	-	-	-	nr	pa	-	Pfenning y col., 1981; Widdel y Pfenning, 1982; 1984	
<i>elongates</i>	35	i	+	-	+	+	-	3	nr	nr	nr	-	-	nr	nr	NC	-	Samain y col., 1984
<i>Desulfobacter</i>																		
<i>Postgatei</i>	28-32	c	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	nr	pa, bi	7		
<i>hydrogenophilus</i>	28-32	c	+*	-	-	(+)	+	-	-	-	-	-	-	nr	pa, bi	20	Pfenning y col., 1981; Widdel y Pfenning, 1981; 1984	
<i>Latus</i>	28-32	c	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	nr	bi, th	20		
<i>Curvatus</i>	28-30	c	(+)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	nr	bi	10		
<i>Desulfococcus</i>																		
<i>multivorans</i>	35	c	-	+*	+	+	(+)	3-16	+	+	+	-	-	+	fenilacetato, fenilpropionato	pa, bi, th	5	Pfenning y col., 1981; Widdel y Pfenning, 1984



Tabla 2.4 Propiedades de las BSR y su temperatura óptima de desarrollo (Zehnder y col., 1982) (continuación...)

Especies	Temp. óptima °C	Donadores de electrones													Otros	Requerimiento de factor de proliferación	Requerimiento NaCl (#/L)	Referencia
		oxidación	hidrógeno	ácido fórmico	ácido láctico	etanol	ácido acético	ácidos grasos: C-átomos	ácido isobutírico	2-metilbutírico	3-metilbutírico	ácido succínico	ácido fumarico	ácido malónico				
<i>niacini</i>	29	c	+	+	-	+	(+)	(3)-16	-	-	-	+	+	-	nicotinato, succinato, glutamato, pimelato	bi, th	15	Imhoff-Stucke y Pfenning, 1983
<i>Desulfosarcina</i>																		
<i>variabilis</i>	33	c	+	+	+	+	(+)	3-14	-	(+)	(+)	+	-	+	fenilacetato, fenilpropionato	Ninguno	15	Pfenning y col., 1981; Widdel y Pfenning, 1981; 1984
<i>Desulfobacterium</i>																		
<i>autotrophicum</i>	20-26	c	+	+	+	+	(+)	(3)-16	+	+	-	+	+	-	succinato	bi, ni, th	20	
<i>vacuolatum</i>	25-30	c	+	+	+	(+)	(+)	(3)-16	+	(+)	(+)	+	+	-	succinato	Ninguno	20	
<i>phenolicum</i>	28	c	-	(+)	-	(+)	(+)	(4)	-	-	-	(+)	(+)	+	fenol, p-cresol, ghtarato	Ninguno	20	Bak y Widdel, 1986
<i>indolicum</i>	28	c	-	(+)	-	(+)	(+)	(3)	-	-	-	(+)	(+)	-	indol	B12	20	Bak y Widdel, 1986
<i>catecholicum</i>	28	c	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(3-20)	nr	nr	nr	(+)	(+)	+	catecol	NC	-	Szewzyk y Pfenning, 1987
<i>Desulfonema</i>																		
<i>limicola</i>	30	c	+	+	+	-	(+)	3-14	+	+	+	+	-	-	succinato	bi	15	Pfenning y col., 1981; Widdel y col., 1983; Widdel y Pfenning, 1984
<i>magnum</i>	32	c	-	+	-	-	(+)	3-10	+	(+)	+	+	(+)	+	succinato	pa, bi, B12	20	Pfenning y col., 1981; Widdel y col., 1983; Widdel y Pfenning, 1984

nr, no reportado o no determinado

+ utilizado

+* proliferación autotrófica

() escasamente utilizado

- no utilizado

i oxidación incompleta a ácido acético como producto final

c oxidación completa a dióxido de carbono

pa para-aminobenzoato

bi biotina

pt ácido pantoico

th tiamina

ni ácido nicotínico

NC no conocido



2.2 BACTERIAS METANOGÉNICAS (BM)

Las BM utilizan compuestos simples. La mayoría de sus sustratos contienen un sólo átomo de carbono o son de bajo peso molecular. La Tabla 2.5 muestra las reacciones llevadas a cabo por las BM. El protón al pasar por la membrana celular se emplea para la síntesis de ATP y, además, la reacción redox genera la síntesis de carbono celular. Existe poca información de la composición de la membrana celular de las BM para esclarecer los mecanismos de transferencia de iones. El azufre es un nutriente esencial para las BM para su desarrollo óptimo aunque sólo a concentraciones bajas (Bryant y col., 1971; Rönnow y Gunnarson, 1981; Zehnder y Wuhmann, 1977).

La cantidad de ATP existente se utiliza para la biosíntesis y esta cantidad empleada depende de las rutas de fijación del carbono en la composición celular (Lens y col., 1998):

$$1\text{kg DBO}=15.625\text{mol CH}_4 \text{ ó } 350 \text{ LCH}_4 \quad (2-1)$$

Tabla 2.5 Reacciones llevadas a cabo por las BM (Lens y Hulshoff Pol, 2000)

Reacción	ΔG kJ/mol CH_4
$4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	-130.4
$4\text{HCOO}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	-119.5
$4\text{CO} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{CO}_2$	-185.5
$4\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	-103
$4\text{CH}_3\text{NH}_3^+ + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 4\text{NH}_4^+$	-74
$2(\text{CH}_3)_2\text{NH}_3^+ + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{NH}_4^+$	-74
$4(\text{CH}_3)_3\text{NH}^+ + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 9\text{CH}_4 + 3\text{CO}_2 + 4\text{NH}_4^+$	-74
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	-32.5

Las BM proliferan en un intervalo de pH óptimo de 6.7 a 7.8. Las BM tienen la propiedad común de la producción de metano de un compuesto con un número limitado de carbonos. La Tabla 2.6 muestra la clasificación de las BM indicando al mismo tiempo su morfología, sustrato, temperatura óptima y sustrato de cultivo para su desarrollo. Pueden observarse en esta tabla, 14 especies que están presentes a condiciones termofílicas y son: *Methanobacterium thermoaggregans*, *Methanobacterium thermoalcaliphilum*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanobacterium thermoformicum*, *Methanobacterium wolfei*, *Methanobacterium ivanovii*, *Methanothermus fervidus*, *Methanococcus jannaschii*, *Methanococcus thermolithotrophicus*, *Methanogenium fritonii*, *Methanogenium thermophilicum*, *Methanogenium wolfei*, *Methanosarcina thermophila* y *Methanotherix thermoacetophila*



Tabla 2.6 Clasificación y propiedades de las BM y su temperatura óptima de desarrollo (Zehnder y col., 1982)

Especie	Morfología	Pared celular	Sustrato	Temperatura óptima °C	Factor de desarrollo esencial orgánico	Referencia
ORDEN I. METANOBACTERIAS						
Familia I. Methanobacteriaceae						
Género I. Methanobacterium						
<i>M. alcaliphilum</i>	Bastones largos a filamentos	DND	H ₂ /CO ₂	37	Extracto de levadura o Trypticase peptona	Worakit y col., 1986
<i>M. bryantii</i>	Bastones largos a filamentos	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂	37-39	-	Balch y col., 1979; Mah, 1980
<i>M. formicicum</i>	Bastones largos a filamentos	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂ , formato	37-45	-	Balch y col., 1979; Mah, 1980
<i>M. ivanovi</i>	Bastones a filamentos	DND	H ₂ /CO ₂	45	-	Belyaev y col., 1983
<i>M. thermoaggregans</i>	Bastones largos a filamentos formando agregados	DND	H ₂ /CO ₂	65	-	Blotvogel y Fischer, 1985
<i>M. thermoalcaliphilum</i>	Bastones largos a filamentos	DND	H ₂ /CO ₂	58-62	Extracto de levadura	Blotvogel y col., 1985
<i>M. thermoautotrophicum</i>	Bastones largos a filamentos	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂	65-70	-	Balch y col., 1979; Mah, 1980
<i>M. thermaeformicicum</i>	Bastones	DND	H ₂ /CO ₂ , formato	55	-	Zhilina e Ilarionov, 1984
<i>M. vulginosum</i>	Bastones largos	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂	40	-	König, 1984
<i>M. wolfei</i>	Bastones	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂	55-65	Extracto de levadura	Winter y col., 1984
Género II. Methanobrevibacter						
<i>M. arboriphilus</i>	Bastones cortos, cadenas cortas	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂	37-39	Cisteína	Balch y col., 1979; Mah, 1980
<i>M. ruminantium</i>	Bastones cortos, cadenas largas	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂ , formato	37-39	Coenzima M, ácido acético, alfa-metilbutirato, aminoácidos	Balch y col., 1979; Mah, 1980
<i>M. smithii</i>	Bastones cortos, cadenas largas	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂ , formato	37-39	Ácido acético	Balch y col., 1979; Mah, 1980
Familia II. Methanothermaceae						
Género I. Methanothermus						
<i>M. fervidus</i>	Bastones cortos	Pseudomureína	H ₂ /CO ₂	83	Extracto de levadura	Stetter y col., 1981

DND, dato no disponible



Tabla 2.6 Clasificación y propiedades de las BSM y su temperatura óptima de desarrollo (Zehnder y col., 1982) (continuación...)

Especie	Morfología	Pared celular	Sustrato	Temp. óptima °C	Factor de desarrollo esencial orgánico	Referencia
ORDEN II. METANOCOCCA						
Familia I. Methanococcaceae						
Género I. Methanococcus						
<i>M. aceticus</i>	DND	Proteína	Formato	DND	DND	Schmid y col., 1984
<i>M. deltae</i>	Cocos irregulares	DND	H ₂ /CO ₂ , formato	37	.	Corder y col., 1983
<i>M. fissus</i>	Cocos irregulares	DND	H ₂ /CO ₂ , metanol, metilaminas	36	.	Blotvogel y col., 1985
<i>M. halophilus</i>	Cocos irregulares formando agregados	DND	Metanol, metilaminas	26-36	.	Zhilina, 1983
<i>M. jannaschii</i>	Cocos irregulares	DND	H ₂ /CO ₂	85	.	Jones y col., 1983a
<i>M. mariprofundis</i>	Cocos irregulares	DND	H ₂ /CO ₂ , formato	35-39	.	Jones y col., 1983b
<i>M. thermohalophilus</i>	Cocos irregulares a regulares	Proteína	H ₂ /CO ₂ , formato	65	.	Hüber y col., 1982
<i>M. vannielii</i>	Cocos irregulares a regulares	Proteína	H ₂ /CO ₂ , formato	36-40	.	Balch y col., 1979; Mah, 1980; Wolfe, 1971
<i>M. voltae</i>	Cocos irregulares a regulares	DND	H ₂ /CO ₂ , formato	35-40	Ácido acético, leucina, isoleucina	Balch y col., 1979; Mah, 1980; Whitman y col., 1982
Orden III. METANOMICROBIA						
Familia I. Methanomicrobiaceae						
Género I. Methanomicrobium						
<i>M. mobile</i>	Bastones cortos	Proteína	H ₂ /CO ₂ , formato	40	Fluido de rumen	Balch y col., 1979; Mah, 1980
<i>M. paysonii</i>	Bastones cortos irregulares	DND	H ₂ /CO ₂	40	Ácido acético	Rivard y col., 1983
Género II. Methanozenium						
<i>M. aggregans</i>	Cocos irregulares formando agregados	DND	H ₂ /CO ₂ , formato	35	Ácido acético, extracto de levadura o tripticasa peptona	Olliver y col., 1985

DND, dato no disponible



Tabla 2.6 Clasificación y propiedades de las BM y su temperatura óptima de desarrollo (Zehnder y col., 1982) (continuación...)

Espece	Morfología	Pared celular	Sustrato	Temperatura óptima °C	Factor de desarrollo esencial orgánico	Referencia
<i>M. bourgense</i>	Cocos irregulares	DND	H ₂ /CO ₂ , formato	37	Ácido acético	Olliver y col., 1986
<i>M. cariaci</i>	Cocos irregulares	Proteína	H ₂ /CO ₂ , formato	20-25	Ácido acético, extracto de levadura	Balch y col., 1979; Mah, 1980; Zabel y col., 1984
<i>M. fritonii</i>	Cocos irregulares	Proteína	H ₂ /CO ₂ , formato	57	-	Harris y col., 1984
<i>M. marisnigri</i>	Cocos irregulares	Glicoproteína	H ₂ /CO ₂ , formato	20-25	Tripticasa	Balch y col., 1979; Mah, 1980; Zabel y col., 1984
<i>M. olentangyi</i>	Cocos irregulares	DND	H ₂ /CO ₂	37	Ácido acético	Corder y col., 1983
<i>M. tatil</i>	Cocos irregulares a regulares	Glicoproteína	H ₂ /CO ₂ , formato	37-40	Ácido acético	Zabel y col., 1984
<i>M. thermophilicum</i>	Cocos irregulares	Glicoproteína	H ₂ /CO ₂ , formato	55-58	Ácido acético, tripticasa	Rivard y Smith, 1982; Zabel y col., 1985
<i>M. wolfei</i>	Cocos irregulares	DND	H ₂ /CO ₂ , formato	45	Ácido acético, arginina	
Género III. Methanospirillum						
<i>M. hungatei</i>	Bastones regulares curvados a largos filamentos en espirales	Proteína	H ₂ /CO ₂ , formato	30-40	-	Balch y col., 1979; Mah, 1980
Familia II. Methanosarcinaceae						
Género I. Methanosarcina						
<i>M. acetivorans</i>	Cocos irregulares formando quistes	Proteína	Metanol, metilaminas, acetato	35-40	-	Sowers y col., 1984
<i>M. barkeri</i>	Cocos irregulares formando paquetes	Heteropolisacáridos	H ₂ /CO ₂ , metanol, metilaminas, acetato	35-40	-	Balch y col., 1979; Mah, 1980
<i>M. mazei</i>	Cocos irregulares formando quistes	Heteropolisacáridos	H ₂ /CO ₂ muy lento, metanol, metilaminas, acetato	30-40	-	Mah, 1980; Mah y Smith, 1981

DND, dato no disponible



Tabla 2.6 Clasificación y propiedades de las BM y su temperatura óptima de desarrollo (Zehnder y col., 1982) (continuación...)

Especie	Morfología	Pared celular	Sustrato	Temp. óptima °C	Factor de desarrollo esencial orgánico	Referencia
<i>M. thermophila</i>	Cocos irregulares formando agregados	Heteropolisacáridos	H ₂ /CO ₂ , metanol, metilaminas, acetato	50	p-amino benzoico	Zinder y col., 1985
<i>M. vacuolata</i>	Cocos irregulares formando quistes	DND	H ₂ /CO ₂ , metanol, metilaminas, acetato	40	-	Mah, 1980; Zhilina y Zavarzin, 1979
Género II. Methanococoides						
<i>M. methylutens</i>	Cocos irregulares	Proteína	Metanol, metilaminas	30-35	-	Sowers y Ferry, 1983
Familia III. Methanoplanaceae						
Género I. Methanoplanus						
<i>M. endosymbiosus</i>	Placas cuadradas	Glicoproteína	H ₂ /CO ₂ , formato	32	-	Van Bruggen y col., 1986
<i>M. limicola</i>	Placas cuadradas	Glicoproteína	H ₂ /CO ₂ , formato	40	Ácido acético	Wildgruber y col., 1982
Familia no asignada						
Género: Methanotherix						
<i>M. concilii</i>	Bastones a filamentos	DND	Ácido acético	35-40	-	Patel, 1984
<i>M. soehngenii</i>	Bastones a filamentos	Proteína	Ácido acético	37	-	Huser y col., 1982
<i>M. thermoacetophila</i>	Bastones a filamentos	DND	Ácido acético	65	-	Nozhevnikova y Chudina, 1984
Orden y familia no asignada						
Género Methanolobus						
<i>M. tindarius</i>	Cocos irregulares	Glicoproteína	Metanol, metilaminas	25	-	König y Stetter, 1982
Género Halomethanococcus						
<i>H. mahi</i>	Cocos irregulares	DND	Metanol, metilaminas	35	-	Paterek y Smith, 1985
Género Methanosphaera						
<i>M. stadtmanae</i>	Esféricos	Pseudomureína	Methanol	37	Ácido acético, tiamina, isoleucina	Miller y Wolin, 1985

DND, dato no disponible



2.3 EQUILIBRIO ANAEROBIO Y COMPETENCIA ENTRE BSR Y BM

La presencia de iones sulfato en aguas residuales incrementa considerablemente la complejidad de las rutas de biodegradación (Widdel, 1988). Por ejemplo, las BM, acidogénicas y acetogénicas compiten con las BSR por los sustratos disponibles. En la Figura 2.1 se presenta un diagrama de la degradación anaerobia de un sustrato complejo con presencia de sulfatos. La figura presenta las especies microbianas que intervienen. Comúnmente, el 70% de ácido acético producido es empleado por las bacterias metanogénicas acetotróficas y el 30% de H_2 y CO_2 producidos es utilizado por las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas para la producción de metano y CO_2 , como resultado de la metanogénesis. Pero, cuando hay presencia de sulfatos, se genera una vía de degradación, que es la sulfato-reducción.

Las BSR hidrogenotróficas compiten con las BM hidrogenotróficas por el sustrato H_2 y CO_2 (Omil y col., 1996; Rinzema y Lettinga, 1988b; Visser y col., 1993b). Esto permite corroborar que las BSR hidrogenotróficas ganan más energía del consumo del hidrógeno molecular y tienen un mayor afinidad que las BM hidrogenotróficas, haciendo que descienda la concentración de hidrógeno por debajo del valor inicial para las BM hidrogenotróficas (Oude-Elferink y col., 1994). Esto podría explicar la rápida inhibición de las BM hidrogenotróficas cuando se alimentan iones sulfato a un reactor anaerobio. Las BSR acetotróficas compiten con las BM acetotróficas por el ácido acético (Gupta y col., 1994; Hoeks y col., 1984; Mulder, 1984). Se ha reportado que las BSR pueden competir por intermediarios en la degradación anaerobia, tales como hidrógeno y formiato con las BM y las bacterias acetogénicas sintroficas (Isa y col., 1986a; Gupta y col., 1993), ácido acético (Isa y col., 1986b; Parkin y col., 1990), ácido propiónico (Parkin y col., 1990; Visser y col., 1993a) y ácido butírico (Visser y col., 1993a; Mizuno y col., 1996). Puesto que las BSR tienen más afinidad por el sustrato que las BM, es común pensar que, en condiciones de presencia de iones sulfato, las BSR pueden competir con las BM por el hidrógeno y ácido acético (Kristjansson y col., 1982).

Todos estos mecanismos de competencia reducen el sustrato disponible para las BM. El resultado de esta competencia es importante para determinar los niveles de los productos finales como metano y ácido sulfhídrico. El efecto de los iones sulfato se explica si la metanogénesis y la sulfato-reducción se consideran como una alternativa a las reacciones de degradación que compiten por sustratos comunes (Winfrey, 1983; Ward y Winfrey, 1985) aunque en la presente investigación, se estudiará un sustrato complejo del que se desconoce las posibles reacciones.

La Tabla 2.7 muestra diferentes investigaciones que relacionan ciertos parámetros como indicaciones para conducir un reactor anaerobio hacia el predominio de una población microbiana sobre otra. Algunas de estas investigaciones se mencionaron en la Tabla 1.2 e involucran la manipulación de la composición del inóculo o las condiciones ambientales, como por ejemplo, el pH. La relación de las BM:BSR de un lodo pudiera manipularse por la adición de cultivos puros de las BM o las BSR o creando condiciones desfavorables para una población no deseada durante un corto intervalo de tiempo. La Tabla refleja los esfuerzos en manipulación por disminuir la competencia de las BSR sobre las BM, algunos exitosos (porcentajes negativos) otros lo contrario (porcentajes positivos y 0%).



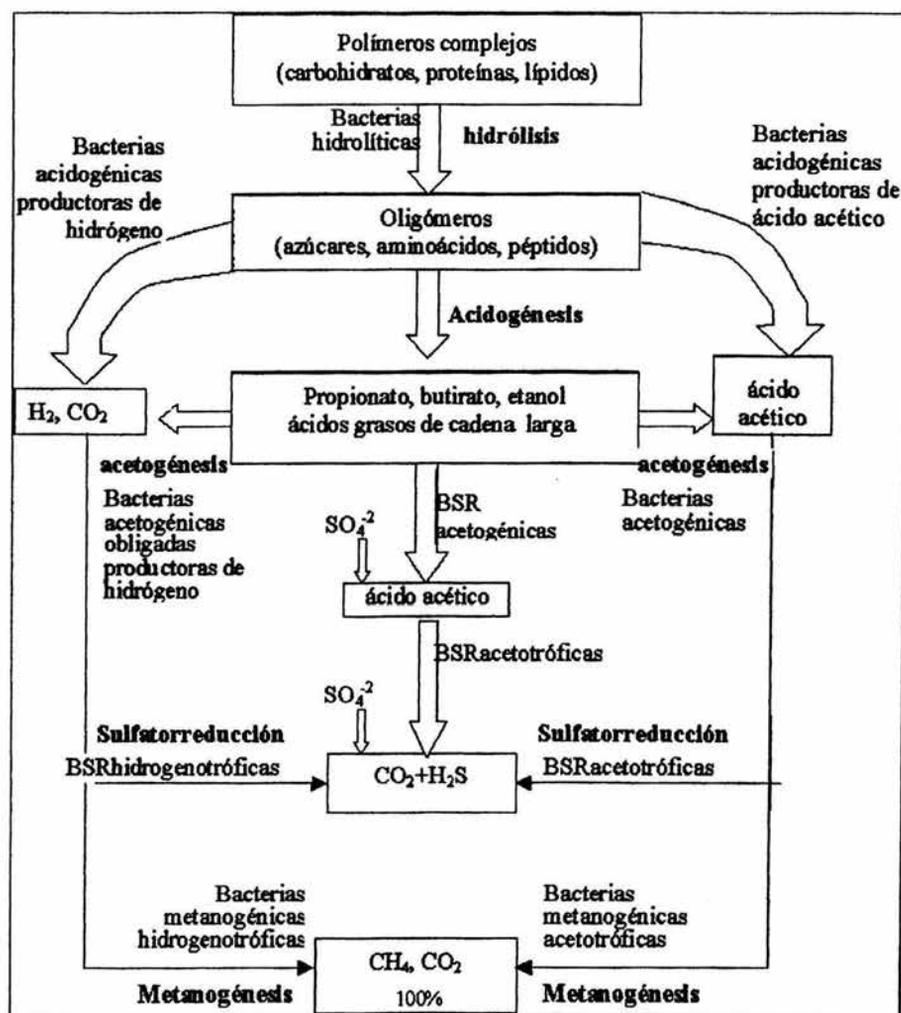


Figura 2.1. Diagrama del equilibrio anaerobio en presencia de iones sulfato (modificado de Rodríguez-Rivera, 1993)

Afortunadamente, los métodos que mejoran el desarrollo de una población de las BSR después de una inhibición selectiva por las BM comprende choques de altas concentraciones de sulfuros (Omil y col., 1996) o a choques de altas temperaturas (65°C) (Visser y col., 1993a). Esto se debe, a que las BM son más sensibles que las BSR a cualquier cambio en la concentración de sustratos, sulfuros y temperatura y necesitan tiempo de adaptación a los cambios. Este tiempo de adaptación puede ser prolongado y hasta ahora no existen



investigaciones al respecto. Es por ello, que los resultados de esta investigación pueden contribuir para determinar la competencia entre las BSR y las BM por efecto del aumento de la temperatura de 35 a 55°C.

La hipótesis planteada en este trabajo sostiene que una biomasa adaptada a condiciones termofílicas tendrá una población bacteriana de BM adaptada, tanto a sustrato como a sulfuros y temperatura. Para poder determinar el efecto real que se obtiene al aumentar la temperatura en las poblaciones de BM y BSR, se requerirá de tiempo de adaptación que permitan mejorar los resultados poco exitosos con las BM obtenidos por choques de temperatura (Visser y col., 1993a). En estos experimentos se obtuvieron un cese de la producción de metano y la inhibición de la actividad metanogénica al exponer la biomasa mesofílica a condiciones termofílicas por medio de un choque térmico de 9 horas mientras que la actividad sulfato-reductora se vió incrementada. Los resultados de los experimentos basados en la hipótesis de la investigación objeto de esta tesis aclararán si la estabilidad de las BM en la operación aumenta y su competencia con las BSR por los sustratos disminuye.

Tabla 2.7 Efecto de cambios en las condiciones de operación sobre la competencia entre las BSR y las BM: Incremento de la proporción de las BSR que remueven la DQO (Hulshoff Pol y col., 1998)

Medida	Incremento o disminución del % de remoción de DQO por las BSR	Referencia
Manipulación de la composición del influente		
• Incremento de la concentración de ácido acético	-15	Omil y col., 1996
• Adición de hierro (2,000 mg/L)	0	Isa y col., 1986a y b
• Adición de elementos de transición	0	Clancy y col., 1992
• Disponibilidad de donadores de electrones	ND	Vroblesky y col., 1996
Manipulación de la composición de la biomasa		
• Adición de <i>Desulforhabdus amnigenes</i>	0	Omil y col., 1997
• Exposición al oxígeno	35	Omil y col., 1997
Manipulación de condiciones de operación		
• Alteración del pH	41	Omil y col., 1996
Tratamientos de choque		
• Disminución de la temperatura a 15°C	0	Omil y col., 1997
• Incremento de la temperatura a 65°C	30	Visser y col., 1993b
Manipulación del diseño del reactor		
• Velocidad ascensional arriba de 4 a 6 m/h	-30	Omil y col., 1996
• Reactor de lecho de lodos de etapa estacionaria	10	Lens y col., 1998
• Reactor con deflectores	30	Lens y col., 1999

ND= no determinado

2.3.1 Relación DQO/sulfatos

Hay muchas investigaciones sobre la relación DQO/sulfatos, aunque al efectuar la revisión bibliográfica para la presente tesis se encontraron algunas contradicciones como pueden observarse en la Tabla 2.8, donde Choi y Rim (1991) y Rinzema y Lettinga (1988a) dicen que entre una relación de DQO/sulfatos de 2 a 10 puede observarse predominio, tanto de las BSR como de las BM, dependiendo del sustrato empleado. Encontraron predominio de las BM



cuando se tratan aguas residuales industriales y predominio de las BSR cuando se tratan sustratos específicos de bajo peso molecular como ácido acético o ácido propiónico. En esta investigación se empleó un agua residual industrial por lo que se esperaría que predominen las BM sobre las BSR.

Oude-Elferink y col. (1994) realizaron un estudio bibliográfico sobre varias investigaciones en sulfato-reducción. Ellos concluyen que la proliferación de las BSR comparadas con la de las BM deberían ser predominantes en un exceso de sulfato con relación de DQO/sulfatos de 1.7. Sin embargo, condiciones ambientales específicas en los bioreactores son de gran importancia para determinar este aspecto. En condiciones limitantes de sulfatos, la sulfato-reducción depende de la competencia de diferentes tipos de sulfato-reductores que son capaces de crecer fermentativamente o acetogénicamente. Por tanto, la sulfato-reducción en los bioreactores metanogénicos en muchos casos no es directamente proporcional a la relación de DQO/sulfatos. Aunque una supresión completa de la sulfato-reducción en relaciones altas de DQO/sulfatos es difícil de conseguir, debido a que la oxidación de hidrógeno por las BM es fácilmente tomada por las BSR.

Tabla 2.8 Predominio de competencia entre las BSR y las BM con respecto a la relación DQO/sulfatos

Predominio	Relación DQO/sulfatos	
BM	2.7 10	Choi y Rim, 1991 Rinzema y Lettinga, 1988a
Competencia	0.67 0.625	Lens y col., 1998 Celis, 2000
BSR	1.7 menor de 10	Choi y Rim, 1991 Rinzema y Lettinga, 1988a

2.3.2 Concepto de flujo de electrones

Isa y col. (1986a, b) introdujeron el concepto de flujo de electrones, como el grado de competencia entre las BSR y las BM en reactores anaerobios de alta tasa. El flujo de electrones designa la relación de DQO consumida por las BSR o por las BM del total de DQO removida. Las fórmulas para determinar el flujo de electrones se presentan en las ecuaciones 2-2 y 2-3. El término $DQO - \Delta SO_4$ se estima multiplicando la cantidad de $S-SO_4$ reducida por un factor convencional de 2 (gDQO/gS).

$$\text{Flujo de electrones de BM} = \frac{(DQO - CH_4, \text{gas}) + (DQO - CH_4, \text{líquido})}{(DQO - CH_4, \text{gas}) + (DQO - CH_4, \text{líquido}) + (DQO - \Delta SO_4)} \quad (2-2)$$

$$\text{Flujo de electrones de BSR} = \frac{(DQO - \Delta SO_4)}{(DQO - CH_4, \text{gas}) + (DQO - CH_4, \text{líquido}) + (DQO - \Delta SO_4)} \quad (2-3)$$



donde

- (DQO-CH₄gas) = Producción de metano de las BM en la fase gaseosa en equivalentes de DQO
 (DQO-CH₄líquido) = Producción de metano de las BM en la fase líquida en equivalentes de DQO
 (DQO-ΔSO₄) = Sulfatos reducidos en equivalentes de DQO

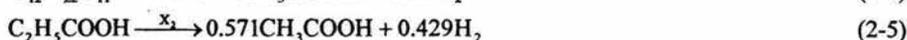
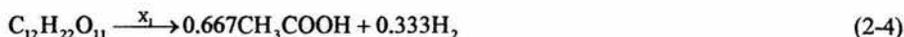
En la Tabla 2.9 se muestran resultados de flujo de electrones en diferentes sustratos y sus relaciones con las BSR y las BM.

Tabla 2.9 Flujo de electrones en diferentes sustratos y sus relaciones con las BSR y las BM (Isa y col., 1986a, b)

Muestra	SO ₄ ⁻² -S g/L	DQO g/L	DQO/ sulfatos	gS-SO ₄ ⁻² / 100gDQO	%Flujo de electrones		Efecto sobre la producción de metano	Referencia
					BSR	BM		
Aguas residuales de la industria del papel	0.77	11.50	15	7	0.4	99.6	Sin inhibición	Welander y Hansson, 1983
Aguas residuales de la obtención del ácido cítrico	0.58	8.92	15.3	7	16.7	83.3	Ligera inhibición	Kroiss y Wabnegg, 1983
Aguas residuales de la obtención del ácido cítrico	1.27	10.50	8.3	12	27.3	72.7	Ligera inhibición	Kroiss y Wabnegg, 1983
Lodo residual	1.20	1.80	1.5	67	53.4	46.6	Fuerte inhibición	Lawrence y col., 1964
Lodo residual	1.60	1.80	1.1	89	92.3	7.7	Fuerte inhibición	Lawrence y col., 1964
Lodo residual	11.76	2.75	0.23	428	91.6	8.4	Fuerte inhibición	Butlin y col., 1956

2.3.3 Esquema estequiométrico

Kalyuzhnyi y Fedorovich (1997) presentaron un modelo que simula el tratamiento anaerobio de aguas residuales orgánicas solubles conteniendo diferentes concentraciones de sulfatos. Los azúcares y los ácidos grasos volátiles son los compuestos químicos típicos de la parte orgánica de esas aguas residuales. De este modo, Kalyuzhnyi y Fedorovich eligieron la sacarosa y los ácidos propiónico y acético como sustratos en el influente. Ya que la vinaza es un agua residual compleja, cuya composición química es desconocida, en el presente estudio se emplearon pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora con el ácido acético y el ácido propiónico para corroborar su comportamiento con respecto a los experimentos de Kalyuzhnyi y Fedorovich (1997). Estos autores dan la secuencia de las reacciones simplificadas por las cuales los sustratos en el influente se transforman por diferentes grupos de bacterias anaerobias:





De acuerdo al esquema estequiométrico, el proceso de conversión se lleva a cabo por 7 grupos de microorganismos:

- Grupo X₁, contiene todas las bacterias “fermentativas”
- Grupo X₂, todas las bacterias acetogénicas degradadoras de ácido propiónico
- Grupo X₃, todas las bacterias sulfato-reductoras acetogénicas
- Grupo X₄, todas las bacterias metanogénicas acetotróficas
- Grupo X₅, todas las BSR acetotróficas
- Grupo X₆, todas las BM hidrogenotróficas
- Grupo X₇, todas las BSR hidrogenotróficas

Por ello, mediante el estudio estequiométrico se facilita la visualización general sobre las reacciones microbianas involucradas en la degradación, en este caso, de tres sustratos diferentes. La composición química de las vinazas es desconocida por lo que, mediante el seguimiento químico de los productos de biodegradación metanogénica y sulfato-reductora y la determinación de las actividades metanogénica y sulfato-reductora con diferentes sustratos (ácidos acético, propiónico y butírico), se empleó para tratar de dilucidar la ruta de biodegradación de este sustrato complejo.

En la Figura 2.2 se muestran las rutas de degradación hipotéticas para esta investigación con los subproductos de la degradación anaerobia que se medirán.

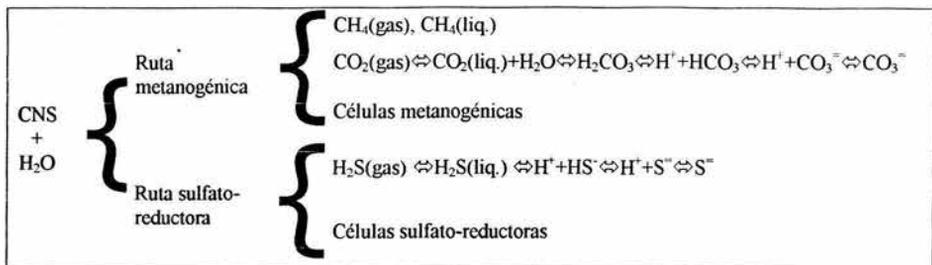


Figura 2.2 Rutas de degradación anaerobia hipotéticas para este estudio



2.3.4 Degradación de ácido propiónico

Uberoi y Bhattacharya (1995) condujeron experimentos intermitentes y continuos a escala de laboratorio para estudiar las reacciones predominantes en la oxidación del ácido propiónico por las BSR. Según estos autores, la oxidación del ácido propiónico en sistemas anaerobios en presencia de sulfatos ocurre de acuerdo con las reacciones biológicas que se muestran en la Tabla 2.10. Con base en ellas, concluyeron que existían dos posibles mecanismos, bajo concentraciones limitantes de sulfatos:

1. El ácido propiónico es utilizado por las BSR y BA no sulfato-reductoras y el ácido acético y el hidrógeno generados se utilizan por las BM
2. El ácido propiónico es usado por BA no sulfato-reductoras y el ácido acético generado es empleado por las BM y el hidrógeno generado es empleado por las BSR y las BM

En las pruebas emplearon una relación ácido propiónico:sulfatos de 2.2 (concentración limitante de sulfatos), donde el ácido acético formado fue principalmente empleado por las BM, con una disminución gradual en esta relación de 2.2 a 0.44 (condición rica en sulfatos). Las BSR no compitieron con las BM por el ácido acético. En la Tabla 2.11 se muestra las posibilidades de degradación del ácido propiónico.

Tabla 2.10 Reacciones de los pasos involucrados en la degradación anaerobia de ácido propiónico en presencia de sulfatos (Uberoi y Bhattacharya, 1995)

No. reacción	Reacción	ΔG , kJ/mol
1	$C_2H_5COO^- + 3H_2O = CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+76.1
2	$C_2H_5COO^- + 0.75SO_4^{2-} = CH_3COO^- + HCO_3^- + 0.75HS^- + H^+$	-37.8
3	$CH_3COO^- + H_2O = CH_4 + HCO_3^-$	-31.0
4	$CH_3COO^- + SO_4^{2-} = 2HCO_3^- + HS^-$	-47.3
5	$3H_2 + 0.25HCO_3^- + 0.25H^+ = 0.25CH_4 + 0.75 H_2O$	-33.9
6	$3H_2 + 0.25 SO_4^{2-} + 0.25 H^+ = 0.25 HS^- + 3H_2O$	-37.9

Para esta investigación se realizaron pruebas intermitentes en viales, empleando ácido propiónico. Con los resultados que se obtengan se verá si ocurre un fenómeno similar al planteado por estos investigadores empleando biomasa adaptada a vinazas.

2.4 TOXICIDAD DE LOS SULFUROS EN LA DEGRADACIÓN ANAEROBIA

La aparente inhibición de la metanogénesis parece estar explicada por uno de dos efectos: La toxicidad del H_2S para las BM o por un cambio no favorable de potenciales redox debido a la presencia de los iones sulfato. El H_2S , en general, provoca la inhibición de los grupos bacterianos involucrados en la degradación anaerobia por lo que reduce la eficiencia del reactor. Los grupos más susceptibles son comúnmente las BM. Estas BM pueden tolerar relativamente altas concentraciones de H_2S , de varios milimoles/L (Mounfort y Asher, 1979; Ward y Olson, 1980; Zehnder y col., 1982).



Tabla 2.11 Escenarios de degradación anaerobia para el ácido propiónico en presencia de sulfatos (Uberoi y Bhattacharya, 1995)

No. escenario	Mecanismo
1	ácido propiónico → Hidrógeno → H ₂ S ácido propiónico → Ácido acético → CH ₄
2	ácido propiónico → Hidrógeno → CH ₄ ácido propiónico → Ácido acético → H ₂ S
3	ácido propiónico → Hidrógeno → H ₂ S ácido propiónico → Ácido acético → H ₂ S
4	ácido propiónico → Ácido acético → CH ₄ ácido propiónico → H ₂ S
5	ácido propiónico → Ácido acético → H ₂ S
6	ácido propiónico → Ácido acético → CH ₄ ácido propiónico → Hidrógeno → H ₂ S
7	ácido propiónico → Ácido acético → H ₂ S ácido propiónico → Hidrógeno → CH ₄
8	ácido propiónico → Ácido acético → H ₂ S ácido propiónico → Hidrógeno → H ₂ S
9	ácido propiónico → Ácido acético → CH ₄ ácido propiónico → Hidrógeno → CH ₄
10	ácido propiónico → Hidrógeno → Hidrógeno ácido propiónico → Hidrógeno → S ácido propiónico → Ácido acético → CH ₄
11	ácido propiónico → H ₂ S ácido propiónico → Ácido acético → CH ₄
12	ácido propiónico → Ácido acético → CH ₄ ácido propiónico → Hidrógeno → H ₂ S
13	ácido propiónico → Ácido acético → H ₂ S ácido propiónico → Hidrógeno → CH ₄



Los sulfuros disueltos son altamente reactivos, corrosivos o tóxicos para los microorganismos. La toxicidad de los sulfuros depende del pH debido a que sólo las moléculas de H_2S no disociado pueden pasar a través de la membrana celular (Speece, 1983). Con un pH cercano a 8.0 a 9.0, virtualmente, todos los sulfuros disueltos están presentes en su forma ionizada. A valores de pH neutros como los sistemas típicos metanogénicos, del 20 al 50% de los sulfuros disueltos están presentes como H_2S dependiendo de la temperatura. El mecanismo exacto de la toxicidad del H_2S no es claro. Un posible mecanismo de la toxicidad del H_2S es la desnaturalización de la proteína celular a través de la formación de sulfuros y disulfuros entre las cadenas de polipéptidos celulares. El H_2S puede afectar también el pH interno celular (Widdel, 1988). La literatura publicada sobre la toxicidad plantea que el fenómeno es muy complejo, cuando no se considera el efecto del pH (Flaherty y col., 1999).

En la literatura se supone que la propiedad de inhibición del H_2S se debe a su forma no disociada. Se ha reportado que la inhibición de las BSR y las BM está relacionada a la concentración de H_2S a valores de pH de 7.0 y 9.0 (Koster y col., 1986; Visser, 1995; Flaherty y col., 1998a). Por otro lado, Oleskiewicz y col. (1989) y McCartney y Oleskiewicz (1993) concluyeron que la inhibición de las BM se relacionaba únicamente con la concentración de H_2S no disociado. Hilton y Oleskiewicz (1988) encontraron que la inhibición de las BM está relacionada con la concentración de H_2S libre. Flaherty y col. (1998a) encontraron que ciertas especies de BM y BSR se inhibían por la concentración de H_2S no disociado entre un pH de 6.8 y 7.2. Estas observaciones sugieren que el H_2S puede ser más tóxico a niveles de pH altos debido seguramente al cambio de gradientes para cruzar la membrana celular y al incremento de la difusión de la molécula de H_2S .

Existen pocos datos sobre la sensibilidad de las BSR a la toxicidad de los sulfuros y los encontrados son bastantes contradictorios. Isa y col. (1986a) concluyeron que el desarrollo de las BSR en un reactor de lecho fijo no se vió afectado por las concentraciones altas de sulfuros. En contraste, Widdel (1988) reportó inhibición de un cultivo puro de *Desulfotomaculum acetoxidans* a concentraciones de 85 mg H_2S /L. Hilton y Oleskiewicz (1988) encontraron que durante la degradación de lactato, la inhibición de las BSR estaba directamente relacionada con la concentración de sulfuros totales y la inhibición de las BM estaba relacionada con las concentraciones de H_2S . Reis y col. (1992) reportaron una completa inhibición de las BSR al degradar lactato a concentraciones de 457 mg H_2S /L. y a pH 6.2 a 6.7. Okabe y col. (1992) encontraron un 50% de inhibición de un cultivo puro de BSR en lactato a un nivel de 250 mg H_2S /L a pH neutro. Se muestran resultados de otras investigaciones en la Tabla 2.12 y la Tabla 2.13 muestra los niveles de inhibición, tanto para las BM como para las BSR.

Las medidas disponibles para prevenir la toxicidad de la concentración de H_2S no ionizado en la degradación anaerobia han sido la dilución del agua residual a alimentar o la elevación del pH en el reactor. Esto último es sólo útil cuando el pH es elevado a un valor cercano a 7.5, debido a que la transferencia de HS^- disociado se compensa parcialmente por el efecto menor de desorción del H_2S gas (Rinzema y Lettinga, 1988b).



Tabla 2.12 Concentraciones de H₂S inhibitorios de la sulfato-reducción en función del pH

Biomasa	Sustrato	°C	pH	H ₂ S (mg/L)	Referencia
<i>Desulfovibrio</i> sp.	lactato	37	6.2-6.7	457	Reis y col., 1992
Lodo suspendido	lactato	35	7.2-7.6	80	Okabe y col., 1992
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	lactato	35	7.0	250	McCartney y Oleskiewicz, 1991
Lodo suspendido	lactato	35	7.0	300	McCartney y Oleskiewicz, 1993
		30	8.0	185	
Lodo granular	acetato	30	7.2-7.4	171	Visser, 1995
			8.1-8.3	57	

Tabla 2.13 Concentraciones de H₂S inhibitorios de la metanogénesis en función del pH

Biomasa	Sustrato	°C	pH	H ₂ S (mg/L)	Referencia
Lodo suspendido	agua residual	37	7.0-7.2	130	Karhadkar y col. 1987
Lodo suspendido	lactato	35	7.0	100	McCartney y Oleskiewicz, 1993
			8.0	100	
Lodo suspendido	acetato	-	-	50	Kroiss y Wabnegg, 1983
Lodo suspendido	acetato	35	6.5-7.4	125	Oleskiewicz y col., 1989
			7.7-7.9	100	
Lodo granular	acetato	30	6.2-6.4	246	Koster y col., 1986
			7.0-7.2	252	
			7.8-8.0	90	
Lodo granular	acetato	30	7.2-7.4	184	Visser, 1995
			8.1-8.3	38	

En la Figura 2.3 se muestran gráficamente los valores reportados en las Tablas 2.12 y 2.13; en ella puede verse que el pH es directamente proporcional la inhibición de las BSR y las BM por el H₂S.

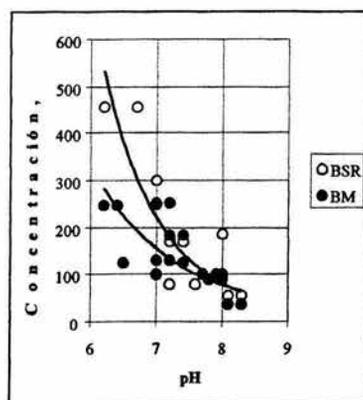


Figura 2.3 Efecto del pH sobre la concentración inhibitoria de H₂S



2.5 TRATAMIENTO ANAEROBIO A CONDICIONES MESOFÍLICAS

2.5.1 Arranque de reactores anaerobios

Es indudable que la reducción del tiempo de arranque es uno de los factores para incrementar la competitividad de los reactores de alta tasa. El arranque de reactores anaerobios está influenciado por la concentración y composición de las aguas residuales, el volumen, la actividad y adaptación del inóculo, los parámetros ambientales (pH, temperatura, nutrientes y elementos traza), los parámetros de operación (carga orgánica, TRH y mezclado) y, por último, la configuración del reactor (geometría y tamaño). Todos estos parámetros presentan una interacción muy estrecha (Malina y Pohland, 1992) y fueron considerados para el arranque del reactor de 10 L para adaptar la biomasa a vinazas en condiciones mesofílicas.

El arranque de reactores biológicos es una actividad delicada y sumamente importante para tener éxito durante el tratamiento. En esta fase, la biomasa se reproduce y adapta al agua residual (cuando no se dispone de biomasa adaptada). Esta situación conlleva a un periodo inestable y de transición, cuando el agua residual a tratar tiene una composición química muy diferente a la del sistema del que proviene la biomasa, como es el caso de la presente investigación. En los reactores anaerobios, debido a las bajas tasas de generación de microorganismos, el arranque de este tipo de reactores es aún más lento y delicado, por lo que se requiere de un inóculo adecuado y las referencias de otros trabajos en lo que se hayan estabilizado inóculos anaerobios (Wu y col., 1988; Alphenaar, 1994; Ohtsuki y col., 1992, 1994).

Hay muchos tipos de sistemas anaerobios; para esta investigación será empleado el reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA). Este sistema es una variación del digestor de alta tasa y fue desarrollado en Holanda (Cail y Barford, 1985). A pesar de que no existe un soporte definido, los microorganismos presentan propiedades de adherencia entre ellos formando esférulas que están rodeadas del efluente a tratar, llevando a cabo las reacciones metabólicas de conversión. La biomasa granular, al retenerse por sedimentación, permite separar el tiempo de residencia hidráulica del tiempo de retención celular. Con ello, se logra tratar materia orgánica en reactores de tamaño más reducido.

Un RALLFA consta de cuatro partes esenciales: 1) Un sedimentador en la parte superior, 2) Una cámara de almacenaje de gas, 3) Lecho de lodos, que es el reactor propiamente dicho, 4) Sistema hidráulico. En este proceso, el agua residual entra al digestor por el fondo y fluye hacia arriba a través de un lecho de lodos granulares relativamente denso y de un manto de partículas de lodo floculado. Dentro de estas zonas se efectúa la conversión de materia orgánica a CH_4 y dióxido de carbono (Sax, 1982).

Para poder desarrollar el tratamiento anaerobio y específicamente el proceso RALLFA, es necesario especificar la tecnología adecuada que permita un arranque favorable de los



reactores, así como grandes cantidades de inóculo. Es necesario que el volumen del inóculo en el reactor sea lo más grande posible en relación con las dimensiones del reactor (30%), con suficiente actividad metanogénica, conteniendo una mezcla de diferentes géneros de bacterias metanogénicas y adaptado a las propiedades específicas del agua residual (Hulshoff Pol, 1987).

Sin embargo, para ello es necesario contar con reactores RALLFA en funcionamiento y que hayan acumulado suficientes lodos, lo cual no siempre es posible. En general, es primordial contar con un lodo granular que permita arranques rápidos, lo que es posible sobre todo cuando el lodo está adaptado a un agua similar. Como se sabe, no todas las aguas residuales favorecen la granulación. Aún así, se ha reportado, que en algunos casos, el grano puede mantenerse. Sin embargo, el cambio de agua residual puede provocar la desintegración del grano. Un RALLFA puede operar sin lodo estrictamente granular, lo importante es que tenga buena sedimentabilidad y actividad. En tales casos, se pueden prever problemas en la retención de la biomasa inoculada, con limitaciones en el incremento de la carga hidráulica durante el arranque. El cultivo de lodo granular puede tomar de 2 a 6 meses en el intervalo mesófilo y de 10 a 12 meses a temperatura ambiente. Para lograr esto, el lodo debe alimentarse con la misma agua residual a tratar, pero diluida, es decir a bajas cargas, las que aumentarán conforme el lodo muestre señales de actividad (Hulshoff Pol, 1987).

El conocimiento de la actividad metanogénica del inóculo es un elemento importante en su selección y en el planteamiento de la estrategia de arranque del reactor. Las unidades en que se expresa la actividad metanogénica específica son $\text{kgDQO-CH}_4/\text{kgSSVdía}$ o tasa de remoción específica $\text{kgDQO}/\text{kgSSVdía}$. Los lodos granulares de los RALLFA industriales alcanzan generalmente de 0.5 a 5 $\text{kgDQO}/\text{kgSSVdía}$. Cuando existen anticipadamente valores de actividad metanogénica del lodo del inóculo se puede definir con más confianza la carga de arranque:

$$M_{\text{máx}} = V_L \times \text{Asp} \quad (2-11)$$

donde

$M_{\text{máx}}$ = Cantidad de DQO que puede degradar diariamente el reactor como máximo teórico ($\text{kgDQO}/\text{día}$)

V_L = Volumen de lodo de inóculo (m^3)

X = Concentración de SSV de lodo de inóculo ($\text{kg SSV}/\text{m}^3$)

Asp = Actividad metanogénica específica del inóculo a 37°C ($\text{kgDQO-CH}_4/\text{kgSSVdía}$)

Este cálculo es sólo un límite teórico máximo, porque está fundamentado en la actividad metanogénica específica, la cual se realiza a 37°C y con ácido acético como sustrato. Debido a la baja velocidad de proliferación de las bacterias metanogénicas, el arranque de la instalación de este tipo de reactores puede requerir de varios meses, dependiendo de la cantidad de biomasa activa e inoculada. En la Tabla 2.14 se resumen los parámetros operacionales para un arranque exitoso. Una de las estrategias de arranque a seguir, de acuerdo con De Zeeuw (1988), es:

- La carga volumétrica debe aumentarse escalonadamente una vez que la reducción de DQO sea mayor que el 80 a 90% de diseño



- La reducción de la DQO nunca deberá ser inferior al 50%

Una importante consideración es el estado de adaptación del lodo anaerobio, es decir, si se ha adaptado a iones sulfatos. Muchos estudios basados en las propiedades cinéticas han demostrado que las BSR deben competir con otras bacterias anaerobias por el sustrato (Widdel, 1988; Oude-Elferink y col., 1994; Colleran y col., 1995; Flaherty y col., 1998a). Esto es reportado en estudios realizados a escala de laboratorio (Visser y col., 1993, 1993a; McCartney y Oleskiewicz, 1991, 1993) y escala industrial (Flaherty y col., 1998b), empleando lodos adaptados a iones sulfatos con poblaciones activas de BSR. Hay poca información, sin embargo, de la naturaleza y resultados de la competencia entre las BSR y las BM en lodos que hayan sido previamente adaptados a iones sulfatos. Es de interés determinar si las BSR están presentes en tal tipo de lodo y también, si las BSR pueden competir de una forma similar a la observada en lodos adaptados a iones sulfatos (Flaherty y col., 1999).

El H₂S acumulado en grandes niveles inhibe la proliferación y actividad de las bacterias metanogénicas. La granulación es la clave para el arranque de un RALLFA y puede también inhibirse por el H₂S que disgrega los gránulos (Imai y col., 1998).

La literatura ha sugerido condiciones específicas para minimizar los tiempos de adaptación en los RALLFA (Tabla 2.14). Como por ejemplo, que la concentración del inóculo sea elevada y su forma granular, además de indicar cargas orgánica másica y volumétrica iniciales mínimas.

Cuando se tratan de aplicar estos parámetros debido a las características de cada reactor y de las aguas residuales específicas, muchas veces los valores de los parámetros operacionales recomendados no pueden emplearse exactamente de la misma forma.

Tabla 2.14 Parámetros operacionales para el arranque de un RALLFA (Lettinga y col., 1982; Salkinoja y col., 1983; Wu y col., 1988; Hulshoff Pol y col., 1986; Souza y col., 1992; Hulshoff Pol, 1987)

Parámetro	Recomendado
Concentración del inóculo	12 a 15 kgSSV/m ³ reactor inóculo concentrado 6 kgSSV/m ³ reactor inóculo diluido
Temperatura	35° a 40°C
V _{asc} velocidad ascendente	0.125 m/h a 0.3 m/h 0.25 para lodo disperso 1 a 2 para lodo flocculento 5 para lodo granular
TRH	24 h los primeros 20 días de operación
B _x carga orgánica másica	0.05 a 0.1 kgDQO/kg SSVdía
B _v carga orgánica volumétrica	1 kgDQO/m ³ día
Carga de materia orgánica medida como DQO en el influente del reactor	1000 mg/L



2.5.2 Tratamiento anaerobio de vinazas

De acuerdo con los siguientes párrafos, puede inferirse que el arranque de reactores anaerobios para vinazas es diferente al de otras aguas residuales menos complejas. Hay varios métodos para el tratamiento de las vinazas, particularmente, métodos biológicos. La vinaza es un sustrato complejo, en donde la degradación anaerobia para este tipo de agua residual es el resultado de un gran consorcio de bacterias que degradan los diferentes compuestos. Los componentes principales de las vinazas son azúcares, polifenoles, fenoles, sulfatos de amonio, fosfato de amonio, ácido sulfúrico y levaduras (Rodríguez-Rivera, 1993). Las vinazas contienen materia orgánica abundante que incluye un gran número de fenoles (Maestro-Durán y col., 1993) y sus polímeros. Estos compuestos químicos son conocidos como difíciles de degradar biológicamente y poseen propiedades antimicrobianas y fitotóxicas que impiden su tratamiento eficiente por degradación anaerobia (Sorlini y col., 1986; Sierra-Alvarez y col., 1988).

Ilangovan y Noyola (1993) encontraron que, durante el tratamiento de las vinazas en un RALLFA, había metales en el influente así como en el lodo. Los análisis de metales del lodo mostraron una completa ausencia de molibdeno y cobalto. Los metales presentes en los lodos fueron zinc ($2.08\mu\text{g/gSST}$), níquel ($625\mu\text{g/gSST}$) y cobre ($2.08\mu\text{g/gSST}$) en pequeñas cantidades a comparación del calcio, hierro, sodio y potasio. El potasio está presente en una concentración de 2.28 g/L en vinazas diluidas a un 10%.

Uno de los problemas del tratamiento anaerobio de las vinazas es la pérdida de lodo anaerobio por el efluente. El desarrollo de una biopelícula en un material de vidrio de poro abierto (SIRAN) fue estudiado empleando un reactor anaerobio empacado a escala de laboratorio alimentado con las vinazas. Los periodos de arranque pueden reducirse por el proceso de colonización, adhesión de microorganismos y formación de una biopelícula. Este soporte provee de una alta densidad de la biomasa inmovilizada en el soporte (Pérez y col., 1997).

Las vinazas se han investigado empleando tecnologías de tratamiento anaerobio de alta tasa, filtros anaerobios, mantos de lodos y lechos fluidificados, a escala de laboratorio y piloto, en los cuales, se han obtenido diferentes eficiencias de remoción de DQO en cada uno de ellos. En la Tabla 2.15 se muestran los resultados obtenidos en esos diferentes sistemas anaerobios y observarse que la eficiencia mayor se alcanzó en los reactores de lecho fluidificado.

En la presente investigación se utilizó el sistema de lecho de lodos, el cual en la Tabla 2.15, muestra una buena eficiencia, similar a la de los otros sistemas anaerobios. La omisión del soporte para inmovilización de las bacterias anaerobias aparentemente puede auxiliar en la elutriación de las BSR (Zehnder, 1988). Este último punto se explicará en el apartado 2.8 donde serán revisadas algunas teorías de otras investigaciones desde el punto de vista microbiológico para comprender este fenómeno.



El contenido de fenoles en las vinazas afecta la granulación de la biomasa ya que los compuestos fenólicos tienden a ser tóxicos y los resultados de esta toxicidad involucran lentamente una pérdida de actividad biológica anaerobia. La toxicidad se atribuye a dos causas: 1) Penetración de los compuestos fenólicos en las bacterias a través de la membrana celular (Field, 1989) y 2) Facilidad de los compuestos fenólicos por interactuar con proteínas de las membranas celulares (Haslam, 1974).

Tabla 2.15 Comparación de la operación de reactores anaerobios termofílicos de alta tasa para el tratamiento de las vinazas

Tipo de reactor	Soporte	Máxima carga orgánica kgDQO/m ³ día	Eficiencias de remoción orgánica %	Eficiencia máx. de remoción %	Autor
Lecho fluidificado	SIRAN	32	81.5	97	Pérez y col., 1998
	Esférulas de resina gastada	36	70	ND	Durán-de-Bazúa y col., 1990
Lecho empacado fase estacionaria	SIRAN	23	75	84	Pérez y col., 1998
	Anillos plásticos "pall"	36	68	73	Durán-de-Bazúa y col., 1990
Filtro anaerobio	Tubos de plástico corrugado	20	50	75	Pérez y col., 1998
Lecho de lodos	ninguno	36	72	75	Durán-de-Bazúa y col., 1990

ND= no determinado

Otro de los problemas del tratamiento anaerobio de vinazas es que se requieren tiempo de residencia hidráulica largos para alcanzar eficiencias de tratamiento adecuadas (Durán y col., 1988).

Las destilerías en la India ascienden a 160, de las cuales el 60% tienen tratamiento para sus aguas residuales por métodos anaerobios. El biogás producido por estas plantas tienen alrededor de 1 a 3% de H₂S. Las vinazas generadas tienen una DQO de 100,000 a 160,000 mg/L y concentraciones de iones sulfato de 6,000 a 11,000 mg/L. En varias investigaciones abocadas a reducir o inhibir la generación de H₂S en el gas se empleó molibdato de sodio, ya que es estereoquímicamente similar al sulfato. El molibdato de sodio puede competir en reacciones bioquímicas en el transporte de la membrana celular y puede actuar como un inhibidor de la enzima clave en la ruta de degradación de la sulfato-reducción, ATP-sulfurilasa. Pero, al realizar los estudios con las vinazas y el molibdato, los procesos no han resultado exitosos (Ranade y col., 1999). El mismo resultado fue obtenido por Yadav y Archer (1989). Estos últimos probaron con concentraciones de molibdato de 0.1mM, 0.5mM y 1.0mM adicionadas a las vinazas para ser tratadas por un sistema de filtro anaerobio con una relación DQO/sulfatos de 7. La metanogénesis y la sulfato-reducción disminuyó considerablemente a las 2 concentraciones más altas antes mencionadas.



Las destilerías de alcohol en Grecia son de gran importancia para la economía nacional (Vlyssides y Zouboulis, 1993). Las 9 destilerías en Grecia tienen una producción de 170,000 L alcohol/día y 2,000 m³/día de desechos líquidos. Vlyssides (1986, 1987), calculó que, para 1 T de alcohol anhidro, se producen 16 m³ de vinazas y son necesarios 60 m³ de agua de enfriamiento. Aunque las vinazas de la remolacha no están caracterizadas como tóxicas, debido a que no contienen metales tóxicos u otros productos químicos peligrosos al ecosistema natural, su disposición al ambiente crea serios problemas debido a su alta carga orgánica (25,000 a 45,000 mgDBO/L y 70,000 a 120,000 mgDQO/L), su contenido de nitrógeno (4,000 a 6,000 mg/L) y su alto contenido de iones sulfatos (37,000 a 39,000 mg/L). Se han propuesto diferentes tipos de tratamiento para estas vinazas pero el sistema anaerobio tiene resultados de producción de H₂S en el biogás, por lo que han tratado de estudiar otros sistemas de tratamiento.

De estos dos últimos párrafos puede concluirse que el tratamiento anaerobio de vinazas está siendo estudiado en todo el mundo aunque, no se han obtenido resultados satisfactorios para evitar la producción de H₂S en el biogás.

2.6 TRATAMIENTO ANAEROBIO A CONDICIONES TERMOFÍLICAS

Hoy en día, varios procesos industriales generan aguas residuales concentradas y a altas temperaturas. Anteriormente, antes del tratamiento anaerobio, estas aguas residuales debieran enfriarse o mezclarse con otras aguas residuales frías para disminuir la temperatura. Recientes resultados han mostrado que estas aguas residuales pueden tratarse a condiciones termofílicas aunque no hay estudios sobre temperaturas mayores a 65°C (Minami y col., 1991; Rintala y col., 1991). Las vinazas son descargadas a una temperatura cercana a los 100°C como fue descrito en la introducción del presente documento. De tal manera, en la presente investigación fue experimentado si es posible lograr eficiencias óptimas del tratamiento anaerobio termofílico de las vinazas, y asimismo, comprobar la hipótesis planteada.

2.6.1 Estrategias de arranque

Las poblaciones metanogénicas tienen dos temperaturas óptimas: Una alrededor de 35°C y otra de 55°C. En cada una, las poblaciones son completamente diferentes, incluyendo no sólo bacterias metanogénicas sino también bacterias degradadoras, lo que dificulta la adaptación de las biocomunidades principalmente por el tiempo requerido para ello (Fang y Chung, 1999).

La conversión de tales condiciones fue realizada con el incremento súbito de temperatura de mesofilia a termofilia en investigaciones realizadas por Krugel y col. (1998). La razón por la que el incremento de temperatura debe ser en forma súbita es debido a que es mantenido dentro del experimento a condiciones mesofílicas, una población metanogénica diferente a la que es obtenida a condiciones termófilas, por lo que de esta forma, se precipitan las condiciones adecuadas de termofilia para sólo conservar la población metanogénica termofílica.



La investigación del párrafo anterior fue tomada básicamente para la presente investigación, para la etapa de arranque de la adaptación de biomasa mesofílica a termofílica, de esta forma, de 35 a 45°C y de 35 a 55°C. El segundo paso radicó en alimentar los reactores por cargas, el tercer paso fue alimentar los reactores en forma semicontinua y el cuarto paso fue alimentarlo en forma continua. Lo cual, esto último también es mencionado en la investigación por Krugel y col. (1998).

A continuación se presentan algunas experiencias de las estrategias de arranque para la adaptación de la biomasa anaerobia mesofílica a condiciones termofílicas. Las investigaciones muestran estrategias, cambios microbiológicos y cambios de operación hidráulica fundando el criterio y la idea sobre la operación anaerobia a condiciones termofílicas. Los puntos más relevantes de estas investigaciones que fueron considerados para la presente investigación, esperando que sea una instrumento teórico sobre el tema para otras futuras investigaciones se presenta en la Tabla 2.16. Más adelante cada una de estas investigaciones se explican a detalle.

Tabla 2.16 Características presentadas al adaptar una biomasa anaerobia mesofílica a condiciones termofílicas

Característica	Bibliografía
Cargas arriba de 20 kgDQO/m ³ día después de 60 días de inoculación	Ohtsuki y col., 1994
Lisis de las bacterias mesofílicas (fermentativas, acetogénicas, metanogénicas, sulfato-reductoras, etc., todas las bacterias involucradas en la degradación anaerobia a condiciones mesofílicas)	Ohtsuki y col., 1994; Widdel, 1988; Lepisto y Rintala, 1997;
Las bacterias termofílicas están presentes a condiciones mesofílicas	Widdel, 1988
La estrategia de arranque de mesofilia a termofilia se logra mediante un aumento gradual de temperatura (con un tiempo para estabilidad de 1 a 24 meses) o de cambio súbito de temperatura (logrando estabilidad en 28 días)	Fang y Chung, 1999; Dinsdale y col., 1997a y b
Tiempos de residencia hidráulica menores	Zinder y col., 1984; Ahring y Westermann, 1987
El tratamiento termofílico puede soportar alimentaciones discontinuas y algunas fluctuaciones de temperatura	Ohtsuki y col., 1992, 1994; van Lier y Lettinga, 1995, Rintala y Lepisto, 1992, 1997; Souza y col., 1992

2.6.2 Estrategias de adaptación de la biomasa

El inóculo termofílico no está comúnmente disponible para la inoculación de nuevos reactores. Sin embargo, los RALLFA termofílicos pueden ponerse en operación utilizando lodos de procesos mesofílicos (Wiegant y Lettinga, 1985; Ohtsuki y col., 1992; Rintala y col., 1993). Este último concepto fue fundamental para el estudio de la presente investigación. A 55°C, los RALLFA soportan cargas arriba de 20 kgDQO/m³día después de 60 días de inoculación con un inóculo mesofílico (Ohtsuki y col., 1994). De otra manera, el arranque puede retrasarse por exceso de carga orgánica por la lisis de las bacterias mesofílicas (Ohtsuki y col., 1994) y una tendencia del proceso a acidificación debido a un desequilibrio del consorcio anaerobio. Áspe y col. (1997) adaptaron un inóculo mesofílico a condiciones termofílicas mediante una



técnica de cultivo. La técnica consiste en adicionar al inóculo a adaptar, el medio de cultivo de Bryant (350 mL/450 mL de inóculo) (Bryant y col., 1971) (Tabla 2.17). En el apartado 3.1.2 de metodología de este documento puede encontrarse la forma en la cual, este medio de cultivo fue utilizado.

Las poblaciones anaerobias capaces de crecer en condiciones termófilas están presentes en condiciones mesófilas. Esto fue afirmado por el estudio realizado en un digestor de desechos de ganadería a 60°C que fue puesto en marcha empleando un lodo mesófilo o rumen. Las poblaciones metanogénicas tienen 2 temperaturas óptimas: Una alrededor de 35°C y otra de 60°C. Debe notarse que estas 2 temperaturas óptimas son debido a la presencia de poblaciones completamente diferentes, incluyendo no sólo las BM sino también bacterias “fermentativas”. Las operaciones a 55 y a 60°C incrementan la velocidad de formación de CH₄ cerca de 2 veces más que a 35°C (Widdel, 1988).

Por otro lado, Lepisto y Rintala (1997) realizaron una investigación sobre la adaptación de inóculos mesofílicos a condiciones termofílicas. Ellos obtuvieron un inóculo de tipo granular adaptado a 35°C. El inóculo fue expuesto a temperaturas de 55°C en un digestor intermitente por dos días. Al cabo de este tiempo, el material orgánico disuelto de la lisis de las bacterias mesofílicas fue separado y eliminado del resto de la biomasa.

Tabla 2.17 Medio de cultivo de Bryant y col. (1971)

Soluciones para ser agregadas a 1 L de volumen final	Cantidad	Contenido en gramos por litro de agua destilada
Mineral 1	50 mL	K ₂ HPO ₄ , 6
Mineral 2	50 mL	KH ₂ PO ₄ , 6; (NH ₄) ₂ SO ₄ , 6; NaCl, 12; MgSO ₄ ·7H ₂ O, 2.6; CaCl ₂ ·2H ₂ O, 0.16
Mineral 3	500 mL	KCl, 0.67; MgCl ₂ ·2H ₂ O, 5.5; MgSO ₄ ·7H ₂ O, 6.9; NH ₄ Cl, 0.5; CaCl ₂ ·2H ₂ O, 0.28; K ₂ HPO ₄ , 0.28
NaCl	18 g	
NH ₄ Cl	1.25 g	
Trazas minerales	10 mL	pH a 7.0 con KOH, ácido nitrilotriacético, 1.5; MgSO ₄ ·7H ₂ O, 3.0; MnSO ₄ ·2H ₂ O, 0.5; NaCl, 1.0; FeSO ₄ ·7H ₂ O, 0.1; CoSO ₄ o CoCl ₂ , 0.1; CaCl ₂ ·2H ₂ O, 0.1; ZnSO ₄ , 0.1; CuSO ₄ ·5H ₂ O, 0.001; AlK(SO ₄) ₂ , 0.01; H ₃ BO ₃ , 0.01; Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O, 0.01. Disolver el ácido nitriloacético con KOH a pH 6.5 y entonces son añadidos los minerales
Trazas de vitaminas	10 mL	Biotina, 0.002; ácido fólico, 0.002; piridoxina hidrocloreto, 0.010; tiamina hidrocloreto, 0.005; riboflavina, 0.005; ácido nicotínico, 0.005; pantotenato de calcio, 0.005; vitamina B12, 0.00001; ácido para-amino benzoico, 0.005; ácido lipoico, 0.005
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.002 g	
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ ·7H ₂ O	0.02 g	
NaHCO ₃	7.5 g	
Acetato de sodio	2.5 g	
Formato de sodio	2.5 g	
Extracto de levadura	2.0 g	
Tripticasa	2.0 g	
Cisteína hidrocloreto	0.6 g	
Na ₂ S·9H ₂ O	0.6 g	



El efecto de choques de temperatura sobre la actividad de biogránulos termofílicos en dos RALLFA se investigaron por Lau y Fang (1997). El estudio fue hecho con sacarosa con una DQO de 10,000 mg/L, con dos RALLFA a 55°C, con una remoción de DQO soluble de 85 a 90%. La temperatura de uno de los reactores fue elevada a 65°C por 8 días, bajando su remoción a 60%. La temperatura del otro reactor fue disminuida a 37°C por 16 días, bajando su remoción a 40%. En suma, los choques de temperatura ocasionaron pérdida de lodo por el efluente, bajo pH y acumulación de AGV, en particular, ácido propiónico. Ambos reactores recobraron su eficiencia después de 18 días y con la adición de un compuesto alcalino y el restablecimiento de la temperatura a 55°C. Los resultados de la actividad metanogénica mostraron que las BMA no son tan sensibles al choque de temperatura como otras bacterias.

La fase de arranque a condiciones termofílicas en investigaciones previas varía de acuerdo a la carga orgánica a tratar, el tiempo puede ser de 1 a 24 meses (Fang y Chung, 1999). Una primera fase consiste en adaptar el lodo anaerobio al sustrato y una segunda fase para adaptar el lodo anaerobio a la temperatura. Esta teoría fue adoptada para la presente investigación. Fang y Chung, que trataron aguas residuales con proteínas, mantuvieron un reactor a 37°C y un segundo al cual, le fue gradualmente aumentando la temperatura hasta 55°C. Una vez adaptados en un período de 6 meses, la etapa de arranque fue a partir de una carga de materia orgánica medida como DQO de 3,000 mg/L con un aumento gradual hasta 15,800 mg/L.

Dinsdale y col. (1997a, b) estudiaron los efectos de la temperatura en la degradación anaerobia de aguas residuales del proceso de la elaboración del café instantáneo a condiciones mesofílicas (35°C) y termofílicas (55°C) en RALLFA. Los reactores termofílicos se inocularon con lodo mesofílico y se convirtieron a termofílicos en un cambio rápido de condiciones de operación elevando la temperatura a 55°C en un sólo paso. La operación termofílica fue alcanzada en 28 días con un TRH de 1 día. Los reactores mesofílico y termofílico alcanzaron una digestión estable con cargas orgánicas arriba de 10 kgDQO/m³día. Pero, el reactor mesofílico empezó a fallar por el incremento de ácidos grasos volátiles (AGV). El reactor termofílico alcanzó una operación estable hasta 11.4 kgDQO/m³día pero cuando llegó a 13.3 kgDQO/m³día se observó un aumento en los niveles de AGV. Los dos reactores se recuperaron muy lentamente. El reactor termofílico alcanzó una remoción de 70% de DQOs en comparación del mesofílico que fue de 78%. En conclusión, cualquiera de los dos, mesofílico o termofílico podrían emplearse para el tratamiento de este tipo de aguas residuales (Dinsdale y col., 1997a, b).

En condiciones termofílicas, los TRH tienen valores menores. Esto quedó demostrado en un reactor a escala de laboratorio con desechos de una ganadería que operó a TRH menores de 3 días. Esto da un volumen menor en el diseño del reactor (Zinder y col., 1984). La disminución del TRH puede atribuirse a la proliferación más rápida de metanógenos termofílicos acetotróficos y otros organismos consumidores de ácidos y al aumento de las velocidades de reacción (por ejemplo, de AGV) (Ahring y Westermann, 1987) cuando son comparados con reactores a condición mesófila.



Se operó un RALLFA con aguas residuales de la industria de alimentos con una DQO de 14,000 a 79,000 mg/L a 55°C. El reactor, con un inóculo mesofílico alcanzó condiciones termofílicas en 70 días, con una remoción de 80% de DQO. Se obtuvo una producción máxima de CH₄ de 55 a 58°C. También hubo producción de CH₄ a temperaturas de 65 y 70°C, pero con períodos de paro o disminución de la producción de CH₄. A 35°C, la producción de CH₄ fue insignificante (Rintala y Lepisto, 1997).

Ahring (1994) estudió el estado y la aplicación de un reactor anaerobio termofílico. Él encontró que los procedimientos de arranque de reactores termofílicos son cruciales para determinar el periodo necesario antes de la operación. Determinó que poblaciones bacterianas diferentes en un reactor termofílico poseen temperaturas óptimas de desarrollo también diferentes. Hizo mediciones de la producción de la rapidez de producción de metano inicial a diferentes temperaturas con un inóculo termofílico e incubado con diferentes sustratos. La Figura 2.4 muestra los resultados obtenidos por Ahring (1994), los que se comparan con los resultados de la presente investigación en el apartado 4.3.4.2.

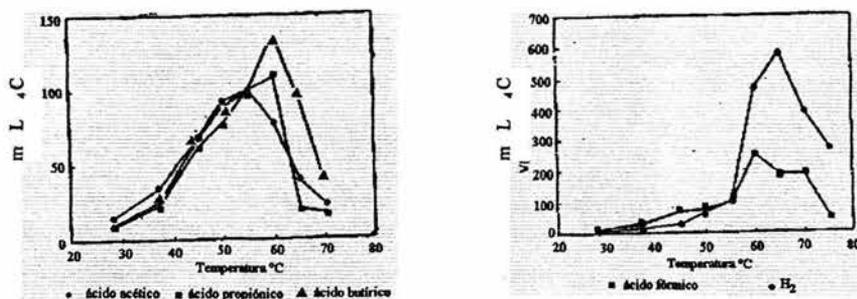


Figura 2.4 Producción de metano a diferentes temperaturas (Ahring, 1994)

En resumen, existen muchas investigaciones a condiciones termofílicas donde se prueba que las conversiones de desechos orgánicos a biogás pueden ocurrir en condiciones termofílicas en un gran número de biorreactores a escala industrial, piloto y laboratorio (Buhr y Andrews, 1977; Zinder, 1988), como por ejemplo, en degradaciones en lecho expandido (Schraa y Jewell, 1984) y RALLFA (Wiegant y de Man, 1986).

Muchos estudios en laboratorio del tratamiento anaerobio termofílico han demostrado que el proceso es estable y que puede soportar alimentaciones discontinuas (Ohtsuki y col., 1992, 1994) y algunas fluctuaciones de temperatura (van Lier y Lettinga, 1995, Rintala y Lepisto, 1992, 1997). Por ejemplo, el estudio de Souza y col. (1992) para el tratamiento anaerobio termofílico de las vinazas muestra que hay una gran estabilidad en un reactor RALLFA de 75m³ obteniendo mejor granulación que a condiciones mesofílicas. Aunque esto contradice estudios a condiciones termofílicas sobre el carbono de compuestos complejos convertido a CH₄ con eficiencias parecidas a las de los reactores mesófilos (Mackie y Bryant, 1981; Zinder y col.,



1984). La operación por arriba de 60°C a veces causa caídas drásticas de eficiencia en los reactores (Pfeffer, 1974). Hay poca estabilidad en el proceso, si el control de la temperatura no se cuida debidamente (Buhr y Andrews, 1977). Sin embargo, otros procesos en laboratorio han operado por varios años con excelente estabilidad (Zinder y col., 1984).

Estudios a escala laboratorio han demostrado que los procesos termofílicos podrían soportar cargas orgánicas más altas que los procesos mesofílicos. En trabajos precedentes habían mostrado que la alimentación de altas cargas orgánicas estaba limitada debido a un excesivo lavado del lecho de lodos en condiciones extremas de carga (Wiegant y col., 1985). Estudios a escala piloto no han revelado obstáculos que pudieran afectar la aplicabilidad de RALLFA termofílicos a escala industrial (Souza y col., 1992, Ohtsuki y col., 1994).

2.7 CONTROL DEL EQUILIBRIO DEL PH EN SISTEMAS ANAEROBIOS

Para la operación de los reactores anaerobios empleados en esta investigación se usó como control de equilibrio del pH una mezcla de compuestos químicos adicionados en la alimentación del reactor. Su uso teórico se explica en este apartado y su uso práctico en el apartado 3.1.1 de la presente investigación.

Se cuestiona el uso de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ para el control del pH cuando hay sulfatos, por el problema de su precipitación como yeso (CaSO_4). Van Langerak y col. (1998) investigaron la factibilidad en RALLFA de adicionar altas concentraciones de calcio (600 a 1,200 mg/L de Ca). A 600 mg/L, el calcio no precipitó y las eficiencias de remoción de DQO alcanzaron el 98%. A 1,200 mg/L, las eficiencias de remoción fueron muy inestables y variaron de 60 a 90%. En las dos concentraciones se presentaron obstrucciones en las paredes y líneas del reactor. El lodo cultivado por estos autores tuvo un gran contenido de residuos, debido a estos precipitados inorgánicos. La presencia de un sustrato no-acidificado, como la glucosa disminuyó el riesgo de aglutinación, mejorando la granulación del lodo metanogénico. El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ no provee la capacidad amortiguadora necesaria del sistema, por lo que ésta puede perderse fácilmente y, con ella, la actividad metanogénica. Por ello, raramente se emplea como medio de control del pH sino que permite que el pH fije el CO_2 producido como HCO_3^- .

Van Langerak y col. (2000) hicieron estudios del impacto de la precipitación de CaCO_3 a diferentes concentraciones. Observaron que, a concentraciones de alrededor de 390 mg/L, el lodo presentaba un alto contenido de residuos como CaCO_3 pero una calidad satisfactoria. La precipitación sólo ocurría en partes del reactor de vidrio o plástico.

Las bacterias que provocan una disminución del pH son las que realizan la hidrólisis, fermentación o acetogénesis, liberando ácidos orgánicos y las bacterias que aumentan el pH son las que consumen los iones H^+ . La diferencia entre la rapidez de consumo y de generación de H^+ origina las variaciones de pH. En reactores continuos, cuando se incrementa la cantidad de sustrato alimentado se produce un aumento en la concentración de iones H^+ , ya que las bacterias que producen H^+ lo hacen a una rapidez mayor que la de las bacterias que lo



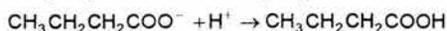
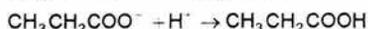
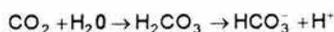
consumen, causando una reducción de pH. La variación del pH está en función del equilibrio de CO₂ entre las fases líquida y gaseosa. La desorción de CO₂ consume H⁺ aumentando el pH. La forma en que se encuentran el S⁻² y el N⁻³ también influye (Rojas-Chacón, 1988a).

Existe un parámetro empleado en Sudamérica para medir la capacidad amortiguadora del reactor anaerobio en operación, pero es necesario explicar a detalle en que está fundado este parámetro de medición, ya que no existe dentro de los métodos estándares del APHA (1985). Este parámetro tuvo modificaciones para adecuarla a tratamientos de alta carga orgánica como el presente trabajo y los resultados se presentan en el apartado correspondiente.

2.7.1 Alcalinidad como parámetro de control en la operación de reactores anaerobios para determinar acidificación

Este apartado trata la teoría sobre el empleo del parámetro de alcalinidad para determinar un desequilibrio presente en el mecanismo de la degradación anaerobia. En el apartado 3.3.1 correspondiente a metodología se presenta la técnica química analítica paso a paso para su reproducibilidad para futuras investigaciones.

En un reactor anaerobio los HCO₃⁻ y CO₂ constituyen los principales reguladores del pH del sistema, o sea, que ellos tienen a su cargo mantener el pH en el intervalo óptimo para la actividad de las BM. En realidad, es el bicarbonato el que tiene capacidad amortiguadora pero parte del CO₂ (gas) proveniente de la descomposición de la materia orgánica se transforma en HCO₃⁻ soluble; estableciendo la siguiente reacción de una secuencia:



El HCO₃⁻ es la base conjugada del H₂CO₃ que es un ácido débil. Cuando una solución acuosa contiene alcalinidad bicarbonática, esto es, en ella la especie carbonatada presente es el HCO₃⁻, entonces la determinación de la alcalinidad hasta un valor de pH de 4.3, valora más del 99% del HCO₃⁻ presente. Si el agua analizada, además del HCO₃⁻, contiene otras bases conjugadas (sales de ácidos débiles), entonces la titulación no solamente abarcará la neutralización de HCO₃⁻ sino también la de las sales de los ácidos débiles presentes, de tal modo que si en el efluente de un reactor anaerobio existe ácidos acético, propiónico y butírico, quedarán involucrados dentro de la titulación de alcalinidad con un porcentaje aproximado del 65%.

El método de titulación propuesto por Jenkins y col. (1991), lleva la valoración hasta un pH



de 5.75. A este valor de pH se titula el 80% de HCO_3^- y solamente se cuantifica el 6% de las sales de ácidos orgánicos débiles, lo cual introducirá un error relativo pequeño. Por lo tanto, la diferencia entre el volumen gastado para la titulación de la muestra hasta un pH de 4.3, menos el volumen gastado hasta un pH de 5.75 será el volumen consumido por los AGV presentes.

a pH=4.3 alcalinidad total= HCO_3^- + AGV (sales)

a pH=5.75 alcalinidad total de HCO_3^-

Este método propone emplear la relación de estos volúmenes ($\text{Alc}_{4.3}-\text{Alc}_{5.75}$)/ $\text{Alc}_{4.3}$ como parámetro de control. Un sistema tendrá una excelente capacidad amortiguadora cuando esta relación (α) tiene un valor cercano a 0.20. Teóricamente, para reactores anaerobios, el valor máximo que debiera alcanzar este parámetro es de 0.40, que representaría un 60% en su capacidad amortiguadora; sin embargo, a nivel práctico se ha encontrado que este valor es menor. En trabajos de control de RALLFA por este sistema, se ha encontrado que por encima de 0.35 el sistema presenta condiciones de acidificación (Rojas-Chacón, 1988a).

En estos sistemas, la población bacteriana es altamente sensible a cambios generados en el ambiente que los rodea, especialmente cuando está adaptada al nuevo sustrato. La adaptación es una etapa lenta que debe realizarse con cuidado, para evitar la acidificación. Cuando se presenta una acidificación en la operación del reactor ocurren los fenómenos que se muestran en la Figura 2.5. Esta figura recopila los conceptos en los que Rojas-Chacón se basó para desarrollar su metodología (1988a).

2.8 EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE CONSORCIOS METANOGÉNICOS Y SULFATO-REDUCTORES

En apartados anteriores se han expuesto detalladamente tipologías, reacciones químicas y sus funciones microbiológicas de las BSR y las BM en forma individualizada y en forma conjunta en el equilibrio anaerobio. En este apartado se presenta el efecto de la temperatura particularmente para las BSR y las BM. Los estudios realizados no han podido concluir categóricamente sobre el efecto que tiene la temperatura sobre cada uno de estos consorcios bacterianos. Por ello es que los resultados de investigaciones anteriores influyeron en la hipótesis planteada para la presente investigación.

En la degradación anaerobia intervienen numerosas especies bacterianas para llevar a cabo la degradación. Existen estudios sobre cultivos puros y sustratos como CO_2 y H_2 a temperaturas cercanas a 55°C, indicando con los resultados obtenidos que el número de especies activas de las BSR y su función como competidores podría limitarse, ya que de las BM, la *Archaeobacterium* es activa a temperaturas altas y sus especies son mayores en número que las BSR que proliferan a altas temperaturas. Sin embargo, en el caso de sustratos complejos, una temperatura límite controlada permite que se lleve a cabo la metanogénesis por bacterias degradadoras, sintróficas y metanogénicas (Zinder, 1993).



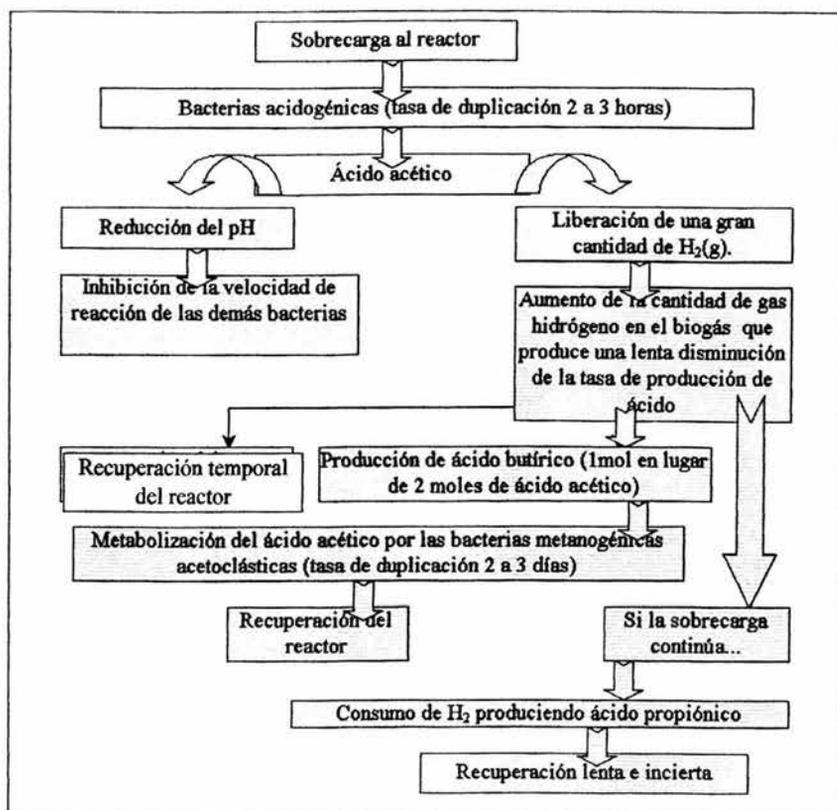


Figura 2.5 Causas de la acidificación dentro del equilibrio anaerobio

Esto contrasta con respecto a las investigaciones de Oremland y Polcin (1982), donde encontraron que nueve especies de BSR son capaces de proliferar en temperaturas extremas, hasta de 100°C. Observaron una competencia de las BSR versus las BM a temperaturas arriba de 55°C en sedimentos de estuarios. Un factor importante que permite a las BM competir con las BSR es probablemente la propiedad de adherencia formando matrices inertes o flóculos, especialmente de la especie de *Methanotrix*, adherida a compuestos de ácido acético, ya que las BSR disminuyen su adherencia a los lodos en estado floculento y esto mantiene una baja densidad relativa pudiendo provocar su pérdida con la elutriación (Zehnder, 1988).

La temperatura óptima de los cultivos puros de BSR debe estar en un intervalo que no varíe más de 10°C de la temperatura óptima para cada tipo de especie de las BSR (Zinder, 1993). La



existencia de BSR psicrófilas no ha sido dilucidada aún en cultivos puros. La temperatura óptima más baja entre las BSR se presenta con las bacterias *Desulfobacterium* autotróficas facultativas (20°C). Las bacterias *Desulfobacter hydrogenophilus*, a pesar de que tienen un óptimo cercano a 32°C, son también responsables de la sulfato-reducción en sedimentos a baja temperatura (10°C) (Cord-Ruwisch y col., 1987).

Smul y col. (1999) llevaron a cabo experimentos de degradación de etanol y etilenglicol a condiciones mesofílicas (33°C) y termofílicas (55°C) en dos reactores anaerobios de lecho de lodo granular expandido (RALLGE). Gradualmente, se incrementó la concentración de iones sulfatos a 33°C y se observó el escape de lodo anaerobio por el efluente. La remoción de iones sulfatos disminuyó cuando la relación DQO/sulfatos tuvo valores menores de 6, debido a que las BSR no pueden competir con las BM por el ácido acético producido a partir del sustrato alimentado. La operación termofílica después de un incremento gradual de temperatura en 23 días no favoreció la sulfato-reducción acetotrófica. Sin embargo, la operación a 48°C y su regreso a 33°C claramente aumentó la conversión de ácido acético por la conversión de las BSR (Smul y col., 1999). Esto indicaría que, a condiciones termofílicas, no existe competencia de las BSR con las BM por el ácido acético mientras que, a condiciones mesofílicas sí existe. Estos resultados se discutirán en el apartado 4.3.4., cuando se dan los datos obtenidos en la presente investigación de las pruebas con ácido acético para distinguir el efecto de la temperatura con las BSR y las BM.

Dentro de las investigaciones sobre metanogénesis y sulfato-reducción, la de Watson y Nedwell (1998), quienes estudiaron el fenómeno en los pantanos Great Dun Fell y Ellergower con presencia de lluvia ácida, muestra que observaron una completa inhibición de la metanogénesis debida a la deposición de iones sulfatos en el pantano y, además, que el ácido sulfhídrico producido era convertido *in situ* a iones sulfatos. Las pocas BM activas eran las BM hidrogenotróficas. Los cambios de temperatura por las estaciones del año fue determinante en la cantidad de carbono mineralizado por la sulfato-reducción, que fue menor a mayor temperatura. Es decir, a condiciones termofílicas (55-65°C) la conversión de materia carbonosa por las BSR fue menor que a condiciones mesofílicas (25-35°C). Van Hulzen y col. (1999) encontraron los mismos efectos con respecto de la temperatura en la producción de CH₄ en suelos. Por tanto, en la presente investigación se estudió la conversión carbonosa por las BSR y las BM a una temperatura mayor que la empleada por Watson y Nedwell en sus experimentos.

Las Tablas 2.18 y 2.19 presentan los resultados de investigaciones en la literatura sobre el efecto de la temperatura en la degradación de los sustratos en combinación con iones sulfato. En esta tabla se observa que la mayoría de las investigaciones sobre tratamientos anaerobios en presencia de sulfatos se realizan con sustratos carbonosos de cadena corta (ácido butírico, ácido benzoico, ácido acético, ácido propiónico, etanol, ácido fórmico) o sustratos no complejos (almidón, sacarosa, etilenglicol). Existe en realidad poca bibliografía que trata directamente con aguas residuales industriales; las que existen son, por ejemplo, para vinazas con tratamientos de 25 a 35°C, aguas residuales de la industria de ácido cítrico a 35°C y de la industria del pescado a 37°C pero no estudios específicos que permitan dilucidar el efecto de la



temperatura sobre la actividad metanogénica y sulfato-reductora.

La Figura 2.6 muestra la proliferación de las BM con respecto a la temperatura, de acuerdo a Van Lier y col. (1993). En la figura se observa que a mayor temperatura, el porcentaje de proliferación de las BM es mayor. Por lo que, la investigación de Van Lier y col., puede aportar a las conclusiones de la presente investigación.

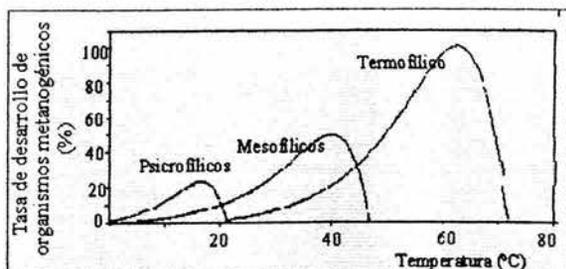


Figura 2.6 Tasa de desarrollo de organismos metanogénicos con respecto a la temperatura (Van Lier y col., 1993).

Visser y col. (1993a) han sido uno de los únicos grupos de investigación dedicados a efectuar estudios referentes del efecto de la temperatura sobre la producción de H_2S . La Tabla 2.19 presenta los resultados obtenidos a partir de un inóculo anaerobio adaptado a 30°C que fue sometido a un manejo de choques de temperatura mayores (45, 55 y 65°C) por cortos periodos de tiempo, 8 a 9 horas. Los resultados indicaron que cuanto mayor era el cambio de temperatura, es decir de mesofilia a termofilia (30 a 55 y 30 a 65°C), mayor era la disminución del porcentaje de remoción, el cual disminuyó en un 90% y la producción de CH_4 en el biogás casi desapareció a diferencia de la producción de H_2S , que se mantuvo relativamente constante en el biogás a pesar del choque de temperatura. Visser y col., recomiendan estudios con lodos anaerobios adaptados a las temperaturas en estudio porque ellos concluyen que las BM son más sensibles que las BSR, pero estudios sobre este tema no se han publicado, porque el tiempo de investigación es prolongado. El estudio de la presente investigación podría contribuir sólidamente sobre la competencia entre estos consorcios bacterianos.

Por otro lado, Omil y col. (1998) realizaron pruebas en viales empleando sustratos carbonosos, ácidos acético, propiónico y butírico con sulfatos aplicando choques de temperatura con intervalos de temperatura mesófilos a termófilos sin un tiempo previo de adaptación del inóculo a las temperaturas de choque. No obtuvieron buenos resultados con las BM. Los choques térmicos de termofilia suspendieron la actividad metanogénica mientras que la actividad sulfato-reductora aumentó durante un tiempo de experimentación de 1 día. Omil y col. (1998), al igual que Visser y col. (1993a), recomiendan probar con lodos adaptados a condiciones termofílicas.

En lo que respecta a estudios con vinazas, se realizaron investigaciones sobre la relación de



disminución de la presencia de H₂S adicionando compuestos químicos en el efluente, como molibdato de sodio pero sin éxito. Asimismo, Smul y col. (1999) estudiaron el efecto del pH sobre la presencia de H₂S en el biogás y encontraron relación entre ellos. Otros estudios sólo relatan sus experiencias sobre el tratamiento de un sustrato en relación con sulfatos sobre las diferentes relaciones de DQO/sulfatos a condiciones mesofílicas. Se han encontrado otros estudios más profundos sobre el tema de tratamientos anaerobios con presencia de sulfatos. Estos estudios muestran resultados de actividades metanogénicas y sulfato-reductoras con base en las relaciones de DQO/sulfatos presentes en el influente a tratar como lo muestra la Tabla 2.18. Los resultados de la Tabla 2.18 se discuten con los resultados encontrados en la presente investigación y que pueden encontrarse en el apartado de resultados y discusión del presente documento.

Tabla 2.18 Tratamiento anaerobio de diversos sustratos con presencia de iones sulfato

Sustrato	Temp. °C	DQO Influyente mg/L	relación DQO/sulfatos	Biogás %		% remoción DQO	Bibliografía
				CH ₄	H ₂ S		
Vinazas-molibdato	35	49,800	5	20	2	60 a 5	Hilton y Archer, 1988
	35	49,800	5	60	2	60	
Vinazas	34	74,652	14	67	-	61	Espinoza y Noyola, 1992
	30	58,820	21	75	-	65	
	55	15,000	ND	65	ND	74 a 83	Pérez y col., 1998
	28	93,800	3	40	327mgS ² /L	50	Noyola y Briones, 1988
Vinazas-molibdato de sodio	35	40,000	11	60-20	0.5	ND	Ranade y col., 1999
Ácido benzoico	35	10,000	60	69	0.05	52	Yu-You y col., 1996
		10,000	15	67.7	2.7	82	
		10,000	6	68.9	2.3	85	
		5,000	3	69.8	2.2	86	
		2,500	1.5	62.7	3.2	95	
		1,250	0.75	33.6	2.9	95	
Ácido acético+ Ácido propiónico+ Ácido butírico	30	5,000	0.7	70	2.5	95	Visser y col., 1993a
	30 a 45			70	2.5	95	
	30 a 55	3,300	0.7	30	2.0	40	
	30 a 65			9	1.0	10	
Ácido acético	35	5,052	0.5	90	1	83	Isa y col., 1986b
Acido acético+etanol	35	4,921	0.5	83	4	93	
Acido fórmico	35	5,255	0.5	60		93	
Etanol	33	6,000	7.0	ND	ND	23	Smul y col., 1999
			6.0			60	
			4.3			75	
			3.6			70	
			2.6			60	
			2.6			40	
			2.6			35	
Etilenglicol	33	6,000	7.0	ND	ND	50	Smul y col., 1999
			6.0			50	
			4.3			50	
			3.6			62	
			2.6			60	
			2.6			50	
			2.6			85	

* estimado ND=no determinado



Tabla 2.19 Tratamiento anaerobio de diversos sustratos con presencia de iones sulfato con mediciones de actividad metanogénica y sulfato-reductora

Sustrato	Temp. °C	Actividad metanogénica kgDQO-CH ₄ /kgSSV día () Actividad sulfato-reductora kgDQO-H ₂ S/kgSSV día				DQO Influyente mg/L	relación DQO/ sulfatos	Biogás %		% remoción DQO	Bibliografía
		Ácido acético	Ácido propiónico	sacarosa	Ácido butírico			CH ₄	H ₂ S		
Ácido butírico	35	0.19	-	-	-	10,000	148	72.7	0.01	95	Mizuno y col., 1996
		0.26	-	-	-			71.2	0.3	90	
		0.25	-	-	-			71.6	0.01	97	
		0.19	-	-	-	10,000	15	69.5	0.9	95	
		0.19	-	-	-			69.0	2.1	95	
		0.27	-	-	-			66.3	4.4	94	
		0.11	-	-	-	10,000	6	67.7	1.4	89	
		0.08	-	-	-			66.2	4.8	95	
		0.05	-	-	-			63.6	8.3	86	
		0.05	-	-	-	2,500	1.5	21.1	3.8	72	
		0.04	-	-	-			63.3	0.01	72	
		0.01	-	-	-			28.8	0.07	77	
0.9	-	0.7	-	17	57			2.3	90.5		
Sacarosa y almidón	25	1.1	-	0.9	-	500	3	41	1.3	89.1	Harada y col., 1994
		0.5	-	0.3	-		0.8	10	0.3	90.5	
		0.5 (0.06)	0.25 (0.20)	-	0.2 (0.3)		3,300	2.0	70	1.5	
Ácidos grasos volátiles	30	0.5 (0.02)	0.01(0.70)	-	0.01(0.7)	4,000	0.5	50	6.0	40	Omil y col., 1998
		0.5 (0.25)	-	-	-	1,500	2.0	60	0.5	75	
		0.5 (0.45)	-	-	-	3,000	1.0	-	0.9	50	
		0.19 (0.4)	-	-	-	2,100	0.6	20	1.6	35	
		0.1 (0.4)	-	-	-	2,100	0.6	10	2.0	10	
		0.46	-	0.59	-	30,000	20	63	-	70	
Aguas residuales de la producción de ácido cítrico	35	0.04	0.0002	-	0.01	12,000	3	52	3.2	60	Colleran y col., 1994
		0.096	0.095	-	0.086	12,000	>100	58	0.05	75	
Aguas residuales de Industria de alimentos de pescado	37	0.096	-	-	-	3,400	34	50	20 mg/L	ND	Aspé y col., 1997
		0.102	-	-	-	4,080	6.8	40			
		0.100	-	-	-	3,780	1.8	41			
		0.045	-	-	-	3,737	0.37	20			
		0.0126	-	-	-	2,505	0.05	10			
Efecto de ácidos grasos volátiles y etanol	37	acetato con sulfatos 0.049	Ácido propiónico con sulfatos 0.000	glucosa con sulfatos 0.27	Acido butírico con sulfatos 0.249	12,000	3	sólo H ₂ S mg/L a diferente pH 6.5, 8.0		ND	Flaherty y col., 1999
		sin sulfatos 2.191	sin sulfatos 0.96	sin sulfatos 0.348	sin sulfatos 1.49			acetato 150, 69	propionato 204, 110		
		etanol con sulfatos 0.348	H ₂ CO ₂ con sulfatos 0.049	-	-			butirato 238, 77	glucosa 1162, 196		
sin sulfatos 2.49	sin sulfatos 3.2	-	-	etanol 204, 110	H ₂ /CO ₂ 241, 98						



2.9 SOLUBILIDAD DE GASES EN AGUA

La concentración de equilibrio o saturación del gas disuelto en un líquido es función de la presión parcial del gas sobre el líquido. Esta relación viene dada por la Ley de Henry. La constante de la ley de Henry está en función de la temperatura, los constituyentes químicos y el tipo de líquido.

El fenómeno de desorción se explica de la siguiente forma: Si se ponen en contacto una mezcla de gases con un líquido y se supone que todos los gases siguen la ley de Henry, estos se disolverán como si el gas estuviera presente por sí sólo, a una presión igual a su presión parcial en la mezcla. Por ejemplo, si el espacio gaseoso sobre un volumen dado de agua líquida está ocupado únicamente por H_2S y la presión de este gas es de 1 atmósfera, a $25^\circ C$, se disuelven 1.02×10^{-1} moles del gas en cada litro. Ahora bien, si en este espacio con H_2S se introduce ahora CH_4 a 1 atm de presión, la solubilidad del H_2S no se afecta. La solubilidad de un gas disminuye notablemente al aumentar la temperatura, debido al aumento en el movimiento de translación de las moléculas del líquido en el gas, lo que trae como resultado una mayor probabilidad de que escapen a la atmósfera. Sin embargo, la disminución de la solubilidad al aumentar la temperatura no es lineal y en algunos casos la curva de solubilidades pasa por un valor mínimo.

La concentración de equilibrio o saturación del gas disuelto en un líquido es función de la presión parcial del gas sobre el líquido. Esta relación viene dada como ya se dijo, por la Ley de Henry:

$$P_g = H X_g \quad (2-12)$$

donde

P_g = Presión parcial del gas en atmósferas

H = Constante de la ley de Henry

X_g = Fracción molar de equilibrio del gas disuelto

$$X_g = \frac{\text{moles de gas}}{\text{moles de gas} + \text{moles de agua}}$$

Por medio de la bibliografía (Sander, 1999), se obtuvo la Tabla 2.20 que recopila los valores de H de más de 300 compuestos químicos orgánicos e inorgánicos. Este libro es de potencial importancia en la química ambiental, en la química atmosférica y en el tratamiento de aguas residuales.

En el libro Handbook of Chemistry and Physics (HCP, 1991) se presentan formulaciones especiales para la solubilidad de gases en agua, donde se combinan la constante de Henry con estas formulaciones. La Tabla 2.21 muestra las formulaciones para los gases en estudio.



Tabla 2.20 Constantes de Henry (Sander, 1999)

T°C	Hx10 ⁻⁴ atm/fracción molar		
	CH ₄	CO ₂	H ₂ S
0	2.24	0.0728	0.0268
10	2.97	0.104	0.0367
20	3.76	0.142	0.0483
30	4.49	0.186	0.0609
40	5.20	0.233	0.0745
50	5.77	0.283	0.0884
60	6.26	0.341	0.1030

Tabla 2.21 Formulaciones para la solubilidad de gases en agua para una presión parcial de gas a 1 atm (HCP, 1991)

Gas	Temperatura (K)	solubilidad fracción molar	moles/L	Fórmula	Constantes de la ecuación
H ₂ S	288.15	2.335x10 ⁻³	1.02x10 ⁻¹	ln X ₁ = A + B/T + C ln T + DT	A= -24.912 B= 3477 C= 0.0157 D= 0.0157
	293.15	2.075x10 ⁻³			
	298.15	1.85x10 ⁻³			
	303.15	1.66x10 ⁻³			
	308.15	1.51x10 ⁻³			
CH ₄	288.15	3.122x10 ⁻⁵	0.833x10 ⁻¹	ln X ₁ = A + B/T* + C ln T* + DT* T* = T/100 K	A= -115.6477 B= 155.5756 C= 65.2553 D= -6.6170
	293.15	2.806x10 ⁻⁵			
	298.15	2.552x10 ⁻⁵			
	303.15	2.346x10 ⁻⁵			
	308.15	2.180x10 ⁻⁵			
CO ₂	288.15	8.21x10 ⁻⁴	3.39x10 ⁻²	Derivada de la Constante de Henry	
	293.15	7.07x10 ⁻⁴			
	298.15	6.15x10 ⁻⁴			
	303.15	5.41x10 ⁻⁴			
	308.15	4.80x10 ⁻⁴			

2.10 CINÉTICA ANAEROBIA

La Tabla 2.22 es una recopilación de los modelos empleados para los procesos de tratamiento anaerobio. Los principales objetivos del estudio de la cinética en el campo del tratamiento de aguas residuales por sistemas biológicos son: 1) La generalización de conocimiento y experiencia; 2) Verificación de ideas conceptuales; 3) Predicción del comportamiento de biosistemas de tratamiento complejo; 4) Control de los procesos y 5) Escalamiento apropiado de los equipos.

Los sistemas anaerobios tienen mecanismos muy complejos. Por ello, el uso de modelos matemáticos que supongan su comportamiento como reactores perfectamente mezclados, considerando las concentraciones de sustratos, productos intermediarios, productos finales y bacterias dentro del reactor resultan poco representativas para reactores tipo RALLFA, con velocidades de flujo ascendente bajas, en los que la distribución de estos componentes a lo



largo de la altura del reactor está muy lejos de ser uniforme. El estudio de este tipo de sistemas es muy complejo, aunque Kalyuznyi y Fedorovich (1997) encontraron un modelo matemático para determinar la influencia de diferentes factores (número de recirculaciones, tiempo de residencia hidráulica, calidad del lodo inoculado, sulfatos y DQO).

Tabla 2.22 Modelos cinéticos empleados en procesos de tratamiento anaerobio microbiano (Husain, 1998)

Primer orden	$\mu = \frac{kS}{S_0 - S} - b$	$-\frac{dS}{dt} = kS$
Monod	$\mu = \frac{\mu_{max}S}{K_s + S} - b$	$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu_{max}XS}{Y_b(K_s + S)}$
Grau	$\mu = \frac{\mu_{max}S}{S_0} - b$	$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu_{max}XS}{Y_b S_0}$
Contois	$\mu = \frac{U_m S}{BX + S} - b$	$-\frac{dS}{dt} = \frac{U_m XS}{Y_b (BX + S)}$
Chen y Hashimoto	$\mu = \frac{\mu_{max}S}{kS_0 + (1-k)S} - b$	$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu_{max}XS}{kX + Y_b S}$
Thomas y Nordstedt	$\frac{dX}{dt} = (\mu - k_d - 1/TRH)X$	
Hill	$\frac{(S_0 - S)}{TRH} - \frac{\mu X}{Y_b} = 0$	

Lokshina y Vavilin (1999) y Vavilin y col. (1997) en su estudio sobre análisis cinéticos de las etapas clave de la metanogénesis a baja temperatura por consorcios microbianos de bosques, tundra, suelos de praderas, hojas y cieno obtuvieron un modelo que está basado en el método generalizado para digestión de lodos reportado por Vasiliev y col. (1993) y Vavilin y col. (1994). Lokshina y Vavilin estudiaron la hidrólisis, acetogénesis y metanogénesis acetoclástica en la conversión de materia orgánica endógena, una mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono (H_2/CO_2) y ácidos grasos volátiles. La ecuación de Contois fue aplicada para la descripción de la cinética de hidrólisis de material endógeno y la cinética de Monod fue empleada para describir las etapas de acetogénesis y metanogénesis.

Los coeficientes cinéticos de las bacterias hidrolíticas, homoacetogénicas y metanogénicas acetoclásticas se determinaron a temperaturas bajas e intermedias considerando el efecto de la temperatura. A altas temperaturas las constantes de velocidad de reacción se incrementan substancialmente.

Thayanithy y Forster (2002), al igual que Lokshina y Vavilin (1999) también emplearon los modelos de Monod y Contois para la digestión de aguas residuales de la fabricación de helado.

Existen varios trabajos sobre filtros anaerobios que utilizan estos modelos cinéticos (Yu y col., 1998; Ahn y Forster, 2000). Ahn y Forster (2000) analizaron la cinética de operación de filtros anaerobios a condiciones mesofílicas y termofílicas tratando un agua residual sintética



de almidón. Trabajaron con dos filtros, uno mesofílico y otro termofílico operados con una alimentación basada en almidón. Utilizaron el modelo de Stover-Kincannon y un modelo empírico basado en el influente de DQO y el tiempo de residencia hidráulica. Se comprobó que el filtro anaerobio termofílico tuvo una velocidad de utilización de sustrato 15 veces más grande que el filtro mesofílico. Pero no encontraron diferencias en la producción máxima de CH_4 .

La cinética anaerobia es más sencilla cuando se emplean cultivos puros de bacterias metanogénicas por medio de un análisis estequiométrico, pero no se obtienen los mismos resultados cuando intervienen más de dos tipos de bacterias (Duboc y von Stockar, 1998).

Lokshina y col. (2001) tomaron muestras de sedimentos de lagos y de reactores RALLFA y la mezcla de ellos fue empleada como inóculo de cultivos intermitentes para la producción de CH_4 a partir de ácido acético. Al mismo tiempo, también emplearon cultivos puros de *Methanosarcina barkeri* strain MS. Para el inóculo de sedimentos, los valores de los coeficientes de inhibición disminuyeron al disminuir la temperatura. Los valores de la velocidad máxima de proliferación de biomasa fue más alta a 30°C (sedimentos) y 22°C (biomasa de RALLFA).

Existe la controversia sobre el orden de reacción en los tratamientos anaerobios por el trabajo realizado por Büyükkamaci y Filibeli (2002) en la determinación de las constantes cinéticas de un reactor anaerobio híbrido. El reactor es una modificación de un filtro anaerobio y un RALLFA. Ellos investigaron diferentes tiempos de residencia (0.5, 1 y 2 días) y diferentes cargas orgánicas (1 a 10 kgDQO/m³día). Emplearon modelos de segundo orden y el modelo de Stover-Kincannon. La velocidad de reacción, considerando un modelo de segundo orden, fue de 2.32, 2.57 y 10.81 unidades por regiones (lecho de lodos, lecho fijo y reactor completo). La velocidad máxima fue de 83.3 g/Ldía y la concentración del sustrato para la mitad de la tasa máxima de proliferación, K_s es de 186.23 g/L.

La Tabla 2.23 presenta un resumen de los datos cinéticos para la conversión de sustratos orgánicos por microorganismos anaerobios mesofílicos, tomado de la literatura (Malina y Pohland, 1992). La Tabla muestra grandes variaciones aún tratando el mismo sustrato. Los datos cinéticos provienen de sustratos con moléculas no complejas pero no se incluyen datos con sustrato de aguas residuales reales que son constituidas por moléculas químicas complejas. En la literatura existen diferentes investigaciones sobre el análisis cinético en la degradación anaerobia, pero comúnmente se basan en diferentes etapas de la degradación anaerobia, como son, hidrólisis, homoacetogénesis, acetogénesis y metanogénesis por mencionar a las principales vías de degradación. Estas investigaciones están basadas en diferentes tipos de medios anaerobios, como son, suelos, contenedores de estiércol, lagunas de cieno, sedimentos de río y mar, etc. Estos resultados se muestran en la Tabla 2.23.

Para determinar los coeficientes cinéticos se emplearon reactores a escala de laboratorio o viales. En la determinación de estos coeficientes, el procedimiento usual consiste en hacer funcionar los reactores dentro de un intervalo de diferentes concentraciones de sustrato a



reaccionar; por consiguiente, deben seleccionarse diferentes tiempos de residencia (al menos cinco) para intervalos de operación entre 1 y 20 días. Utilizando los valores obtenidos en condiciones estacionarias, se determinan los valores medios de tiempo de residencia, concentración de sustrato inicial y final, concentración de biomasa y grado de utilización de sustrato.

Tabla 2.23 Constantes cinéticas para la conversión anaerobia mesofílica de sustratos orgánicos (modificada de Malina y Pohländ, 1992 y Hu y col., 2002)

Sustrato	Etapa del proceso	k gDQO/gSSV -día	Ks mgDQO/L	μ_{max} 1/día	Y_b gSSV/gDQO	k_d 1/día
Carbohidratos	Acidogénesis	1.33 a 70.6	22.5 a 630	7.2 a 30	0.14 a 0.17	6.1
Cadena larga de ácidos grasos	"Oxidación" anaerobia	0.77 a 6.67	105 a 3180	0.085 a 0.55	0.04 a 0.11	0.01 a 0.015
Cadena corta de ácidos grasos (excepto ácido acético)	"Oxidación" anaerobia	6.2 a 17.1	12 a 500	0.13 a 1.20	0.025 a 0.047	0.01 a 0.027
Ácido acético	Metanogénesis acetoclástica	2.6 a 11.6	11 a 421	0.08 a 0.7	0.01 a 0.054	0.004 a 0.037
H ₂ /CO ₂	Metanogénesis	1.92 a 90	4.8x10 ⁻⁵ a 0.60	0.05 a 4.07	0.017 a 0.045	0.088
Estiércol de granja	Metanogénesis	-	280	450	-	-
Desecho de ganado	Metanogénesis	-	300	250	-	-
Ácido propiónico	Metanogénesis	-	250	274	-	-
Fabricación de helados	Metanogénesis	0.48	403	0.78	0.21	0.013
Tetracloroetileno	Metanogénesis	2.38	108	-	0.17	0.015

Los parámetros cinéticos son:

Y_b coeficiente de rendimiento máximo medido durante cualquier período finito de la fase de "crecimiento" o proliferación o desarrollo exponencial definido como la relación entre la masa de células formadas y la masa de sustrato consumido (gSSV/gDQO)

μ tasa de proliferación específica (día⁻¹)

μ_{max} tasa máxima de "crecimiento" o proliferación específica (día⁻¹)

K_s constante de velocidad media, concentración del sustrato para la media de la tasa máxima de proliferación (gDQO/L)

k es la tasa máxima de utilización del sustrato por unidad de masa de microorganismos gDQO/gSSV-día

k_d coeficiente de descomposición endógena (día⁻¹)

Las ecuaciones 2-13 a la 2-15 permiten la determinación de los parámetros cinéticos de acuerdo a la cinética de Monod que serán utilizadas en este trabajo:



$$\frac{X \cdot \text{TRH}}{S_0 - S} = \frac{K_s}{k} \frac{1}{S} + \frac{1}{k} \quad (2-13)$$

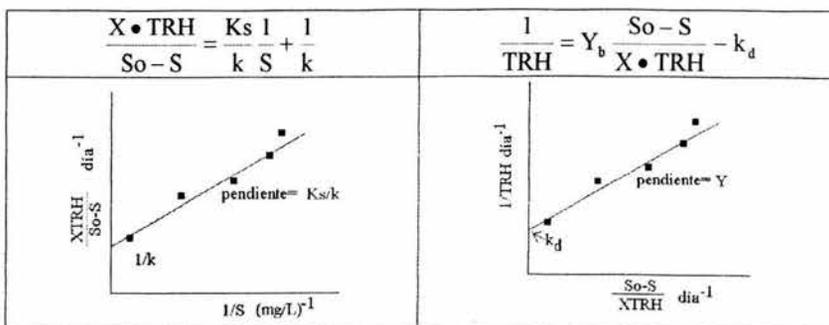
$$\frac{1}{\text{TRH}} = Y_b \frac{S_0 - S}{X \cdot \text{TRH}} - k_d \quad (2-14)$$

$$k = \frac{H_{\max}}{Y_b} \quad (2-15)$$

donde

- X = Concentración de microorganismos (g/L)
- S = Concentración del sustrato en el reactor (g/L)
- S₀ = Concentración del sustrato inicial en el reactor (g/L)
- TRH = Tiempo de residencia hidráulica (días)

Para el desglose de fórmulas involucradas para llegar a estas ecuaciones se consideraron las condiciones de diseño de los viales y las condiciones operacionales como sistemas intermitentes de mezcla completa. La determinación de los parámetros cinéticos en las ecuaciones 2-13 y 2-14 se resuelven en su forma lineal y, en general, se presentan como sigue:



2.11 APLICACIÓN DE LA ECUACIÓN DE ARRHENIUS

En algunas investigaciones se estudian los efectos de la temperatura considerando parámetros que representan las principales actividades biológicas, como la velocidad máxima de “crecimiento” o desarrollo o proliferación de bacterias y la velocidad o rapidez de muerte celular. El efecto de la temperatura, por medio de la ecuación de Arrhenius, se presenta por:

$$k_T = k_{T_{\text{ref}}} Q_{10}^{(T - T_{\text{ref}})/10} \quad (2-16)$$

donde



k es la velocidad de reacción de un proceso dado
 T temperatura a la que se lleva a cabo el proceso
 T_{ref} es la temperatura de referencia
 k_{ref} es la velocidad de reacción a la temperatura de referencia
 Q_{10} es el incremento relativo en la actividad después de incrementar la temperatura 10°C

Una vez obtenida la cinética de los experimentos realizados en viales, puede calcularse la constante de Arrhenius con base en los productos en cuestión, CH_4 y H_2S , para la metanogénesis y sulfato-reducción, como se hizo en esta investigación.

Este procedimiento se empleó por Tsutsuki y Ponnamperuma (1987) en el comportamiento de productos de descomposición anaerobia en suelos sumergidos. También por Updegraff y col. (1995) en el trabajo sobre control de la mineralización de carbono y nitrógeno en humedales. La investigación de Baetens y col. (1999) sobre los efectos de la temperatura en la biorremoción de fósforo en un sistema anaerobio-aerobio, empleó la misma ecuación tomando la velocidad de reacción de la biorremoción de fósforo al igual que Brdjanovic y col. (1998). Q_{10} es el incremento relativo en la actividad después de incrementar la temperatura 10°C y su valor está en el intervalo de 1.3 a 28. Esta gran variación se debe a que se consideran los procesos de producción de CH_4 , mineralización de carbono en sistemas anaerobios y el incremento de la actividad. La dependencia de la temperatura para que las bacterias sulfato-reductoras actúen es alta, correspondiendo a un coeficiente de temperatura de cerca de $1.13/1^{\circ}\text{C}$ en experimentos con suelos (Nielsen y Hvitved-Jacobsen, 1988).

El inconveniente de emplear la ecuación 2-16 es que, para las vinazas, no hay velocidad de reacción de referencia hasta el momento ni trabajos sobre cinética con reactores anaerobios tratando vinazas. Por ello, los resultados que se obtengan en la presente investigación ayudarán a futuras investigaciones utilizando la ecuación 2-16.

Por medio de los estudios realizados por Veecken y Hamelers (1999) se elaboraron los cálculos para la determinación de la constante de Arrhenius. Veecken y Hamelers supusieron una cinética de primer orden para la degradación anaerobia de materia orgánica y la producción de CH_4 acumulada la describieron mediante las ecuaciones siguientes:

$$\text{CH}_4(t) = \text{CH}_{4,\text{max}} [1 - \exp(-K_{\text{CH}_4}t)] \quad (2-17)$$

donde

$\text{CH}_4(t)$ = Producción de metano acumulada en el tiempo t (en mL a STP)
 $\text{CH}_{4,\text{max}}$ = Producción máxima de metano (en mL a STP)
 K_{CH_4} = Constante de velocidad de metanogénesis de primer orden (día^{-1})
 t = Tiempo (días)

La producción acumulada de CH_4 del sustrato se obtiene después de la corrección por la producción de CH_4 endógena del inóculo. Los valores de los parámetros para $\text{CH}_{4,\text{max}}$ y K_{CH_4} se estimaron por medio de mínimos cuadrados de la producción acumulativa de CH_4 (Doucet y Sloep, 1992).



Drury (1999), mediante su trabajo sobre el modelamiento de sulfato-reducción en reactores anaerobios para tratamiento de desechos mineros, hizo una equivalencia a la ecuación 2-17 para la constante de velocidad de sulfato-reducción, cinética de primer orden:

$$H_2S(t) = H_{2S,max} [1 - \exp(-K_{H_2S} t)] \quad (2-18)$$

donde

$H_2S(t)$ = Producción de H_2S acumulada en el tiempo t (en mL a STP)

$H_{2S,max}$ = Producción máxima de H_2S (en mL a STP)

K_{H_2S} = Constante de velocidad de sulfato-reducción de primer orden (día^{-1})

t = Tiempo (días)

La rapidez de reacción de la metanogénesis y de la sulfato-reducción se representa en función de la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius:

$$K_v = K_0 \exp^{-E_a/RT} \quad (2-19)$$

donde:

E_a = energía de activación de la reacción, kJ/mol

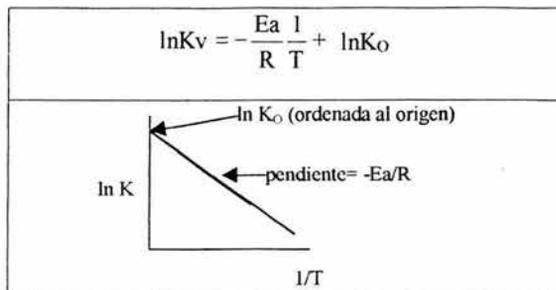
R = constante universal de los gases, kJ/mol K

$K_v = K_{CH_4}$ o K_{H_2S} constante de velocidad de metanogénesis o sulfato-reducción respectivamente (día^{-1})

T = temperatura (K)

K_0 = Factor de frecuencia (día^{-1})

Las ecuaciones se resuelven en forma lineal para cada velocidad de acuerdo con la siguiente forma:



Enfocando el concepto de energía de activación y considerando una reacción simple en la que debe haber un choque entre las partículas reaccionantes antes de que tenga lugar la reacción, a partir de consideraciones cinéticas es relativamente sencillo calcular el número de choques que tienen lugar entre las moléculas en una cantidad dada del sistema y en un intervalo dado de tiempo. El número de choques puede compararse entonces con el rendimiento de los productos. Estas consideraciones llevan a la conclusión de que únicamente una fracción pequeña de estos choques resulta en una interacción. Los conceptos de estado activado y de



energía de activación se han introducido para explicar el número pequeño de choques fructíferos en la mayoría de las reacciones químicas (Vollertsen y col., 1999).

De acuerdo con las teorías actuales, la reacción tiene lugar únicamente cuando los reactivos tienen una cantidad adicional de energía por encima de la que poseen las moléculas promedio del reactivo en el sistema. Esta cantidad adicional de energía es conocida como energía de activación y cuando las moléculas poseen esta energía de activación se dice que están en estado activado. La energía de activación es el factor principal que determina la velocidad de una reacción. Cuando mayor es la energía de activación necesaria, menor es el número de moléculas que la poseen y más lenta es la reacción a una temperatura dada. Por otro lado, cuanto mayor es la temperatura, mayor será el número de moléculas en el estado activado, a igualdad de todos los demás factores, lo que explica que las velocidades de las reacciones aumenten con la temperatura y la rapidez de aumento de la velocidad con la temperatura puede calcularse matemáticamente (Van Hulzen y col., 1999).

La energía de activación es siempre positiva, es decir, debe agregarse energía para producir moléculas activadas. Los productos que resultan de la interacción de moléculas activadas están activados también, por lo que deben perder su energía de activación para pasar a su estado normal. El que la reacción sea exotérmica o endotérmica depende de los valores comparativos de la energía de activación de los productos y de los reactivos como lo ilustra la Figura 2.7 (Crockford y Knight, 1964).

La Tabla 2.24 muestra los resultados de otras investigaciones sobre la energía de activación en sistemas anaerobios y las constantes de rapidez de degradación para obtener CH_4 de algunas investigaciones.

De acuerdo con la Figura 2.7 para que los reactivos puedan reaccionar debe adquirir una energía de activación igual a AB. Después de la reacción los productos pierden su energía de activación, que en la figura corresponde a BC. Aquí, la energía de activación liberada por los productos es mayor que la energía absorbida por los reactivos por lo que el efecto neto será un desprendimiento de calor, que sería el calor de reacción si la reacción tuviese lugar a volumen constante. El calor de reacción a volumen constante está representado por el símbolo ΔE . Cuando es negativo, la reacción es exotérmica. Si la energía de activación de los reactivos es mayor que la de los productos, el calor de reacción es positivo y la reacción es endotérmica.



Tabla 2.24 Energías de activación de sistemas anaerobios (Aspe y col., 1997; Veecken y Hammeler, 1999)

Origen del inóculo	Rapidez a determinar	Intervalo de temperatura °C	Ea kJ/mol	Referencia
Biodegradación de partículas orgánicas	Hidrólisis	20-25	100	Gujer y Zehnder, 1983
Acido butírico → ácido acético	μ (h^{-1})	35-55	89	Lier, 1993
<i>Methanobacterium arborophilus</i>	Actividad metanogénica	20-35	80	Lubberding y Stams, 1995
<i>Methanothrix soehngenii</i>	Actividad metanogénica	25-38	71	Lubberding y Stams, 1995
Reactor anaerobio de lecho fijo	Utilización de sustrato	10-30	71	Henze y Harremöes, 1983
Digestión de lodo (adaptado)	Actividad metanogénica	15-25	65	Lubberding y Stams, 1995
Lodo de desecho	$\mu_{máx}$	20-35	52	Chen y Hashimoto, 1980
Digestión de lodo (no adaptado)	Actividad metanogénica	15-30	50	Lubberding y Stams, 1995
Biodegradación de partículas orgánicas	Hidrólisis	20-30	50	Gujer y Zehnder, 1983
Lodo granular	Actividad acetotrófica	36-46	44	Lier, 1993
Acido acético → CH ₄	μ (<i>Methanothrix</i>) (h^{-1})	35-55	43	Lier, 1993
Acido propiónico → ácido acético	μ (h^{-1})	35-55	41	Lier, 1993
H ₂ /CO ₂ → CH ₄	μ (<i>Methanosacine</i>) (h^{-1})	35-55	40	Lier, 1993
Lodo de desecho	K	20-35	32	Chen y Hashimoto, 1980
Reactor anaerobio de lecho fijo	Carga orgánica	18-37	30	Lema y col., 1992
Sedimentos de lagos (adaptado)	Actividad metanogénica	15-30	28	Lubberding y Stams, 1995
<i>Escherichia coli</i>	$\mu_{máx}$	26-37	16	Pirt, 1975
<i>Klebsiella aerogenes</i>	$\mu_{máx}$	20-40	14	Pirt, 1975
<i>Aspergillus nidulans</i>	$\mu_{máx}$	20-37	14	Pirt, 1975
Sedimento marino	$\mu_{máx}$	18-37	23	Aspe y col., 1997
Sedimento marino	K	18-37	27	Aspe y col., 1997
Sedimento marino	Sulfato-reducción	1-17	65	Westrich y Berner (1988)
Sedimento marino	Sulfato-reducción	13-25	83	Abdollahi y Nedwell (1979)
Sedimento marino	Sulfato-reducción	4-10	93	Jorgensen, 1977
Desecho de hojas	Metanogénesis	20-40	7.2	Veecken y Hammeler, 1999
Corteza de árbol	Metanogénesis	30-40	9.6	Veecken y Hammeler, 1999
Paja	Metanogénesis	20-40	7.3	Veecken y Hammeler, 1999
Cáscaras de naranja	Metanogénesis	20-40	4.9	Veecken y Hammeler, 1999
Pasto	Metanogénesis	20-40	8.4	Veecken y Hammeler, 1999

Tabla 2.24a Constantes de velocidad de metanogénesis (Veecken y Hammeler, 1999)

Material residual	Constantes de velocidad de reacción (metanogénesis), día ⁻¹		
	20°C	30°C	40°C
Industria de alimentos	-	0.195	-
Desecho de hojas	0.068	0.215	0.386
Corteza de árbol	-	0.076	0.240
Paja	0.024	0.087	0.140
Cáscaras de naranja	0.145	0.264	0.474
Pasto	0.035	0.090	0.266
Papel filtro	-	-	-

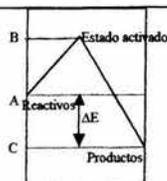


Figura 2.7 Relación entre las energías de activación y el calor de reacción (Crockford y Knight, 1964)



2.12 BALANCE DE MATERIA CON BASE EN LA DQO

Los cálculos para obtener los balances de materia con respecto a la DQO en el influente y en el efluente, con el equivalente de la DQO en los productos de la degradación anaerobia, se presentan en este apartado. Estos productos se calculan con base en la distribución de sus especies en las fases gaseosas, líquida y sólida del efluente por las rutas de degradación anaerobia estudiadas en esta investigación.

Balance general:

$$\begin{aligned} \underline{DQO}_{\text{influyente}} &= \underline{DQO}_{\text{efluente}} \\ &+ \underline{DQO \text{ a células}} \\ &+ \underline{DQO \text{ a } CH_4} (DQO_{\text{gas}}CH_4 + DQO_{\text{liq}}CH_4) \\ &+ \underline{DQO \text{ a } H_2S} (DQO_{\text{gas}}H_2S + DQO_{\text{liq}}H_2S) \end{aligned} \quad (2-20)$$

El balance de DQO considera las especies en el biogás como CH_4 y H_2S y, de la misma forma, los cálculos mediante la ley de Henry para determinar la concentración de estas especies en forma disuelta en el efluente.

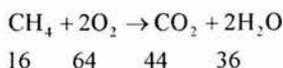
$$DQO \text{ a metano} = (Q_{\text{gas}}CH_4 + Q_{\text{liq}}CH_4)(P.M)(4)(t) \quad (2-21)$$

donde:

- $Q_{\text{gas}}CH_4$ = Metano en gas (mol CH_4 -DQO/día)
- $Q_{\text{liq}}CH_4$ = Metano disuelto en el efluente (mol CH_4 -DQO/día)
- PM = Peso molecular del CH_4 (16 g/mol)
- 4= Factor estequiométrico para la oxidación del metano (explicación más abajo)
- t= Tiempo de operación (1 día)

Análisis dimensional:

$$\left(\frac{\text{mol}CH_4}{\text{día}} \right) \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}} \right) (\text{adimensional})(\text{día}) = \text{gDQO}$$

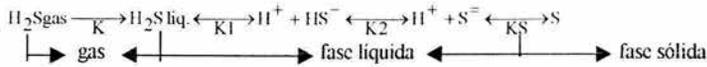


Para calcular el factor estequiométrico: Si 16g de metano necesitan 64g de oxígeno para su transformación en CO_2 :

$$\begin{array}{l} 16 : 64 \\ 1 : 4 \end{array} \quad 4gO_2/gCH_4$$



La reacción de equilibrio para el H₂S en el efluente es la siguiente:



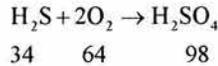
donde:

K = Constante de Henry (molH₂S/atm L)
K₁.K₂.K_S = Constantes de equilibrio buscados en tablas

$$\text{DQO a H}_2\text{S} = (\text{Q}_{\text{gas}}\text{H}_2\text{S} + \text{Q}_{\text{liq}}\text{H}_2\text{S})(\text{P.M})(1.88)(t) \quad (2-22)$$

donde:

Q_{gas} H₂S = H₂S en gas (mol H₂S -DQO/día)
Q_{liq} H₂S = H₂S disuelto en el efluente (mol H₂S -DQO/día)
2.88 = Factor estequiométrico para la oxidación del H₂S
PM = Peso molecular del H₂S (34 g/mol)
t = Tiempo de operación (1 día)



Factor estequiométrico: Si 34g de H₂S necesitan 64g de oxígeno para su transformación en H₂SO₄:

$$\begin{array}{l} 34 : 64 \\ 1 : 1.88 \quad 1.88\text{gO}_2/\text{gH}_2\text{S} \end{array}$$

CH₄ o H₂S gas

$$\text{Q}_{\text{gas}} X = \frac{(\text{Q}_{\text{biogás}})(\text{FX})}{22.41} \quad (2-23)$$

donde:

Q_{biogás} = Flujo volumétrico de biogás producido a STP (temperatura y presión normal) (L/día)
FX = Fracción de CH₄ o H₂S en el biogás
22.4 = Constante ley de los gases ideales (L/mol)
Q_{gas}X = CH₄ o H₂S en gas (mol CH₄ o H₂S - DQO/día)

Análisis dimensional:

$$\frac{\left(\frac{\text{L}}{\text{día}}\right) (\text{adimensional})}{\left(\frac{\text{L}}{\text{mol}}\right)} = \frac{\text{Lmol}}{\text{Ldía}} = \text{mol/día}$$

CH₄ o H₂S disuelto

$$\text{Q}_{\text{liq}} Y = (\text{CY})(\text{Q}_E) \quad (2-24)$$

donde:



CY= Concentración molar de CH₄ o H₂S en el efluente (mol CH₄ o H₂S /L)
 Q_E= Flujo volumétrico del efluente (L/día)
 Q_{in}Y= CH₄ o H₂S en líquido (mol CH₄ o H₂S -DQO/día)

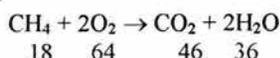
Análisis dimensional:

$$\left(\frac{\text{mol}}{\text{L}} \right) \frac{\text{L}}{\text{día}} = \frac{\text{mol}}{\text{día}}$$

Los moles de CH₄ en el efluente se calculan empleando la ley de Henry (apartado 2.9 y utilizando la ecuación 2-12).

El procedimiento para calcular el porcentaje de DQO convertido por las BM y las BSR está dado por Alphenaar (1994) y es una modificación del concepto de flujo de electrones dado por Isa y col. (1986a, b) mencionado en el apartado 2.3.2:

La DQO de metano está dada por

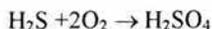


1 mol de metano producido equivale a 64g de DQO.

La DQO utilizada por las BM:

$$\text{DQO}_{\text{BM}} = [\text{moles de metano producido}] [64 \text{ (g DQO)}] = A$$

La DQO de H₂S está dada por:



1 mol de sulfatos reducidos equivale a 1 mol de H₂S producido y esto equivale a 64g de DQO

La DQO utilizada por las BSR:

$$\text{DQO}_{\text{BSR}} = [\text{moles de sulfatos reducidos}] [64 \text{ (gDQO)}] = B$$

El porcentaje de DQO empleado por las BM y las BSR está dado por:

$$\% \text{DQO}_{\text{BM}} = \frac{A}{(A+B)} 100 \qquad \% \text{DQO}_{\text{BSR}} = \frac{B}{(A+B)} 100$$

El cálculo de la rapidez de carga

$$\text{DQO}_{\text{carga}} = [Q_{\text{influyente}}(\text{L/d})] [\text{DQO}_{\text{influyente}} (\text{g/L})] = \text{gDQO/día}$$

Kalyuzhnyi y Fedorovich (1997) trabajaron en un modelo entre la competencia de BSR y BM en un reactor anaerobio. Presentan un resumen de la modelación de la influencia de diferentes factores sobre la competencia entre las BSR y las BM por la DQO (Tabla 2.25). En la presente investigación podrá probarse si la temperatura ejerce algún efecto en esta competencia.



Tabla 2.25 Influencia de diferentes factores sobre la competencia entre las BSR y las BM (Kafyuzlunyi y Fedorovich, 1997)

Factor	DQO _{BSR} /DQO _{BM}
Incremento en la recirculación	Poco incremento
Incremento del TRH	Incremento débil en experimentos de corto tiempo
Incremento de BSR sobre BM en el lodo de inóculo	Incremento importante en experimentos cortos e incremento moderado en experimentos a largo tiempo
Incremento en la calidad del lodo (resistencia a sulfuros)	Incremento importante
Incremento del pH en el influente	Incremento débil

2.13 ACTIVIDAD METANOGÉNICA

Este apartado expone conceptos sobre la medición de las actividades metanogénica y sulfato-reductora que integraron una plataforma para la instrumentación de una técnica químico-biológica innovadora en la presente investigación. La metodología de esta técnica se describe a detalle en el apartado 3.5.

En la Tabla 2.26 se presenta un resumen de una investigación de la literatura sobre esta prueba. Esta prueba es común para cultivos intermitentes donde se fija una concentración de sustrato para un determinado volumen de lodo. La actividad metanogénica o sulfato-reductora se estima por la velocidad de producción de CH₄ o H₂S (según corresponda) o por el consumo de sustrato.

Tabla 2.26 Resumen de condiciones experimentales para la medición de la actividad metanogénica reportadas en la literatura

Volumen (volumen útil) (mL)	Concentración del inóculo (gSSV/L)	Sustrato (g/L)	Materiales y métodos	Referencia
50 (30)	10% volumen	HAc (2.70)	Sustrato, %CH ₄	van den Berg, 1977
125 (100)	10% volumen	HAc, HPr	Medición de producción de biogás	Owen y col., 1979
2000(1000)	(5.0)	HAc variable	Frascos Mariotte	Valcke y Verstraete, 1983
160(125)	10% volumen	(0.05gCOT/L)	Liberador de presión y %CH ₄	Shelton y Tiedje, 1984
130(50)	(0.8 a 8.0)	HAc, HAc+HPr, H ₂ /CO ₂	Jeringa con cambio de atmósferas	Dolfing y Bloemen, 1985
-5000)	(1.5 a 3.0)	HAc+HPr+HBU (0.6+0.6+0.6)	Frascos Mariotte	De Jong, 1986
120(50)	100% volumen	HAc+HPr (1.5+0.5)	Liberador de presión	Bonastre y col., 1987
20(10)	(3 a 4)	HAc, HPr (1.85)	Liberador de presión	Concannon y col., 1988
1160(500)	(0.27 a 5.12)	HAc (0.12-0.6)	Liberador de presión y %CH ₄	Rinzema, 1988
500-1500(>90%)	(1 a 5)	HAc+HPr+HBU(0.6+0.6+0.6)	Frascos Mariotte	Field y col., 1988
2500(1500)	(2.3)	HAc+HPr+HBU(0.6+0.6+0.6)	Medición de producción de biogás	Aguilar y col., 1995
500(450)	(<1)	HAc (3 a 4)	Manómetro	Chiang y Dague, 1989
45(35)	(2.5)	HAc (0.6 a 3)	Respirómetro Warburg	James y col., 1990

HAc= ácido acético, HPr= ácido propiónico, COT= carbónico orgánico total, HBU=ácido butírico



Las mediciones de actividad del lodo se realizan de dos formas, una que da la información acerca de la actividad degradativa y la otra sobre la actividad de cada etapa básica del proceso.

La determinación de la actividad metanogénica es útil en muchas situaciones. En el periodo de arranque de un nuevo digestor sirve para estimar la carga inicial de arranque. Durante las fases siguientes a este período, la determinación regular de la actividad de lodo lleva información acerca del desarrollo del inóculo, usualmente con un alto nivel de materia orgánica hasta la obtención de un lodo que, en su mayoría, está compuesto por biomasa activa. Sin embargo, un cambio en la actividad del lodo puede provocar una inhibición (por ejemplo, toxicidad con amoníaco) o una acumulación de materia orgánica poco degradable o aún no degradable del influente de agua residual.

La actividad del lodo se lleva a cabo en pruebas intermitentes donde una cantidad fija de sustrato sirve como alimento de una cantidad determinada de lodo. La actividad metanogénica o sulfato-reductora específica de lodo se estima a partir de la producción de CH_4 o de H_2S o la caída del sustrato y la cantidad de lodo presente.

El interés y la aplicación de la actividad es variable: 1) La actividad metanogénica permite la selección de un lodo adaptado para utilizarse como inóculo en un reactor anaerobio, 2) Una determinación de actividad individual hace posible la detección de situaciones de equilibrio entre diferentes especies bacterianas y la determinación de actividad de diferentes etapas del proceso. Otra interesante aplicación de esta prueba es determinar el efecto tóxico que una sustancia específica o agua residual tiene sobre un lodo anaerobio.

La Tabla 2.27 muestra algunos resultados de actividad metanogénica encontrados en la literatura. Los resultados son variables debido a las variables involucradas en la prueba como son la temperatura, la concentración de sustrato y tipo de inóculo utilizado. Puede observarse que la actividad microbiana es mayor en pruebas realizadas con el mismo sustrato al que el inóculo utilizado está adaptado y que la actividad microbiana es menor con un sustrato diferente al de adaptación del inóculo. Porejemplo, la actividad metanogénica alcanzada para ácido propiónico es mayor cuando el origen del inóculo fue de un reactor adaptado a ácido propiónico.

Los lodos granulares mesofílicos poseen típicamente altas actividades metanogénicas (entre 0.5 y 2 $\text{gDQOCH}_4/\text{gSSVdía}$) y en granos termofílicos está generalmente arriba de 7.1 gDQO/gSSVdía (Visser y col., 1993a).



Tabla 2.27 Actividad metanogénica de diferentes tipos de inóculo con distintos sustratos y temperatura (Schmidt y Ahring, 1996)

Origen del inóculo	Temperatura °C	Actividad metanogénica de lodos, pruebas con sustrato específicos gDQO-CH ₄ /gSSVdía												
		Ácido acético	H ₂ /CO ₂	Ácido fórmico	Ácido propiónico	Ácido butírico	Ácido valérico	Metanol	Etanol	Propanol	Isopropanol	Butanol	Ácido láctico	Glucosa
Fábrica de almidón	30	0.09	0.46		0.12									
Fábrica procesadora de maíz	30	0.5			0.25			0.65						
Fábrica de azúcar	30	0.5	0.5		0.42	0.12	0.05	1.91						0.56
Cervecería	30	0.5	0.88											
Fábrica de papel	30	0.4												
Fábrica procesadora de papas	36	0.5												
Ácido acético	30	2.0												
Ácido propiónico	30	3.2	1.11	2.0	0.55			0.18						
Ácido propiónico	35	1.4			1.3	1.32		0.21	0.27	1.59	0.28			
Ácido propiónico	37	1.34	13.6		1.05									
Acético/propiónico	30	1.11	0.92		0.37			0.49						
Mezcla de ácidos grasos volátiles	30	0.57	0.39		0.56	0.56								
Mezcla de ácidos grasos volátiles	37	9.4			2.4	14.2								
Mezcla de ácidos grasos volátiles	37	1.8	0.76		0.62	2.1								
Etanol	30	0.74	3.69		0.004			1.38						
Etanol	35	2.6			0.43	0.17		3.39	4.46		4.51			
Etanol/ácido acético	30	0.46	2.40	1.75	0.002						2.40			
Ácido láctico	37	0.80	10.5	0.67								6.25		
Glucosa	37	0.4	12.7	0.67				0.03						5.3
Glucosa/láctico/grasos volátiles	30	1.4			0.8							0.7	8.9	
Mezcla de ácidos grasos volátiles	46	1.09				1.14	0.7							
	55	0.91												
	64	0.77												
Ácido acético	55	0.53	1.62											
Ácido acético/sacarosa	60	0.16	1.55											
Ácido acético	55	1.1-7												
Mezcla de ácidos grasos volátiles	55	1.4	0.51	4.02	0.15	0.85								
Ácidos acético/butírico	55	7.1												

A continuación, se presenta la metodología seguida en esta investigación.



Capítulo 3

3 MATERIAL Y MÉTODOS

La estrategia de trabajo para esta investigación tendiente a alcanzar el objetivo propuesto se explicará a detalle en este capítulo de acuerdo con las condiciones experimentales. Se consideraron cinco etapas experimentales: 1) La adaptación del inóculo de biomasa anaerobia a vinazas en condiciones mesofílicas (35°C), 2) La adaptación de la biomasa anaerobia cultivada en vinazas a 35°C a condiciones mesofílicas intermedias (45°C) y termofílicas (55°C), 3) Realización de pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora de las biomasas adaptadas a vinazas y a tres diferentes temperaturas, 4) Determinación de los parámetros cinéticos K_s , k , k_d , Y_b y $\mu_{m\max}$ y 5) Aplicación de la ecuación de Arrhenius para evaluar el efecto de la temperatura en la producción de gases.

En primer término, las vinazas se caracterizaron químicamente para determinar los parámetros hidráulicos de arranque de los reactores anaerobios de acuerdo a la Tabla 2.14. En forma generalizada, los fundamentos expuestos en el apartado 2.5 proporcionaron una base inicial para la estrategia de arranque de los sistemas anaerobios empleados.

Para la primera etapa, el arranque del RALLFA se hizo alimentando vinazas diluidas hasta alcanzar el 100%, siguiendo físico-químicamente la operación mediante la medición periódica del pH, la relación de alcalinidades, los sólidos en todas sus formas, la DQO soluble, los sulfatos, CH_4 y CO_2 cromatográficamente, H_2S por una técnica química analítica modificada y C, N y S totales (Figura 3.1). Todos los parámetros se determinaron cada tercer día mediante muestras por triplicado durante el tiempo total de experimentación.

Influente		Efluente
DQO, C, S, SO_4^{2-} (líquido)	→	DQO, SO_4^{2-} , C y S (líquido)
	→	Ruta metanogénica (actividad metanogénica)
	→	Ruta sulfato-reductora (actividad sulfato-reductora)
		CH_4 (gas) CO_2 (gas) H_2S (gas)

Figura 3.1 Diagrama del seguimiento analítico fisicoquímico llevado a cabo en los reactores de 1.6 y 10 L

En paralelo, para la segunda etapa, se construyeron tres reactores anaerobios de 1.6 L de volumen útil para las temperaturas de 35, 45 y 55°C. En ellos se adaptó la biomasa del reactor de 10 L a condiciones mesofílicas intermedias y termofílicas, 45 y 55°C en los reactores de 1.6 L. El inóculo adaptado a vinazas proveniente del reactor de 10 L fue distribuido homogéneamente en los tres reactores, aplicando técnicas hidráulicas, químicas, microbiológicas y físicas especiales para la adaptación de las bacterias anaerobias de condiciones mesofílicas a termofílicas, considerando la fundamentación del



capítulo anterior. En esta etapa fue necesario montar una metodología cromatográfica para la medición de gases (CH_4 , H_2S , CO_2) en un cromatógrafo de gases por medio de una columna cromatográfica específica, obteniendo resultados simultáneos de los tres gases a través de una sola inyección; de esta forma, se alcanzaron mediciones más precisas en la experimentación de la siguiente etapa.

En la siguiente etapa fue propuesta una metodología innovadora para la medición de las actividades metanogénica y sulfato-reductora establecida en este trabajo, usando viales de 100 mL. En estas pruebas se determinó la actividad metanogénica y sulfato-reductora de la biomasa adaptada a las tres temperaturas en estudio, estudiando el efecto de otros sustratos, además de las pruebas con vinazas (Visser y col., 1993a; Celis, 2000). En cada temperatura, se obtuvo la ruta de degradación dominante.

La cuarta y quinta etapas consistieron en obtener los coeficientes cinéticos y las constantes de la ecuación de Arrhenius, por lo que se emplearon los datos de los experimentos realizados en los viales a 35, 45 y 55°C.

A continuación se detallan las cinco etapas experimentales.

3.1 ESTRATEGIAS DE ARRANQUE DE LOS SISTEMAS ANAEROBIOS

3.1.1 Adaptación del inóculo mesofílico a vinazas

Se utilizó un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA), de forma cilíndrica, con un volumen de trabajo de 10 L (Figuras 3.2 y 3.3), construido previamente para otra investigación (Casarrubias y Hernández, 1996). El RALLFA es un tubo cilíndrico de acrílico de 10.16 cm de diámetro interno y 128.75 cm de longitud. El reactor tiene una chaqueta envolvente de acrílico de 15.24 cm de diámetro interno y 65 cm de longitud, colocada a 15 cm de la parte inferior y 45 cm por abajo de la parte superior del tubo de acrílico interno, con la finalidad de recircular agua caliente para mantener la temperatura de operación a 35°C. El agua caliente proviene de un baño maría automático con controlador de temperatura marca Grant ($0-150 \pm 0.004^\circ\text{C}$) de 14 litros de volumen.

Para la alimentación del influente al reactor se emplea un motor de 1-100 rpm marca Cole-Parmer y una bomba de tipo peristáltico marca Masterflex con una línea L/STM 13. En la parte superior del RALLFA está colocado un separador gas-líquido construido con un embudo y una mampara de plástico, el primero ubicado aproximadamente a 55° con respecto de la horizontal, separando el efluente del biogás y reteniendo la biomasa que pudiera arrastrarse por las burbujas ascendentes del biogás. El biogás se colecta en un medidor de gas marca Precision Petroleum Instruments para pruebas de humedad alta y mediciones hasta 680 L/h, Modelo Wet Test Meter.



El efluente del reactor anaerobio descarga a un sedimentador secundario de 16 L de volumen, construido de acrílico en forma cilíndrica y de fondo cónico. El sedimentador posee una recirculación de lodos anaerobios recolectados en el sedimentador, al lecho de lodos del RALIFA.

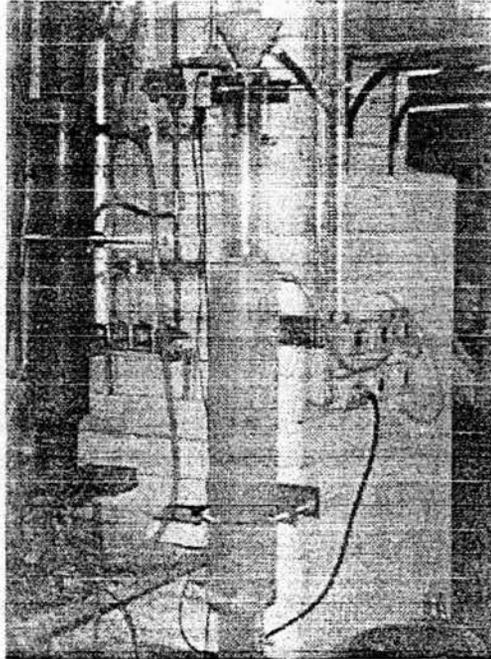


Figura 3.2 Reactor anaerobio empleado para la adaptación de un inóculo anaerobio a vinazas

El volumen de inóculo de los reactores anaerobios debe ser de un 30% del volumen de trabajo de reactor (Hulshoff Pol, 1987). Por tanto, el reactor se inoculó con 4 L, de biomasa de una planta anaerobia que trata aguas residuales provenientes de una industria cervecera que representa el 40% de su volumen total. Las características del inóculo percibidas ocularmente eran las de un lodo flocculento.

El inóculo estaba adaptado para tratar aguas residuales con 2,000 mgDQOt/L en el influente. Las vinazas tienen una concentración de DQOt de 90 a 125,000 mg/L, por lo que para el inicio de la etapa de adaptación, se diluyeron las vinazas a un 10% con agua residual de la planta cervecera. Las vinazas y aguas residuales de la cervecería que fueron utilizadas para la realización de esta fase se mantuvieron en recipientes cerrados de cloruro de polivinilo, almacenados a 4°C.



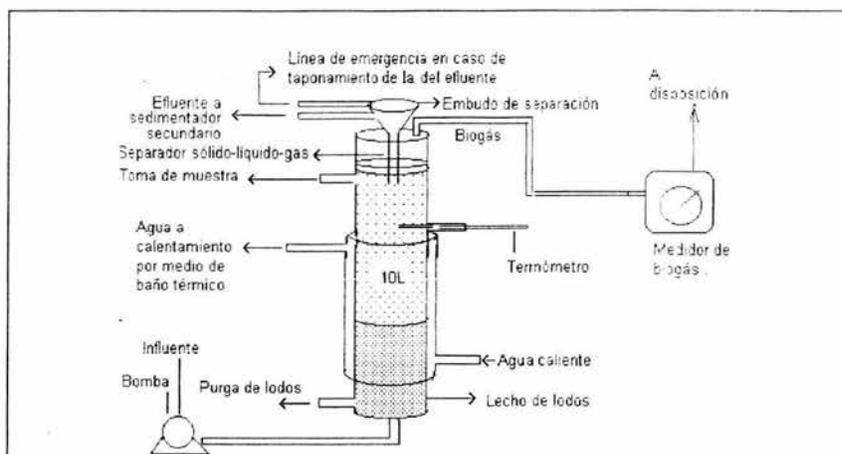


Figura 3.3 Diagrama del reactor anaerobio empleado para la adaptación de un inóculo anaerobio a vinazas

Los cambios de dilución fueron 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90%, hasta llegar a alimentar 100% vinazas. Esto fue una etapa de 600 días aproximadamente (25 días para cada cambio). En este periodo se realizaron cambios necesarios en el diseño del reactor anaerobio a fin de mejorar la operación y se llevó a cabo el seguimiento físico-químico para llegar hasta la estabilización. En este lapso se diseñaron y se construyeron los reactores anaerobios que operarían para la segunda etapa de esta investigación. Asimismo, se montaron las metodologías analíticas para la caracterización y medición del biogás.

En la operación del reactor en esta etapa se observaron pérdidas de biomasa por el efluente, las cuales se recolectaron en el sedimentador y reintegraron al lecho de lodos por medio de una bomba peristáltica. Este procedimiento fue importante en la operación porque mantuvo el volumen del lecho de lodos.

Al efectuar la caracterización de las vinazas debe considerarse que tienen un valor de pH ácido, lo que se controla preparando una mezcla de agentes neutralizantes que se integran a la alimentación. La formulación incluye $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (600 mg/L, equivalentes a 421 mgCa/L) y NaHCO_3 (1,200 mg/L). En lo que respecta al uso de estos compuestos químicos y su efecto, ya fue comentado en el apartado 2.7. La Tabla 3.1 muestra, en resumen, los parámetros de arranque en el RALIFA para esta etapa y que se discuten en el apartado 4.1 de los resultados obtenidos.



Tabla 3.1. Parámetros hidráulicos de arranque del RALLFA para adaptar un inóculo anaerobio proveniente del tratamiento de aguas residuales de una industria cervecera a condiciones mesofílicas y alimentación con vinazas a flujo continuo

	TRH (días)	Flujo (L/día)
10-25% vinazas	3.1	3.23
30-40% vinazas	5.4	1.85
45-50% vinazas	7.2	1.39
55-60% vinazas	9.1	1.10
65-70% vinazas	11.3	0.88
80-100% vinazas	13.4	0.74

3.1.2 Adaptación del inóculo de condiciones mesofílicas a termofílicas

Fueron construidos tres RALLFA de material de acrílico y PVC hidráulico de 1.6 L de volumen útil (Figuras 3.4 y 3.5), siguiendo el mismo principio del reactor de 10 L (Figura 3.3). En la Figura 3.4 puede observarse al fondo, el reactor forrado en su exterior de aluminio, donde se adaptó la biomasa a vinazas y los reactores de 1.6 L pueden verse perpendiculares al reactor de 10 L. En la Figura 3.5 se muestra una vista frontal de los reactores de 1.6 L.

Una primera fase para esta segunda etapa constó de cuatro pasos. El primer paso fue inocular la biomasa adaptada a vinazas a condiciones mesofílicas en el reactor 1 (reactor de 10 L) a los tres reactores de 1.6 L de volumen. Cada reactor se inocula con un 50% de su volumen con esta biomasa (800 mL). A los reactores que operan a 45 y 55°C se les adicionan 400 mL del medio de cultivo propuesto por Bryant y col. (1971) para compensar la tolerancia de las bacterias metanogénicas al cambio de condiciones mesofílicas a termofílicas y 400 mL de vinazas preparadas con la fórmula amortiguadora (Tabla 2.17). En el reactor de 35°C, sólo se mezcla la biomasa con 800 mL de vinazas preparadas. Una vez integrada esta mezcla en cada reactor, éstos permanecen sin alimentación a las temperaturas de 35, 45 y 55°C respectivamente, por un periodo de 14 días y, a partir de esto, se inicia el segundo paso de la estrategia. Puede considerarse que el aumento de temperatura fue súbito, en la forma mencionada en el apartado 2.6 (Krugel y col., 1998).

El segundo paso consistió en alimentar los reactores por lotes. En el tercer paso se alimentan los reactores en forma semicontinua y en el cuarto paso se alimentan en forma continua, como lo indica la Tabla 3.2, en el transcurso de 30 días. Esta metodología de adaptación del inóculo mesofílico a condiciones termofílicas fue ya señalada en el apartado 2.6 (Áspe y col., 1997).

Se considera que se termina el segundo paso cuando se alcanza en el biogás generado una concentración de CH₄ de 30% en volumen. Entonces, la operación intermitente se reemplaza por el modo de operación semicontinua, "lavando" el lodo para eliminar las



bacterias lisadas que pueden observarse y medirse como sólidos suspendidos en el efluente.

Tabla 3.2 Parámetros hidráulicos de arranque de los *RALEFA* a 45 y 55°C (condiciones mesofílicas intermedias y termofílicas)

Flujo	Día	Volumen alimentado	Observaciones
Intermitente	1-10	50 mL en 15 min	Estos volúmenes se fueron ajustando de acuerdo con las determinaciones de alcalinidad en el efluente. Por ejemplo, si el volumen alimentado en un tiempo dado provocaba la acidificación del sistema, se reducía nuevamente el flujo de alimentación
	10-15	50 mL en 30 min	
	15-20	50 mL en 45 min	
	20-25	50 mL en 60 min	
	25-30	50 mL en 90 min	
	35-39	50 mL en 120 min	
Semicontinuo	40-105	80 mL en 12 horas	
Continuo	106-240	90 mL en 24 horas	

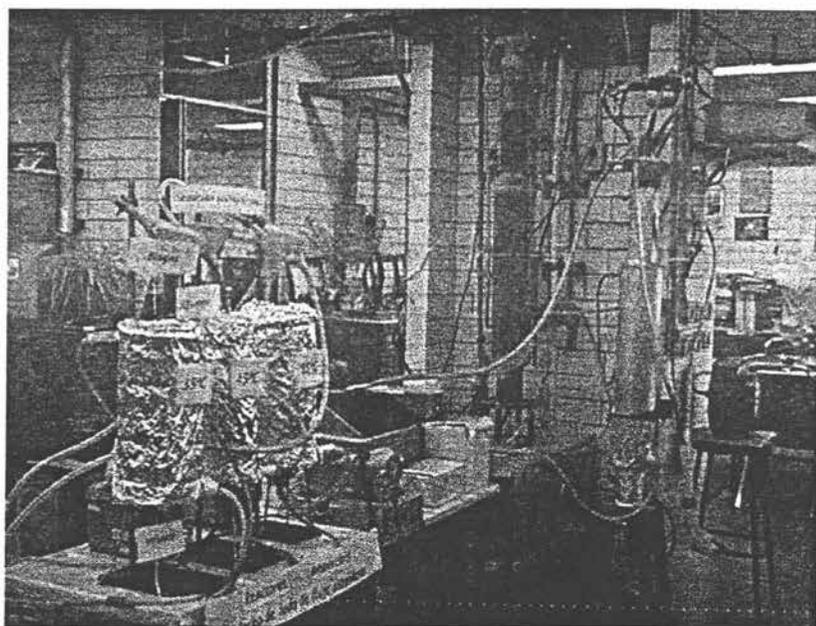


Figura 3.4 Fotografía de los reactores anaerobios empleados para la adaptación del inóculo a vinazas (reactor de 10 L) y para la adaptación a 45 y 55°C (reactores de 1.6 L)

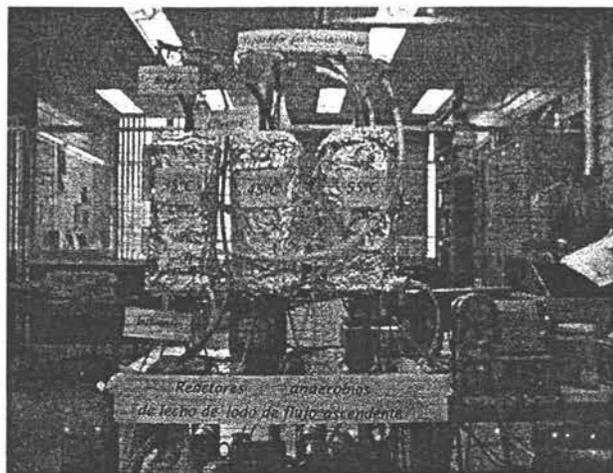


Figura 3.5 Fotografía de los reactores anaerobios empleados para la adaptación del inóculo de condiciones mesofílicas a termofílicas

3.2 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE LA FASE GASEOSA

3.2.1 Montaje de un método analítico para la cuantificación de H_2S en la fase gaseosa

El método se basa en una determinación yodométrica. El procedimiento consiste en coleccionar en una ampollita de vidrio de dos vías con septo la muestra de gas inyectando HCl y yodo en exceso. El líquido obtenido se traslada a un matraz y se valora el exceso de yodo con tiosulfato de sodio empleando almidón como indicador. El volumen de la ampollita (determinado con precisión: Llenado de agua destilada a una temperatura conocida, pesando así la ampollita llena y vacía y, finalmente, con base en la diferencia de pesos y la densidad del agua, se calcula el volumen de la ampollita) y las condiciones de temperatura y presión de la muestra permiten conocer la cantidad de moles presentes en la muestra y, a partir de ello, la fracción mol de H_2S en el gas.

Este método se empleó para determinar la presencia de H_2S al inicio de los experimentos durante la operación del reactor de 10 L para la adaptación del inóculo anaerobio mesofílico a las vinazas. Para determinar la presencia de H_2S en el gas, el método yodométrico es una variante del método empleado en la determinación de sulfuros en el efluente líquido. Esta técnica está publicada en el libro de la APHA (1985), pero fue modificada por Rodríguez-Rivera (1993). En esta investigación, la técnica modificada se empleó en un principio, pero una vez que se estableció el método cromatográfico para medir H_2S en las muestras gaseosas se dejó de usar. Se tomaron muestras en 15 ocasiones

y se analizaron con los dos métodos. La variación encontrada fue menor de $\pm 0.9\%$. Debe mencionarse, sin embargo, que si las concentraciones de H_2S en el biogás son menores a 1%, los datos obtenidos por el método yodométrico modificado por Rodríguez-Rivera (1993) muestran una diferencia significativa.

3.2.2 Método de almacenamiento de biogás para la medición de gases CH_4 , CO_2 y N_2

Los gases se colectan directamente del reactor para la medición de CH_4 , CO_2 , y N_2 con una jeringa de cierre de atmósferas. Si se requiere almacenar la muestra, debe emplearse el siguiente método:

1. Preparar un tubo con un septo de dos vías previamente lavado con HCl diluido
2. Preparar una solución de NaCl saturada
3. Preparar una solución de HCl 1:1
4. Mezclar la solución 1 con la 2 en una proporción 1:10
5. Adicionar una gota de indicador rojo de metilo
6. Mezclar perfectamente y llenar tubos con septos de dos vías sin permitir que permanezcan burbujas en el interior
7. Introducir el biogás colectado con la jeringa con botón de cambio de atmósferas al tubo en una de las dos vías del septo, permitiendo que escape el líquido de preparación hacia el exterior por la otra vía
8. Introducir un volumen de un 50% de biogás con respecto al tubo y aguardar al equilibrio de la presión interna del tubo con respecto a la del ambiente
9. Almacenar el tubo verticalmente, lo que permite que la preparación líquida permanezca en la parte inferior del tubo. Esto funciona como un sello para no permitir el escape de los gases en un promedio de 30 días. Este tiempo se determinó por medio de análisis cromatográficos del H_2S cada 5 días para verificar la concentración de los gases presentes en el tubo

3.2.3 Métodos de almacenamiento de biogás para la medición de H_2S

El siguiente método es original, práctico y seguro y se ideó para esta investigación siendo corroborado en investigaciones subsecuentes:

1. Preparar un tubo con un septo de dos vías. Para una de las vías es necesario un grueso calibre sin que provoque al septo una fuga posterior
2. Llenar el tubo con mercurio líquido en su totalidad sin permitir que permanezca una sola burbuja en el interior del tubo
3. Introducir el biogás colectado con la jeringa con botón de cambio de atmósferas al tubo en una de las dos vías del septo, permitiendo que escape el mercurio líquido hacia el exterior por la otra vía del septo, la de grueso calibre
4. Introducir un volumen de un 50% de biogás con respecto al tubo y esperar al equilibrio de la presión interna del tubo con respecto a la del ambiente



5. Guardar el tubo verticalmente, permitiendo que el mercurio líquido permanezca en la parte inferior del tubo. Esto funciona como un sello para no permitir el escape de los gases en un promedio de 10 días. Este tiempo se determinó por medio de análisis cromatográfico del H₂S cada día para verificar la concentración de los gases presentes en el tubo

Las diferencias en las técnicas de almacenamiento y muestreo de estos gases varían dependiendo de las características de polaridad química y solubilidad (Tabla 2.21).

3.2.4 Montaje de métodos cromatográficos para la medición de gases CH₄, CO₂, H₂S, N₂ y NH₃

Las mediciones de los gases CH₄, CO₂, H₂S, NH₃ y N₂ se realizan en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Autosystem GC. Para establecer el método cromatográfico se consideran las siguientes medidas:

1. Selección de una columna apropiada para realizar la separación de la mezcla de gases (columna Gas-Pro 0.32mm DI x 30m)
2. Selección del detector (detector de conductividad térmica, DCT, y de ionización de flama, DIF)
DCT a 150°C para CH₄, CO₂, H₂S y N₂
DIF a 150°C para CH₄
DCT= Detector de conductividad térmica (Thermal conductivity detector, TCD, por sus siglas en inglés)
DIF= Detector de ionización de flama (Flame ionization detector, FID por sus siglas en inglés)
3. Selección de gas acarreador, fase móvil (helio, 7.8 mL/min)
Presión del gas acarreador: 68.94 kPa para DIF y 86.17 kPa para DCT
Inyector, 150°C
4. Selección del flujo del gas portador, medido por un flujómetro de burbuja de jabón
5. Selección de la temperatura de operación en el horno del cromatógrafo hasta obtener una buena separación de los compuestos de la mezcla
Horno 30°C por 3 minutos, 45°C/min hasta 100°C
6. Selección del volumen a inyectar
Volumen a inyectar, 10 µL para el DIF, con el separador abierto a 1:5.2 y 25 µL para DCT con el separador cerrado
7. Selección de la presentación de los cromatogramas en el paquete de cómputo. Esto depende de la energía medida en minivolts, tiempo de cada corrida, tiempo de retención de cada compuesto y rampas de temperatura (escala 200 minivolts para DCT y 100 minivolts para DIF).

El cromatograma original de la columna cromatográfica empleada en este trabajo fue proporcionada por el proveedor y se muestra en la Figura 3.6. La columna puede determinar cromatográficamente 17 compuestos químicos y puede aportar a futuras investigaciones la determinación de otros compuestos químicos de interés.



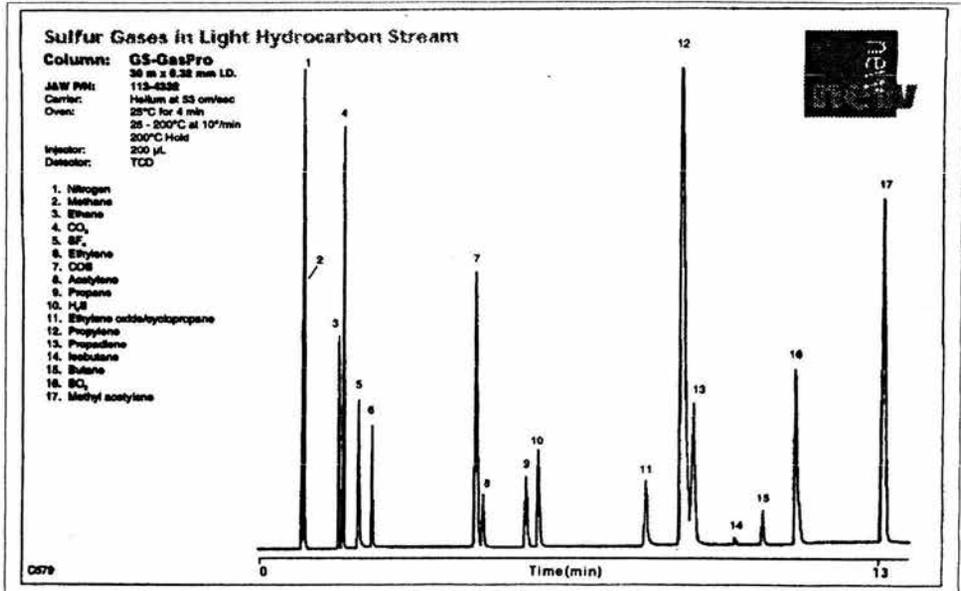


Figura 3.6 Cromatograma de la columna Gas-Pro proporcionada por el proveedor

En la elaboración de la curva de calibración de cada gas se efectúan los métodos de recolección y almacenamiento mencionados en el apartado 3.2.2 y 3.2.3, usando una muestra de gas puro con una jeringa con válvula de cierre de atmósferas. Al inicio de cada sesión se llevan a cabo inyecciones de mezclas de gases puros a concentraciones conocidas con objeto de validar las mediciones. Se emplean gases estándar de 99.998% de pureza (Scotty II, Alltech) y adaptadores para la toma de muestras con las jeringas. Los resultados de las curvas de calibración (por triplicado) se muestran en las Figuras 3.7 a la 3.12.

Puesto que, bajo ciertas condiciones, el tiempo de retención de una sustancia en una columna dada es determinante, los datos de retención pueden emplearse con propósitos de identificación. El método de análisis cuantitativo por cromatografía de gases se fundamenta en la medición precisa de las áreas bajo los picos cromatográficos correspondientes a cada componente. La Figura 3.13 muestra una corrida con los tiempos de retención para N₂, CH₄, CO₂ y H₂S con el detector de conductividad térmica y la Figura 3.14 muestra el tiempo de retención para CH₄ empleando el detector de ionización de flama, indicando por medio de las dos figuras, las características y parámetros empleados en el método de cómputo del programa Nelson (Perkin Elmer, 1994). Este método computacional debe crearse de acuerdo con la información del proveedor de la columna ajustándola a las condiciones reales de operación. Las Figuras 3.13 y 3.14 representan un ejemplo de los cromatogramas obtenidos para este estudio una vez establecido el método



cromatográfico. Los tiempos de retención empleados para el método cromatográfico son los siguientes:

Gas	Minutos
N ₂	1.33
CH ₄	1.45 (DCT) y 1.88 (DIF)
CO ₂	2.32
H ₂ S	5.07

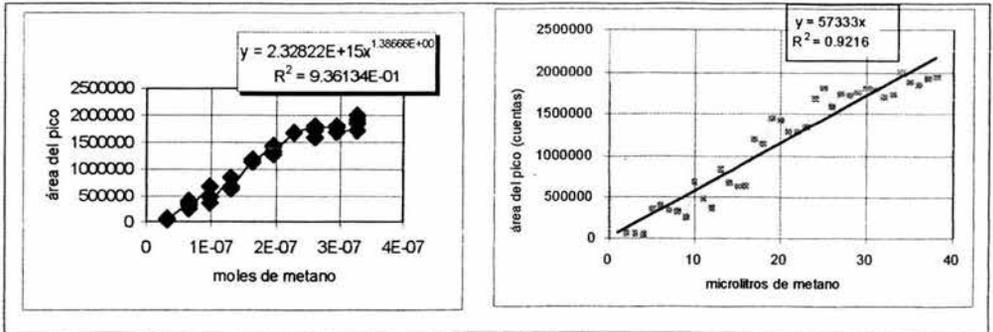


Figura 3.7 Curva de calibración para CH₄ empleando el DIF (separador 1:5:2)

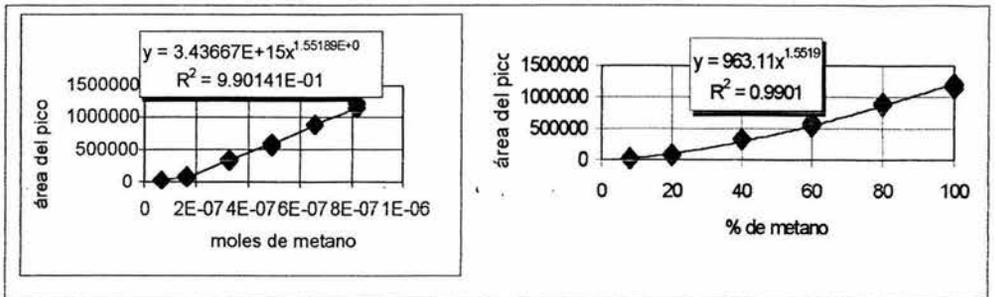


Figura 3.8 Curva de calibración del CH₄ empleando el detector de conductividad térmica (DCT)

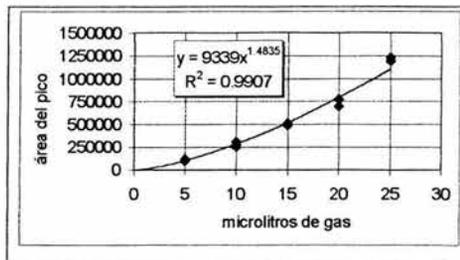


Figura 3.9 Curva de calibración de CH₄ + N₂ empleando en detector de conductividad térmica (DCT)



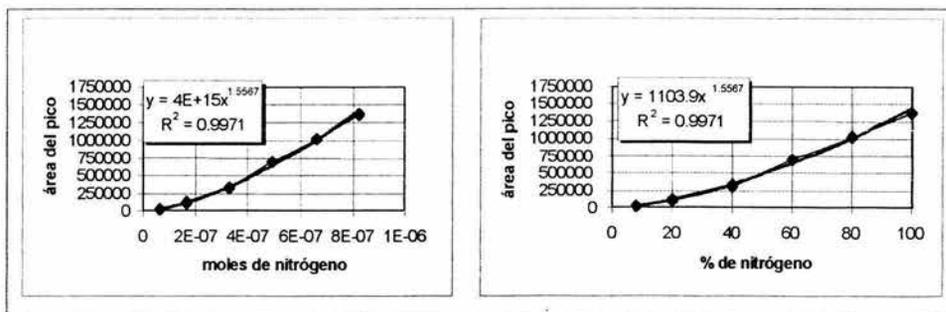


Figura 3.10 Curva de calibración del N_2 empleando el detector de conductividad térmica (DCT)

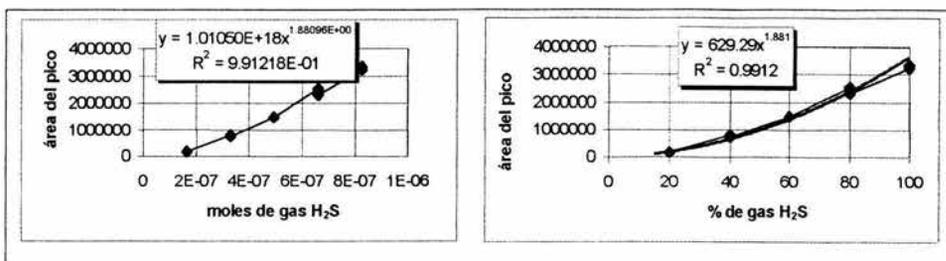


Figura 3.11 Curva de calibración del H_2S empleando el detector de conductividad térmica (DCT)

En la Figura 3.13 puede observarse que el N_2 y el CH_4 se identifican aproximadamente en el mismo tiempo de retención. Al establecer el método cromatográfico se intentó apartarlos por medio de técnicas de operación preestablecidas y que son ampliamente conocidas en el campo de la cromatografía, como son: Disminución del flujo de gas acarreador (no menor de 0.5 mL/min), uso de la temperatura mínima alcanzada por el cromatógrafo (30°C) y la ampliación de la gráfica ("chart"). Como el cromatógrafo no posee un sistema enfriador para disminuir la temperatura del horno y lograr una mejor separación de los dos gases, se empleó el DIF para cuantificar el CH_4 y, por medio del DCT, cuantificar el N_2 eliminando el resultado de la respuesta del CH_4 en el DCT, equivalente de la respuesta del CH_4 por el DIF. La Figura 3.14 muestra el cromatograma que corresponde al análisis de CH_4 con el DIF.



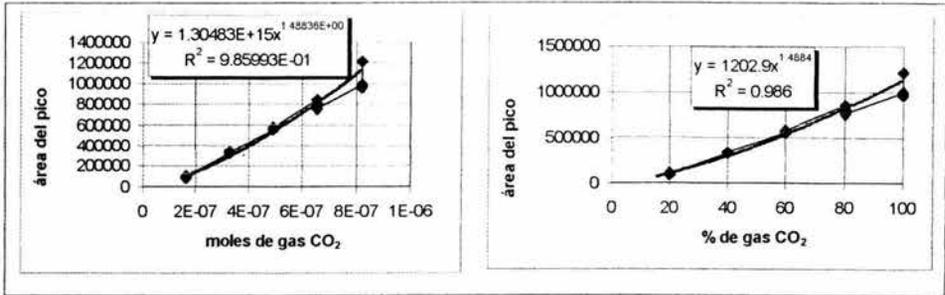


Figura 3.12 Curva de calibración del CO₂ empleando el detector de conductividad térmica (DCT)

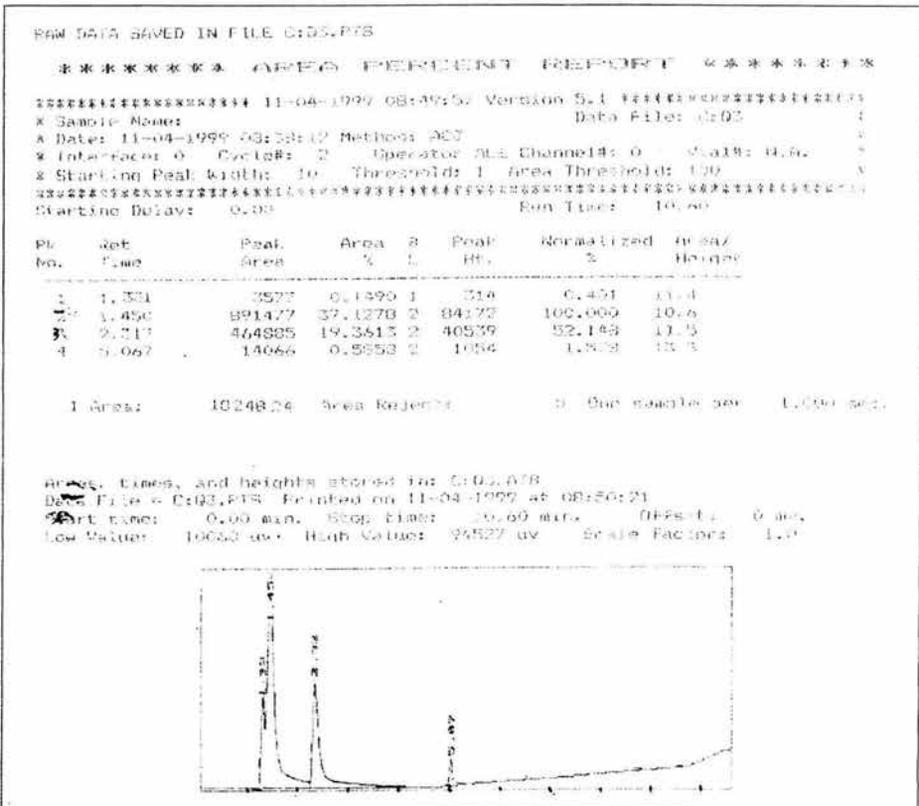


Figura 3.13 Ejemplo de una hoja de resultados de un cromatograma de una muestra problema para CH₄, CO₂ y H₂S empleado para este estudio



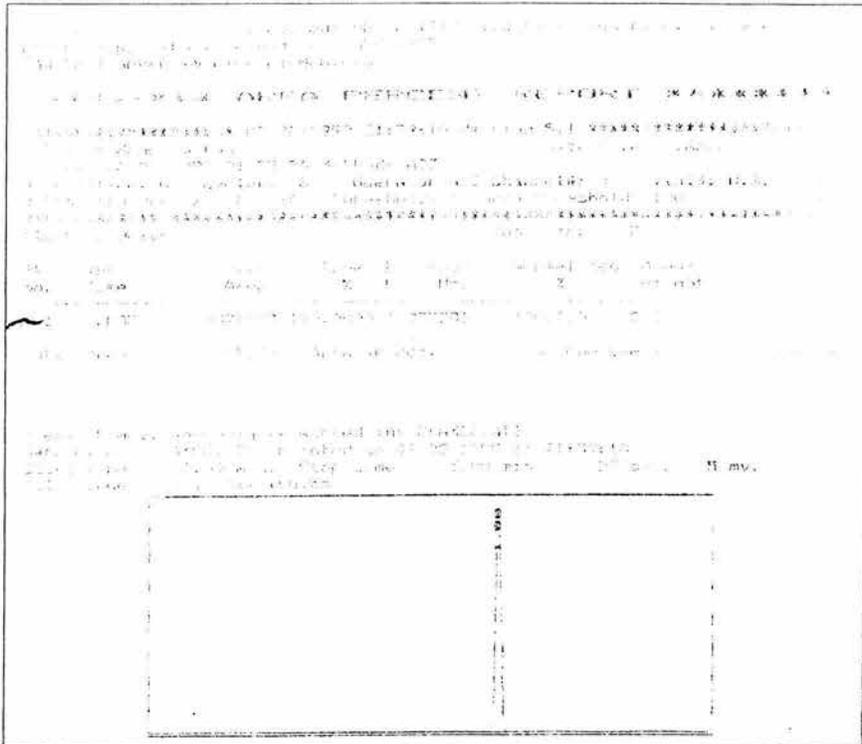


Figura 3.14 Ejemplo de una hoja de resultados de un cromatograma de una muestra problema para CH_4 con el DIF empleado para este estudio

3.3 MÉTODOS DE MEDICIÓN ANALÍTICA DE LA FASE LÍQUIDA

3.3.1 Alcalinidad como parámetro de control en la operación de reactores anaerobios para determinar acidificación

La medición de la alcalinidad permite detectar una posible desestabilización en el reactor. El método propone la utilización de la relación de volúmenes de ácido gastados en la titulación de la alcalinidad de la muestra a valores de pH de 5.75 y 4.3. La ventaja del método es que ambas determinaciones se efectúan sobre la misma muestra y son independientes del volumen de muestra empleado. El análisis se realiza a “pie de planta” porque cualquier cambio en la temperatura del sistema modifica rápidamente la composición de la muestra. El fundamento de este método ya fue descrito en el apartado 2.7.1. En la literatura sobre este método se emplea H_2SO_4 0.1N. En el caso de la presente



investigación, la concentración se aumentó a 0.5N debido a que aumenta la concentración de mgCaCO_3/L . Esto se explica con el hecho de que parte del CO_2 (gas) proveniente de la descomposición de la materia orgánica se transforma en HCO_3^- soluble y conforme aumenta la concentración de materia orgánica en el influente a degradar, el volumen de CO_2 en el gas es mayor; por consiguiente, la concentración de mgCaCO_3/L aumenta y la cantidad necesaria para titular esta concentración también aumenta.

3.3.2 Determinación de materia orgánica medida como demanda química de oxígeno

Para determinar la DQO se empleó un micro-método colorimétrico (Oaxaca-Grande, 1997). La evaluación se realiza solamente para la DQO soluble, separando el material suspendido por centrifugación a 5,000 rpm y empleando solamente el sobrenadante.

3.3.3 Determinación de N, C y S

El N, C y S totales se determinan mediante un analizador elemental Carlo Erba, modelo EA 1110. Las pruebas se basan en la medición de los gases obtenidos a partir de la calcinación de la muestra a 1000°C . Los gases generados pasan a través de una columna que los separa, para después cuantificarse, de acuerdo con el procedimiento establecido por Cruz e Iriarte (1998). Una correlación para vinazas de DQO-carbono total se hizo en la presente investigación conformando más de 100 datos. La Figura 3.15 muestra la correlación. La ecuación de esta correlación es la siguiente:

$$\text{gDQO/L} = (14.611) (\% \text{C en las vinazas}) + 1.8631 \quad (3-1)$$

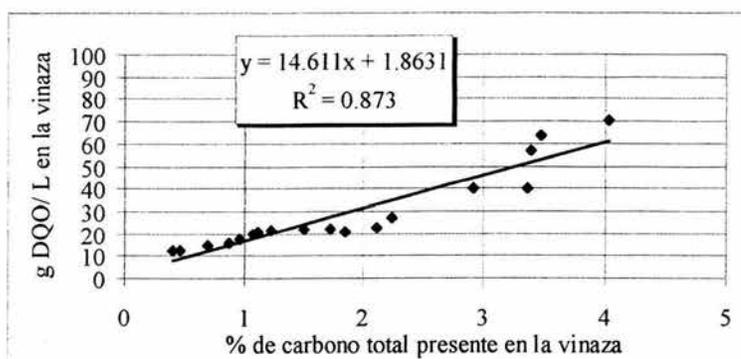


Figura 3.15 Correlación de mgDQO/L versus %de carbono total para vinazas



3.3.4 Otros parámetros

Otros parámetros como pH, temperatura, sólidos en todas sus formas (sólidos totales, fijos y volátiles, tanto suspendidos como disueltos) evaluados por el método gravimétrico y los iones sulfatos (método gravimétrico con ignición del residuo) se obtienen empleando los métodos normalizados para el análisis de aguas potable y residuales (APHA, 1985).

3.4 PRUEBAS DE ACTIVIDAD METANOGENICA Y SULFATO-REDUCTORA ESPECIFICAS

La razón de realizar las pruebas fue la de determinar las respuestas de actividades metanogénica y sulfato-reductora en biomasa ya adaptada a vinazas a las temperaturas de 35, 45 y 55°C, con los mismos sustratos empleados por Omil y col. (1997) y Visser y col. (1993a) (ácidos acético, propiónico y butírico), además de la vinaza y discutir los resultados. Asimismo, se pueden obtener resultados de las actividades metanogénica y sulfato-reductora con vinazas que no se encontraron en la literatura consultada.

Las pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora se realizan en dos etapas: Teórica y práctica, siguiendo las metodologías de la literatura (apartado 2.13). En la presente investigación se modificó esa metodología creando una nueva que está siendo utilizada en otras investigaciones. En esta etapa, el tiempo empleado fue de aproximadamente 3 meses.

La prueba para la actividad metanogénica se ajusta a 0.17 gSSV (5.67 gSSV/L) del inóculo a emplear y 0.0479 gC (1.60 gC/L) como sustrato para cada vial de prueba o 0.30 gC/gSSV. La prueba de actividad sulfato-reductora incorpora una concentración determinada de sulfatos en una relación de 3:1 para DQO/SO₄²⁻. Las pruebas para los cuatro sustratos y las tres temperaturas se realizan por triplicado. Los sustratos a probar fueron los ácidos acético, propiónico, butírico y vinazas, dando un total de 72 viales con las tres temperaturas (35, 45 y 55°C).

Los inhibidores metanogénicos y sulfurogénicos específicos fueron el ácido 2-bromoetanosulfónico (BES) y el molibdato de sodio (MS), en concentraciones de 75 mM de BES y 2 mM de MS para inhibir la metanogénesis y la sulfato-reducción, respectivamente (Flaherty y col., 1998a; Celis, 2000; Razo-Flores, 1997; Snell, 2000).

Los parámetros determinados en cada vial y en el biogás fueron: CH₄, CO₂, N₂ y H₂S y en los líquidos inicial y final y en la biomasa: C, N y S totales, DQO soluble y los iones sulfatos.

Procedimiento

La metodología aplicada en esta investigación es la siguiente:



- a. Concentración de sustrato inicial. Una condición necesaria es que el sustrato debe tener un valor mayor que los valores estimados para K_s (constante de saturación de Monod). Se emplea una mezcla de ácidos grasos volátiles (AGV), cuyos valores están entre 0.05 y 0.2 g/L (Soto y col., 1993). Estos mismos autores proponen valores de 2, 0.5 y 0.5 g/L para los ácidos acético, propiónico y butírico, respectivamente. En esta investigación se ajusta una concentración constante de carbono (1.6gC/L) que representa 4, 3.3 y 2.35 g/L de ácido acético, propiónico y butírico respectivamente.
- b. Concentración de la biomasa.-La concentración mínima que permite el comportamiento cinético para representarse por medio de un modelo de orden cero se deriva de las siguientes restricciones matemáticas:

$$\frac{X_o}{Y_{xs}} \gg (S_o - S) \quad \text{y} \quad S \gg K_s \quad S \rightarrow \text{cero}$$

De ambas condiciones, la cantidad de inóculo puede calcularse como:

$$X_o = S_o Y_{xs} \quad (3-2)$$

donde:

- S_o = Concentración inicial de sustrato (gDQO/L)
 Y_{xs} = Coeficiente de rendimiento microorganismos-sustrato (gSSV/gDQO)
 X_o = Concentración de inóculo (gSSV/L)

La ecuación 3-2 implica la condición de $S_o \gg (S_o - S)$ para el período de medición. Por ejemplo, Y_{xs} para un cultivo enriquecido de *Methanosarcina sp.*, es 0.04 gSSV/gDQO (2 a 3.4 gSSV/mol de ácido acético) y para *Desulfobacter posgatei* es 0.07 gSSV/gDQO (4.3 a 4.8 gSSV/mol de ácido acético) (Harper y Pohland, 1986; Soto y col., 1993). Debe considerarse que sólo una fracción de los microorganismos inoculados son capaces de producir CH_4 . La actividad máxima metanogénica para cultivos puros es 10 gDQO/gSSV día (Soto y col., 1993). La actividad observada en reactores industriales y de laboratorio es de 0.1 a 1 gDQO/gSSV. Si la relación entre la actividad real y la actividad máxima de un cultivo puro representa aproximadamente la fracción de bacterias metanogénicas y sulfato-reductoras acetoclásticas en el lodo, esta fracción estará en el intervalo de 1 a 10%. Por ejemplo, 2 g/L de ácido acético como sustrato equivalen a 2.11 gDQO/L y sustituyendo en la ecuación 3-2, tomando el valor de Y_{xs} de 0.04 de la literatura (Soto y col., 1993), se obtiene $X_o = 0.08$.

La cantidad mínima de inóculo (gSSV/L) como función de la actividad metanogénica y sulfato-reductora acetoclástica es de 1%, la fracción de bacterias BSR acetoclásticas para esta investigación fue entonces de 0.30gC/gSSV tomándose $X_o = 5.67$ gSSV/L.

$$\begin{aligned} X_o &= 0.08/0.01 = 8 \text{ gSSV/L} && \text{para una actividad de } 0.1 = 1\% \\ X_o &= 0.08/0.1 = 0.8 \text{ gSSV/L} && \text{para una actividad de } 1 = 10\% \end{aligned}$$



c. Periodo de medición. Los valores de producción de CH₄ se toman después de la fase de demora ("lag").

d. Cálculos y expresión de la actividad.- La actividad se expresa como gDQO-CH₄/gSSVdía para la actividad metanogénica y gDQO-H₂S/gSSVdía para la sulfato-reductora y se calcula a partir de la velocidad de producción de CH₄ o de H₂S, según corresponda (dV_{CH₄}/dt) o de la degradación de sustrato (dS/dt). Entonces el cálculo de la actividad se hace por uno de los siguientes métodos:

d.1. Del consumo de sustrato:

$$(A_{Cm})_S = -(dS/dt)/X_o \quad \text{gDQO/gSSVdía} \quad (3-3)$$

donde S se expresa como concentración de DQO

d.2 De la producción de CH₄ o de H₂S:

$$(A_{Cm})_{CH_4} = (dV_{CH_4}/dt)/(X_o V_r f_l) \quad \text{gDQO}_{CH_4}/\text{gSSVdía} \quad (3-4)$$

donde V_{CH₄} es la producción de metano acumulada, V_r es el volumen útil del reactor y f_l es el factor de conversión, el cual representa el valor de la DQO de la velocidad de producción de metano. Este factor depende de la temperatura y humedad del gas. Tiene el valor de (1/376) gDQO/mLCH₄ para metano seco a 20°C (mediciones cromatográficas) y (1/385) gDQO/mLCH₄ para metano húmedo (mediciones en frascos mariotte).

Ambos valores de actividad se relacionan por medio de la productividad Y_{PS} y Y_{XS}:

$$(A_{Cm})_{CH_4} = (A_{Cm})_S Y_{PS} = (A_{Cm})_S (1 - Y_{XS}) \quad (3-5)$$

La producción de CH₄ se calcula por:

$$V_{CH_4} = V X_{N_2} X_{NCH_4} (1 - X_{NCH_4} - X_{NCO_2})^{-1} \quad (3-6)$$

donde X_n= Fracción molar

V= Volumen de la fase gaseosa (volumen del frasco)

La actividad sulfato-reductora es la velocidad de producción de H₂S de un lodo a condiciones óptimas (gDQO-H₂S/gSSVdía). Para estas determinaciones se realizan las pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora específicas con base en las técnicas recomendadas por Soto y col. (1993) y Balch y col. (1979).

En general, la técnica requiere un mínimo de inversión de tiempo con resultados y rendimientos consistentes. Los viales eliminan el requerimiento de un continuo flujo de mezcla de gases y la subsecuente pérdida de sulfhídrico del medio, lo cual puede producir respuestas no uniformes para ciertos organismos (Figura 3.16)

El medio a emplear para esta actividad se presenta en la Tabla 3.3.



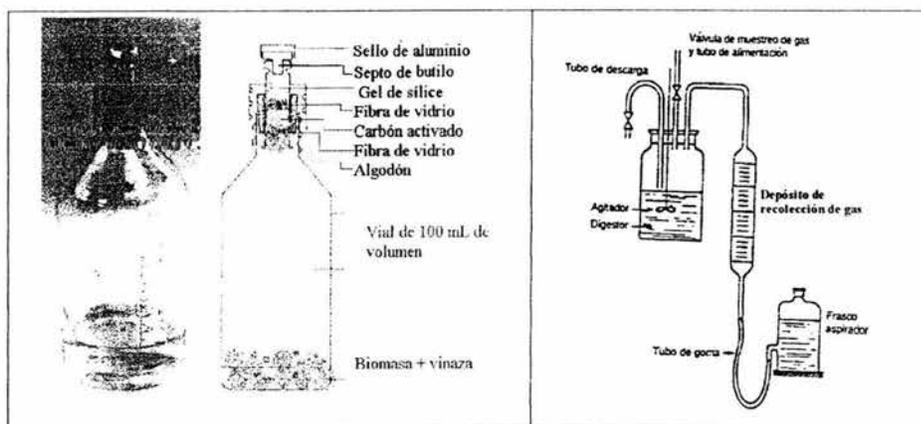


Figura 3.16 Diagrama del arreglo técnico de los viales para medición de las actividades metanogénica y sulfato-reductora y arreglo para medir el biogás generado

El procedimiento general en los viales, para las dos pruebas (actividad metanogénica y sulfato-reductora) fue:

- Burbujeo de N_2 del medio para concentrar
- Esterilización del medio y viales (lavados previamente con HCl al 1%)
- Introducción a los viales de una cantidad calculada de dilución (medio)
- Adición de una solución reductora, Na_2S
- Adición del lodo anaerobio
- Ajuste de pH entre valores de 7.0 y 7.1
- Cierre de los viales
- Cambio de atmósfera de los viales a helio para asegurar condiciones anaerobias
- Introducción de los viales en un baño térmico o estufa a temperatura controlada de 35, 45 y 55°C durante 30 minutos para obtener un equilibrio térmico
- Medición de gases de cada vial para el tiempo cero
- Adición de los sustratos en los viales y homogenización vigorosa

Los sólidos de la biomasa anaerobia se determinan al inicio y al final de los experimentos. En la Tabla 3.4 se presentan los datos tomados para la biomasa empleada como inóculo de los viales proveniente de los reactores de 1.6 L.

Tabla 3.3 Medio de cultivo para la actividad metanogénica y sulfato-reductora modificada de Soto y col. (1993), Balch y col. (1979) y Flaherty y col. (1998)

Medio general para la actividad metanogénica específica Solución mineral 1 50mL/L Solución mineral 2 50mL/L Solución de oligoelementos 10 mL/L Solución de vitaminas 10 mL/L Resarzurina (0.1%) 1 mL/L Extracto de levadura 1 g/L Peptona de caseína 1 g/L Bicarbonato de sodio 3 g/L Solución FeSO ₄ ·7H ₂ O (2%) 1 mL/L Solución de NiCl ₂ (5mg/100mL) 10 mL/L Cisteína 0.5g/L Molidbato de sodio 20mM	Medio general para la actividad sulfato-reductora específica Solución mineral 1 100mL/L Solución mineral 2 100mL/L Resarzurina 1mL/L Extracto de levadura 1g/L FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.5mL/L Solución de ácido láctico neutralizado 8.5mL/L Cisteína 0.25g/L Ácido 2- bromoetanosulfónico a una concentración final de 75mM
Solución mineral 1 K ₂ HPO ₄ 6g/L	
Solución mineral 2 KH ₂ PO ₄ 6g/L NH ₄ Cl 2.4g/L NaCl 12g/L MgCl ₂ ·6H ₂ O 2.1g/L CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.16g/L	Solución mineral 2 KH ₂ PO ₄ 6g/L (NH ₄) ₂ SO ₄ 6g/L NaCl 12g/L MgSO ₄ ·7H ₂ O 2.6g/L CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.16g/L
Solución de vitaminas Biotina 2mg/L Ácido fólico 2mg/L Piridoxina HCl 10mg/L Riboflavina 5mg/L Ácido nicotínico 5mg/L Pantetonato de calcio 5mg/L Vitamina B12 0.1mg/L Ácido p-aminobenzoico 5mg/L Ácido lipóico 5mg/L	Solución de oligoelementos Ácido nitrilotriacético 1.5g/L MgSO ₄ ·7H ₂ O 3g/L MnSO ₄ ·H ₂ O 0.5g/L NaCl 1 g/L FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.1 g/L CoSO ₄ 0.1 g/L CaCl ₂ ·2H ₂ O 0.1 g/L ZnSO ₄ 0.1 g/L CuSO ₄ ·5H ₂ O 0.01 g/L AlK(SO ₄) ₂ 0.01 g/L H ₃ BO ₃ 0.01 g/L Na ₂ Mo ₄ ·2H ₂ O 0.01 g/L
Solución de sulfuro de sodio al 2.5% : Empleado para reducir el medio al momento de inocularlo. Solución de sulfuro de sodio al 2.5%. 1 lenteja de NaOH	

Tabla 3.4 Sólidos en el inóculo proveniente de los reactores de 1.6 L, a 35, 45 y 55°C para iniciar las pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora

g/L	35°C	45°C	55°C
Sólidos totales	135.6	102.9	135.8
Sólidos suspendidos totales	107.6	79.2	114.6
Sólidos disueltos totales	28.0	23.7	21.2
Sólidos totales volátiles	57.7	46.9	60.8
Sólidos suspendidos volátiles	46.6	32.9	47.3
Sólidos disueltos volátiles	11.1	14.0	13.5
Sólidos totales fijos	77.9	56.0	75.0
Sólidos suspendidos fijos	61.0	46.3	67.3
Sólidos disueltos fijos	16.9	9.7	7.7



3.5 PRUEBAS EN VIALES CON VINAZAS PARA LA OBTENCIÓN DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS Y LA DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE LA ECUACIÓN DE ARRHENIUS

Estas pruebas se emplearon para la determinación de los parámetros cinéticos (apartado 2.10) y la aplicación de la ecuación de Arrhenius (apartado 2.11). Las pruebas consisten en efectuar una réplica de los reactores de 1.6 L de volumen a 35, 45 y 55°C en viales a las mismas condiciones, ya que de esta forma, la temperatura, determinaciones cromatográficas para los gases y análisis fisicoquímicos para la fase líquida se obtienen con resultados reproducibles.

La prueba se planea para 20 días (0.396 gDQO, adicionando 0.0033 L de vinazas por prueba) para que las curvas de degradación de sustrato y producción de biogás logren una medición periódica amplia y se obtengan un mayor número de repeticiones. A cada vial se le adiciona una concentración de 120 gDQO/L (0.396 gDQO) a 46.6 gSSV/L (0.047 gSSV) o de 8.5 gDQO/gSSV.

El orden de reacción del sistema se determina previamente a la aplicación de la ecuación de Arrhenius. El método empleado para determinar el orden de reacción se basa en el programa "Kinetics Program", versión 2.10 del Water Analyzer Series (Brury, 2001). El arreglo metodológico para los viales es el equivalente para lo diseñado en la medición de la actividad metanogénica y sulfato-reductora presentado en la Figura 3.16.

El método para la aplicación de la ecuación de Arrhenius directamente de los resultados obtenidos de los reactores de 1.6 L se realiza graficando la temperatura versus logaritmo natural de $\text{kgDQO-CH}_4/\text{día}$, $\text{kgDQO-H}_2\text{S}/\text{día}$ y $\text{kgDQOdegradada}/\text{día}$ para la metanogénesis, sulfato-reducción y consumo de sustrato respectivamente. De las gráficas se obtiene la pendiente y los demás valores de acuerdo al mismo método mencionado en el apartado 2.11, ecuación 2-16 (Monroy-Hermosillo, 2002).

3.6 EVALUACIÓN ESTADÍSTICA

En las etapas estables se calculan promedios para los datos representativos de cada etapa, así como los valores mínimo y máximo de los intervalos de los resultados en cada condición de temperatura. Las desviaciones estándar de los resultados se determinan para observar las tendencias y/o el error experimental asociado a los resultados, así como las diferencias significativas entre los datos, empleando la prueba T de student. Se usan los paquetes de cómputo GraphPad "mstat" Inplot, versión 1993.



Capítulo 4

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El capítulo se dividió en tres grandes etapas: 1) Adaptación del inóculo mesofílico a vinazas, 2) Adaptación del inóculo de condiciones mesofílicas a termofílicas y 3) Pruebas en viales, en las que se realizaron, entre otras, pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora. Al final, se hace una recapitulación de estos resultados a la luz del objetivo y la hipótesis planteados.

4.1 ARRANQUE DEL REACTOR ANAEROBIO Y ADAPTACIÓN DE LA BIOMASA A VINAZAS A CONDICIONES MESOFÍLICAS

4.1.1 Inoculación

Como se explicó en el apartado 3.1.1, el inóculo se adquirió por donación de un reactor anaerobio que trata aguas residuales de una cervecería. El inóculo estaba adaptado a una temperatura de 30°C para degradar aguas residuales con una concentración de DQO total de alrededor de 2,000 mg/L en el influente (Tabla 4.1), por lo que la biomasa fue adaptada a vinazas con una concentración de DQO total de 120,000 mg/L. La etapa constituyó 600 días de operación para alcanzar la adaptación de la biomasa anaerobia a vinaza sin diluir.

La Tabla 4.1 presenta el análisis físico-químico promedio de las vinazas y de las aguas residuales de la cervecería. La mezcla de alimentación para el reactor se compuso de una dilución de la vinaza con aguas cervenceras donde fue obtenido el inóculo. De esta forma, la biomasa anaerobia adaptada a aguas cervenceras fue recibiendo gradualmente vinazas y adaptándose a ellas. Puede observarse en la Tabla 4.1 que las aguas cervenceras poseen un pH mayor al de las vinazas, por lo que se pensó que al realizar la mezcla para la adaptación del inóculo tendrían la capacidad de amortiguar la acidez de las vinazas. Como esto no ocurrió, fue necesario adicionar una mezcla de agentes neutralizantes (421 mgCa/L y 1,200 mgNaHCO₃/L). Al agregar la fórmula química, la relación de alcalinidad se redujo de 0.3-0.4 a 0.1-0.2, pero el valor de pH de la alimentación siguió descendiendo conforme se aumentaba la proporción de vinaza. El procedimiento anterior ofreció resultados adecuados, ya que la operación no presentó acidificación lo cual fue verificado por mediciones de pH del efluente y de la relación de alcalinidad (apartado 2.7.1).

Previo al arranque del RALLFA se realizó una caracterización del inóculo. Los resultados se presentan en la Tabla 4.2. La Tabla 2.14 muestra los parámetros de arranque donde se recomienda que la concentración del inóculo medida como sólidos suspendidos volátiles debe estar entre 12 y 15 gSSV/Lreactor. En este caso, de acuerdo con la caracterización del inóculo



tomado del reactor de 10 L (31.3gSSV/L), tomando 3.5 L se alcanzó la concentración de 10.95 gSSV/Lreactor, valor que está dentro del intervalo recomendado.

Tabla 4.1 Características físico-químicas de las vinazas y aguas residuales de una cervecería almacenadas a 4°C (Castro-González, 1999)

PARAMETRO	VINAZAS	AGUAS DE CERVECERÍA
Valor de pH	4.34	6.21
Sólidos totales, g/L	72.16	1.47
Sólidos suspendidos totales, g/L	9.50	0.70
Sólidos disueltos totales, g/L	62.66	0.77
Sólidos totales volátiles, g/L	47.25	0.93
Sólidos suspendidos volátiles, g/L	6.11	0.26
Sólidos disueltos volátiles, g/L	41.14	0.67
Sólidos totales fijos, g/L	24.91	0.54
Sólidos suspendidos fijos, g/L	3.39	0.44
Sólidos disueltos fijos, g/L	21.52	0.10
Demanda química de oxígeno total, g/L	90-120	2.70
Demanda química de oxígeno soluble, g/L	87-90	1.70
Sulfatos, g/L	15	0.10
Relación DQO total/sulfatos	6-8	27
Nitrógeno, g/L	1.88	1.05
Carbono, g/L	60.96	3.36
Sólidos sedimentables, mL/L	1.0	n.d.
Fosfatos, g/L	1.25	n.d.
Grasas y aceites, mg/L	2	n.d.
Fósforo, mg/L	150	n.d.
Calcio, mg/L	2,960	n.d.
Magnesio, mg/L	1,370	n.d.
Sodio, mg/L	310	n.d.
Potasio, mg/L	2,550	n.d.

n.d., no determinada

De acuerdo, con el inciso 2.5.1 del capítulo 2, la actividad metanogénica que debe poseer el lodo usado como inóculo debe estar entre 0.5 y 4 kgDQO-CH₄/kgSSVdía. De acuerdo con la actividad metanogénica de la Tabla 4.2, que es de 0.86 kgDQO-CH₄/kgSSVdía, no hubo problema para iniciar el arranque con un tiempo de residencia hidráulica (TRH) de 1 día y una concentración en el influente de 10,000 mgDQO/L.

Los otros parámetros presentados en la Tabla 4.2, como por ejemplo los sólidos totales fijos (STF) pueden representar indirectamente la materia inorgánica presente en el inóculo. El apartado 2.8 menciona que, los STF puede representar la concentración de materia inorgánica o inerte de la cual, los microorganismos anaerobios están adheridos para formar matrices, lo cual, comúnmente es una característica de la biomasa anaerobia (Zehnder, 1988).

4.1.2 Parámetros operacionales de arranque

En la Tabla 2.14 se presentaron algunos parámetros recomendados por otros investigadores los cuales se emplearon como base para el presente trabajo. En la Tabla 4.3 se muestran los parámetros operacionales usados en esta investigación, excepto las cargas orgánicas másica y



volumétrica que son 10 veces mayores que las recomendadas. Como la concentración señalada por los autores para influente del reactor es de 1,000 mgDQO/L y la aplicada en esta investigación fue de 10,241 mgDQO/L, como resultado de la vinaza diluida al 10%, se decidió usar un factor de 10. Aún con la diferencia de concentración a alimentar, la operación no presentó ningún problema de desequilibrio anaerobio o sobrecarga. Por ello, puede recomendarse para futuras investigaciones, cuando el tratamiento anaerobio se aplique a sustratos de alta concentración de DQO que se consideren las cargas másica y volumétrica como factores directamente proporcionales de escalamiento.

Tabla 4.2 Características físico-químicas de la biomasa anaerobia para inocular el *RALFA* para la adaptación a vinazas a condiciones mesofílicas

PARÁMETRO	VALOR
Valor de pH	7.19
Sólidos totales, g/L	114.8
Sólidos suspendidos totales, g/L	67.6
Sólidos disueltos totales, g/L	47.20
Sólidos totales volátiles, g/L	91.65
Sólidos suspendidos volátiles, g/L	31.30
Sólidos disueltos volátiles, g/L	40.35
Sólidos totales fijos, g/L	47.20
Sólidos suspendidos fijos, g/L	36.3
Sólidos disueltos fijos, g/L	10.9
Nitrógeno, mg/g lodo anaerobio	37.71
Carbono, mg/g lodo anaerobio	238.04
Actividad metanogénica gDQO-CH ₄ /gSSVdía	0.86

Tabla 4.3 Parámetros operacionales recomendados (Tabla 2.14) y usados en este trabajo para el reactor de 10 L

Parámetro	Recomendado (Lettinga y col., 1982; Salkinoja y col., 1983; Hulshoff y col., 1986; Hulshoff-Pol, 1987; Wu y col., 1988; Souza y col., 1992)	Obtenido para vinazas
Concentración del inóculo	12 a 15 kgSSV/m ³ reactor inóculo concentrado 6 kgSSV/m ³ reactor inóculo diluido	10 kgSSV/m ³ reactor
Temperatura	35° a 40°C	35°C
V _{asc} velocidad ascendente	0.125 m/h a 0.3 m/h 0.25 m/h para lodo disperso 1 a 2 m/h para lodo flocculento 5 m/h para lodo granular	0.0988 m/h
TRH	24 h los primeros 20 días de operación	24 h
B _x carga orgánica másica	0.05 a 0.1 kgDQO/kg SSVdía	0.65 kgDQO/kgSSVdía
B _v carga orgánica volumétrica	1 kgDQO/m ³ día	10.24 kgDQO/m ³ día
Concentración de DQO en el influente del reactor	1,000 mgDQO/L	10, 241 mgDQO/L



Los parámetros operacionales fueron cambiando durante los 600 días de la operación del reactor anaerobio hasta alimentar vinazas sin diluir (Tabla 4.4). En la Tabla 4.4, puede observarse que se fue aumentando el tiempo de residencia conforme se fue disminuyendo la dilución de la vinaza en la alimentación con una carga orgánica volumétrica alrededor de 10 kgDQO/m³día. Esta estrategia obedeció a lo observado experimentalmente. Si se aumentaba la carga orgánica sin aumentar el tiempo de residencia, la eficiencia de conversión de los compuestos carbonosos a metano decrecía. El aumento en el TRH se daba hasta reestablecer la eficiencia de remoción de DQO, tomando como valor límite el de 60-70%. El porcentaje de remoción nunca pudo ser superior a 60-70%, aún proporcionando en la operación valores de TRH más altos. En la Tabla 4.4, se muestran estos valores de TRH para cada etapa. Asimismo, dado que la carga orgánica volumétrica depende del TRH y de la concentración de DQO alimentada, puede verse que estos cambios en el TRH derivan en cargas orgánicas volumétricas que permanecen relativamente constantes durante todo el lapso de estabilización. Solamente cuando se alimentó entre 30 y 45% de vinaza se tuvieron valores menores de 10 kgDQO/m³día. Otros investigadores también observaron este valor (Yu y col., 1998; Pérez y col., 2001; Patel y Madamwar, 2002; Rodríguez-Martínez y col., 2002). En esta última referencia, los autores obtuvieron porcentajes de remoción de DQO y porcentaje de metano en el biogás cada vez menores conforme aumentaban la carga orgánica volumétrica de 4 a 22 kgDQO/m³día (remoción de DQO de 92 a 75% y de metano en el biogás de 75 a 60%, respectivamente).

Esto concuerda con otros estudios realizados en reactores anaerobios con vinazas y que fueron mencionados en el apartado 2.5.2 donde se dijo que, para el tratamiento de vinazas, es necesario un TRH más prolongado que significa una velocidad ascendente paulatinamente menor (Durán y col., 1988; Pérez y col., 1997). La eficiencia de conversión de los materiales disueltos en la vinaza a metano (mgDQO-CH₄/kgDQOrem) va aumentando conforme se incrementa la proporción de vinaza en la alimentación. Es posible que esto se deba a que los microorganismos anaerobios, conforme se adaptan a las vinazas, incrementan la conversión de materia orgánica a CH₄.

En la misma Tabla 4.4 puede observarse un aumento entre la concentración de la biomasa al inicio y al final de la operación de adaptación. Esto fue debido a que, conjuntamente con la biomasa sintetizada captada por el sedimentador secundario y retornada al lecho de lodos del reactor, se introdujeron lodos anaerobios nuevos para reestablecer la biomasa perdida que no pudo ser recobrada en el sedimentador. El volumen de biomasa activa que se obtuvo en esta etapa de la investigación es muy importante debido a que, posteriormente, fue empleado para la inoculación de los tres reactores en la siguiente fase de la investigación. El lodo anaerobio se incrementa 0.05 kg/kgDQO degradada concordando con lo consultado en la literatura (Lettinga y col., 1982).

La biomasa anaerobia "elutriada" por el efluente del reactor se recolectó en el sedimentador secundario. Conforme la concentración de DQO en el influente iba incrementándose se manifestó un fenómeno de ruptura de los flóculos anaerobios con la consiguiente reducción de



su densidad y su escape en el efluente del reactor (“elutriación”). Esto provocó que la relación de la concentración de sólidos del efluente con respecto a la concentración de sólidos del influente fuera, en ocasiones, mayor (en todas las formas de sólidos). Algunas veces, los sólidos totales de salida eran 1.5 veces más que los del influente (1:1.5). Lo mismo se observó cuando se incrementó la proporción de vinaza al 20% y, al llegar a 50% de vinaza, fue de 1:5 y, con 100% vinaza, la relación fue de 1:10. Por tanto, la DQO se determinó como DQO soluble para evitar la interferencia de sólidos elutriados en el efluente del reactor.

Tabla 4.4 Parámetros operacionales para el arranque del *RALFA* de 10 L para la adaptación a vinazas en condiciones mesofílicas

% Vinaza	pH influente	pH efluente	Tiempo de operación, d	TRH d	DQO* mg/L	kg DQO/rem/d	Productividad L CH ₄ /d	LCH ₄ /kg DQO rem	kgDQO-CH ₄ /kgDQOrem	% rem DQO*	Carga org vol kgDQO/m ³ -día	Vel asc m/h	Carga org másica kgDQO/kgSSVd	Conc bio-masa kgSSV/m ³ reactor
10	6.4	8.0	0-25	1	10,241	61	18	0.15	0.415	71	10.24	0.0988	0.654	15.6
15	6.3	8.1	26-55	1.5	15,344	61	19	0.16	0.443	72	10.23	0.0658	0.654	18.9
25	6.3	8.0	56-85	2.1	21,497	67	19	0.14	0.400	72	10.23	0.0470	0.654	19.2
30	6.2	8.0	86-120	3.0	23,556	52	23	0.22	0.615	66	7.85	0.0329	0.502	19.8
35	6.1	8.1	121-145	4.0	25,478	45	24	0.26	0.743	67	6.37	0.0247	0.407	20.4
40	6.0	8.0	146-200	4.5	35,473	48	23	0.24	0.672	64	7.22	0.0219	0.461	21.3
45	5.8	8.0	201-235	5.0	43,315	51	22	0.21	0.600	60	8.66	0.0198	0.553	21.2
50	5.8	8.1	236-270	5.2	54,101	61	25	0.21	0.586	61	10.41	0.0190	0.665	20.9
55	5.7	8.0	270-295	5.4	56,450	63	26	0.21	0.600	61	10.45	0.0183	0.668	21.0
60	5.6	8.0	296-330	6.0	62,412	65	29	0.22	0.629	64	10.40	0.0165	0.665	20.8
70	5.4	8.0	331-364	6.5	65,444	64	30	0.23	0.658	62	10.06	0.0152	0.643	22.3
80	5.3	8.0	365-398	6.8	68,961	62	32	0.26	0.729	61	10.14	0.0145	0.648	22.7
85	5.1	8.1	399-420	7.1	77,109	63	34	0.27	0.772	62	10.86	0.0139	0.694	22.9
90	4.9	8.0	421-450	8.0	96,463	67	37	0.28	0.786	62	12.05	0.0123	0.770	23.0
100	4.9	8.0	450-500	10.0	115,319	65	40	0.31	0.886	61	11.53	0.0099	0.737	23.1
100	4.9	8.1	501-600	10.0	117,256	65	40	0.31	0.872	61	11.72	0.0099	0.749	23.3

*Materia orgánica medida como DQO Los datos de gases están calculados a PTS

A lo largo de los 600 días requeridos para tener un reactor alimentado con vinazas sin diluir hubo solamente una desestabilización del sistema. El equilibrio se recobró al cabo de 48 horas al reinocular el equivalente al lodo perdido en el efluente por medio de la recolección de la biomasa en el sedimentador. Además, se redujo el flujo a un 25% menor al correspondiente. Su reestablecimiento se hizo lentamente. Este procedimiento de recuperación del flujo original se hizo manteniendo la estrategia de obtener una eficiencia de remoción de DQO soluble cercana a 60% y una producción de CH₄ alrededor de 22 LCH₄/día. Es posible que la desestabilización haya sido ocasionada por un fallo en el suministro eléctrico, provocando que la temperatura bajara súbitamente. Como después de este incidente se instaló una planta de luz de emergencia a diesel para el laboratorio en su conjunto, este problema ya no se repitió.



4.1.3 Seguimiento analítico

El parámetro de la relación de alcalinidad, establecido por Rojas-Chacón (1988a,b) y presentado en los apartados 2.7.1 y 3.3.1, se empleó en esta investigación como sistema de seguimiento. El valor obtenido a lo largo de esta fase estuvo entre 0.1 y 0.2 (cuando es mayor a 0.4 indica la posible acidificación del sistema), con excepción del lapso mencionado arriba.

La Figura 4.1 muestra la concentración de DQO en el influente con respecto a la del efluente. Se conserva un porcentaje de remoción de DQO entre 60 y 70% como lo muestra la Figura 4.2. A partir del día 200 (45% de vinazas), el porcentaje de remoción estuvo entre 58 y 65% con un tiempo de residencia hidráulica de 5 días hasta alcanzar el 100% de vinaza con un TRH de 10 días.

La Figura 4.3 presenta la producción de CH_4 (a PTS) con respecto a la carga orgánica removida por día. La figura indica su tendencia a aumentar hasta llegar a la estabilidad, donde se conservó en un promedio de $0.3 \text{ LCH}_4/\text{kgDQOrem} = 0.85 \text{ kgDQO-CH}_4/\text{kgDQOrem}$.

De la ecuación 2-1, del apartado 2.2, para un sistema ideal, se tiene que $350 \text{ LCH}_4/\text{kgDBO} = 15.625 \text{ molesCH}_4/\text{kgDBO} = 1000 \text{ gDQO-CH}_4/\text{kgDBO}$. Los resultados obtenidos en la presente investigación no corresponden a estos valores. Debe considerarse que estos valores se refieren a un sistema ideal, por lo que al tener diferentes tipos de especies anaerobias para la degradación de un sustrato complejo, la producción de metano depende de la degradación de compuestos carbonosos de bajo peso molecular a metano. En el apartado 3.4 se menciona que en una biomasa anaerobia mixta, la población metanogénica estará presente de 1 a 10% de la biomasa total (Soto y col., 1993).

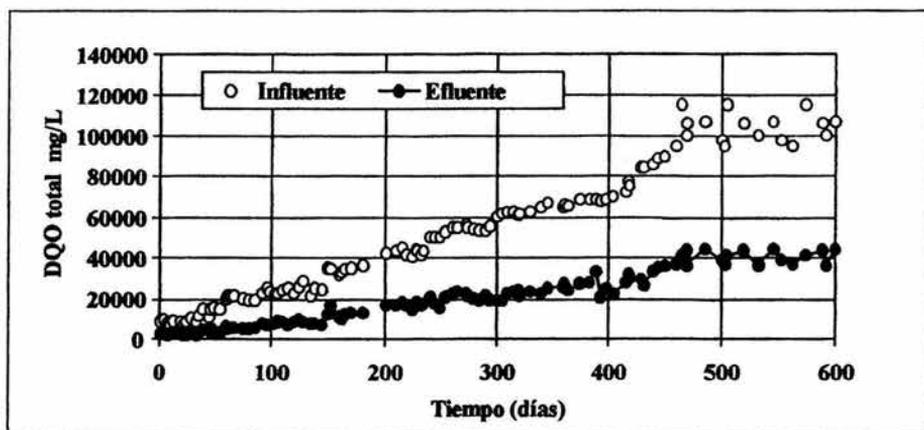


Figura 4.1 DQO en el influente y efluente del reactor anaerobio de 10 L para la adaptación de la biomasa anaerobia a vinaza



Muchos trabajos anteriores indican la complejidad del tratamiento biológico de las vinazas, como se vió en el apartado 2.5.2. Es interesante comparar que, que para el mismo sustrato, se han encontrado variantes en sus características físico-químicas como lo muestra la Tabla 4.5. Cabe mencionar que las variaciones de concentración inicial de material disuelto medido como DQO en la vinaza son diferentes en cada caso. Por ejemplo, cuando las vinazas provienen de la fermentación de jugos (remolacha, caña) o cuando éstas provienen de la fermentación de mieles finales. En este último caso, parte de los azúcares se caramelizan y, por ende, son menos biodegradables.

La Tabla 4.6 muestra diferentes estudios para el tratamiento de la vinaza con sistemas anaerobios y también algunos parámetros operacionales. El trabajo de Ranade y col. (1999) es el único dirigido hacia la sulfato-reducción debido a que estudiaron vinaza sin diluir. Aparentemente los trabajos realizados con vinaza diluida no presentan problemas de producción de H_2S o no fueron medidos porque no son mencionados, a pesar de que los sulfatos están presentes en la vinaza. Pero en esta investigación, aún en vinaza diluida al 10% se obtuvo 3% de H_2S en el biogás. El apartado 2.5.2 describe las investigaciones de Ranade y col. (1999) y de Yadav y Archer (1989), donde trataron de inhibir la sulfato-reducción en el tratamiento de vinaza por medio de la adición de molibdato de sodio pero sus resultados no fueron exitosos. El porcentaje de remoción de DQO obtenido en la presente investigación está dentro del intervalo de los estudios presentados en la Tabla 4.6, que es de un 60 a un 85%. La producción de CH_4 con respecto a la DQO removida para la presente investigación es aproximadamente oscila a los resultados presentadas en los otros trabajos de la Tabla 4.6.

El TRH utilizado en el trabajo de Ranade y col. (1999) fue de 30 días, mientras que para la presente investigación fue de 10 días. El tiempo de adaptación de la biomasa anaerobia a la vinaza, para Ranade y colaboradores fue de 300 días, a diferencia de este trabajo que requirió de 600 días. Naturalmente, esta adaptación más lenta permitió tener un TRH de la mitad del requerido por estos autores.

Espinoza y Noyola (1992) realizaron un trabajo sobre el tratamiento anaerobio de vinazas a $35^\circ C$ en un RALLFA con recirculación del efluente. Ellos trabajaron a un TRH de 3.14 días alimentando vinazas diluidas hasta alimentar vinazas sin diluir con una concentración de DQO final de 75,000 mgDQO/L. El periodo de operación fue de 150 días. Durante la operación se presentaron en varias ocasiones desequilibrios en el sistema. La alimentación inició con vinaza diluida al 20% y como parámetro de control de equilibrio del sistema fue la relación de alcalinidad con valor de 0.59. Al alimentar con vinaza diluida al 40% el sistema se acidificó. Probablemente, uno de los factores comparativos con los resultados de la presente investigación es el factor tiempo. Espinoza y Noyola (1992) agregaron a la alimentación 4 g $NaHCO_3/L$ para amortiguar el pH de alimentación y aumentar la capacidad amortiguadora del sistema anaerobio. Pero, a pesar de ello, hubo muchas variaciones en el parámetro de la relación de alcalinidad hasta llegar a la acidificación del sistema. Las cargas orgánicas volumétricas que ellos utilizaron fueron de 4.4, 9.5, 17.3 y 23.3 $kgDQO/m^3$ día, a 20, 40, 80% de vinaza diluida y vinaza sin diluir respectivamente.



Tabla 4.5 Características físico-químicas de vinazas generadas en diferentes partes del mundo

Parámetro en mg/L, excepto pH	García y col., 1997 España	Souza y col., 1992 Brasil	Ranade y col., 1999 India	Vlyssides y col., 1997 Grecia	Ehlinger y col., 1992 Francia	Ilangovan y Noyola, 1993 México	Tieelbard, 1992 Venezuela	Espinoza y Noyola, 1992	Este trabajo
DQO	75,000	31,500	120,000	72,000	17,000	85,000	110,000	74,653	120,000
pH	4.4	3.9	4.0	-	5.0	4.3	3.40	4.38	4.0
SST	2,000	-	14,000	3,837	1,700	17,000	14,000	17,290	4,300
SSV	9,000	3,700	-	3,200	-	12,000	13,000	14,965	4,100
N total	975	370	1,730	7,340	300	-	1,200	-	1,470
P total	20	24	184	91	300	-	14,000	-	-
Fenol	469	-	-	-	-	-	-	-	-
o-difenoles	34	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfatos	-	420	16,000	4,520	15,000	15,000	6,800	5,480	15,000
Potasio	-	1,300	10,000	-	4,100	3,000	6,300	-	-
Amoniaco	-	4	-	-	-	-	600	-	-
Ácidos grasos volátiles	-	-	1,600	-	-	-	-	-	-
Sustancias desconocidas	-	-	-	24,000	-	-	-	-	-
Sodio	-	-	-	-	20	-	-	-	-
Calcio	-	-	700	-	1,800	-	1,600	-	-
Magnesio	-	-	-	-	100	-	-	-	-

Tabla 4.6 Parámetros operacionales en el tratamiento anaerobio de vinazas en el mundo

Parámetros de operación	Pérez y col., 1997	Pérez, 1995	Crayeiro y col., 1986	Balaguer y col., 1992	Souza y col., 1992	Ranade y col., 1999	Shin y col., 1992	Espinoza y Noyola, 1992	Este trabajo
mgDQO/L	15,000	15,000	12,000	7,000	31,500	120,000	17,000	74,653	120,000
TRH, días	0.46	1.6	2.4	0.5	0.5	30	1.8	3.14	10
m ³ CH ₄ /m ³ día	5.8	-	-	-	6	-	0.06	-	4
LCH ₄ /kgDQOremovida	0.33	-	-	-	0.20	-	-	0.33	0.6
Temperatura °C	55	55	55	35	55	30	37	34.1	35
Tipo de reactor anaerobio	Lecho fluidificado	Filtro anaerobio	RALLFA	Lecho fluidificado	RALLFA	RALLFA	Dos etapas	RALLFA	RALLFA
Volumen, L	2.04	-	-	-	75000	-	12.5	2.3	10
% Remoción de DQO	85	80	83	70	72	-	-	60	60
% H ₂ S en el biogás	-	-	-	-	-	1 a 3	-	-	4.13



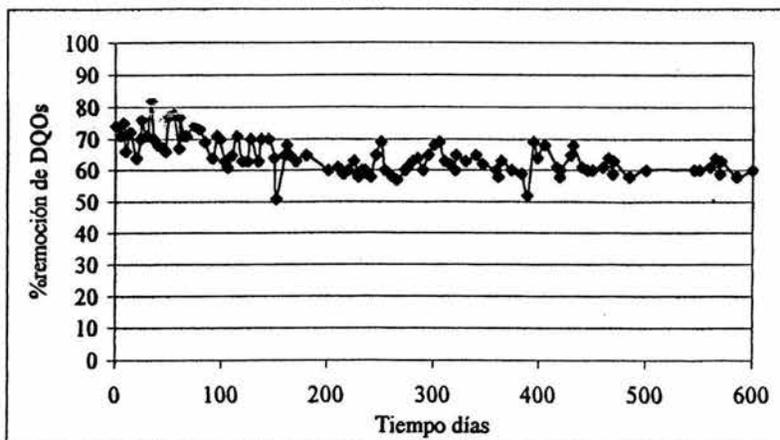


Figura 4.2 Remoción de materia orgánica medida como DQO en el reactor de 10 L para la adaptación de la biomasa anaerobia a vinaza

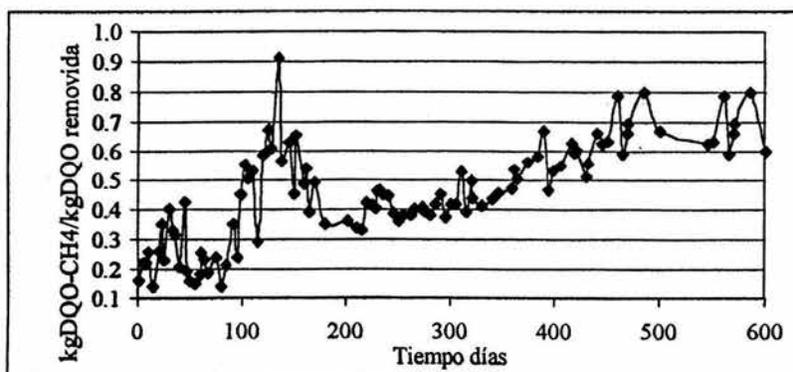


Figura 4.3 Rendimiento de producción de CH₄ a PTS en kgDQO-CH₄/kgDQO removida, obtenida en el reactor de 10 L para la adaptación de la biomasa anaerobia a vinaza



Para esta investigación, la carga orgánica volumétrica se conservó durante todo el periodo de operación en un promedio alrededor de 11 kgDQO/m³día debido a que el TRH es mayor al utilizado en el trabajo de Espinoza y Noyola (1992). El porcentaje de CH₄ en el biogás obtenido en la presente investigación, que fue de 67%, fue muy cercano al valor obtenido por Espinoza y Noyola (1992).

En esta investigación, con excepción del incidente de la interrupción del fluido eléctrico, en ningún momento se presentó un desequilibrio en el sistema por sobrecarga como ocurrió en el trabajo de Espinoza y Noyola (1992). Esto da la pauta para afirmar que la estrategia seguida de ir paulatinamente aumentando el TRH conforme se aumenta la cantidad de vinazas manteniendo cargas orgánicas másica y volumétrica relativamente constantes resulta adecuada para procesos de adaptación de biomasa.

Con base en los resultados de esta investigación, se elaboró la Tabla 4.7, que puede utilizarse para trabajos futuros de operación de RALLFA a 35°C. La Tabla 4.7 permite interpolar los valores de arranque hasta una determinada concentración de DQO en el influente a tratar. Posiblemente, la Tabla 4.7 pueda utilizarse también a condiciones termofílicas cuando la estrategia sea adaptar biomasa termofílica a un sustrato dado.

Tabla 4.7 Parámetros operacionales para el arranque y la operación de un RALLFA

Parámetro	Recomendado					
	INICIO	OPERACIÓN				
Concentración del inóculo (kgSSV/m ³ reactor)	15.6	19.2	21.3	21.0	23.0	23.3
Temperatura	35°C	35°C	35°C	35°C	35°C	35°C
Velocidad ascendente (m/h)	0.09	0.04	0.02	0.018	0.01	0.009
TRH (días)	1	2.1	4.5	5.4	7.1	10
Carga orgánica másica (kgDQO/kg SSVdía)	0.65	0.65	0.65	0.67	0.69	0.75
Carga orgánica volumétrica (kgDQO/m ³ día)	10.2	10.2	7.22	10.45	10.86	11.72
Carga de materia orgánica medida como DQO en el influente del reactor (mg/L)	10,000	20,000	35,000	55,000	75,000	115,000

4.2 ARRANQUE Y ADAPTACIÓN DEL INÓCULO DE CONDICIONES MESOFÍLICAS A MESOFÍLICAS INTERMEDIAS Y TERMOFÍLICAS

4.2.1 Inoculación

Los tres reactores de 1.6 L fueron inoculados con la biomasa adaptada a las vinazas obtenida del reactor de 10 L. La biomasa anaerobia fue tamizada de tal forma que los gránulos de mayor tamaño fueran seleccionados como inóculo. Se buscó tener una mezcla homogénea de inóculo para los tres reactores. La Tabla 4.8 presenta los valores de concentración de sólidos suspendidos volátiles, que determinan indirectamente la concentración de biomasa en el



volumen de cada reactor. Como puede observarse, los valores son similares entre ellos. Asimismo, la Tabla 4.8 muestra los parámetros que se obtuvieron al término de la estrategia de arranque utilizada para las condiciones mesofílicas, mesofílicas intermedias y termofílicas. Las Figuras 4.4 a 4.6 muestran los datos de pH, DQO soluble y remoción de DQO soluble en los tres reactores.

Tabla 4.8 Parámetros operacionales de los tres reactores de 1.6 L a las tres temperaturas

Parámetro	35°C	45°C	55°C
Concentración del inóculo, kgSSV/m ³ reactor	26.88	28.96	27.28
Temperatura	35°C	45°C	55°C
V _{asc} , velocidad ascendente, m/h	0.0012	0.0012	0.0012
TRH, días	17	17	17
B _v carga orgánica másica, kgDQO/kgSSVdía	1.67	1.62	1.65
B _v carga orgánica volumétrica, kgDQO/ m ³ día	7.06	7.06	7.06

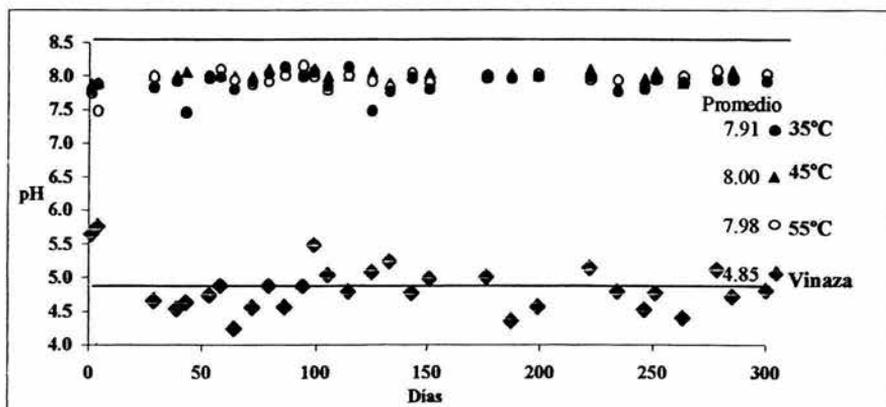


Figura 4.4 Valores de pH del influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35(●), 45(▲) y 55°C (○)

4.2.2 Parámetros operacionales de arranque

La velocidad ascendente de los tres reactores, presentada en la Tabla 4.8, es más lenta que la obtenida en el reactor de 10 L, debido a que el TRH final en los reactores de 1.6 L fue de 17 días y, naturalmente, que la propuesta por diferentes autores (Tabla 2.14 y 4.3). En la etapa de arranque, entre los 106 y los 240 días de operación (Tabla 3.2) se intentó reducir el TRH para aumentar la velocidad ascendente pero el reactor que operaba a 55°C presentaba valores altos en su relación de alcalinidades, indicando acidificación. Por ello, el tiempo mínimo obtenido para el TRH fue de 17 días. Omil y col. (1996) emplearon velocidades ascendentes de 0.5 a 5 m/h a condiciones termofílicas, aunque emplearon aguas residuales con una concentración de



DQO menor a 15,000 mg/L. Al utilizar cargas orgánicas bajas en su trabajo, no pueden realmente compararse sus resultados con los de esta investigación.

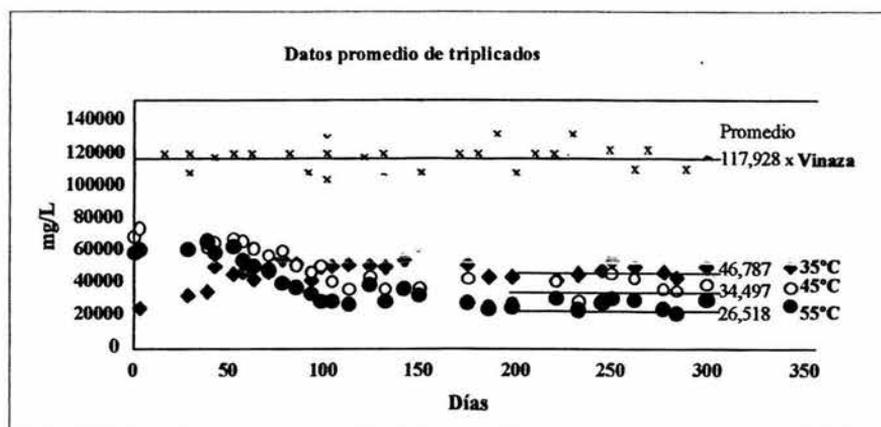


Figura 4.5 DQO soluble en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

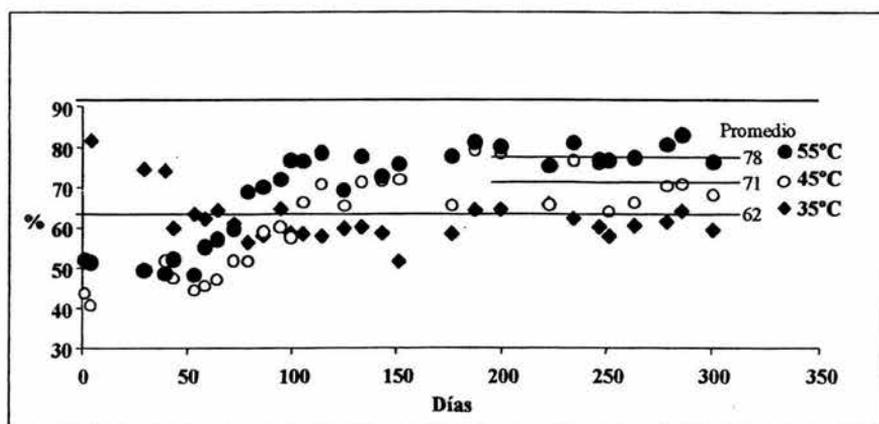


Figura 4.6 Remoción de DQO soluble en el efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

La carga orgánica másica, de acuerdo con los valores de kgSSV que posee cada reactor, es relativamente constante. La carga orgánica volumétrica es la misma debido a que los tres reactores son alimentados por una misma bomba peristáltica y el mismo recipiente de alimentación.



Las cargas orgánica másica y volumétrica utilizadas para la adaptación de biomasa anaerobia mesofílica a condiciones termofílicas están fuera de los intervalos recomendados (Tablas 2.14 y 4.3). Obviamente, estos datos se obtuvieron para reactores mesofílicos y no pueden extrapolarse a reactores termofílicos y, menos aún, para aguas residuales con concentraciones de 120,000 mgDQO/L.

Soto y col. (1992) llevaron a cabo una investigación sobre la caracterización y comparación de biomasa termofílica y mesofílica en filtros anaerobios para el tratamiento de efluentes de una fábrica procesadora de mejillones (25,000 mgDQO/L). Ellos lograron la adaptación a condiciones termofílicas en un tiempo de 100 días. En la presente investigación, el tiempo de adaptación a condiciones termofílicas, considerando la eficiencia de remoción de DQO soluble (Figura 4.6), fue de alrededor de 100 días. Cabe mencionar que la concentración de las vinazas en esta investigación es más de cuatro veces mayor que la empleada por estos investigadores, medida como DQO. También, Soto y col. (1992) experimentaron con aumentos en la relación de carga orgánica en forma lenta una vez adaptados los reactores. Al alcanzar una carga orgánica de 10 kgDQO/m³día (TRH=6 horas), tanto el reactor mesofílico como el termofílico disminuyeron el porcentaje de remoción de DQO de 75% a 65 y 50%, respectivamente. Esto indica que el sistema termofílico es sensible a sobrecargas o reducciones de TRH. Por lo mismo, la operación del reactor termofílico en la presente investigación se llevó a cabo sin incrementar la carga orgánica como puede observarse en la Tabla 4.8.

4.2.3 Comportamiento físico-químico anaerobio

La Tabla 4.9 presenta los resultados promedio de la etapa estable de los reactores a 35, 45 y 55°C. Antes de los 100 días, los reactores estuvieron aún en fase dinámica. Después de este lapso alcanzaron una fase estable.

Los datos presentados en la Tabla 4.9 corresponden a los últimos 150 días de experimentación en los que se considera que la biomasa mesofílica estaba ya completamente adaptada a las condiciones termofílicas. Se observa que hay un efecto de la temperatura en la concentración de azufre, tanto de la biomasa, como de las fases líquida y gaseosa. El efecto se refiere a que el aumento en la temperatura promueve la metabolización del azufre disuelto como sulfatos en el influente para transformarse a H₂S por las BSR. En el apartado 4.2.4 se discutirá con mayor detalle el efecto de la temperatura en la solubilidad de los gases, que concuerda con los resultados promedio de la Tabla 4.9.

En el día 200 se presentó un problema técnico asociado con la temperatura de los reactores (falla de corriente eléctrica) pero, después de hacer las reparaciones necesarias, los reactores se recuperaron nuevamente. Esto indica que cualquier cambio en la temperatura puede ser un factor limitante, especialmente si el problema toma periodos largos de tiempo, ya que pueden inactivarse las BM como se explicó en el apartado 2.5.1. En condiciones reales, donde las vinazas provienen de las torres de destilación y tienen temperaturas altas, habrá que cuidar el efecto contrario, esto es, que se alimenten a temperaturas mayores a las que se esperan en el reactor.



Tabla 4.9 Resultados promedio en etapa estable de la adaptación del inóculo de condiciones mesófilicas termofílicas en reactores de 1.6 L

Parámetro	Vinaza	Efluente (líquido/gaseoso)		
		35°C	45°C	55°C
DQO soluble, mg/L	117,928	46,787	34,497	26,518
DQO total, mg/L	123,147	N.d.	N.d.	N.d.
Carga orgánica, kgDQO/m ³ día		7.06	7.06	7.06
% remoción de DQO soluble		62	71	78
% CH ₄ en la fase gaseosa (PTS)		66	67	85
% H ₂ S en la fase gaseosa (PTS)		3.43	3.52	4.13
% CO ₂ en la fase gaseosa (PTS)		28.65	29.12	10.26
Producción de biogás, L/día		3.33	5.82	7.29
Producción de biogás, L/día (PTS)		2.27	3.85	4.02
m ³ biogás/kgDQOremovida (PTS)		0.38	0.51	0.57
kgDQOremovida/día		0.0064	0.0075	0.0082
kgDQOremovida/L		0.0713	0.0834	0.0871
kgDQO-CH ₄ /kgDQOremovida (PTS)		0.46	0.65	0.85
gDQO-CH ₄ /día (PTS)		2.93	4.87	6.98
m ³ CH ₄ /día (PTS)		0.0015	0.0028	0.0033
m ³ CH ₄ /m ³ reactor día (PTS)		0.93	1.75	2.06
LCH ₄ /día (PTS)		1.47	2.78	3.32
LCO ₂ /día (PTS)		0.70	0.90	0.50
LH ₂ S/día (PTS)		0.08	0.13	0.20
Sulfatos en solución, mg/L	15,200	5,803	5,186	3,791
mgSO ₄ -S reducidos/L		9,397	10,014	11,409
Valor de pH	4.82	7.91	8.00	7.98
Alcalinidad a pH 5.75, mg/L	N.d.	10,213	15,528	9,673
Alcalinidad a pH 4.3, mg/L	N.d.	14,530	20,813	14,250
Relación a/b	N.d.	0.12	0.25	0.30
Sólidos totales, mg/L	66,239	49,687	52,174	43,959
Sólidos suspendidos totales, mg/L	7,806	7,407	8,306	12,129
Sólidos disueltos totales, mg/L	58,433	42,280	43,869	31,830
Sólidos totales volátiles, mg/L	47,763	22,544	27,426	31,971
Sólidos suspendidos volátiles, mg/L	5,481	3,298	3,188	9,527
Sólidos disueltos volátiles, mg/L	42,489	19,246	24,238	22,443
Sólidos totales fijos, mg/L	18,269	27,143	24,748	11,988
Sólidos suspendidos fijos, mg/L	2,325	4,109	5,118	2,602
Sólidos disueltos fijos, mg/L	15,944	23,034	19,630	9,386
% Carbono en la fase líquida	3.973	1.972	1.222	0.823
% Nitrógeno en la fase líquida	0.097	0.066	0.034	0.0068
% Azufre total en la fase líquida*	0.394	0.191	0.153	0.080
En el interior de cada reactor:				
Biomasa				
Biomasa, mgC/L biomasa	N.d.	111	108	100
Biomasa, mgN/L biomasa	N.d.	120	105	713
Biomasa, mgS/L biomasa	N.d.	159	955	662

N.d., no fue determinado

* Incluidos sulfatos, sulfitos y sulfuros



La Figura 4.4 presenta el seguimiento del valor de pH de los tres reactores, que muestra tendencias a valores promedio en sus efluentes alrededor de 7.8. Durante el seguimiento no existieron variaciones estadísticamente significativas. Esto indica la gran adaptabilidad de los ecosistemas y su capacidad amortiguadora del entorno independientemente de la temperatura. Posiblemente, la estabilidad se deba en gran parte a la mezcla amortiguadora agregada a la vinaza de alimentación. Habrá que hacer experimentos subsecuentes que en los que no se le adicione a la vinaza esta mezcla y verificar el efecto en el pH del efluente. La Figura 4.5 presenta los datos de materia orgánica medida como DQO soluble en los efluentes de los tres reactores y, en la Figura 4.6, el porcentaje de remoción alcanzado en cada uno de ellos. La remoción en los reactores fue de 60, 71 y 78%, a 35, 45 y 55°C, respectivamente, como promedio para los últimos 150 días de operación. Los resultados indican que las comunidades microbianas son más activas a 45 y 55°C que a 35°C, consumiendo más eficientemente la materia orgánica disuelta en las vinazas.

Asimismo, dentro del mecanismo de sulfato-reducción, los resultados obtenidos de un reactor RALLFA pueden ser diferentes a los obtenidos por un reactor anaerobio con un sistema diferente al RALLFA debido a las propiedades de floculación o materiales de soporte dentro de los reactores. Los resultados pueden variar debido a la elutriación de cierto grupo bacteriano. De la misma forma, si el proceso de sulfato-reducción se estudia en suelos o sedimentos marinos, el tiempo de adaptación de las biocomunidades al sustrato y aún a la temperatura pueden alterar la percepción del fracaso o éxito en la competencia de las BSR y las BM. En la presente investigación, el tiempo necesario de adaptación global fue de 900 días a partir de adaptar la biomasa al sustrato y, posteriormente, a la temperatura. Aspé y col. (1997) realizaron un estudio en el cual trataron de reunir e interpretar el tratamiento anaerobio de aguas residuales de pesquerías utilizando sedimento marino como inóculo en un reactor y estiércol de cerdo como inóculo en otro reactor. Las condiciones de operación y de alimentación fueron iguales para los dos reactores. Las BSR del inóculo del sedimento marino se desarrolló de manera limitada. La relación de BM/BSR disminuyó en un 200% en el inóculo del estiércol de cerdo comparado con el sedimento marino. La investigación destaca la adaptación que tuvo la biomasa antes de la inoculación. El sedimento marino se adaptó más rápidamente a los sustratos salinos de agua residual que el inóculo de estiércol de cerdo. Por tanto, los resultados obtenidos en esta investigación considerando el tipo de inóculo, el tiempo de adaptación y la operación revelarán la relación entre las BSR y las BM.

El tiempo de adaptación a la temperatura de los ecosistemas metanogénicos es tan importante que disminuir o aumentar súbitamente la temperatura en el sistema determina ciertos efectos, como lo indica el trabajo realizado por Lau y Fang (1997), donde se expuso una biomasa adaptada a condiciones termofílicas de 55°C a una temperatura de 65°C por 8 días y a 37°C por 16 días. El cambio de temperatura redujo significativamente la eficiencia del reactor sobre la remoción de DQO en un 60 y un 40%, respectivamente. En la presente investigación, el exponer la biomasa adaptada a vinaza de 35 a 45 y 55°C provocó que el porcentaje de remoción disminuyera drásticamente en las primeras semanas como puede verse en la Figura 4.6. El porcentaje de remoción se redujo de 65% obtenido a 35°C hasta 40% a 45 y 55°C, con un efecto más marcado a 45°C.



La Figura 4.7 presenta en forma gráfica los resultados de la concentración de material disuelto medido como DQOs removida en la fase estable y de su transformación a biogás, específicamente a CH₄. Si se considera que el porcentaje de remoción es la DQOrem/DQOinicial por 100, resulta claro que la producción de CH₄ en el intervalo de temperaturas estudiado es directamente proporcional a esta variable. Esto permitiría establecer un modelo para los reactores de acuerdo con $L_{CH_4}/(DQO_{rem}/DQO_{inicial})$ (a condiciones estándar de presión y de temperatura). El modelo podría aprovecharse para el escalamiento de los reactores para su utilización a nivel planta piloto e industrial. Esto constituye una nueva línea de investigación.

La Figura 4.8 presenta información similar a la de la Figura 4.7 pero para el H₂S. En este caso también existe una dependencia similar entre la producción de H₂S en la fase gaseosa y la concentración de materia disuelta medida como DQOs removida/DQOs inicial, en el intervalo de temperaturas en estudio.

Los resultados mostrados en las Figuras 4.7 y 4.8 se discuten en detalle en el apartado 4.3.1.3 cuando se calcularon los porcentajes de DQO utilizados por las BSR y las BM. En el apartado 4.3.1.3 podrá observarse que las BSR utilizan un menor porcentaje de DQO a menor temperatura (35°C) que a mayor temperatura (55°C).

Las Figuras 4.9 a la 4.11 muestran la adaptación de los ecosistemas metanogénicos a la elevación de la temperatura. Conforme el tiempo de adaptación transcurre y la biomasa mesofílica se convierte en biomasa termofílica, en el biogás se presenta una tendencia de reducción de la fracción de CO₂ a 55°C con respecto al CH₄. Posiblemente, esto se debió a que, a 55°C, la reacción de biodegradación del sustrato carbonoso por las bacterias metanogénicas termofílicas tiene como producto principal al CH₄ más que el CO₂. Al mismo tiempo, las Tablas 2.5 y 2.6 (Capítulo 2) muestran que los sustratos principales de la mayor parte de las especies bacterianas metanogénicas termofílicas son el H₂ y CO₂ para formar CH₄. El CO₂ es el aceptor final de electrones de las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas. Dado que la actividad microbiana aumenta con la temperatura, esto puede ayudar a que las BM a 55°C tomen la reacción más sencilla de obtención de sustrato de la materia carbonosa, que en este caso es $4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$.

La Tabla 4.9 muestra que el volumen de metano es directamente proporcional a la temperatura. Puede deducirse que la temperatura no sólo incrementa la velocidad de reacción sino que, igualmente, aumenta el volumen producido de metano. Lo mismo fue obtenido por Lokshina y Vavilin (1999), quienes realizaron una investigación sobre metanogénesis en suelos desde 6 a 28°C en pruebas intermitentes. El volumen de metano generado a 28°C fue 13 veces mayor al obtenido a 6°C.

Visser y col. (1992) elevaron la temperatura de un reactor mesofílico a 55°C. Como resultado del cambio drástico de temperatura, obtuvieron el cese completo de la producción de metano y H₂S que tenían a condiciones mesofílicas. La actividad sulfato-reductora se recuperó más rápidamente que la actividad metanogénica (hasta después de 45 días). Lo mismo sucedió en



la presente investigación. Fue hasta el día 60, en el que la producción de metano fue similar a la obtenida en condiciones mesofilicas. La producción de H_2S se recuperó más rápidamente a $55^\circ C$ que a $45^\circ C$, antes del día 50 como puede verse en las Figuras 4.9 y 4.10. Esto demuestra que la actividad metanogénica es más sensible que la actividad sulfato-reductora.

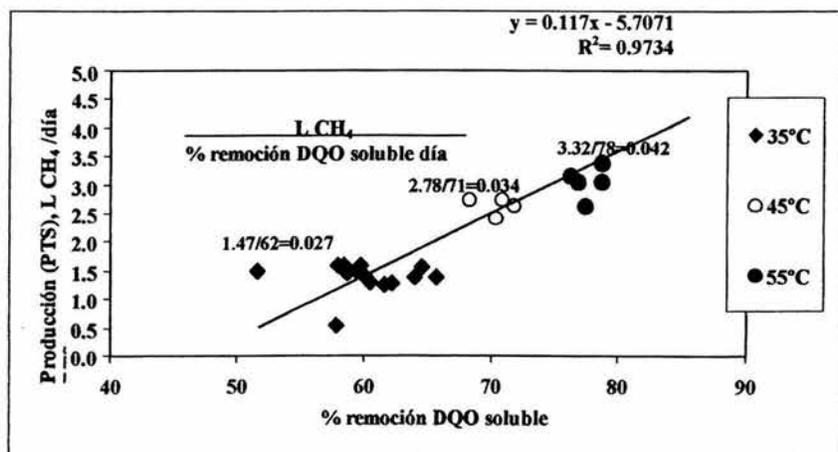


Figura 4.7 Remoción de DQO soluble en relación con la producción de CH_4 de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y $55^\circ C$

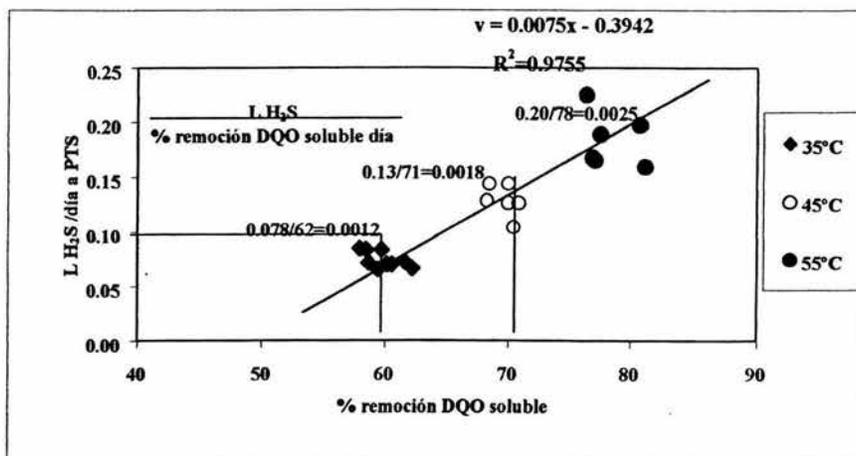


Figura 4.8 Remoción de DQO soluble en relación con la producción de H_2S de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y $55^\circ C$



Algunos estudios sobre reactores mesofílicos han encontrado el efecto del incremento de la temperatura. Van Lier y col. (1990) encontraron que un reactor RALLFA a 38°C fue incapaz de regenerar su bioactividad después de un choque de temperatura a 64°C por 5 horas. En otro estudio, Lescure y col. (1988) encontraron que la eficiencia de remoción de DQO de microorganismos mesofílicos en un filtro anaerobio se redujo desde 85 a 45% después de un choque de temperatura de 7 horas a 50°C. Los resultados de la presente investigación indican también que las BM son muy sensibles a los choques de temperatura y, por ende, producen menos gases. Otros reportes indican que los microorganismos termofílicos poseen mayor estabilidad que los mesofílicos (Van Lier y col., 1996; Lau y Fang, 1997). En la presente investigación, CH₄ y de H₂S se estabilizó después de 200 días de operación. Por tanto, resultados obtenidos por medio de choques de temperatura en duración de horas o días para determinar la competencia de las BM con cualquier otro tipo de bacterias generan resultados poco confiables. Simplemente no son las condiciones adecuadas para un estudio de competencia microbiana.

Van Lier y col. (1996) encontraron que los gránulos termofílicos presentaban una alta termoestabilidad en un intervalo de 45 a 60°C en un RALLFA de flujo continuo y en pruebas con viales. Esto puede compararse con los resultados obtenidos en la presente investigación a 55°C, pero no con los resultados obtenidos a 45°C, debido a que la estabilidad en los parámetros determinados a 45°C fue menor que la de los obtenidos a 55°C ó 35°C después de una exposición de 100 días a ambas temperaturas.

Los resultados muestran que la producción de H₂S en el biogás por las BSR es paralela a la producción de CH₄ de las BM aunque no puede inferirse que exista inhibición de las BSR a 55°C. La remoción de DQO soluble se incrementó a 55°C ya que la fuente de carbono es utilizada por ambas biocomunidades. En la presente investigación, la actividad microbiana se incrementa con la temperatura, por lo que los estudios realizados en el apartado 4.3.1.3 podría resolver si las BSR o las BM fueron las que consumieron mayor o menor cantidad de materia orgánica.

Como los gases tienden a ser desorbidos a altas temperaturas, los datos del reactor a 55°C podrían analizarse en este contexto, con respecto a las otras dos temperaturas. Más adelante se presenta un análisis del fenómeno empleando la información termodinámica correspondiente. En esa discusión, se considera el equilibrio gas-líquido usando la ley de Henry para determinar la producción de H₂S total considerando la concentración de H₂S presente en la fase líquida y en la fase gaseosa.

La Figura 4.12 muestra la productividad global de los reactores en cuanto a biogás generado por unidad de DQOs removida, denominada $Y_{\text{biogás}}$. Los valores fueron 0.38, 0.51 y 0.57 m³ biogás PTS/kgDQOs removido, a 35, 45 y 55°C, respectivamente. De manera similar, la Figura 4.13 presenta la producción de CH₄ de los tres reactores. Los datos obtenidos en la fase estable son para la Y_{CH_4} : 0.46, 0.65 y 0.85 kgDQO-CH₄/kgDQOremovida a 35, 45 y 55°C, respectivamente.



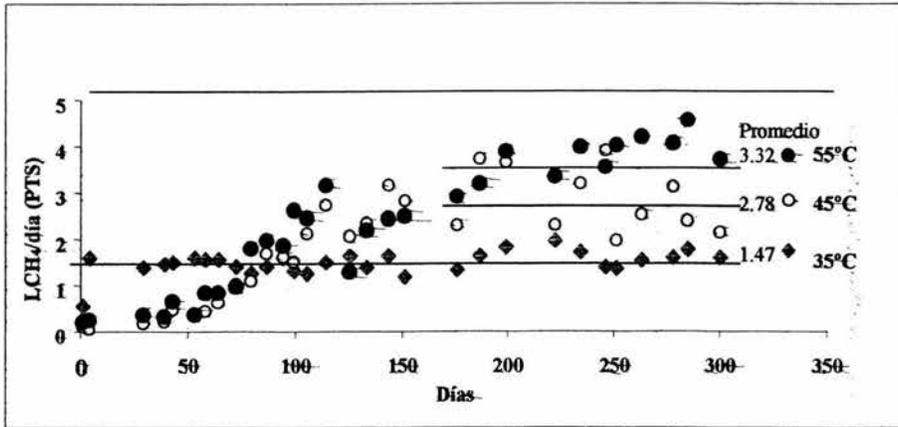


Figura 4.9 Volumen de CH_4 generado en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

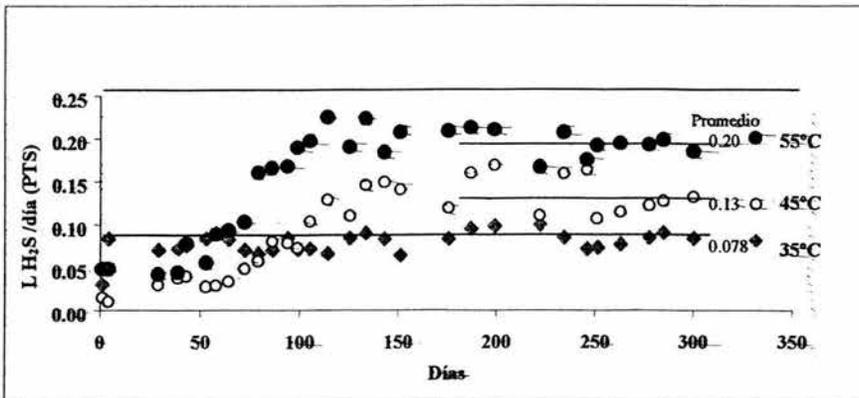


Figura 4.10 Volumen de H_2S generado en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

Fang y Chung (1999) trabajaron en el tratamiento de aguas residuales proteináceas experimentando con diferentes cargas orgánicas a 35 y 55°C. Ellos concluyeron que el reactor a 55°C no soportó cambios de cargas como el reactor de 35°C. Al incrementar la carga orgánica de 2 a 10 $\text{gDQO}/\text{Ldía}$, la eficiencia del reactor a 55°C disminuyó, a diferencia del reactor de 35°C. Así, a condiciones mesofílicas y termofílicas obtuvieron 0.85 y 0.72 $\text{gDQO-CH}_4/\text{kgDQOremovida}$, respectivamente, pero el reactor mesofílico se deterioró súbitamente al final del experimento. Probablemente fue debido a que la biomasa termofílica incrementa su velocidad de reacción y, de esta forma, soporta cargas mayores una vez que la biomasa está adaptada a la temperatura de 55°C, como indica la Tabla 1.3. Los resultados a condiciones

termofílicas de Fang y Chung (1999) son análogos a la presente investigación a diferencia del valor obtenido a condiciones mesofílicas.

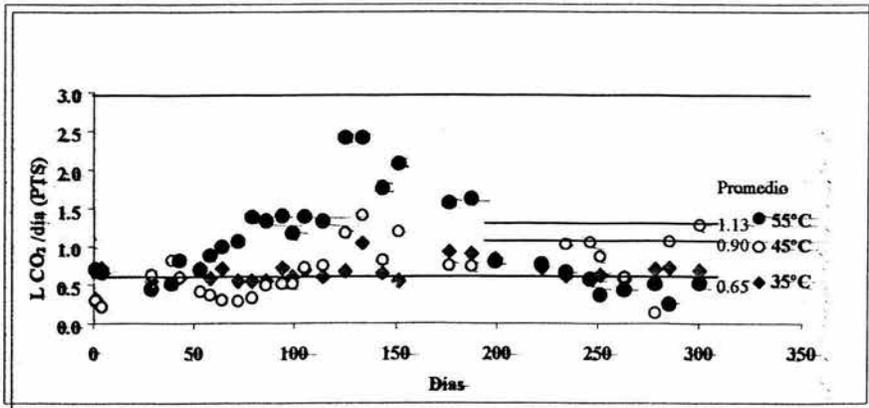


Figura 4.11 Volumen de CO₂ generado en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

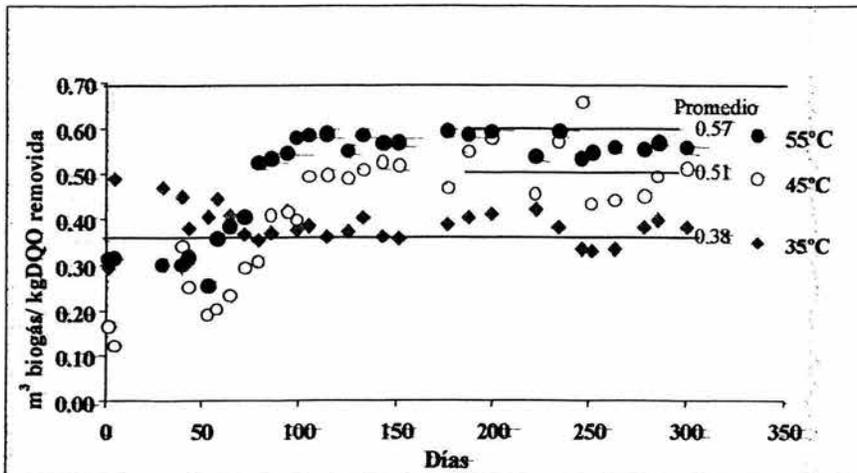


Figura 4.12 Rendimiento de biogás en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

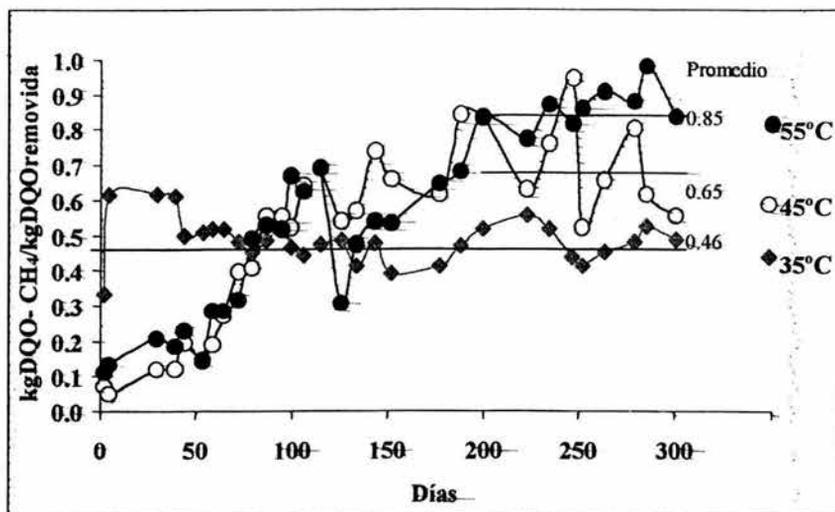


Figura 4.13 Rendimiento de CH_4 en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

La Figura 4.14 presenta la producción de CH_4 pero ahora en relación con el volumen del reactor. Los valores promedio en la fase pseudo-estable son 0.60, 1.07 y 1.51 m^3CH_4 PTS/ m^3 reactor día, a 35, 45 y 55°C, respectivamente.

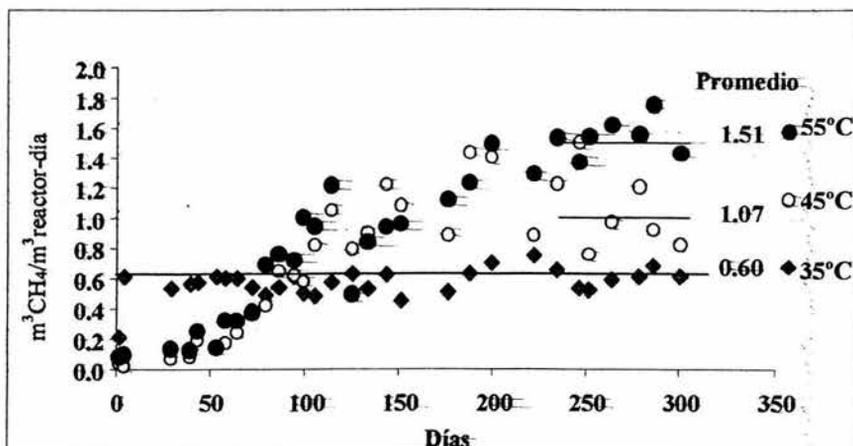


Figura 4.14 Velocidad de producción de CH_4

Esto implica que, el CH₄ obtenido a 35°C se tiene un 41% más a 45°C y más del 110% a 55°C. Es claro que, a mayor temperatura, la producción de metano se incrementó.

Las Figuras 4.15 y 4.16 muestran la concentración de sulfatos presentes a las tres temperaturas en las vinazas sin tratar y tratada, así como los porcentajes de remoción, los cuales indican que, a mayor temperatura, la remoción de sulfatos es mayor.

La Tabla 4.10 muestra los resultados obtenidos por Griffin y col. (1998) en un trabajo sobre la degradación anaerobia de biosólidos a 37 y 55°C en presencia de sulfatos. Los resultados de la presente investigación al igual que los de la investigación de Griffin y col. (1998) indican un aumento con respecto a la remoción de sulfatos y la producción de CH₄. Griffin y col. (1998) comentan en su trabajo que las BSR estuvieron activas en cada digestor. Ellos realizaron un conteo de las BSR presentes en sus digestores obteniendo un menor número de las BSR a condiciones termofílicas pero un porcentaje de remoción de sulfatos mayor que a 37°C. Puede deducirse que, a condiciones termofílicas, disminuye el número de especies de las BSR presentes en el sistema, pero su actividad se incrementa. Esto es claro ya que las BSR remueven un mayor porcentaje de sulfatos a condiciones termofílicas.

Tabla 4.10 Resultados de otras investigaciones a condiciones mesofílicas y termofílicas

Parámetro	Patel y Madamwar, 2002			Este trabajo			Dinsdale y col., 1997a	
	37°C	45°C	55°C	35°C	45°C	55°C	35°C	55°C
kgDQO/m ³ día	3.60	3.60	3.60	7.06	7.06	7.06	5	5
% remoción de DQO	98	96	98	62	71	78	78	70
m ³ biogás/m ³ reactor día	2	3.10	2.70	2.08	2.40	2.51	0.375	0.333
m ³ CO ₂ /m ³ reactor día	0.50	1	1	0.43	0.56	0.31	-	-
m ³ CH ₄ /m ³ reactor día	1.36	1.40	1.20	0.92	1.74	2.07	0.239	0.235
m ³ CH ₄ /kgDQOremovida día	0.37	0.38	0.33	0.23	0.37	0.47	0.29	0.27
	Griffin y col. (1998)							
% CH ₄	54	-	65	66	-	85		
% remoción de sulfatos	90	-	97	60	-	75		

En la misma Tabla 4.10 se observan los resultados obtenidos por Patel y Madamwar (2002) sobre una investigación con aguas residuales petroquímicas en un reactor anaerobio de flujo ascendente de lecho fijo. Los resultados de Patel y Madamwar no son diferentes a los obtenidos en la presente investigación, exceptuando la producción de metano que es mayor en esta investigación con respecto que la obtenida por Patel y Madamwar (2002). Asimismo, se muestran los resultados obtenidos por Dinsdale y col. (1997a,b) para el tratamiento de aguas residuales de la industria del café, en reactores (mesofílico y termofílico) donde los valores a 35 y 55°C fueron muy semejantes entre sí. Patel y Madamwar (2002) obtuvieron valores menores de m³CH₄/kgDQOremovida-día a condiciones termofílicas que los resultados obtenidos en la presente investigación, probablemente debido a las características del agua residual y no tanto al efecto de la temperatura. Esto podría confirmarse con los datos de



Dinsdale y col. (1997a,b) quienes señalan que los iones sodio presentes en su agua residual afectan la productividad de metano a condiciones termofílicas.

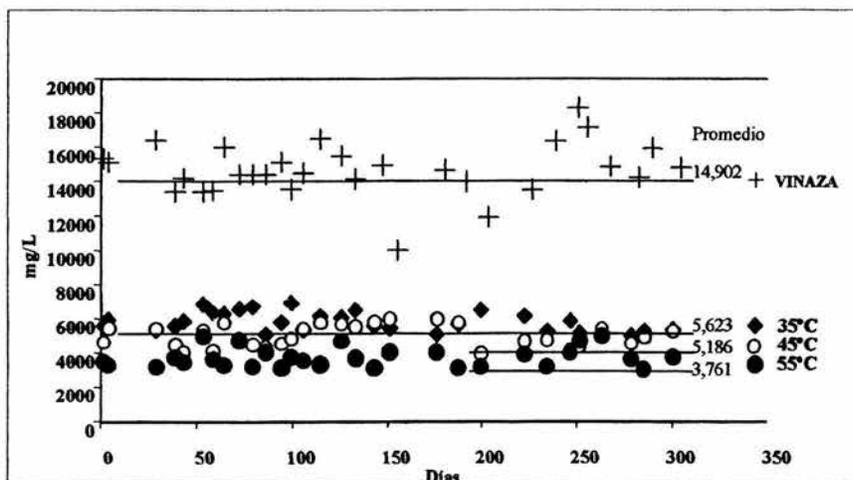


Figura 4.15 Concentración de sulfatos en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

El estudio de los valores de 35 y 55°C con la prueba de T student, con un nivel de significación o de aceptación de 95%, indican que hay una diferencia significativa entre los grupos de valores de 35 con 55°C y de 45 con 55°C, pero que no hay diferencia significativa entre 35 y 45°C, lo que indica que el porcentaje de remoción de sulfatos en condiciones termofílicas es mayor que a condiciones mesofílicas y mesofílicas intermedias.

La Figura 4.17 presenta la tasa de consumo de sulfatos con respecto a la productividad de metano. Puede verse que son directamente proporcionales. En el apartado 2.2, se mencionó que el azufre es un nutrimento esencial para las BM, lo que podría explicar que la población metanogénica se multiplica consumiendo parte del azufre disuelto. Por tanto, parte de la remoción de sulfatos podría deberse a ese consumo de las BM termofílicas para su desarrollo.

Otros investigadores que también estudiaron la degradación de los sulfatos fueron Smul y col. (1999). Ellos evaluaron el efecto de la relación DQO:sulfatos y la temperatura en un reactor anaerobio tratando etanol. El estudio consistió en el aumento y decremento relativamente súbitos de la temperatura de operación, subiéndola de 33 a 55 y regresando a 33°C. La remoción, tanto como de DQO como de sulfatos, disminuyó drásticamente al aumentar la temperatura (hasta un 50%) y, al reducirla, aumentó pero muy lentamente. Estos resultados parecen reforzar la estrategia que se siguió en esta investigación ya que, aunque la



estabilización tomó un tiempo muy largo, una vez estable el sistema, la eficiencia de remoción tanto de sulfatos como de materia orgánica medida como DQO es mucho mejor.

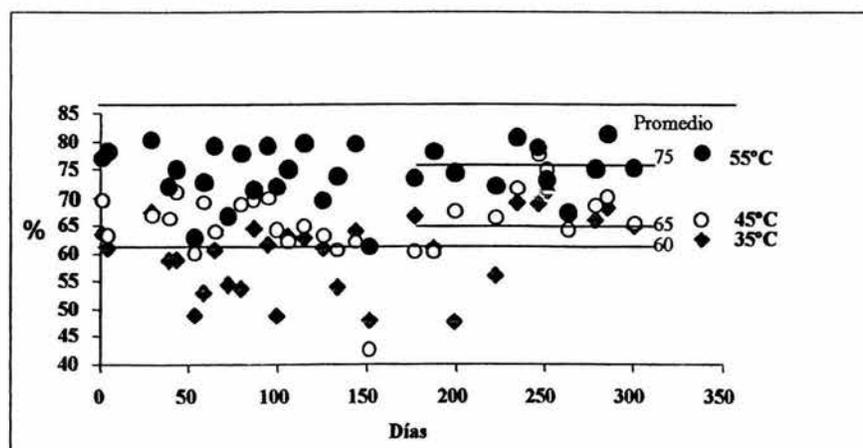


Figura 4.16 Remoción de sulfatos en efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

Espinoza y Noyola (1992) obtuvieron una remoción de sulfatos del 96% en el tratamiento anaerobio de vinazas diluidas a 35°C con una relación de DQO/sulfatos de 11. Visser y col. (1993b) trabajaron en un reactor anaerobio a 30°C a diferentes relaciones DQO/sulfatos. Una de ellas fue 10.4, cercana a la de la presente investigación. Ellos obtuvieron un porcentaje de remoción de sulfatos de 81%. Los valores obtenidos por los dos trabajos mencionados son mayores al obtenido en la presente investigación. Puede ser interpretado que, lógicamente, cuando la actividad sulfato-reductora se incrementa, la remoción de sulfatos se incrementará también. La Tabla 2.8 mostró la relación que existe de predominio entre las BSR y las BM dependiendo de la relación de DQO/sulfatos de las investigaciones de varios autores. Visser y col. (1993b) hicieron experimentos a relaciones de DQO/sulfatos de 10.4, 3.6 y 0.6. El porcentaje de remoción de sulfatos que obtuvieron fue de 81, 91 y 18%, respectivamente. A una relación DQO/sulfatos de 0.6 obtuvieron una mayor actividad sulfato-reductora aunado a un bajo porcentaje de remoción de sulfatos, pero a una mayor utilización de la concentración de sulfatos que a las otras dos relaciones de DQO/sulfatos. Puede deducirse de esta información que el porcentaje de remoción de sulfatos no es un factor para determinar el nivel de sulfato-reducción en un sistema. En el caso de la presente investigación, la concentración de sulfatos en la fase líquida fue igual en los tres reactores, pero la utilización de sulfatos fue ligeramente mayor a 55°C. La producción de H₂S, como producto de la actividad sulfato-reductora, es casi la misma a las tres temperaturas cuando se considera el H₂S presente en la fase líquida, lo que puede implicar que la actividad sulfato-reductora puede determinarse por la propia producción de H₂S y no por la remoción de sulfatos en el sistema.



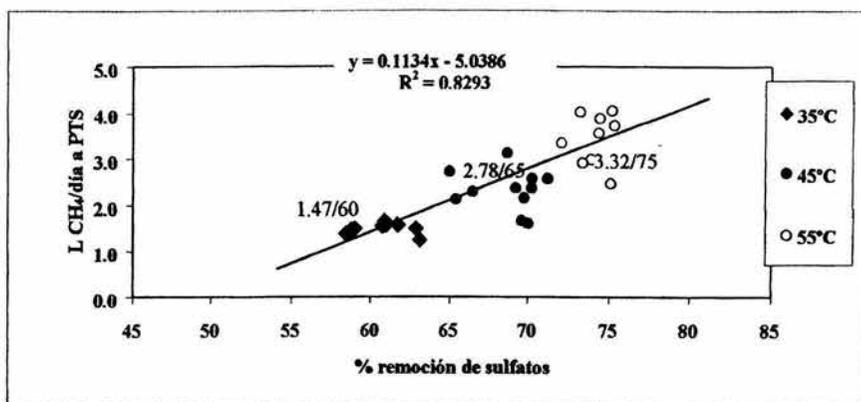


Figura 4.17 Producción de CH₄ en relación con la remoción de sulfatos de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

La Figura 4.18, al igual que la 4.17, correlaciona el porcentaje de remoción de sulfatos con la producción de H₂S. De los valores de las pendientes de ambas rectas (0.1134 versus 0.0079) puede reforzarse la suposición establecida párrafos arriba de que una parte de los sulfatos disueltos son usados como fuente de azufre por las BM más que para la producción de H₂S. La carga diaria de sulfatos alimentados fue de 41.27 mgSO₄⁻²/día y es equivalente a las tres temperaturas y en los tres efluentes fue de 545.5, 487.5 y 356.3 mgSO₄⁻²/día. Apparently, los resultados indican que la temperatura favorece a ambos tipos de bacterias, las BM y las BSR.

La Figura 4.19 presenta el parámetro de alcalinidad indicando el desequilibrio ocurrido alrededor del día 200 por el problema de falta de suministro de corriente eléctrica, así como la recuperación después de un mes. Los valores de la relación de alcalinidad explicados en el apartado 2.7.1 y 3.3.1, mostrados en la figura, caen dentro del intervalo de 0.25 para 45 y 55°C mientras que durante el desequilibrio, el resultado estuvieron cercanos a 0.5. Debido al fallo eléctrico, la desestabilización fue para los reactores a 45 y 55°C a diferencia del reactor de 35°C, que pudo conservar una estabilidad continua. La relación de alcalinidad oscilaba alrededor de 0.12 para el reactor de 35°C. El hecho de recobrar el equilibrio se debió en gran parte a la fórmula amortiguadora adicionada en la alimentación. El método para recobrar la eficiencia del funcionamiento habitual del reactor es aumentar en la alimentación la formulación en un 10% (0.9 gCa(OH)₂/L y 1.32 gNaHCO₃/L) para disminuirla a sus concentraciones normales (0.78 gCa(OH)₂/L y 1.2 gNaHCO₃/L) cuando se alcanza el equilibrio. También debe disminuirse el flujo de alimentación en un 10% (de 0.0027 a 0.0024 L/día), que también debe reestablecerse una vez que la estabilidad es recobrada. Espinoza y Noyola (1992) tuvieron un desequilibrio en su reactor anaerobio, para el tratamiento de vinazas diluidas, recuperándolo después de 12 días con la adición a la alimentación de 4gNaHCO₃/L. En esta investigación, la estabilización se alcanzó después de 5 días con una



cantidad sustancialmente menor de bicarbonato de sodio. La explicación puede radicar en el hecho de tener una concentración de materia orgánica mucho mayor que, al biodegradarse, genera una mayor proporción de CO₂ que actúa como amortiguador del sistema.

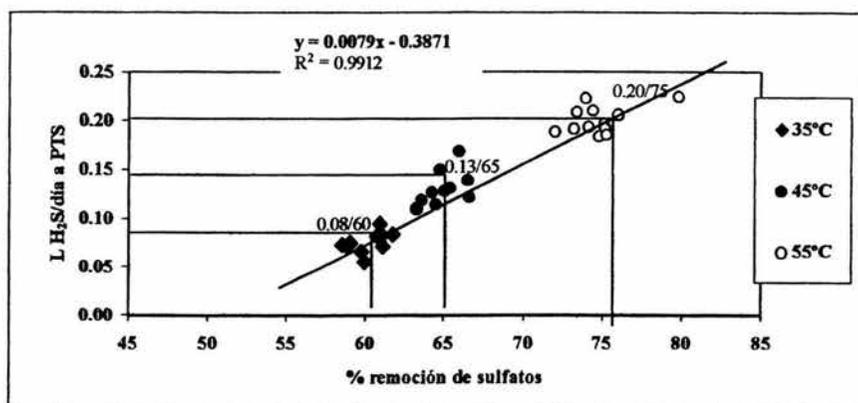


Figura 4.18 Producción de H₂S en relación con la remoción de sulfatos de los reactores de 1.6 L. a 35, 45 y 55°C

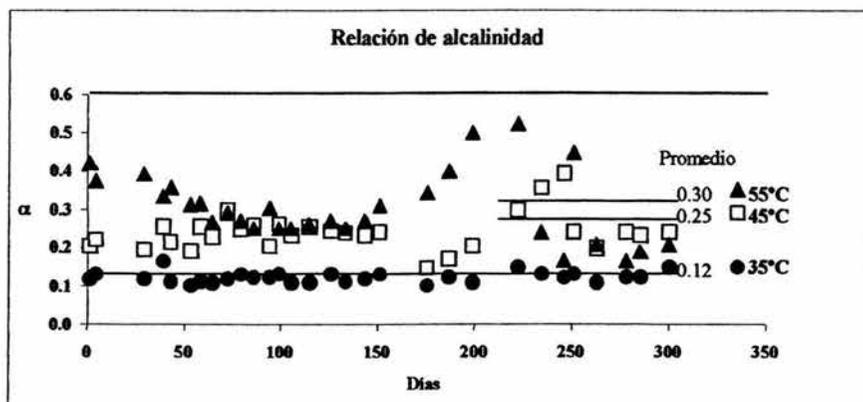


Figura 4.19 Relación de alcalinidad como parámetro de control en el efluente de los reactores de 1.6 L. a 35, 45 y 55°C

Espinoza y Noyola (1992), quienes tuvieron en promedio valores de la relación de alcalinidad de 0.4 hasta 0.59, concluyeron que se debía a la acumulación de ácidos grasos volátiles en el reactor, específicamente, una alta concentración de ácido propiónico (de 3,000 mg/L). En esta investigación no se hizo un seguimiento de ácidos grasos durante la operación de los tres



reactores pero, muy probablemente, al interrumpirse el suministro de energía eléctrica y bajar la temperatura de los sistemas, podrían haberse generado ácidos orgánicos que hicieron que la relación de alcalinidad se incrementara entre 0.40 y 0.54 en los reactores que estaban operando a 45 y 55°C.

La Figura 4.20 muestra las concentraciones de carbono promedio en las vinazas, 60.55 gC/L. En el período estable se obtienen 30.05 a 35°C, 18.61 a 45°C y 12.55 gC/L a 55°C. Los resultados indican que, tanto las BM como las BSR, poseen cierta actividad para la conversión del carbono a CH_4 y CO_2 y la energía necesaria para la producción de H_2S , conforme la temperatura aumenta de 35 a 55°C, especialmente en la etapa estable.

La Figura 4.21 muestra que los promedios de las concentraciones de nitrógeno son 1.47, 1.03, 0.52 y 0.10 gN/L, para las vinazas y los efluentes de los reactores a 35, 45 y 55°C, respectivamente. Las tendencias son similares a las del carbono. Las concentraciones de nitrógeno en las vinazas son bajas, mucho más bajas que las concentraciones de azufre. Cuando fueron realizadas las pruebas en viales, la producción de amoníaco gaseoso a partir de la fuente de nitrógeno se detectó en concentraciones bajas, 0.097, 0.235 y 0.534 g NH_3 /gN alimentado ó 0.13, 0.31 y 0.70 L NH_3 /gN alimentado a los reactores a 35, 45 y 55°C, respectivamente. Estos valores se incluyen en la presente investigación para referencia de otras investigaciones del tratamiento de vinaza.

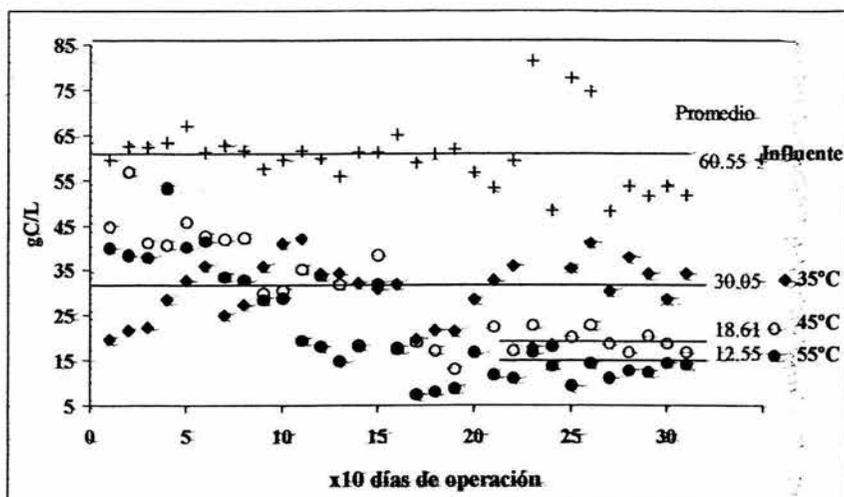


Figura 4.20 Concentración de carbono total en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C



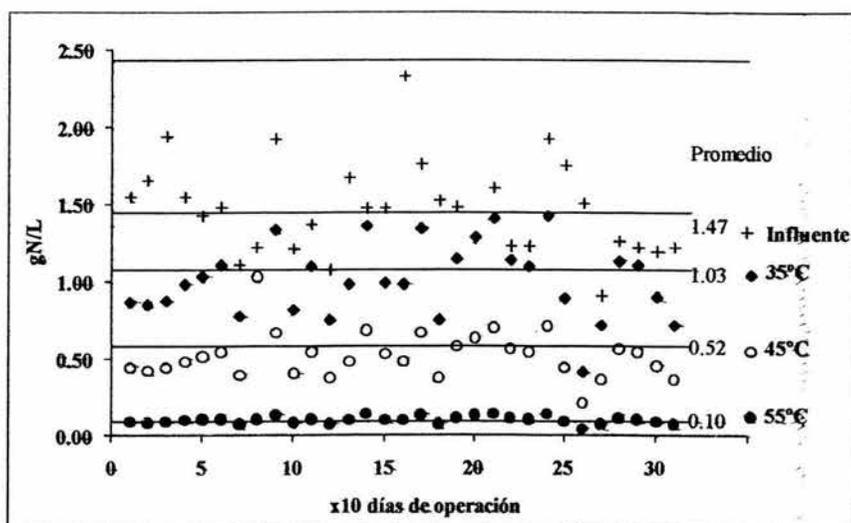


Figura 4.21 Concentración de nitrógeno total en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

La Figura 4.22, a diferencia de la Figura 4.15, presenta la masa diaria de azufre total en las vinazas y en los efluentes de los tres reactores. En estos valores se incluyen todas las formas de azufre presentes en la fase líquida (H_2S disuelto, sulfuros, sulfatos, etc.). Los compuestos azufrados están en menor proporción en el reactor a 55°C mientras que, en el que opera a 35°C, están en mayor proporción. Debe mencionarse que, en los tres reactores, en la parte superior del colector de efluentes fue observada en forma continua una capa de nata de color amarillo brillante sobre la superficie del líquido. Por ello, para la toma de muestras de los efluentes se mezclaba perfectamente antes de realizar los análisis correspondientes. El azufre determinado por el analizador elemental involucra todos los compuestos químicos de azufre, incluido el azufre elemental. En párrafos posteriores se hará un análisis de estos resultados a la luz de lo que se obtuvo para la composición del biogás producido en cada reactor.

La Figura 4.23 presenta los resultados de los sólidos suspendidos volátiles de las vinazas y los efluentes de los reactores. Puede observarse que, para el reactor de 55°C, los valores de SSV son elevados; esto significa que se dio un fenómeno de "elutriación" de la biomasa al cambiarle la temperatura de 35 a 55°C en forma súbita en la primera fase de esta investigación (1 a 100 días). El comportamiento concuerda con la información de la literatura (Lepistö y Rintala, 1997), que indica las pérdidas de biomasa mesofílica durante el cambio de temperatura, en el periodo de adaptación. El reactor de 45°C no presenta este fenómeno, ni ha sido informado en la literatura consultada. Esto querría decir que una elevación de 10°C no es tan significativa para las bacterias que una de 20°C. Otra investigación con relación a esto, son los estudios realizados por Lau y Fang (1997), en la que se redujo la temperatura de 65°C a



37°C provocando una severa "elutriación" de la biomasa termofílica en los reactores. En los apartados 2.6.1 y 2.6.2, sobre la lisis de las bacterias anaerobias, quedó claro que estos cambios drásticos de temperatura afectan a las poblaciones que proliferan en ellos y esto fue lo que ocurrió con el arranque del reactor de 55°C. Experimentalmente pudo observarse a simple vista que la biomasa de este reactor, desde el primer día, empezó a flotar y se requirieron casi 150 días para que estas biocomunidades se estabilizaran.

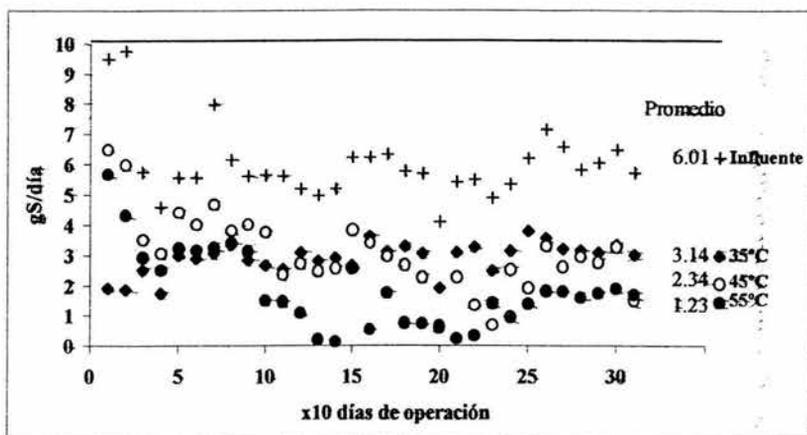


Figura 4.22 Masa diaria de azufre total en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

Soto y col. (1992) incrementaron la carga orgánica lentamente en un reactor anaerobio termofílico y en otro mesofílico. Ellos observaron un escape mayor de sólidos suspendidos volátiles en el efluente del sistema termofílico que en el sistema mesofílico al incrementar la carga orgánica. En la presente investigación, como puede verse en la Figura 4.23, al incrementar la temperatura en el inóculo mesofílico aumenta la "elutriación". Ellos recomiendan la necesidad de una adaptación mayor a 1000 días para adquirir en la biomasa termofílica propiedades floculentas o granulares (Soto y col., 1992).

Soto y col. (1992) también investigaron en las biomasas termofílica y mesofílica el efecto de cambios en sus propiedades aglutinantes. Su biomasa termofílica poseía siempre propiedades de lodo disperso, mientras que la biomasa a 35°C era granular. En la presente investigación todos los lodos (a 35, 45 y 55°C) siempre fueron de tipo floculento. Es, por tanto, factible considerar que el tipo o las características del agua residual ejerzan algún efecto en esta propiedad. Será interesante en investigaciones futuras evaluar este fenómeno.

La Figura 4.24 muestra la información de los sólidos volátiles totales (en la biomasa y disueltos), que concuerda con el comportamiento de los sólidos volátiles suspendidos. La Figura 4.25 proporciona la información sobre sólidos fijos.



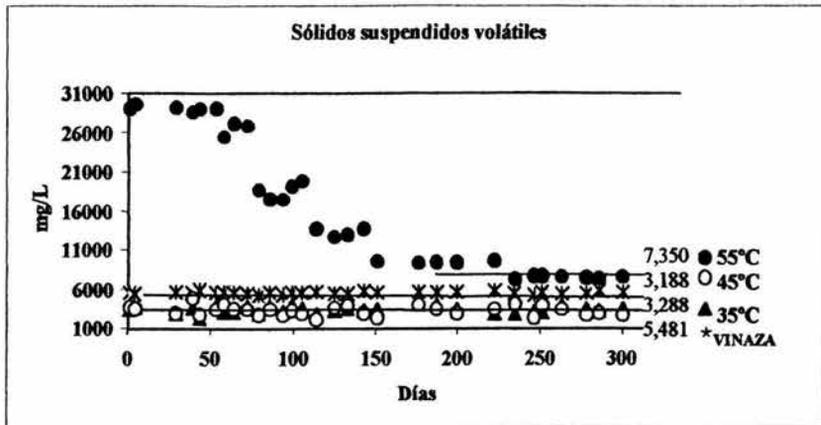


Figura 4.23 Concentración de sólidos suspendidos volátiles en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

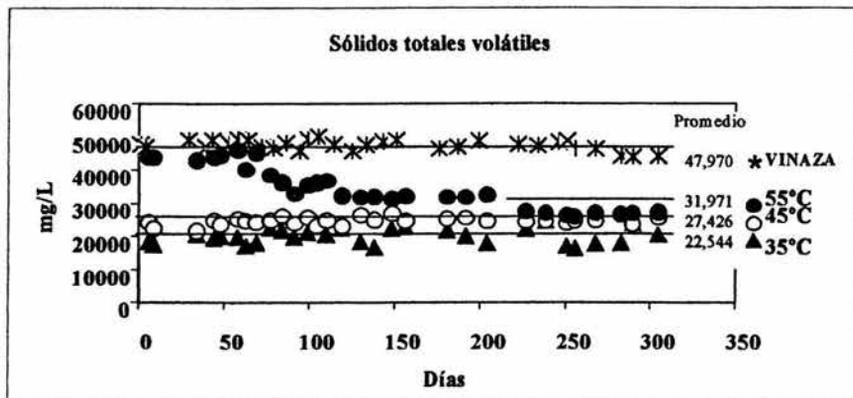


Figura 4.24 Concentración de sólidos totales volátiles en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

Los datos indican que la concentración de materia inorgánica medida indirectamente como sólidos totales fijos es mayor en los efluentes de los reactores a las temperaturas menores (35 y 45°C) con respecto de los sólidos que vienen con las vinazas y de las sales de calcio empleadas para amortiguar el valor de pH (un solo recipiente de alimentación completamente mezclado con tres líneas, una para cada reactor, alimentando la misma concentración a los tres reactores). Como los datos del reactor de 55°C son equivalentes puede suponerse que el calcio está siendo ocluido con la biomasa que no es "elutriada" del reactor. Esto no pudo



corroborarse ya que el color de los tres tipos de sólidos "elutriados" con el efluente era prácticamente idéntico. Tampoco se midió la densidad para probar si existían diferencias entre ellos. Esto queda como una incógnita a resolver como actividad a realizar en futuras investigaciones.

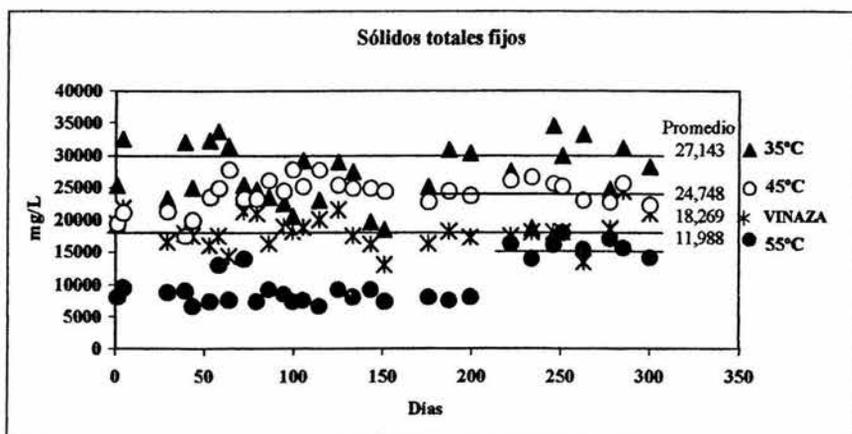


Figura 4.25 Concentración de sólidos totales fijos en el influente y efluente de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

Los resultados que se evaluarán a continuación son los que se refieren a la generación de biogás. Para ello, se presenta el estudio termodinámico que proporciona mayor información con respecto a la producción de CH_4 y H_2S y su desorción a la fase gaseosa. En los siguientes apartados se ilustrará la competencia entre las BSR y las BM a la luz de la discusión de los nuevos resultados de la presente investigación.

4.2.4 Equilibrio químico de gases

La Tabla 4.11 muestra los valores promedio encontrados en el estudio de la solubilidad de los gases generados en los tres reactores. Los valores se calcularon empleando el equilibrio gas-líquido de las especies químicas formadas. El procedimiento para calcular la solubilidad se describió en el apartado 2.9 considerando a las vinazas como agua pura. Como no se tiene un análisis químico completo (cualitativo o cuantitativo) de las vinazas, será conveniente realizar a futuro un estudio para determinar sus propiedades de polaridad y de solubilidad de gases. Con estos estudios se afinarán los resultados obtenidos en esta investigación.

De los tres gases formados, el más soluble en agua es el $\text{H}_2\text{S} \gg \text{CO}_2 > \text{CH}_4$. La Tabla 4.11 muestra que esta propiedad se conserva en la vinaza en tratamiento (66.7, 60.8, 50.8E-4 para H_2S ; 20, 17, 13E-4 para CO_2 y 0.9, 0.8, 0.7E-4 moles/d para CH_4 , en la fase líquida, a 35, 45 y 55°C, respectivamente). En la fase gaseosa, la presencia de los tres gases está justamente la



opuesta: $H_2S \ll CO_2 < CH_4$ (23, 39, 57E-4 para H_2S ; 198, 266, 323E-4 para CO_2 y 660, 1240, 1500E-4 moles/d para CH_4 , en la fase gaseosa, a 35, 45 y 55°C, respectivamente).

Tabla 4.11 Valores promedio del estudio del equilibrio químico de gases en los reactores de 1.6 L a las tres temperaturas*

Parámetro	Efluente		
	35°C	45°C	55°C
Flujo de gas, L/día+	3.33	5.82	7.29
Flujo de gas, L/día (PTS)	2.27	3.85	4.67
% CH_4 +	66	67	85
% CO_2 +	28.65	29.12	10.26
% H_2S +	3.42	3.52	4.13
L CH_4 /día	1.47	2.78	3.32
L CO_2 /día	0.65	0.90	1.13
L H_2S /día	0.08	0.13	0.20
CH₄			
mol CH_4 /día (fase gaseosa)+	0.066	0.124	0.148
Fracción mol CH_4 disuelto	0.00001949	0.000016507	0.000014043
mol CH_4 /L solución (fase líquida)	0.00108311	0.0009171	0.00078022
mol CH_4 /día (fase líquida)	0.00008663	0.00008049	0.000067345
mol CH_4 /día (fase gaseosa+ fase líquida)	0.06608663	0.12408049	0.148067345
CO₂			
mol CO_2 /día (fase gaseosa)+	0.01981	0.026627	0.032318
Fracción mol CO_2 disuelto	0.00045084	0.00035094	0.00027073
mol CO_2 /L solución (fase líquida)	0.025048	0.019498	0.0150418
mol CO_2 /día (fase líquida)	0.002003	0.001711	0.00129834
mol CO_2 /día (fase gaseosa+ fase líquida)	0.0218113	0.028338	0.03361634
mol H_2CO_3 /L solución	0.00008517	0.00006629	0.00005114
mol H_2CO_3 /día	0.00000681	0.00000582	0.00000441
mol HCO_3^- /L solución	0.000081	0.000069	0.000052
mol HCO_3^- /día	0.00000663	0.00000605	0.00000451
mol CO_3^{2-} /L solución como $CaCO_3$	0.000000456	0.000000426	0.000000401
mol CO_3^{2-} /día como $CaCO_3$	0.000000040	0.000000036	0.000000023
H₂S			
mol H_2S /día (fase gaseosa)+	0.0023755	0.0039822	0.0056814
Fracción mol H_2S disuelto	0.001499901	0.0012466	0.0010584
mol H_2S /L solución (fase líquida)	0.0833334	0.069266	0.058807
mol H_2S /día (fase líquida)	0.0066658	0.0060794	0.0050759
mol H_2S /día (fase gaseosa+ fase líquida)	0.0090413	0.0100616	0.0107573
mol HS^- /día (fase líquida)	0.006065	0.005532	0.004619
mol H_2S (no ionizado) /día (fase líquida)	0.0006008	0.0005474	0.0004569
mol S^{2-} /día (fase líquida)	0.000521	0.000457	0.000298
mol SO_4^{2-} /día (fase líquida)	0.0042	0.0033	0.0017
mol SO_4^{2-} transformados/día	0.0092026	0.009776	0.0111672

* Todos los valores son calculados a partir de los datos de flujo de biogás a PTS con la ley de Henry
+ Datos experimentales promedio



De la Tabla 4.11 es entendible que no solamente la temperatura está ejerciendo un efecto en la desorción (menor solubilidad) sino, primordialmente, en la reacción química de conversión de los compuestos orgánicos e inorgánicos disueltos a gases por las BM y las BSR.

En el caso del CH_4 , la solubilidad es tan baja que el mecanismo controlador es la reacción química, aumentando su contenido en la fase gaseosa con respecto a la líquida entre 35 y 55°C (de 0.000087 a 0.066 moles/día a 35°C y de 0.000067 a 0.148 moles/día a 55°C). Para el H_2S , se tienen 0.00667 moles/día en la fase líquida y 0.00238 moles/día a 35°C y 0.00508 y 0.00568 moles/día a 55°C, respectivamente, quedando claro que en este caso, el paso limitante está definido por su alta solubilidad. Aquí hay un área por estudiar que resulta interesante y que es un tema para continuar con esta investigación tratando aguas sintéticas con una mayor concentración de sulfatos en el influente.

La Figura 4.26 corrobora los resultados anteriores con la producción de CH_4 , tanto la parte que permanece en disolución como para la parte desorbida. Es evidente que la desorción del CH_4 hacia la fase gaseosa es mucho mayor. La masa de carbono involucrada en la conversión bioquímica es directamente proporcional a la temperatura (0.37, 0.54 y 0.63 gCH_4/gC), respectivamente. Harada y col. (1994) trabajaron en un reactor anaerobio, tipo RALLFA, para determinar el efecto de diferentes niveles de sulfatos entre las BSR y BM a cargas orgánicas bajas de glucosa. En esta investigación se determinaron las concentraciones de CH_4 en las fases gaseosa y líquida. Los resultados son análogos a los mostrados en la Figura 4.26 de la presente investigación. Harada y col. (1994) obtuvieron la concentración de CH_4 disuelto empleando la ley de Henry como se hizo en la presente investigación.

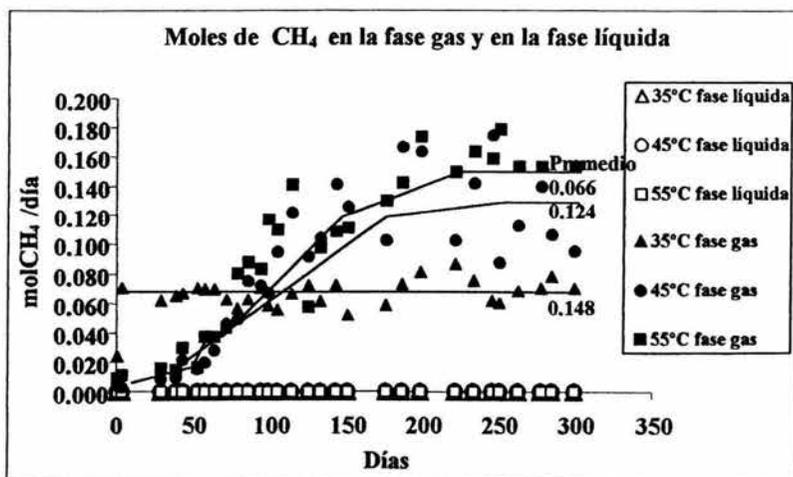


Figura 4.26 Producción en moles de CH_4 en las fases gaseosa y líquida en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C



Para el H₂S (Figura 4.27), la mayor parte se encontró en la fase disuelta y, conforme la temperatura se elevó, el H₂S se fue desorbiendo a una mayor proporción.

Las Figuras 4.28 a la 30 muestran la producción total en moles en la fase gaseosa y líquida para CH₄, CO₂ y H₂S, respectivamente, en los reactores en estudio. Es claro que la conversión a CH₄ se incrementa con la temperatura (Figura 4.28). Esto se corrobora con el aumento en la eficiencia de remoción de DQO (62, 71, 78% remoción de DQO soluble). Solera y col. (2000) determinaron la población microbiana en un reactor termofílico anaerobio. Encontraron que, del total de organismos, las poblaciones metanogénicas de reactores anaerobios de una sola etapa se incrementan cuando el TRH disminuye. En esta investigación no se estudiaron las poblaciones microbianas. Siguiendo lo establecido por Solera y col. (2000), a condiciones termofílicas, las poblaciones microbianas debieran ser menos numerosas que a condiciones mesofílicas, pero las poblaciones metanogénicas debieran incrementarse proporcionalmente al total. En esta investigación podría considerarse que ocurrió este fenómeno ya que la producción de metano aumenta.

Para el CO₂ (Figura 4.29), se tiene una gran dispersión especialmente en el lapso entre los 120 y los 180 días de experimentación. No se tiene una explicación para esto, pero lo que sí puede observarse es que la generación de CO₂ para los tres reactores está entre 0.01 y 0.03 moles/día y, que para la fase estable, son 0.022, 0.028 y 0.034 moles/día para las tres temperaturas en estudio (Tabla 4.11).

La Figura 4.30 muestra que, para el H₂S, una vez que se alcanza el régimen estable, la temperatura no influye en la conversión. Soto y col. (1992), como ya se mencionó, experimentaron en dos reactores anaerobios, uno mesofílico y otro termofílico incrementando la carga orgánica. En sus conclusiones mencionan que la producción de H₂S presenta un efecto inhibitorio en el reactor termofílico porque la eficiencia del reactor se deterioró a cargas orgánicas mayores de 10 kgDQO/m³día. En la presente investigación se operó a 7.06 kgDQO/m³día con los reactores de 1.6 L y a 12 kgDQO/m³día con el reactor de 10 L, que operaba mesofílicamente y en ninguno de ellos el H₂S presentó un efecto inhibitorio. De acuerdo con los resultados obtenidos por Soto y col. (1992), será interesante aumentar la carga de los tres reactores para corroborar el efecto de las dos variables, carga orgánica y temperatura. Con la información obtenida de estos experimentos, puede deducirse que no existe ningún efecto de la temperatura sobre la actividad de las bacterias sulfato-reductoras, ya que la producción de H₂S es la misma a 35, 45 y 55°C.

El análisis estadístico de los datos experimentales en los que se basó la construcción de las Figuras 4.26 a la 4.30 mostraron que, a 90% de confianza y 10% de nivel de significación, que la comparación de 35-45°C, 35-55°C y 45-55°C, tienen diferencias significativas solamente para el metano. Con un 95% de confianza y 5% de nivel de significación, solamente para la comparación de los resultados de metano a 35-55°C se encontró una diferencia significativa.



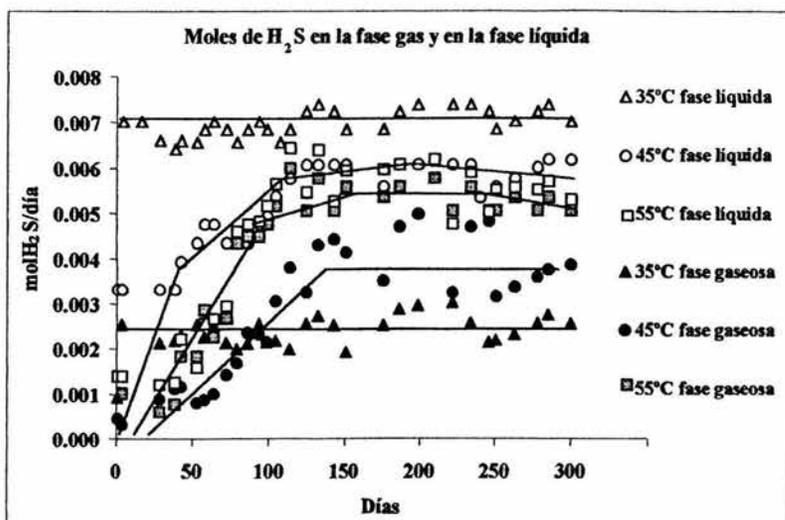


Figura 4.27 Producción en moles de H_2S de las fases gaseosa y líquida en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

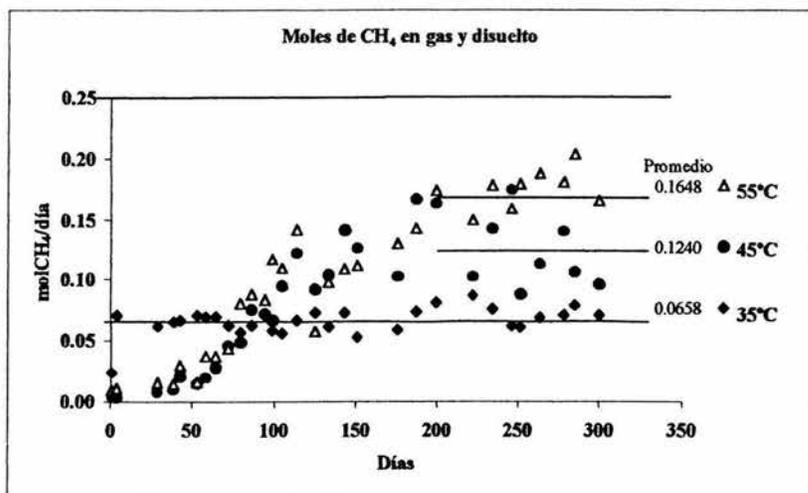


Figura 4.28 Producción total de CH_4 en moles (en las fases gaseosa y líquida) en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C



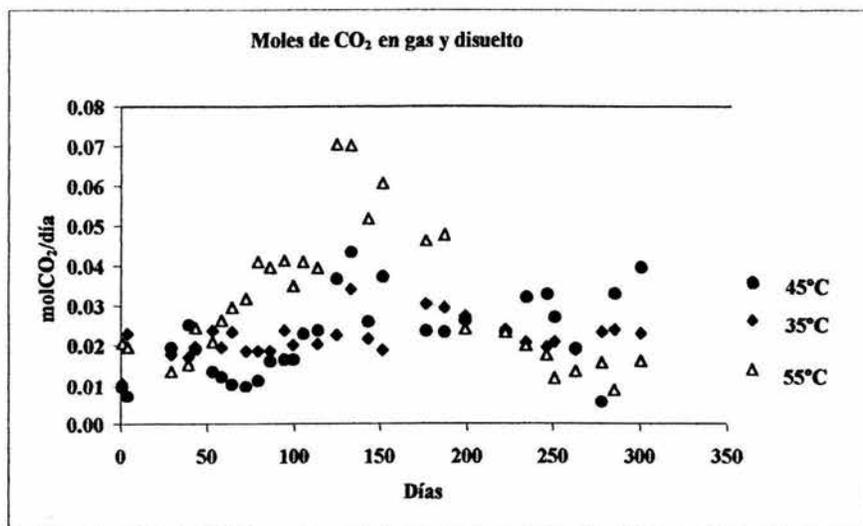


Figura 4.29 Producción total de CO₂ en moles (en las fases gaseosas y líquida) en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

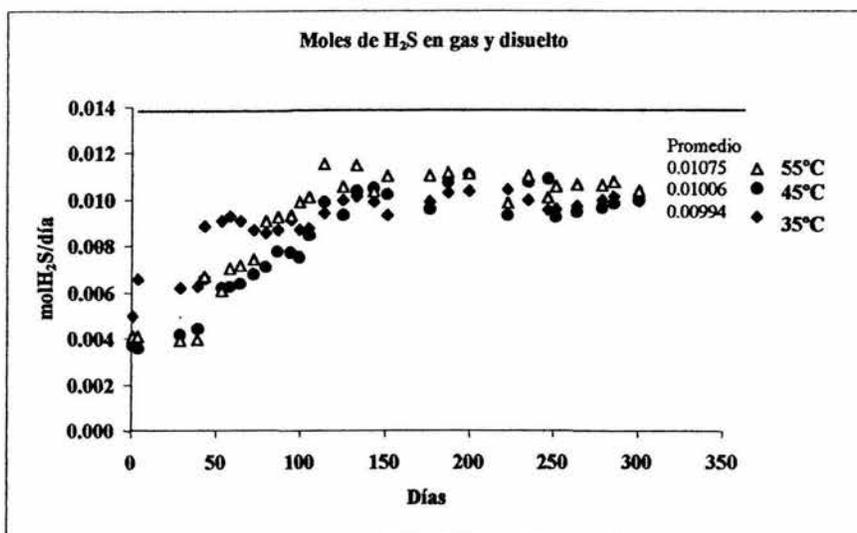


Figura 4.30 Producción de H₂S en moles (en las fases gaseosas y líquida) en los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C



Los resultados de la producción total del H_2S en las fases líquida y gaseosa no muestran diferencias significativas entre ellos a un nivel de significancia del 90%. Los resultados de la concentración de H_2S en la fase gaseosa presentan una diferencia significativa que aumenta entre el valor de 35 y el de 55°C y se encontró la misma diferencia para la fase líquida, en este caso disminuyendo.

4.2.4.1 Toxicidad del ácido sulfhídrico disuelto

El apartado 2.4 establece que no existe relación entre la concentración de H_2S con la inhibición de las BM o de las BSR. Pudo observarse en las investigaciones de referencia en las Tablas 2.12 y 2.13 esto mismo. En el presente trabajo, se obtuvieron a partir de los datos experimentales con información de tablas, las concentraciones promedio de H_2S no ionizado de 217, 198 y 165 mgH_2S/L , a 35, 45 y 55°C, respectivamente, a un pH de 8. Comparando los resultados anteriores, a 35°C, con la Tablas 2.12 y 2.13, puede observarse que, según los valores, deberían ocasionar inhibición tanto en las BSR como en las BM. Con objeto de corroborar si este fenómeno está realmente ocurriendo será necesario realizar experimentos a 35°C con diferentes concentraciones de H_2S no ionizado a pH constante, midiendo la producción de H_2S y CH_4 . Lo mismo deberá hacerse a las otras dos temperaturas en estudio. Para las BM, a 45°C hay inhibición tanto de las BM como de las BSR y a 55°C hay solamente inhibición de las BSR (Tabla 4.12). Esto puede confirmarse con la producción de CH_4 y H_2S .

La producción equivalente puede observarse en forma gráfica mediante la Figura 4.3I, donde la producción de H_2S no ionizada es directamente proporcional a la temperatura. Por otro lado, a mayor temperatura se tiene mayor producción metanogénica. Es decir, cuando se incrementa la temperatura, la cantidad de H_2S no ionizada en la fase líquida es menor debido a que, a mayor temperatura, una parte del H_2S generado es desorbida y, en consecuencia, en la fase líquida permanece una cantidad menor de H_2S . Con 217 mgH_2S/L , las BM a 35°C fueron inhibidas pero a mayor temperatura, como la producción de H_2S no ionizado es menor, la producción metanogénica se restablece. Los valores de H_2S no ionizado reportados en la literatura que provocan inhibición van desde 50 mg/L (Kroiss y Wabnegg, 1983), 90 a 250 mg/L (Koster y col., 1986) hasta 1000 mg/L (Isa y col., 1986a).

La inhibición de las BM por el H_2S ha sido objeto de varios estudios (Lawrence y col., 1964; Kroiss y col., 1983; Koster y col., 1986; Karhadkar y col., 1987; Hilton y Oleskiewicz, 1988). Todos los estudios evalúan la inhibición de las BM por los sulfuros bajo condiciones mesofílicas pero se conoce poco acerca de la toxicidad de los sulfuros para las BM termofílicas. Visser y col. (1993c) concluyeron de su investigación que para lodos granulares precultivados en presencia de sulfatos, los efectos tóxicos del H_2S no ionizado sobre la actividad metanogénica en ácido acético depende del valor de pH. A valores de pH alcalinos (7.95-8.00), la sensibilidad de las BM hacia el H_2S es más alta que a valores de pH neutros (7.10-7.20) o ácidos (6.35-6.40). Para lodos dispersos precultivados en ausencia de sulfatos, el efecto tóxico del H_2S sobre la actividad metanogénica en ácido acético es independiente del pH y el efecto tóxico de los sulfuros puede describirse en función del H_2S no ionizado.



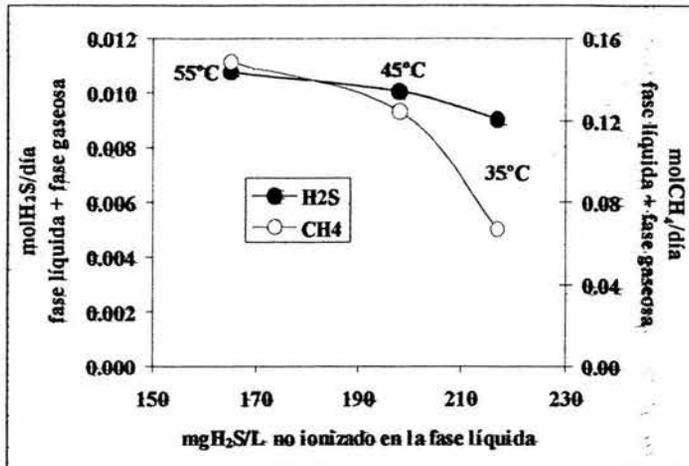


Figura 4.31 Relación de la presencia de H₂S no ionizado con la producción de CH₄ y H₂S

Tabla 4.12 Concentraciones de H₂S de inhibición y no inhibición para las BSR y BM

Biomasa	Sustrato	°C	pH	H ₂ S (mg/L)	Inhibición
Lodo suspendido	Vinazas	35	7.8-8.0	217	BM
		45	7.8-8.0	198	BM y BSR
		55	7.8-8.0	165	BSR

La presente investigación con los valores de producción de H₂S y CH₄ se puede decir que, las BM son menos sensibles que las BSR a las concentraciones de H₂S no ionizado, pH y temperatura que se tienen en el sistema. En esta investigación se corroboran los resultados obtenidos por Flaherty y col. (1998a, b), donde las BM en lodos anaerobios son menos sensibles a la inhibición por sulfuros que las BM en cultivos puros. Parece no haber diferencias significativas entre la biomasa adaptada a sulfatos y la no adaptada sino que el efecto está en la concentración de H₂S no ionizado y el pH.

Se han encontrado en la literatura pocos datos sobre la inhibición de las BSR por H₂S. Para las BSR degradadoras de ácido láctico se reportó una inhibición total con una concentración de H₂S no ionizado de 230 a 250 mg/L a valores de pH de 6.2-8.0 (McCartney y Oleskiewicz, 1991; Reis y col., 1992). McCartney y Oleskiewicz, (1991) encontraron que, para lodo suspendido adaptado a ácido láctico, ácido acético y sulfatos a una relación de DQO/sulfatos de 3.7, las BSR son más sensibles que las BM. Sin embargo, cuando la relación de DQO/sulfatos disminuye a 1.6 y 0.8, las BSR son menos sensibles que las BM. Esto fue debido, aparentemente, a una mayor actividad de las poblaciones de BSR a relaciones de DQO/sulfatos más bajas, sugiriendo que las diferentes especies de BSR muestran sensibilidades con variaciones significativas a la inhibición por H₂S. En la presente

investigación, las BSR fueron más sensibles que las BM a la temperatura y a la concentración de H_2S no ionizado a un pH neutro-alkalino. Posiblemente, las especies de BSR termofílicas son más sensibles a las concentraciones de H_2S no ionizado presentes que las BSR mesofílicas.

Visser (1993) encontró que la sensibilidad al H_2S de las BSR y las BM degradadoras de ácido acético fue similar a pH 7 y 7.5. Sin embargo, a niveles altos de pH, las BSR fueron considerablemente menos sensibles a la inhibición por H_2S que las BM. Los resultados de la presente investigación, como se verá más adelante, muestran una sensibilidad de ambas, las BM y las BSR, a la concentración de H_2S , siendo más considerable en las BSR degradadoras de ácido propiónico a 55°C. Según McCartney y Oleskiewicz (1993) y Rinzema y Lettinga (1988a), la degradación del ácido propiónico es el paso limitante de la depuración anaerobia de aguas residuales conteniendo sulfatos. Posiblemente, las BSR termofílicas degradadoras de ácido propiónico fueron inhibidas contribuyendo a la conversión de materia carbonosa por las BM termofílicas, las cuales fueron desinhibidas por la presencia de una menor concentración de H_2S no ionizado presente en el efluente tomando como factor la temperatura. Los resultados de los experimentos con ácido propiónico se presentan en el apartado 4.3.1.2.

Los resultados obtenidos en la presente investigación indican que, en la operación de los reactores a 35, 45 y 55°C, el valor del pH de 8 en el efluente indica que la forma disociada del H_2S , que es tóxica (Mc Cartney y Oleskiewicz, 1993), no se encontraba en el efluente de los reactores. Esto concuerda con lo encontrado por Flaherty y col. (1998a), quienes relacionaron la inhibición de las BM, BSR y BA por el H_2S en su forma no disociada a valores de pH entre 6.8 y 7.2. Se considera que la inhibición que causa el H_2S no ionizado se debe a su capacidad de atravesar la membrana celular (Speece, 1983). Sin embargo, un gran número de autores han reportado que la inhibición de las BSR y las BM es, en efecto, provocada por la presencia de H_2S no ionizado en un intervalo de pH de 7 a 9 (Cord-Ruwisch y col., 1988; Boone y col., 1993; Visser, 1995). Por otro lado, McCarney y Oleskiewicz (1991, 1993) concluyeron que la inhibición de las BM en lodo suspendido fue relacionada solamente a la concentración de H_2S no ionizado. Hilton y Oleskiewicz (1988) encontraron que la inhibición de BSR estaba relacionada con la concentración de H_2S total, ya que la inhibición de las BM se relacionó con la concentración de H_2S no ionizada. Flaherty y col. (1998a) indican que esa inhibición para las BSR y las BM se relaciona con la concentración de H_2S no ionizada entre un pH de 6.8 y 7.2, ya que arriba de 7.2, la inhibición puede relacionarse a la concentración de H_2S total. De la presente investigación se deriva que la inhibición de las BM fue directamente proporcional a la concentración de H_2S no ionizado y a la concentración de H_2S total. Al incrementar la temperatura disminuye la presencia de estos dos compuestos químicos en el licor mezclado del sistema y la actividad metanogénica se reestablece. Parece no suceder lo mismo con las BSR debido a que, a 55°C, las concentraciones del H_2S total y el no ionizado afectan a las BSR termofílicas, pero no a las BM termofílicas. Por esta razón, la producción de $LCH_4/kgDQO$ removida se elevó a 55°C al disminuirse la inhibición. Las observaciones sugieren que el H_2S puede ser más tóxico a valores de pH altos para las BSR y que, para las BM, como lo observado en estudios previos (Zinder, 1993; Visser y col., 1993c). Alternativamente, tanto el H_2S total como el H_2S no ionizado pueden ejercer un efecto inhibitorio sobre las BM y las



BSR en menor o mayor grado. Para la presente investigación el efecto inhibitorio fue para las BSR termofílicas.

El apartado 2.4 menciona que la dilución del influente en el tratamiento o el aumento del pH son dos formas de disminuir la concentración de la forma no disociada de H_2S , pero sin éxito hasta ahora. Por medio de los resultados de la presente investigación, una forma de reducir la concentración de H_2S no disociado es elevar la temperatura.

4.2.4.2 Componentes químicos de la vinaza

Ehlinger y col. (1992) estudiaron la forma en que los polifenoles afectan a la actividad microbiana anaerobia y sus resultados fueron mencionados en el apartado 2.5.2. Trabajaron en un reactor anaerobio de dos etapas para el tratamiento de vinazas diluidas al 10% a 37°C. Indican que el 50% de los sulfatos se removieron y que la concentración de H_2S en la fase gaseosa alcanzó un 9% (v/v). La concentración de H_2S no ionizado en la fase líquida fue de 30 a 360 mg/L dependiendo de la concentración de sulfatos en el influente de 3 a 8 g/L. Otra variable que estudiaron además de los sulfatos, fue la concentración de taninos de 0.05 a 3 g/L. Una concentración de 500 mg/L de taninos en el reactor metanogénico limitó progresivamente la actividad metanogénica en un 20%. Además, se detectó un efecto inhibitorio fuerte para las BSR en el reactor metanogénico.

Una buena opción para reducir el efecto negativo de los fenoles es el planteado por García y col. (1997), quienes realizaron un estudio empleando *Aspergillus terreus* y *Geotrichum candidum* para la degradación de los compuestos fenólicos en vinazas. El estudio se enfocó en un tratamiento anaerobio de dos etapas. Se adicionaron los microorganismos disponibles para la remoción de los compuestos fenólicos y se corroboró su comportamiento cinético usando la ecuación de Monod. La conclusión fue satisfactoria. Estos hongos removieron eficientemente los compuestos fenólicos del sistema.

Los polifenoles se disuelven fácilmente en agua alcalina y especialmente a temperaturas elevadas (Ehlinger y col., 1992). Relacionando lo encontrado por Ehlinger y col. (1992) con la presente investigación, la temperatura a 55°C favorecería una mayor disponibilidad de los polifenoles en la fase líquida que a 35°C para la biomasa por parte de los microorganismos. La bibliografía indica, desde el punto de vista microbiológico, que los microorganismos se adaptan a los cambios de temperatura, modificando la composición lipídica polar de su membrana (Inniss e Ingraham, 1978; Herbert, 1986) y como los polifenoles afectan las funciones de la membrana celular, incrementando su permeabilidad, ambos fenómenos contribuirían a su degradación. Por otro lado, los gradientes de pH (Steiery y col., 1988) o la transportación de pequeños metabolitos celulares como iones K^+ y ATP (Heipieper y col., 1991) también se afectan por los cambios de temperatura. Los microorganismos en presencia de polifenoles incrementan el grado de saturación de ácidos grasos en la membrana, lo cual disminuye la fluidez de la membrana reduciendo la difusión del sustrato hacia el interior microbiano (Heipieper y col., 1992; Melin y col., 1998). Por tanto, la actividad sulfato-reductora decrecería al aumentar la temperatura favoreciendo el aumento de ácidos grasos en



la membrana de las bacterias sulfato-reductoras y disminuyendo la difusión de sustratos hacia el interior de las bacterias para su degradación y producción de H_2S .

4.2.4.3 Otros posibles mecanismos de degradación

El apartado 2.8 menciona la capacidad de adherencia de las BM a matrices sólidas (Zehnder, 1988). El principio de los reactores anaerobios de alta tasa se basa en la capacidad de las bacterias anaerobias para inmovilizarse en lodos granulares o partículas sólidas. Las bacterias con poca adherencia son arrastradas fuera del reactor con el efluente ("elutriadas"). Por consiguiente, la competencia entre las diferentes bacterias está determinada por las propiedades de inmovilización de las bacterias. Isa y col. (1986a, b) investigaron el rol de la capacidad de adherencia de las BSR y las BM en un filtro anaerobio alimentado con ácido acético o ácido acético y etanol con presencia de sulfatos. Ellos demostraron que las BSR no podían competir con las BM por el ácido acético, debido a que la capacidad de las BM para adherirse a la biomasa era superior que la de las BSR. Este experimento fue criticado por Rinzeema (1988), debido a que la colonización de las BM se obtuvo básicamente por conteo celular y con pruebas de actividad. Alphenaar y col. (1993) y Visser y col. (1993), por otro lado, informaron que las BSR degradadoras de ácido acético eran también capaces de adherirse a partículas sólidas y proliferar en gránulos anaerobios. Aunque en el período de adaptación de la primera fase de la presente investigación, de 35 a 45 y 55°C, se "elutrió" una gran cantidad de biomasa, una vez adaptadas las respectivas comunidades a sus temperaturas respectivas, las pruebas de actividad metanogénica empleando ácido acético como sustrato demostraron que las BSR no podían competir con las BM por el ácido acético (apartado 4.3.1). Esto indicaría que los resultados de esta investigación son congruentes con los ya obtenidos por Zehnder (1988) y por Isa y col. (1986a y b) y no con los de Alphenaar y col. (1993) y Visser y col. (1993). Será importante realizar en futuras investigaciones una corroboración de la capacidad de ambos grupos microbianos para inmovilizarse.

Una investigación más encontrada en la literatura sobre la producción de H_2S , que para la presente investigación permanece relativamente constante (entre 0.00904 y 0.0107 mol H_2S /día en el intervalo de temperaturas estudiado), es sobre la limitación de la transferencia de masa de sulfatos u otros sustratos en las capas internas de la biopelícula del floculo que indica la competencia entre las bacterias sintróficas y las BSR por el sustrato (Overmeire y col., 1994). Cuando la afinidad de las BSR por los sustratos decrece, entonces otras bacterias los consumen (Laanbroek y col., 1984), lo que podría proveer una explicación para la baja actividad de las BSR teniendo diferentes sustratos, como se verá después.

Hay diversos estudios sobre la competencia entre bacterias anaerobias con respecto a la temperatura. La presente investigación estudió la competencia entre las BSR y las BM. En otras investigaciones se estudió sin éxito la competencia entre las bacterias nitrato-reductoras y las BM con respecto a la temperatura. El fracaso se debió a que las BM no estaban adaptadas a condiciones termofílicas. Hansen y col. (1999) trabajaron sobre el mejoramiento de la digestión termofílica de estiércol de cerdo. Ellos obtuvieron una menor producción de metano y mayor acumulación de ácidos grasos volátiles a condiciones termofílicas con respecto a



condiciones mesofílicas. Como el tiempo de experimentación fue de 100 días, a la luz de los resultados de la presente investigación se considera que el tiempo de adaptación de una biomasa a condiciones termofílicas puede requerir de un tiempo más prolongado para lograr la recuperación y el desarrollo de las BM termofílicas y que ésta podría haber sido una de las causas de la falla de este experimento.

4.2.4.4 Relación DQO/sulfatos

Algunos investigadores se han abocado a encontrar analogías entre la competencia de las BSR y las BM por medio de la relación de DQO/sulfatos, como se indicó en los apartados 2.3.1 (Tabla 2.8) y 2.8 (Tablas 2.18 y 2.19). En la Tabla 2.8 Rinzema y Lettinga (1988a) muestran que a valores menores de 10 de la relación de DQO/sulfatos existe predominio tanto de las BSR como de las BM. En las Tablas 2.18 y 2.19 se presentan los resultados obtenidos en esas investigaciones tomados de la bibliografía, casi todas considerando diferentes relaciones DQO/sulfatos (aunque relativamente pocas a diferentes temperaturas).

Los datos de Durán y col. (1988), de Espinoza y Noyola (1992), de Tielbard (1992), de Colleran y col. (1994), de Harada y col. (1994), de Mizuno y col. (1996), de Yu-You y col. (1996), de Aspé y col. (1997) y de Smul y col. (1999), todas ellas entre 20 y 37°C, son los que se acercan a las condiciones desarrolladas en esta investigación. Las relaciones de DQO/sulfatos estaban entre 6 y 148, la producción de metano entre 40 y 75% y su eficiencia de remoción de DQO entre 23 y 97%.

Tomando como ejemplo los resultados publicados por Mizuno y col. (1996), a 35°C, quienes usaron ácido butírico como sustrato, indican que la producción de CH₄ se conservó relativamente constante entre 63.6 y 72.7% (con relaciones de 6 a 148 de DQO/sulfatos) y que la producción de H₂S presenta variaciones en la concentración de H₂S no disociado en la fase líquida de 27.3 a 68.1 mg/L para 1.4 a 8.3% de H₂S en el biogás. Mizuno y col. (1996) midieron el H₂S cromatográficamente con un detector de conductividad térmica y el H₂S no ionizado se midió por medio del método yodométrico mencionado en el apartado 3.2.1 (la misma técnica utilizada en la presente investigación). Al comparar esos resultados con los de esta investigación a 35°C (con una relación de 8 de DQO/sulfatos), la producción de CH₄ (66%) y H₂S obtenidos (3.42%) y de 219 mgH₂S no ionizado/L en la fase líquida indican predominio, tanto de las BSR como de las BM, ya que no se observa un efecto en la producción de metano y H₂S por parte de los consorcios microbianos que proliferan en las vinazas.

4.2.5 Balances de masa en los reactores

4.2.5.1 Balances de carbono

La Tabla 4.13 muestra los resultados promedio obtenidos en los balances de materia para carbono. Los promedios muestran que, al aumentar la temperatura, el C en los gases se incrementa y disminuye su valor en la fase líquida. Los valores referidos a la formación de nuevas células fueron más bajos a altas temperaturas. El "error" en los balances de carbono es de ±30%, error esperable en los reactores, pues poseen un volumen de 1.6 L y pierden biomasa



en el efluente por elutriación, la cual no puede calcularse cuantitativamente, ya que el material separado en la centrifugación del efluente era difícil de recuperar e introducir al analizador elemental. La vinaza nuevamente refleja su gran concentración de materia orgánica con 60.55 gC/Lvinaza. La Figura 4.32 muestra estos resultados, donde pueden observarse simplificada los balances en forma gráfica. Es claro que, a mayor temperatura, la conversión de materia carbonosa a metano es mayor. A pesar de que la conversión de carbono a 55°C es mayor, hay un porcentaje que no es degradado, posiblemente debido a que podría estar ligado a compuestos poco biodegradables anaerobiamente.

Tabla 4.13 Balance de materia de carbono en la operación de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

C reactivo	C productos	35°C		45°C		55°C	
		gC/día	%	gC/día	%	gC/día	%
4.91 gC/día con la vinaza (60.55 gC/Lvinaza) 100%	Gas+disuelto CH ₄	0.79±0.1	16.09	1.49±0.5	30.35	1.78±0.09	36.25
	Gas+disuelto CO ₂	0.3088±0.05	6.29	0.43±0.21	8.76	0.54±0.2	11.00
	Materia no degradada*	2.43±0.9	49.49	1.64±0.8	33.40	1.09±0.3	22.20
	Biomasa dentro del reactor**	0.0371±0.02	0.76	0.0273±0.01	0.56	0.0392±0.01	0.80
	% "diferencia"	***	27.37	***	26.94	***	29.75

* Efluente líquido que sale del reactor previamente centrifugado (sin considerar la biomasa sólida que arrastra)

** Considerando el volumen inicial de biomasa inoculada (del orden de decenas de miligramos/día)

*** Se considera aquí el carbón que sale con la biomasa elutriada y el "error" de medición en la biomasa que permanece dentro del reactor y las muestras tomadas de biomasa y de efluente para medir en el analizador elemental

El balance de materia a 35°C no presentó cambios apreciables en la conversión de materia carbonosa a biogás, ya que la biomasa estaba adaptada a esa temperatura. En el caso de los dos reactores termofílicos, en las primeras semanas la producción de biogás fue menor, pero al adaptarse se incrementó la conversión de carbono en metano. En los primeros días de operación, en los reactores a 45 y 55°C, se presentó una mayor producción de CO₂ que de CH₄, debido a que durante el cambio de la temperatura en los primeros días, las bacterias acidogénicas fueron las que tuvieron el rol principal de degradación. Por ello, también en los primeros días, la relación de alcalinidad en estos dos reactores estuvo en los límites superiores (mayores a 0.4).

Debe recordarse que, en la Figura 4.20, la presencia de carbono remanente o no degradado en el efluente líquido es inversamente proporcional a la temperatura. Los resultados sugieren que los consumos de carbono son mayores y, por tanto, que ese carbono se convierte a CH₄ y CO₂ conforme aumenta la temperatura, como ya fue corroborado con el estudio termodinámico, que es el balance del equilibrio químico de gases (apartado 4.2.4).



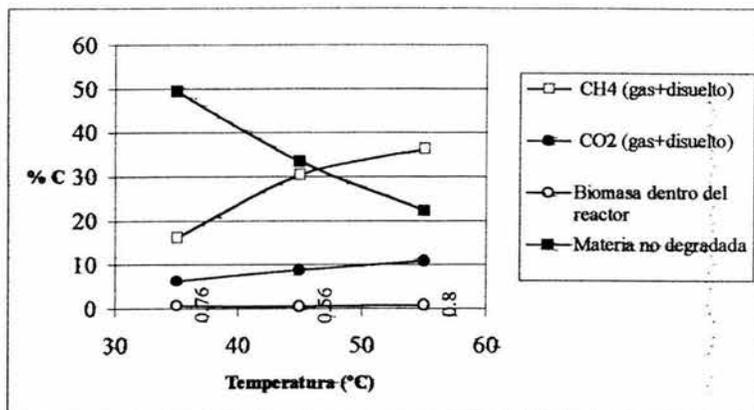


Figura 4.32 Balance de carbono en porcentajes en los reactores a 35, 45 y 55°C

Para los balances de carbono, nitrógeno y azufre se consideró lo siguiente: Que las concentraciones de carbono, nitrógeno y azufre que venían con el inóculo y con la vinaza se conservan a lo largo del tiempo que llevan operando los reactores y que las diferencias en las concentraciones de carbono, nitrógeno y azufre son convertidas a biomasa, ya sea que permanezca en el reactor o sea elutriada con el efluente tratado. Ahring (1994) menciona que el aumento de biomasa en sistemas anaerobios es de 5 a 10% en un año, dependiendo del sustrato alimentado y la concentración. Este porcentaje puede ser muy variable.

A 55°C, se obtuvo un mayor porcentaje de remoción de carbono que a las otras dos temperaturas, 45 y 35°C (79% versus 69 y 50%, respectivamente). El porcentaje de remoción se calculó a partir de la concentración de carbono en la alimentación y el carbono del efluente remanente o no degradado de los balances de carbono, de acuerdo a los gC/día, [(influyente-efluente)/influyente]*100. Éste es un parámetro global, ya que tanto el azufre como el carbono se transforman en diferentes compuestos y de esta forma es como se miden todos ellos sin discernir si son biomasa, si son gases disueltos, si son iones o si son compuestos orgánicos o inorgánicos diversos.

4.2.5.2 Balances de azufre

Los balances de azufre están hechos con base en los resultados obtenidos de las mediciones por medio del analizador elemental, midiendo azufre total en el influente y efluente de los reactores, del H₂S en el biogás medido en el cromatógrafo y el H₂S presente en la fase líquida calculado por la constante de Henry. En el valor de azufre en el efluente de los reactores va implícito el valor de H₂S disuelto, que es medido analíticamente. Los niveles de azufre equivalentes del H₂S disuelto evaluados por el estudio termodinámico están de acuerdo con los niveles de azufre medidos en el análisis elemental del efluente.

La Tabla 4.14 muestra el balance de azufre para la operación de los reactores a las tres temperaturas. El consumo de azufre (azufre en el influente – efluente líquido) es mayor a al aumentar la temperatura y es directamente proporcional a la presencia de azufre en forma gaseosa a esa temperatura. Asimismo, la concentración de azufre equivalente de sulfatos se consume en mayor proporción a mayor temperatura, con un 8% por cada 10°C, lo cual, puede observarse en la Figura 4.16. Por tanto, la temperatura no inhibe la degradación de los sulfatos por parte de las BSR, lo cual se comprobó en el estudio termodinámico, cuyo balance se obtuvo mediante el equilibrio líquido-gas (apartado 4.2.4).

Las bacterias sulfato-reductoras en los reactores de 45 y 55°C mostraron una producción baja de H₂S, al igual que ocurría con las BM con la producción de CH₄, en los primeros días de operación (Figura 4.33). Esto significa que ambos tipos de bacterias empiezan a producir CH₄ y H₂S hasta después de 110 días del choque térmico. A partir de los 250 días de operación en los reactores existe la presencia de azufre en el efluente líquido con un cierto grado de estabilidad (Figura 4.22). Por el contrario, la presencia de H₂S transferida al efluente gaseoso se mantiene relativamente constante después de los 110 días (Figura 4.10).

Tabla 4.14 Balance de materia de azufre en la operación de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

S reactivo	S productos	35°C		45°C		55°C	
		gS/día	%	gS/día	%	gS/día	%
0.4041 gS/día con la vinaza 100%	Gas H ₂ S	0.0987±0.02	24.42	0.1709±0.03	42.29	0.2214±0.06	54.79
	Gas+disuelto H ₂ S	0.2893±0.05	71.59	0.3219±0.05	79.66	0.3426±0.07	84.78
	S medido en el efluente*	0.2382±0.06	58.95	0.2074±0.03	51.32	0.1059±0.03	26.21
	Biomasa dentro del reactor**	0.0330±0.01	8.17	0.0243±0.01	6.01	0.0349±0.01	8.64
	% diferencia	***	8.46	***	0.38	***	2.94

- * Efluente líquido que sale del reactor previamente decantado (sin considerar la biomasa sólida que arrastra)
- ** Considerando el volumen inicial de biomasa inoculada (del orden de decenas de miligramos/día)
- *** Se considera aquí el azufre que sale con la biomasa elutriada y el "error" de medición en la biomasa que permanece dentro del reactor y las muestras tomadas de biomasa y de efluente para medir en el analizador elemental

En la Tabla 4.14, también puede observarse que el producto como H₂S gas+disuelto tiene un comportamiento similar para las tres temperaturas. Esto permite afirmar que la desorción del azufre en el efluente gaseoso como H₂S va aumentando con la temperatura. También puede afirmarse que el aumento de la temperatura no provoca mayor producción de H₂S sino que se conserva y lo que se disminuye es la solubilidad en el líquido, paralela con la desorción. El aumento de temperatura parece no disminuir la competencia de las BSR con las BM, ya que aunque la conversión de carbono a CH₄ es mayor, la conversión de azufre a H₂S permanece relativamente igual.



Observando las concentraciones de azufre en el influente y en el efluente de los tres reactores a lo largo de los 350 días de operación puede observarse que la transformación del azufre depende menos de la temperatura que la transformación del carbono. Esto podría significar que las BM son más susceptibles a los cambios de temperatura que las BSR y, por ello, se tuvo en esta investigación cuidado para que la temperatura de los reactores se conservara estable por medio de chaquetas de agua caliente.

La Figura 4.33 muestra que el azufre estuvo presente en mayor proporción en el efluente líquido a 35°C que a 55°C, debido a que la fracción mayor del azufre a 55°C se encontraba en la fase gaseosa como H₂S y a 35°C en la fase líquida. Esto corrobora que el fenómeno controlante debido al efecto de la temperatura es la desorción de gases.

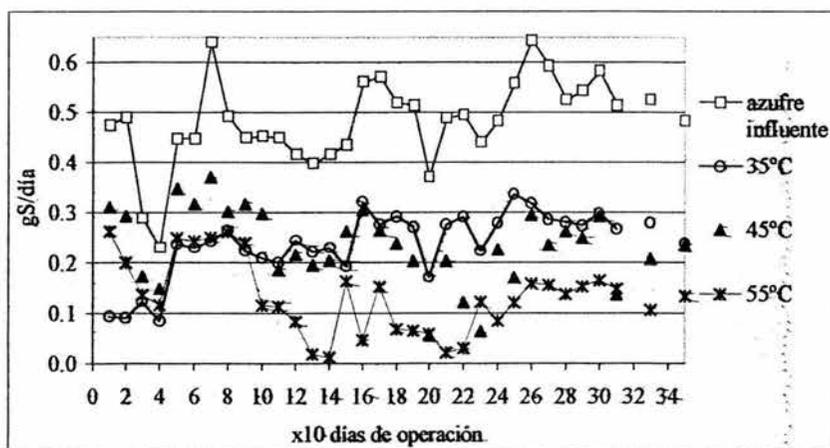


Figura 4.33 Balance de azufre en el influente y efluente líquido de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

Como resultado de esta investigación, en la Figura 4.34 puede observarse en forma gráfica el balance de azufre con respecto a compuestos de azufre en todas sus formas, a 35, 45 y 55°C. Puede verse que el porcentaje de remoción de sulfatos se incrementa con la temperatura y, así mismo, se incrementa la presencia en el biogás de H₂S-S. La producción de H₂S por las BSR depende directamente de la actividad sulfato-reductora. Por los resultados de esta investigación, podría deducirse que al aumentar la remoción de sulfatos, la concentración de H₂S se incrementaría pero, siguiendo la tendencia de H₂S-S en la fase gaseosa + la fase líquida se ve que se conserva constante a las tres temperaturas. Al mismo tiempo, puede observarse que el S, los SO₄-S y los compuestos químicos de azufre disueltos en el efluente disminuyen al aumentar la temperatura debido a que la mayoría de H₂S generado es desorbido a H₂S-S gas.

Todo indica que la actividad sulfato-reductora se incrementa, pero debe explicarse dónde queda el H₂S como producto de la actividad, suponiendo que al incrementar la actividad

sulfato-reductora se incrementara la concentración de H_2S , tanto de la fase gaseosa como de la fase líquida. Una probable explicación pudiera ser que, al aumentar la temperatura, la competencia entre las BSR y las BM disminuyera. Las BM, que estaban inhibidas por la concentración de H_2S no ionizado en el líquido, se recuperan a $55^\circ C$, consumiendo en mayor proporción la materia carbonosa y convirtiéndola a CH_4 comparada con aquéllas operando a $35^\circ C$. Debido a que la actividad metanogénica se incrementa a $55^\circ C$, el requerimiento de nutrimentos también se aumenta. Como las BM requieren de concentraciones de azufre para su metabolismo (la composición de azufre elemental en las BM es de 10 g/kg célula seca, según Moreno y col., 1993), por lo tanto, consumirán parte de los sulfatos presentes en el influente y su porcentaje de remoción se incrementará a $55^\circ C$.

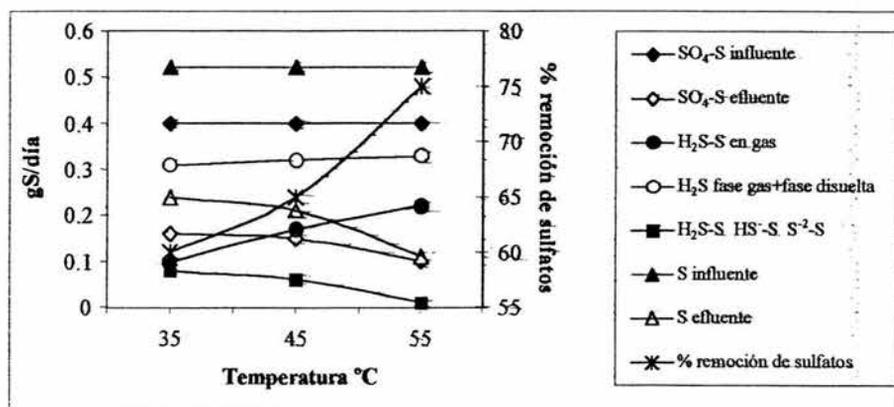


Figura 4.34 Azufre en todas sus formas con respecto a la temperatura en los reactores en estudio

Puede corroborarse por los resultados mencionados hasta ahora, que los procesos anaerobios son sensibles a cambios de condiciones ambientales (Speece, 1983). El efecto de un choque de temperatura depende de la temperatura aplicada, el tiempo de exposición y la composición bacteriana del lodo (Van Lier y col., 1990, 1996; Visser y col., 1993; Obaya y col., 1994). En reactores anaerobios operados bajo condiciones mesofílicas, los choques de temperatura podrían tener un funcionamiento inestable en el reactor y como en algunos casos extremos llegar a la fractura del sistema (Lescure y col., 1988; Van Lier y col., 1990). En la presente investigación, el tiempo de adaptación de los bioecosistemas al uso de vinazas y a la temperatura tuvo un total de 900 días. De acuerdo con los resultados obtenidos, puede decirse que para determinar la competencia entre bacterias anaerobias, el factor determinante es el tiempo de adaptación. Debido al tiempo que implica, existe poca literatura sobre el efecto de la temperatura sobre la competencia entre BSR y BM.

Por tanto, dado que los resultados obtenidos contravienen la hipótesis planteada en esta investigación en cuanto a las BSR, se hizo necesario buscar más datos que pudieran explicar el destino de los compuestos azufrados en sistemas termofílicos anaerobios.



4.2.5.3 Balances de DQO

Los balances de masa se calcularon con los equivalentes en gDQO/día de todos los reactivos y productos involucrados en cada reactor a las tres temperaturas en estudio. El balance se realizó para todos los productos gaseosos (CH_4 y H_2S), con su correspondiente determinación de equilibrios químicos y posible formación de especies químicas a partir de ellos. Para su determinación como DQO se empleó el método descrito en el apartado 2.12. Los cálculos están fundamentados en las conversiones del gas a condiciones estándar de presión y temperatura (1 atm y 0°C). La Tabla 4.15 muestra los promedios de los balances. La tabla incluye las relaciones de DQO a las temperaturas en estudio (proporción DQOs reactivo: DQOs producto gas: DQOs no degradada: DQOs a células): A 35°C (1:0.45:0.34:0.0066); a 45°C (1:0.70:0.28:0.0047) y a 55°C (1:0.81:0.21:0.0075).

Tabla 4.15 Valores promedio del balance de DQO de los reactores de 1.6 L a 35, 45 y 55°C

gDQO reactivo	gDQO productos	35°C		45°C		55°C	
		gDQO/día	%	gDQO/día	%	gDQO/día	%
10.61 gDQO/día con la vinaza 100%	CH_4 (gas+disuelto)	2.875±0.4	27.10	5.25±0.9	49.48	6.08±0.8	57.30
	H_2S (gas+disuelto)	0.9628±0.2	9.07	0.9852±0.2	9.29	1.0533±0.4	9.93
	Gas total+disuelto	3.84±0.3	36.21	6.24±0.65	58.82	7.14	67.30
	Materia no degradada*	3.65±0.1	34.40	3.03±0.5	28.56	2.29±0.3	21.58
	Biomasa dentro del reactor**	0.07±0.02	0.66	0.05±0.03	0.52	0.08±0.03	0.75
	% diferencia	***	28.77	***	12.15	***	10.37

* Efluente líquido que sale del reactor previamente centrifugado (sin considerar la biomasa sólida que arrastra)

** Considerando el volumen inicial de biomasa inoculada

*** Se considera aquí la DQO que sale con la biomasa elutriada y el "error" de medición en la biomasa que permanece dentro del reactor y las muestras tomadas de biomasa y de efluente para ser medidas

Mediante estos balances se reiteran los resultados obtenidos para la producción de H_2S , que permanecen con poca variación con respecto de la temperatura y que la producción de CH_4 se incrementa al incrementar la temperatura, de acuerdo con el estudio termodinámico del sistema (apartado 4.2.4). Debe recordarse que se adaptó un inóculo anaerobio a 35°C usando vinazas como primer paso de esta investigación. Después, ese inóculo se distribuyó en tres reactores de 1.6 L de volumen con una sola línea de alimentación para adaptarse a 45 y 55°C . Durante más de 300 días los reactores se operaron hasta alcanzar la estabilización a condiciones mesofílica intermedia y termofílica (45 y 55°C).

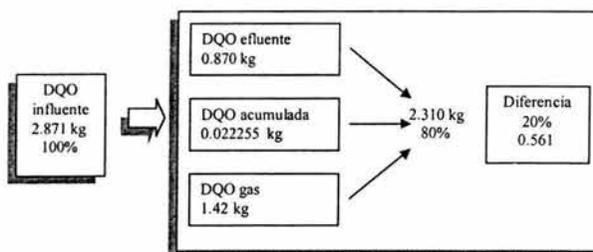
Durante la experimentación, el reactor de 35°C se mantuvo relativamente estable, por lo que sus balances se realizaron con los datos de los 300 días. Para 45 y 55°C , los balances tomaron de los



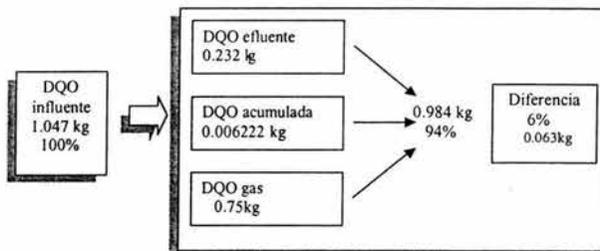
últimos 100 días, etapa estable de los mismos. Los balances en forma acumulada a cada temperatura siguieron la metodología de Márquez-Codina (1994), porque así se disminuye el porcentaje de error en cada balance.

Los balances fueron realizados en una sumatoria que incorpora los valores de gDQO/día por los días de operación estable del reactor. Los resultados del gas generado usados para el balance de masa es la suma de los gases contenidos en las fases gaseosa y líquida.

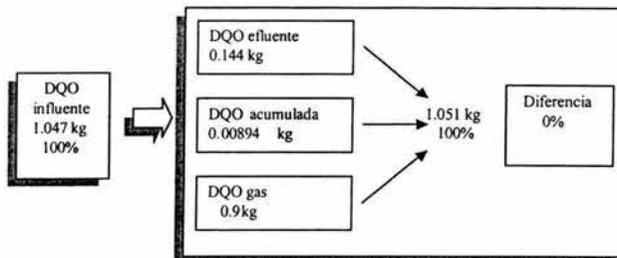
A continuación se presenta el balance para el reactor a 35°C para 300 días:



A 45°C, como producción acumulada en los 100 días de fase estable, se tiene lo siguiente:



A 55°C, como producción acumulada en los 100 días de fase estable, se tiene:



Mizuno y col. (1996) realizaron un balance de DQO en sus resultados. Como productos, calcularon la DQO equivalente para el CH_4 , sólidos suspendidos volátiles, azufre, H_2S y ácidos grasos libres. Ellos obtuvieron un porcentaje de diferencia de 3 a 26%, mientras que para la presente investigación de 0 a 20%.

Es interesante observar que, conforme se opera a mayor temperatura, la diferencia entre lo que entra y lo que sale es cada vez menor. Esto parecería indicar que el factor limitante en este tipo de balances es la fase gaseosa, la cual es predominante conforme la temperatura se eleva (49, 71.6, 85.9% del total que entra).

Los valores equivalentes de materia orgánica medida como gDQO empleados para la generación de nuevas células en el balance de materia no muestran variaciones significativas con la temperatura. Las bacterias anaerobias tienen tasas de proliferación lentas y, por ello, su metabolismo se considera como un paso limitante de este tipo de tratamiento. Es importante recordar que hay una "elutriación" continua de biomasa, como puede observarse en la Figura 4.23, por lo que su producción neta es muy pequeña. Lau y Fang (1997) encontraron que los cambios de temperatura redujeron significativamente la producción de lodos, provocando la "elutriación" de la biomasa.

De acuerdo a las ecuaciones 2-2 y 2-3 del apartado 2.3.2, el grado de competencia entre las BSR y las BM puede determinarse de acuerdo con las ecuaciones empleando el balance de DQO. Si se aplican estas ecuaciones a los resultados a la presente investigación, la Tabla 4.16 presenta los flujos de electrones.

Estos resultados demuestran que, al aumentar la temperatura, la competencia entre las BSR y las BM disminuye en favor de estas últimas. Ésta puede ser una de las razones por las que la producción de H_2S se mantuvo relativamente constante a 35, 45 y 55°C y refuerza la suposición hecha al final del apartado 4.2.5.2.

Harada y col. (1994) investigaron sobre la interacción entre las BSR y las BM en reactores RALLFA alimentados con desechos de baja carga orgánica a diferentes niveles de sulfatos. En ese trabajo indican que, a mayor actividad sulfato-reductora hay un mayor porcentaje de flujo de electrones para las BSR, es decir, mayor competencia de las BSR con las BM.

Al comparar los valores de la Tabla 4.16 con la Tabla 2.9, existiría una ligera inhibición en la producción de metano a 35°C. De acuerdo con esa misma tabla, a 55°C, no hubo inhibición de acuerdo con el intervalo de % de flujo de electrones.

4.3 PRUEBAS EN VIALES

De las pruebas en viales se obtuvieron dos tipos de información: 1) Las actividades sulfato-reductora y metanogénica en 77 viales y 2) La determinación de las constantes cinéticas, con las que pudo aplicarse la ecuación de Arrhenius para evaluar el efecto de la temperatura en la cinética de reacción.



Tabla 4.16 Distribución de flujo de electrones para la metanogénesis y sulfato-reducción

Temperatura °C	gDQO-CH ₄ gas/día	gDQO-CH ₄ líquida/día	gDQO -ΔSO ₄ /día	Flujo de electrones (%)	
				BSR	BM
35	2.87	0.0061	0.4882	14.5	85.5
45	5.25	0.0051	0.5082	9.1	90.9
55	6.08	0.0043	0.6082	7.8	91.2

4.3.1 Pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora

Con la metodología descrita en el apartado 3.4, fueron comparadas las respuestas de las biomazas adaptadas a vinazas a las tres temperaturas empleando tres sustratos: Ácidos acético, propiónico y butírico, además de las vinazas. Se construyeron gráficas con los datos obtenidos de cada uno de los viales, donde se representa la respuesta de la biomasa a cada sustrato con la producción de gases (CH₄, CO₂ y H₂S). En la fase líquida se determinaron parámetros como DQO soluble, sulfatos, carbono, nitrógeno y azufre totales. Para cada vial se evaluaron las actividades metanogénica y sulfato-reductora, de acuerdo al fundamento y metodología de los apartados 2.13 y 3.4, respectivamente. Con las curvas elaboradas se calcularon las rapidezces máximas de producción de CH₄ y H₂S. Los resultados de las actividades metanogénica y sulfato-reductora se analizaron empleando métodos estadísticos, como la prueba t de student para conocer las diferencias significativas entre ellos y el nivel de significancia. La Figura 4.35 presenta los resultados.

La Tabla 4.17 muestra el promedio de los datos por triplicado de la velocidad o rapidez de producción de CH₄ para los diferentes sustratos. Para la actividad metanogénica del ácido acético se tienen diferencias significativas entre los valores. Para los ácidos propiónico y butírico no hay diferencias significativas entre 35 a 45°C, pero existen para 35 y 45 a 55°C. Para la vinaza existe el mismo comportamiento. Puede concluirse de estos resultados que, a 35 y 45°C, no hay diferencias significativas para las rapidezces de reacción de los tres sustratos más complejos pero sí para 55°C.

Para los valores de la actividad sulfato-reductora, los resultados muestran que no hay diferencia significativa en 45 y 55°C, para los ácidos acético, propiónico y butírico. Pero, para las vinazas, la diferencia significativa sólo se presenta entre 35 y 55°C. No hay diferencia entre 35 y 45°C ni entre 45 y 55°C.

Los resultados obtenidos en este estudio reflejan la competencia entre las BSR y BM por el sustrato durante el tratamiento de aguas residuales con presencia de sulfatos. La influencia en la competencia está principalmente fundamentada en los resultados microbiológicos (actividades metanogénica y sulfato-reductora), cinéticos, físicos (temperatura) y químicos (pH, producción de H₂S y H₂S no ionizado) de esta investigación.



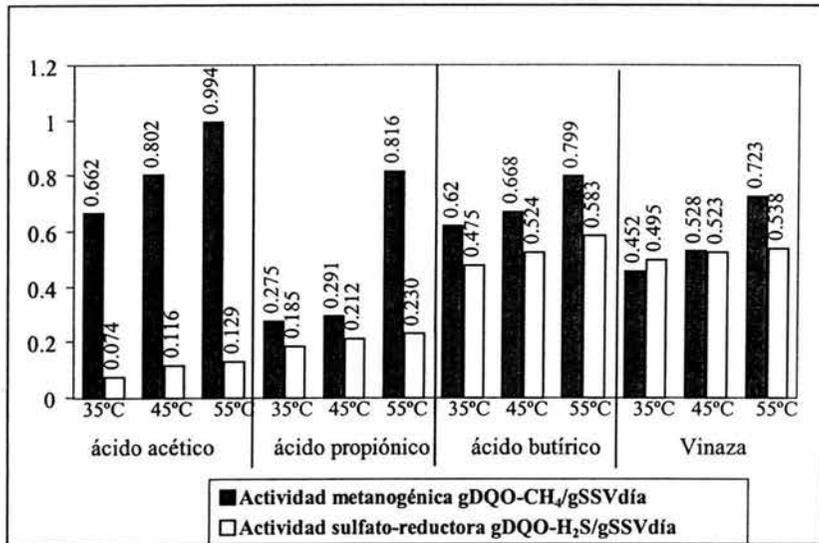


Figura 4.35 Pruebas en viales de las actividades metanogénica y sulfato-reductora de la biomasa adaptada a vinazas en tres sustratos y vinaza como "control" a las tres temperaturas en estudio

Tabla 4.17 Rapidez de reacción en la generación de productos, CH₄ y H₂S en diferentes tipos de sustratos de pruebas realizadas en viales

Sustrato	Rapidez de reacción para las BM mol/día	Rapidez de reacción para las BSR mol/día
35°C		
Ácido acético	0.00087	0.00011
Ácido propiónico	0.00042	0.00033
Ácido butírico	0.00103	0.00050
Vinaza	0.00033	0.00042
45°C		
Ácido acético	0.0011	0.00018
Ácido propiónico	0.00045	0.00038
Ácido butírico	0.0011	0.00055
Vinaza	0.00038	0.00044
55°C		
Ácido acético	0.0013	0.0002
Ácido propiónico	0.00127	0.00041
Ácido butírico	0.00133	0.00062
Vinaza	0.00053	0.00047

Los factores como la concentración de sulfatos, la afinidad al sustrato, la inhibición por sulfuros, la inhibición por H₂S no ionizado y la naturaleza de la biomasa de inóculo y la



temperatura determinaron la competencia entre las BSR y las BM. Por los resultados de este apartado, se han encontrado variaciones por las afinidades al sustrato, tanto de las BSR como de las BM. Será objeto de otro estudio la búsqueda de los microorganismos que proliferan a estas diferentes temperaturas con cada uno de estos sustratos.

Lutgarde-Raskin y col. (1996) mediante el estudio de dos reactores anaerobios con alimentación de glucosa y glucosa-sulfatos respectivamente demostraron que dentro de los reactores, la población microbiana anaerobia era diferente. Las BSR, específicamente *Desulfovibrio spp* fueron independientes de la presencia de sulfatos pero se observaron otras especies de BSR que parecían ser más competitivas en ambientes con presencia de sulfatos. En cambio, para las BM, la población microbiana cambió totalmente entre las dos condiciones (con y sin sulfatos).

Omil y col. (1998) emplearon un RALLFA a 30°C alimentado con una mezcla de los tres ácidos grasos libres con sulfatos con una relación DQO/sulfatos = 5. Para la presente investigación en viales, el valor es 3. Omil y col. (1998) estudiaron la competencia de las BM y de las BSR en ácidos acético, propiónico y butírico. Los resultados obtenidos a 30°C por Omil y colaboradores se comparan en la Tabla 4.18 con los obtenidos en este trabajo a 35°C. La actividad sulfato-reductora para el ácido butírico en este trabajo es mayor que la obtenida por Omil y col. (1998). Esto concuerda, que si se supone que a una relación menor de DQO/sulfatos, la actividad sulfato-reductora se incrementa.

Los resultados de actividad metanogénica son más satisfactorios para este trabajo para los sustratos de ácido acético y butírico que los obtenidos por Omil y col. (1998) pero no con ácido propiónico. En las actividades sulfato-reductoras puede observarse que para ácido propiónico se detectó un aumento en la actividad lo que no se obtuvo en este trabajo. Si se observan los resultados entre los ácidos acético y butírico para la investigación de Omil y col. (1998), la actividad sulfato-reductora aumenta de la misma manera que en la presente investigación.

Tabla 4.18 Resultados comparativos de las pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora para ácido acético, propiónico y butírico de la literatura con las de esta investigación

Sustrato	gDQO/gSSVdía			
	Actividad metanogénica		Actividad sulfato-reductora	
	Omil y col., 1998	Este trabajo	Omil y col., 1998	Este trabajo
Ácido acético	0.52	0.66	0.13	0.07
Ácido propiónico	0.41	0.27	0.39	0.18
Ácido butírico	0.32	0.62	0.31	0.47

La Tabla 4.19 presenta los resultados de Fang y Chung (1999) para una investigación de degradación anaerobia para aguas residuales proteináceas bajo condiciones mesofílicas y termofílicas. Ellos realizaron pruebas de actividad metanogénica a mesofilia y termofilia en ausencia de sulfatos. De esta información, se observa que la degradación de ácido propiónico es más de un 50% menor en las pruebas realizadas por Fang y Chung, a 35 y 55°C y en los



experimentos de esta investigación a 35°C. Sin embargo, sí se obtuvo una actividad comparable a la de los ácidos acético y butírico para este estudio a 55°C. Como se mencionaba arriba será necesario un estudio del tipo de organismos que proliferan para comprender las diferencias de actividades.

Visser y col. (1993a) estudiaron las actividades metanogénica y sulfato-reductora de biomasa anaerobia adaptada a 35°C la cual se expuso a un choque térmico a 55°C durante 8 a 9 horas. Los organismos degradadores de ácido propiónico y butírico decayeron en sus funciones, a diferencia de las bacterias degradadoras de ácido acético. La degradación de ácidos propiónico y butírico se recuperó rápidamente después de la exposición a 55°C porque nuevamente se reestableció la temperatura de 35°C. Para esta investigación los organismos ya estaban adaptados a 55°C después de 300 días. Esto indica que la adaptación de las BM y BSR depende del tiempo, por lo que los estudios realizados por un lapso corto no pueden generar resultados fiables cuando se trata de poblaciones microbianas.

Tabla 4.19 Resultados comparativos de las pruebas de actividad metanogénica para ácido acético, propiónico y butírico a condiciones mesofílicas y termofílicas de la literatura con las de esta investigación

Sustrato	Actividad metanogénica, gDQO-CH ₄ /gSSVdía			
	35°C		55°C	
	Fang y Chung, 1999	Este trabajo	Fang y Chung, 1999	Este trabajo
Ácido acético	0.92	0.66	1.31	0.99
Ácido propiónico	0.37	0.27	0.21	0.82
Ácido butírico	0.55	0.62	1.40	0.80

En otras investigaciones de Visser y col. (1993) sobre la actividad metanogénica y sulfato-reductora de la degradación anaerobia de mezclas de ácidos grasos volátiles a diferentes concentraciones de sulfatos, obtuvieron resultados muy semejantes a los de la presente investigación en la degradación de ácido propiónico y butírico.

Debido a esto, puede intuirse que las rutas de degradación del ácido butírico son iguales a las descritas para el ácido propiónico. Es posible que los ácidos grasos sean transformados a ácido acético e hidrógeno por las BA degradadoras para cada tipo de sustrato y el hidrógeno generado es parcialmente utilizado por las BSR y las BM. Debido a que los distintos tipos de BSR poseen una afinidad diferente a los sulfatos (Ingvorsen y col., 1984), esta última hipótesis es muy común en la literatura consultada. Al respecto, las BSR reservan el hidrógeno a una presión parcial más baja que las BM y las BA degradadoras de ácido propiónico y butírico se desarrollan mucho más rápidamente en cultivos con BSR consumidoras de hidrógeno que con BM consumidoras de hidrógeno (Boone y Bryant, 1980). Esto puede relacionarse con la presente investigación, donde se presentó este fenómeno en las pruebas con ácido butírico y aún empleando el sustrato de adaptación, las vinazas, pues la actividad sulfato-reductora aumenta con respecto a la actividad metanogénica con los sustratos de ácido butírico y vinazas. Con las vinazas puede esperarse un modelo más complejo de degradación pero, al final, los ácidos grasos volátiles deben ser los productos de degradación anaerobia intermedia.



Flaherty y col. (1998b) realizaron una investigación durante cinco años con aguas residuales de la industria del ácido cítrico estudiando la competencia de las BSR y las BM en un reactor anaerobio. A la biomasa del reactor se le hicieron varias pruebas de actividad metanogénica con sustratos diferentes al agua residual en tratamiento, como ácidos acético, propiónico, butírico, etanol e H_2/CO_2 . Los resultados de la investigación de Flaherty y col. (1998b) se muestran en la Tabla 4.20 y se comparan con los de la presente investigación a la misma temperatura. Flaherty y col. (1998b) midieron la competencia entre las BSR, las BM y bacterias sintróficas, mediante pruebas de actividad metanogénica y seguimiento del consumo de sustrato en presencia y ausencia de sulfatos y/o inhibidores metanogénicos o sulfato-reductores. La actividad sulfato-reductora la determinaron directamente del consumo del sustrato y la actividad metanogénica mediante la producción de metano generado durante el experimento. Flaherty y col. (1998b) concluyeron que las BSR juegan un rol clave en la degradación de ácido propiónico en reactores a gran escala. Ellos observaron que la conversión de ácido propiónico fue muy baja en ausencia de sulfatos. También observaron que las BSR llevaron a cabo una oxidación incompleta de ácido propiónico a ácido acético, específicamente por las bacterias *Desulphobulus spp.* Para esta investigación, a 35°C esto no ocurre con la biomasa adaptada a vinazas pero, a 55°C, sí podría asumir este rol.

Tabla 4.20 Resultados comparativos de las pruebas de actividad metanogénica para ácido acético, propiónico y butírico a condiciones mesofílicas y presencia de sulfatos de un reactor con un tiempo de operación prolongado tomados de la literatura con los de esta investigación

Sustrato	Actividad metanogénica específica, gCH ₄ /gSSVdía				Este trabajo 35°C
	Flaherty y col., 1998b inóculo	2 años	4 años	5 años	
Ácido acético	0.2168	0.0750	0.0679	0.1029	0.66
Ácido propiónico	0.0527	-	0.0039	-	0.27
Ácido butírico	0.0638	0.0531	0.0393	0.0527	0.62

Flaherty y col. (1998b) encontraron que la degradación de ácido acético se deterioró al final de los 5 años de operación a 35°C pero fue mayor la actividad metanogénica para los demás sustratos, los resultados pueden ajustarse a los obtenidos por la presente investigación, ya que la degradación de ácido acético se presenta en mayor grado para este estudio y aún para ácido butírico y los resultados sobre la falta de degradación de ácido propiónico fueron similares.

Schmidt y Ahring (1996) obtuvieron valores típicos de actividad metanogénica a condiciones mesofílicas que van desde 0.5 hasta 2.4 gDQO-CH₄/gSSVdía. En gránulos termofílicos observaron actividades metanogénicas arriba de 7.14 gDQO-CH₄/gSSVdía. De la Figura 4.35 puede verse que las actividades fluctúan de 0.275 para ácido propiónico a 35°C hasta 0.994 para ácido acético a 55°C pasando por 0.452 a 0.723 para vinazas a 35 y 55°C, respectivamente (todas las actividades en gDQO-CH₄/gSSVdía). Es claro que las vinazas son un sustrato complejo y difícil de degradar y que, a pesar de 300 días de adaptación, sus actividades no son comparables a lo establecido por Schmidt y Ahring (1996). Además, el ácido acético resulta ser el sustrato con el que se obtiene la mayor actividad, indicando que los



consorcios microbianos de la biomasa supuestamente adaptada a vinazas inmediatamente modifican sus vías metabólicas para asimilar una fuente de carbono más simple.

En los siguientes apartados se discuten los resultados considerando cada sustrato empleado para las pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora.

4.3.1.1 Ácido acético

Van Lier y col. (1996) realizaron una investigación sobre la actividad metanogénica de un reactor anaerobio de compartimientos para diferentes concentraciones de ácido acético en un inóculo mesofílico para operar a condiciones termofílicas. Sus resultados indican que, al incrementar las cargas orgánicas con respecto al tiempo (de 5 a 100 gDQO/Ldía), la actividad metanogénica disminuye de 1.4 a 0.43 gDQO-CH₄/gSSVdía. Si se toma en consideración que, para la presente investigación, la carga orgánica manejada fue de 7.06 gDQO/Ldía, se debiera haber obtenido un valor cercano a 1.4 gDQO-CH₄/gSSVdía como el establecido por Van Lier y col. (1996). En esta investigación se obtuvo una actividad metanogénica para el ácido acético de 0.994 y para las vinazas de 0.7423 gDQO-CH₄/gSSVdía, a pesar de que la biomasa anaerobia de la presente investigación estaba "adaptada" a vinazas. Esto puede indicar que la biomasa supuestamente adaptada a la degradación de un sustrato complejo tiene una actividad metanogénica menor en ese sustrato que la obtenida para uno más simple, como el ácido acético, aún en presencia de altas concentraciones de sulfatos (Hoeks y col., 1984; Mulder, 1984; Isa y col., 1986a, b; Rinzema y col., 1986; Motoyuki y col., 1987; Ueki y col., 1988, 1989; Qatibi y col., 1990; Mc Cartney y Oleszkiewicz, 1991; Visser y col., 1993b).

Algunos investigadores plantean que existe un predominio de las BSR sobre las BM para degradar ácido acético. En la presente investigación se obtuvo una mayor actividad metanogénica que sulfato-reductora (0.662-0.994 versus 0.074-0.129 gDQO-CH₄/gSSVdía, entre 35 y 55°C) (Rinzema, 1988; Alphenaar y col., 1993; Visser y col., 1993). Harada y col. (1994) probaron que las BSR son pobres competidores con las BM por el ácido acético. Sin embargo, durante un periodo largo de operación con ácido acético, las BSR gradualmente compiten con las BM debido a su alta afinidad al sustrato. En los resultados de la presente investigación, el ácido acético estuvo en contacto con la biomasa únicamente el tiempo de prueba, lo cual probablemente influyó en los resultados obtenidos.

Smul y col. (1999) midieron las actividades metanogénica y sulfato-reductora de biomazas extraídas del reactor en el lapso de operación a 33°C, a 55°C y, nuevamente, a 33°C utilizando ácido acético. La biomasa tomada de la operación termofílica no mostró predominio de las BSR sobre las BM, probablemente debido al corto periodo de tiempo pero, retornando a la temperatura de 33°C, la degradación de ácido acético se incrementó por la vía de la sulfato-reducción. Podría deducirse de sus resultados que las BM son más sensibles a los cambios de temperatura que las BSR y, por lo mismo, la presente investigación fue realizada para atender la recuperación de la actividad de las BM en condiciones termofílicas y precisar entonces, la competencia entre las BSR y las BM.



Por lo resultados mostrados en la Figura 4.35, puede decirse que, para el ácido acético como sustrato, no hay competencia entre las bacterias metanogénicas (BM) con las bacterias sulfato-reductoras (BSR). Alrededor del 90% del carbono del ácido acético es convertido a CH_4 por las BM y la competencia entre las BSR no está presente ya que la actividad sulfato-reductora fue casi nula. Harada y col. (1994) probaron que las BSR son pobres competidores con las BM por el ácido acético.

Choi y Rim (1991) reportaron que si la relación de DQO/sulfatos excede 2.7, las BM acetoclásticas predominan, aunque a relaciones de DQO/sulfatos menores de 1.7, las BSR acetoclásticas predominan. Visser (1993) también indica que los lodos adaptados a bajas relaciones de DQO/sulfatos poseen grupos de BSR degradadoras de ácido acético muy activas. Esto último corrobora los resultados obtenidos en la presente investigación, donde la relación es de 8, por lo que influye grandemente en la competencia de las BM con las BSR por el ácido acético. Flaherty (1997) demostró que durante la competencia de ácido acético en un digestor a escala industrial, las BM acetoclásticas predominan aún después de 6 años de operación del reactor a una relación de DQO/sulfatos de 3.

4.3.1.2 Ácido propiónico, butírico y vinaza

Se conoce muy poco acerca de la competencia entre las BM y las BSR para ácidos propiónico y butírico en la degradación anaerobia, como se mencionó en el apartado 2.3. Cuando se tienen concentraciones intermedias de sulfatos, como es el caso de la presente investigación, las BSR pueden degradar parte de los ácidos grasos volátiles. Las BA están involucradas en la oxidación de ácidos grasos volátiles a ácido acético e H_2 . El H_2 se consume parcialmente, tanto por las BSR como por las BM, ya que el ácido acético es degradado por las BM (Visser y col., 1993b).

Espinoza y Noyola (1992) trabajaron en un reactor anaerobio para el tratamiento de vinazas y obtuvieron una acumulación de ácidos grasos volátiles, especialmente de ácido propiónico (3,000 mg/L). El mismo resultado se observó en la presente investigación al realizar las pruebas de actividad metanogénica con la biomasa anaerobia adaptada a vinazas utilizando como sustrato de prueba al ácido propiónico. En las pruebas de actividad metanogénica, la degradación de ácido propiónico está limitada por parte de las BM a 35°C pero esto no se ve reflejado en el parámetro de la relación de alcalinidad.

En la presente investigación, la degradación de los ácidos propiónico y butírico puede esquematizarse mediante la Figura 4.36. Los porcentajes mostrados en ella se obtuvieron por medio de los resultados de las actividades metanogénicas y sulfato-reductoras de la Figura 4.35.



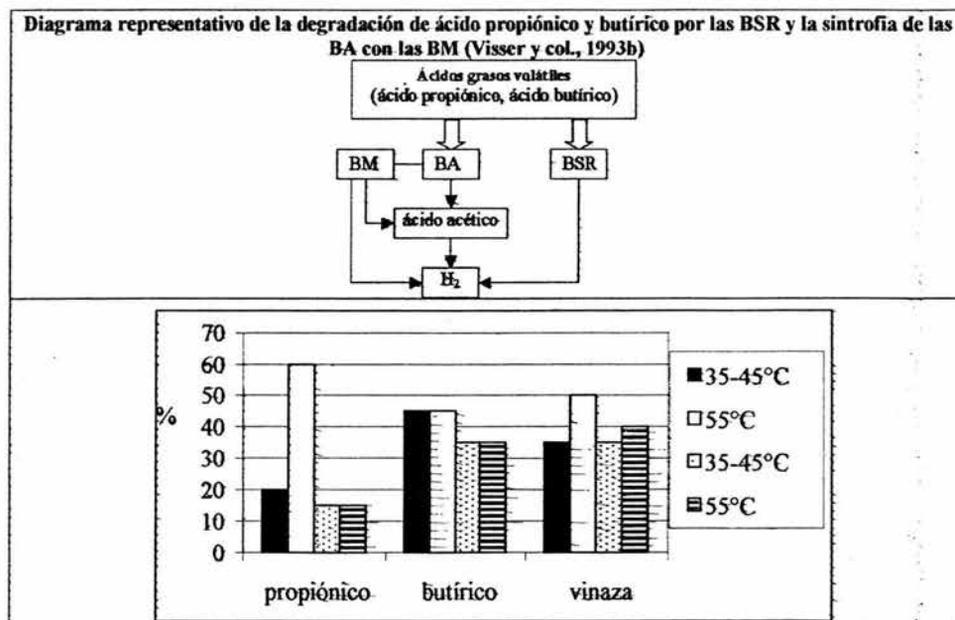


Figura 4.36 Representación del rol de intervención de las BSR y de las BM con la degradación de vinaza y los ácidos propiónico, butírico con respecto a la temperatura de acuerdo a los resultados de actividades metanogénica y sulfato-reductora

A 35 y 45°C, puede decirse que las BSR y las BM contribuyen poco en la degradación de ácido propiónico (20 y 15% para las BM y las BSR, respectivamente). A 55°C, la actividad metanogénica se reestablece para la degradación de ácido propiónico (60 y 15% para las BM y las BSR, respectivamente) pero la actividad sulfato-reductora permanece constante a 35, 45 y 55°C indicando, por tanto, que no existe competencia de las BSR con las BM por ácido propiónico a 55°C. Si se considera la teoría de Visser y col. (1993), que mencionan la existencia de una simtrofia entre las BM y las BA, al observar en el diagrama que las BA inician la degradación de ácido propiónico, los subproductos de estas reacciones pueden ser usados, tanto por las BSR como por las BM. Pero, conforme al esquema, puede entenderse que la degradación no ocurre a 35 ni a 45°C, así como de ningún modo la degradación directa por parte de las BSR del ácido propiónico, lo que podría indicar que fue suprimida alguna reacción en la degradación para el ácido propiónico que a 55°C no estuvo limitada. En la misma Figura 4.36 puede observarse que la degradación de ácido butírico a 35, 45 y 55°C permanece constante, tanto por la actividad metanogénica como por la sulfato-reductora. La competencia entre las BSR y las BM es la misma para este sustrato.

Van Lier y col. (1990) observaron en experimentos similares que la degradación del ácido propiónico no se recupera después de elevar la temperatura súbitamente de 35 a 55°C en

ausencia de sulfatos, mientras que la degradación de ácido acético y butírico se reanuda después de una semana. En el caso de la presente investigación ocurrió lo contrario. La degradación del ácido propiónico se reestablece a 55°C, a diferencia de la degradación obtenida a 35°C.

Se sabe que las vinazas están constituidas por compuestos químicos desconocidos pero simulando la intervención de las BA, las BM y las BSR para su degradación, de acuerdo al esquema de la Figura 4.36, donde puede observarse que tanto a 35 como a 45°C se presenta una competencia por el sustrato, posiblemente la actividad sulfato-reductora se incrementara debido a que las BSR poseen la propiedad de degradar directamente compuestos complejos (como fue mencionado en el apartado 2.1) e implica que la competencia por el sustrato de las BSR se compensa. A 55°C, la competencia de las BSR se conserva casi análoga a la de 35 y de 45°C, pero la actividad metanogénica se incrementa.

Los diagramas presentados en la Figura 4.36 representan solo una interpretación superficial que podrá compararse con el análisis de resultados finales con base en la actividad metanogénica, actividad sulfato-reductora y los balances de materia para cada consorcio bacteriano que serán discutidos más adelante.

Las poblaciones bacterianas en un reactor anaerobio poseen diferentes temperaturas óptimas para su desarrollo. Ahring (1994) midió la rapidez de producción de metano inicial, ($V_{(int)}$), en porcentaje a diferentes temperaturas, empleando estiércol digerido a 55°C e incubado con diferentes sustratos. Puede verse una clara diferencia entre la temperatura óptima de los ácidos fórmico, acético, propiónico y butírico y del hidrógeno. La actividad de todos los sustratos fue alta excepto para ácido propiónico a 55°C. La actividad se incrementa al aumentar la temperatura a 60°C y se presenta una caída en la actividad a 65°C y, más significativamente, a 70°C. La Figura 4.37 muestra los resultados y puede observarse que la producción de metano se incrementa conforme el sustrato contiene mayor número de carbonos en su fórmula química, pero la velocidad de reacción metanogénica es inversamente proporcional a este razonamiento. Los resultados se obtuvieron sin presencia de sulfatos en el sustrato a degradar. En la presente investigación sucedió algo similar con los resultados obtenidos exceptuando que, a 55°C, la actividad metanogénica para ácido propiónico se reestableció (muy posiblemente por alguna interacción entre las BM y las BSR, que no formaba parte de los estudios de Ahring). Los resultados de Ahring (1994) se mostraron en el apartado 2.6.2 en forma gráfica en la Figura 2.4.

En la presente investigación, a 55°C, los resultados de las actividades sulfato-reductoras poseen valores crecientes conforme la temperatura se aumenta, reforzando lo establecido por Ahring (1994), o sea, que las BSR presentan un aumento en su actividad con la temperatura. También es interesante observar que su actividad es mayor conforme el sustrato es más complejo (apartado 2.1). La razón de este comportamiento requiere de una línea de investigación específica que cae fuera del alcance de este trabajo. Sin embargo, si se considera la investigación de Ahring (1994), posiblemente el número de carbonos y la complejidad molecular química pueda involucrarse en una explicación a los resultados.



En el apartado 2.13 puede observarse la Tabla 2.27 que muestra los resultados de varias investigaciones sobre actividad metanogénica con diferentes sustratos intermedios de la degradación anaerobia. Los valores son muy diversos y no siguen una tendencia entre ellos. En la Tabla 2.27 aparecen resultados de investigaciones donde fueron probados diferentes clases de inóculos adaptados a sustratos muy diversos. Comparando los resultados de la presente investigación para el ácido acético como sustrato con los de la Tabla 2.27, puede observarse que los valores están entre los valores que poseen los inóculos que no están adaptados al sustrato, como la fábrica de azúcar y las mezclas de sustratos para condiciones mesofílicas. En esa misma Tabla 2.27, para las pruebas de actividad metanogénica con ácido acético a 55°C, los valores van desde 0.09 hasta 9.4 gDQO-CH₄/gSSVdía y como, en el presente trabajo se obtuvo un valor de 0.99, puede decirse que va muy de acuerdo a los resultados obtenidos por inóculos provenientes de mezclas de sustratos, ácido propiónico, etanol, ácido acético y ácido láctico.

También en la Tabla 2.27 puede verse que, para pruebas con ácido propiónico a condiciones mesofílicas, los valores de la actividad metanogénica oscilan desde 0.002 hasta 2.4 gDQO-CH₄/gSSVdía. En el presente trabajo se obtuvo un valor de 0.27, valor que va de acuerdo a los resultados obtenidos por los inóculos provenientes de una fábrica de azúcar. Para 55°C, en la Tabla 2.27 solamente aparecen datos para un inóculo proveniente de una mezcla de ácidos grasos libres con una actividad metanogénica de 0.15 gDQO-CH₄/gSSVdía, que es menor al valor obtenido en este trabajo. Esto indicaría que la biomasa adaptada a vinazas puede degradar mejor al ácido propiónico.

En la Tabla 2.27, para el ácido butírico se tienen valores que oscilan desde 0.12 hasta 14.24 gDQO-CH₄/gSSVdía. Si se comparan con los resultados obtenidos en esta investigación, puede decirse que son semejantes (0.56 versus 0.62) a los obtenidos a 30°C por un inóculo proveniente de una mezcla de ácidos grasos volátiles y para 55°C con otra investigación de un inóculo, también con una mezcla de ácidos grasos volátiles (0.85 versus 0.799). Griffin y col. (1998), así como como Cecchi y col. (1992) y Zinder y col. (1984), refuerzan los resultados obtenidos en la presente investigación sobre las bacterias sintróficas degradadoras de ácido propiónico. Laanbroek y col. (1984) demostraron que, en viales operados a condiciones de sulfatos limitadas, las bacterias que utilizan ácido acético, *D. postgatei*, no podían competir con *S. propionicus* con respecto de la utilización de sulfatos disponibles. Los consorcios microbianos adaptados a las vinazas tuvieron un comportamiento similar (0.074 versus 0.185, para 35°C; 0.116 versus 0.212 para 45°C; 0.129 versus 0.23 para 55°C).

Wiegant y de Man (1986), mencionan que los sistemas termofílicos tienden a acumular altos niveles de ácido propiónico, lo que no coincide ni con los resultados de esta investigación ni con las de los otros investigadores (Zinder y col., 1984; Cecchi y col., 1992; Griffin y col., 1998).

En el apartado 2.3.4 se describió el trabajo de Uberoi y Bhattacharya (1995), quienes indicaron que los consorcios microbianos que proliferan a 35 y 45°C presentan prácticamente



actividades metanogénicas y sulfato-reductoras pobres. A 55°C, es claro que los consorcios microbianos sí están siguiendo los mecanismos de degradación de ácido propiónico propuestos por estos autores.

Las bacterias sintróficas degradadoras de ácido butírico, debido a que poseen una rapidez de desarrollo o "crecimiento" específica alta y están presentes en un intervalo mayor de sustratos, no tiene problemas para degradar el ácido butírico (McInerney, 1992; Schink, 1992).

4.3.1.3 Balances de S, C y DQO en las pruebas de actividades metanogénica y sulfato-reductora

Durante las mediciones de la actividad metanogénica se evaluaron simultáneamente C, S total y DQO soluble, con objeto de realizar los balances de materia que se presentan en este apartado. Los resultados de la Figura 4.37 a 4.39 son los porcentajes promedio de triplicados de prueba y triplicados de análisis de cada parámetro.

La Figura 4.37 presenta los porcentajes de consumo de azufre para la prueba de actividad sulfato-reductora, por medio de la determinación de azufre total en el líquido, al inicio y al final del experimento. Las BSR transformaron el azufre a H₂S en diferentes concentraciones dependiendo del tipo de sustrato empleado.

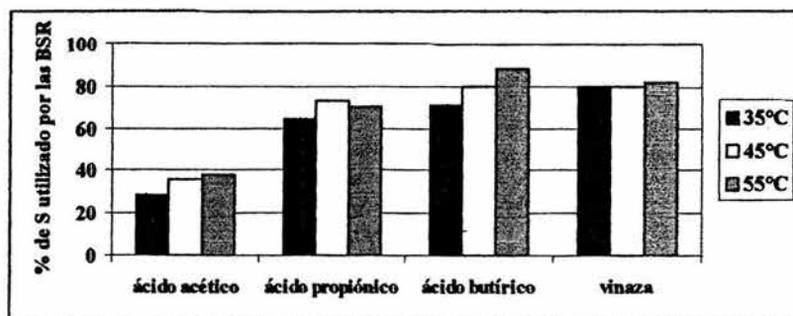


Figura 4.37 Fracción de S empleado por las BSR de pruebas realizadas en viales

El azufre consumido en vinaza por las BSR se conserva constante a las tres temperaturas en estudio (35, 45 y 55°C), lo que confirma los resultados mostrados en el apartado 4.2.4, donde la producción de H₂S y la actividad sulfato-reductora es constante a las tres temperaturas debido a que las concentraciones de H₂S no ionizado ó sulfuro presente en el sistema afectan su actividad, pero no a las BM.

Como ya se mencionó en el apartado 4.2.1, uno de los factores más importantes para determinar la competencia entre las BSR y las BM de digestores es la concentración de H₂S no ionizado. Existen pocos datos disponibles sobre el efecto de la toxicidad de este compuesto



sobre grupos individuales tróficos de bacterias y sobre la competencia entre las BSR y otras bacterias anaerobias en presencia de niveles altos. Confirmando lo obtenido en la pruebas de actividad sulfato-reductora, es claro, que la fuente de carbono para tomar la energía requerida para la transformación del azufre influyó en la cantidad de azufre transformado, que fue mayor con el ácido butírico con respecto del ácido acético (71 a 88 versus 28 a 38% de consumo de azufre).

La Figura 4.38 presenta los valores promedio de los balances de carbono para la prueba de actividad metanogénica, por medio de la determinación de carbono total en el líquido, al inicio y al final del experimento. Puede verse que las BM transforman la materia carbonosa exclusivamente a CH_4 y CO_2 .

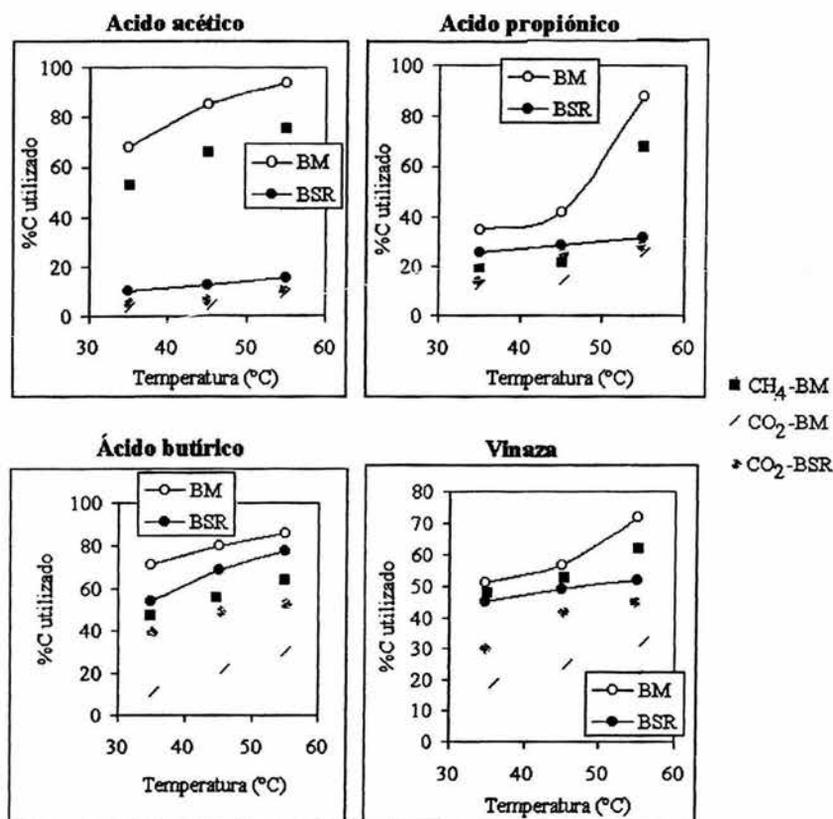


Figura 4.38 Fracción de C empleado por las BM y las BSR.



En el caso de las vinazas hay una conversión entre 50 a 60% de CH_4 y el restante se convierte a CO_2 . Conforme disminuye la complejidad del sustrato, como el ácido acético, el porcentaje de CH_4 es del 80% en el biogás y el restante es de 20% como CO_2 . Esto se debe a que la variedad de los productos de degradación en la vinaza son mayores y hay una mayor presencia de CO_2 . Una explicación más precisa fue descrita en el apartado anterior.

La Figura 4.39 muestra el balance de DQO al inicio y al término del experimento, medida en el líquido.

En general, los resultados obtenidos dependieron del tipo de sustrato a degradar y la producción de gases se incrementa al aumentar la complejidad del sustrato, aún cuando la cantidad de materia carbonosa adicionada al principio del experimento es la misma para todos los viales, independientemente del sustrato. La conversión de materia orgánica de las vinazas fue mayor que la obtenida en ácido acético, debido a que se obtuvo una DQO equivalente de los gases generados mayor que para el ácido acético. En el balance de carbono, la tendencia es contraria cuando se considera como base la generación de CH_4 solamente. Las BM optiman su respuesta con la producción de metano con el sustrato de ácido acético que con los otros sustratos. Con el ácido propiónico no hay respuesta de producción de gases y la remoción de DQO también es baja a 35 y 45°C, aunque a 55°C, la producción de metano se restablece.

A 55°C, el CH_4 producido es semejante para los sustratos de ácidos acético, propiónico y butírico. Para las vinazas, el equivalente de metano disminuye. Para ácido propiónico, los gases producidos por las BSR son mayores que los producidos por las BM y asimismo para ácido butírico y vinazas. Las BSR generan CO_2 y H_2S , mientras que las BM generan CH_4 y CO_2 , los que en cuestión de equivalencias de DQO dan valores mayores para el H_2S con respecto del CH_4 .

En la Figura 4.39 puede observarse en forma gráfica la respuesta metanogénica y sulfato-reductora para los ácidos acético, propiónico y butírico y para las vinazas. En ácido acético, el porcentaje de DQO utilizado por las BM es superior al utilizado por las BSR, de tal forma que puede deducirse que no existe competencia por la materia orgánica. Asimismo, los valores máximos de porcentaje de utilización de DQO por las BM son cercanos a 100%. Con esto puede reafirmarse que no existe competencia entre las BM y las BSR. La metanogénesis en este caso es la vía de degradación dominante.

En la misma figura puede observarse la respuesta microbiana utilizando ácido propiónico. El porcentaje de DQO utilizado por las BSR a 35 y 45°C indica que existe competencia sobre las BM. A 55°C esta competencia desaparece debido a que la metanogénesis aumenta la degradación de materia orgánica hasta un máximo de 90%, mientras que la sulfato-reducción tiene una participación menor. A 55°C, la competencia entre las BSR y las BM disminuye con el ácido propiónico.

La degradación de vinazas por las BSR y las BM muestra en la Fig. 4.39 que el porcentaje de DQO utilizado por las BM y las BSR es muy semejante a 35 y 55°C pero, a 55°C, la



metanogénesis tiende a elevarse permaneciendo la sulfato-reducción con un aumento lineal. Podría decirse que, a 55°C, no hay competencia entre las BSR sobre las BM para la degradación de vinazas.

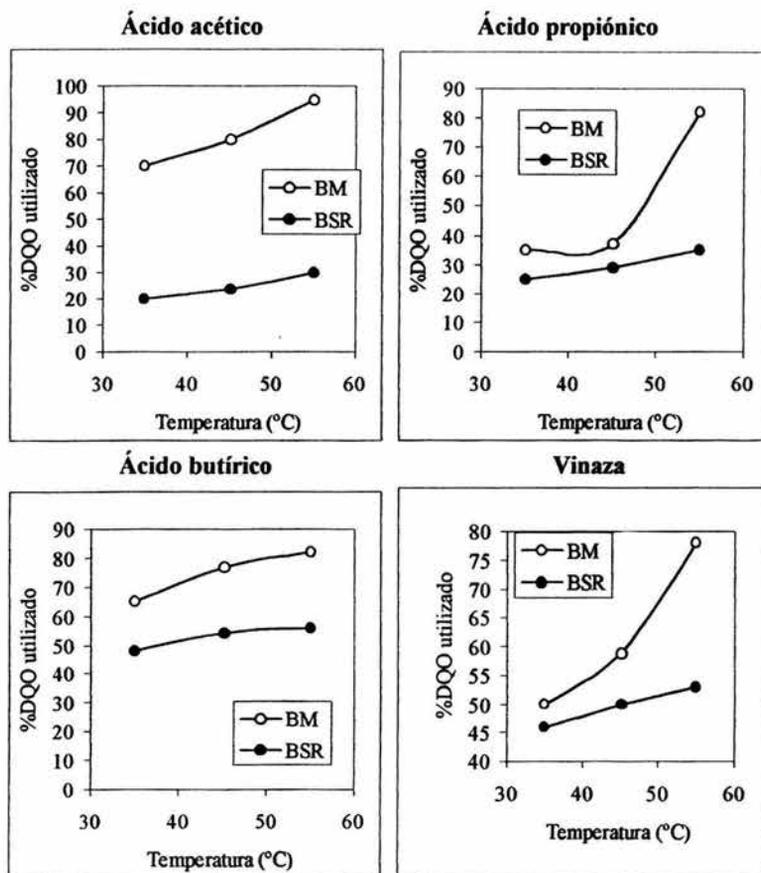


Figura 4.39 DQO empleada por las BM y las BSR.

Visser y col. (1993a) obtuvieron a 55°C una eficiencia de remoción con base en la DQO de 20% para las BM con un sustrato de una mezcla ácidos grasos volátiles y la remoción obtenida por las BSR fue también de 20%. En la presente investigación, para vinazas a 55°C se obtuvo una remoción de DQO de las BM de 80% y para los ácidos acético, propiónico y butírico de 95, 82 y 82%, respectivamente. Esto indicaría que las biomazas estaban bien adaptadas a las condiciones termofílicas y por ello degradaron eficientemente la materia orgánica medida como DQO (ácidos y vinazas).



Como resumen de la información discutida en los párrafos anteriores, en la Figura 4.40 se presentan los porcentajes de DQO empleado por las BM y las BSR para generar productos. Los datos de la parte superior son para la fase gaseosa. Los datos intermedios son para la fase líquida y los datos de la parte inferior son para la biomasa en suspensión.

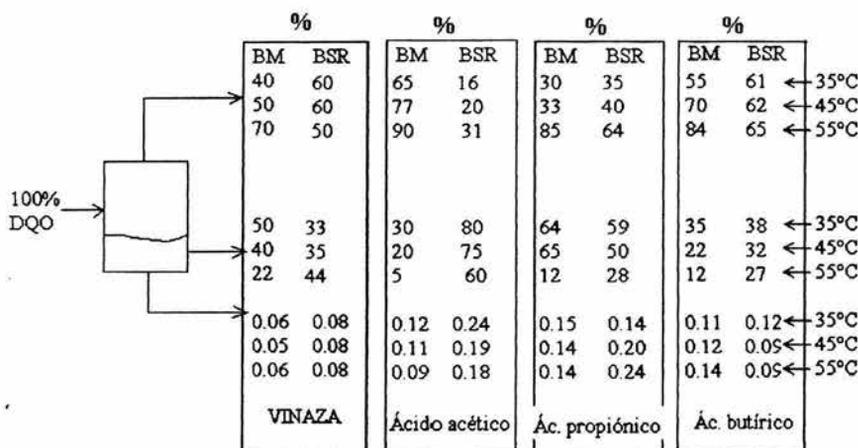


Figura 4.40 Balance de DQO para la actividad metanogénica y sulfato-reductora a 35, 45 y 55°C para cada grupo de viales en las fases gaseosa, líquida y de la biomasa en suspensión

Existe poca literatura sobre cinéticas de inhibición para sistemas que contienen azufre en sus formas potencialmente tóxicas. Es obvio que el grado de toxicidad es diferente para bacterias acidogénicas, BM y BSR y este factor puede jugar un rol determinante en la competencia a tiempos prolongados entre la metanogénesis y la sulfato-reducción. Algunos autores notan alguna conexión entre la resistencia a la toxicidad de los compuestos de azufre con el estado del lodo (disperso o granular). Los lodos granulares muestran una resistencia elevada a los compuestos azufrados tóxicos en comparación con los lodos dispersos respecto de la actividad metanogénica (Alphenaar, 1994). Es evidente que las bacterias que proliferan en biopelículas (como ocurre con el lodo granular) pueden estar más protegidas a concentraciones de H_2S no disociado en niveles tóxicos que las que están dispersas, debido a que tienen condiciones microambientales diferentes (valores de pH, temperatura, etc.).

Kalyuzhnyi y Fedorovich (1997) indican en sus resultados de modelación que las BSR, dependiendo del grado de granulación, mostraron disminución o incremento de su resistencia a la toxicidad. Si el lodo contiene BM principalmente en forma granular y BSR principalmente en forma dispersa, esto podría ser un factor para el predominio de la metanogénesis sobre la sulfato-reducción. En esta investigación no se buscó estudiar ni los organismos ni si estaban en forma granular o dispersa, por lo que será interesante en las investigaciones siguientes



corroborar esto y ver con la confirmación de los resultados de esta investigación obtenidos de los balances de S, C y DQO y de las actividades metanogénica y sulfato-reductora.

Kalyuzhnyi y Fedorovich (1997) encontraron también el efecto de algunos parámetros de operación en la relación de DQO_{BSR}/DQO_{BM} (Tabla 2.25). En algunas investigaciones, las BM y las BSR bajo condiciones de H_2S no disociado muestran fuerte inhibición (Vavilin y col., 1994). Algunos resultados de modelación bajo variación de pH en el influente demostraron una influencia débil de este factor sobre la relación DQO_{BSR}/DQO_{BM} debido a que el CO_2 y H_2S producidos crean un nivel suficiente de capacidad amortiguadora en el medio del reactor. En esa investigación, que contempló recirculación de efluente, TRH, incremento de BSR sobre BM en el inóculo, no se considera el efecto de la temperatura en la relación DQO_{BSR}/DQO_{BM} , por lo que si se toma la información generada en la presente investigación (Fig. 4.39, especialmente para ácido propiónico y vinaza), podría decirse que al aumentar la temperatura baja la relación DQO_{BSR}/DQO_{BM} .

El apartado 2.12 expone las formulaciones que, de acuerdo con Alphenaar (1994), permiten calcular la fracción utilizada por las BSR y las BM. La Tabla 4.21 muestra los datos publicados por este autor. Puede observarse que al incrementar la temperatura aumenta el porcentaje de DQO utilizado por las BM y disminuye el porcentaje de DQO utilizado por las BSR, esto es, la competencia disminuye. Esto indica que los resultados de la presente investigación tienen un comportamiento similar al reportado por Alphenaar (1994).

Tabla 4.21 Balance de DQO en los reactores a 35, 45 y 55°C con respecto a los resultados de Alphenaar (1994)

	Según Alphenaar, 1994				Resultados en este trabajo con vinaza		
	35°C	45°C	55°C	unidades	35°C	45°C	55°C
$DQO_{conversión\ BSR}$	1.76	1.88	2.14	gDQO/día	5.05	4.90	4.22
$DQO_{conversión\ BM}$	4.23	14.59	20.18	gDQO/día	3.77	4.44	5.88
%DQO _{BSR}	29	11	9.6	%	57	52	42
%DQO _{BM}	71	89	90.4	%	43	48	58

4.3.2 Parámetros cinéticos

Para realmente a las pruebas en viales con los medios específicos para determinar actividades metanogénica y sulfatorreductora, se adicionaron viales para determinar las constantes cinéticas y aplicar la ecuación de Arrhenius.

Los cálculos se basan en las ecuaciones 2-13 y 2-15 del apartado 2.11:

$$\frac{X \cdot TRH}{S_o - S} = \frac{K_s}{k} \frac{1}{S} + \frac{1}{k} \quad (2-13) \qquad \frac{F}{TRH} = Y_b \frac{S_o - S}{X \cdot TRH} - k_d \quad (2-14)$$



$$k = \frac{\mu_{\max}}{Y_b} \quad (2-15)$$

donde

Y_b =Coeficiente de producción máxima de biomasa medido durante cualquier período finito de la fase de crecimiento logarítmico definido como la relación entre la masa de células formadas y la masa de sustrato consumido (g/g)

k_d =Coeficiente de descomposición endógena (día⁻¹)

K_s =Constante de rapidez media, concentración del sustrato para la mitad de la tasa máxima de crecimiento (gDQO/L)

S =Concentración del sustrato limitante del crecimiento en disolución (gDQO/L)

X =Concentración de células (g/L)

μ_{\max} =Tasa de crecimiento específico máxima (día⁻¹)

k =Tasa máxima de utilización del sustrato por unidad de masa de microorganismos

TRH=Tiempo de residencia (días)

La Tabla 4.22 muestra los resultados de los parámetros cinéticos obtenidos a las tres temperaturas.

Tabla 4.22 Parámetros cinéticos de los lodos de los reactores de 1.6 L. evaluados con vinazas en viales

	K_s (gDQO/L)	k (día ⁻¹)	Y_b (g/g)	k_d (día ⁻¹)	μ_{\max} (día ⁻¹)
35°C	118.17 120.81	0.02894 0.03075	1.2250 1.3795	0.0266 0.0347	0.0355 0.0424
Promedio	119.49	0.02984	1.3022	0.03065	0.03895
45°C	103.87 108.18	0.10323 0.10489	0.8818 0.7490	0.0509 0.0286	0.0910 0.0786
Promedio	106.02	0.10406	0.8154	0.0397	0.0848
55°C	87.36 90.59	0.45917 0.35143	0.9171 0.9585	0.0745 0.0555	0.4211 0.3368
Promedio	88.97	0.4053	0.9378	0.0650	0.3789

La Figura 4.41 muestra en forma gráfica los resultados de las constantes cinéticas con la obtención de la ecuación que sigue su comportamiento para poder emplear las constantes para un escalamiento de los viales para su utilización a nivel planta piloto e industrial. En la Figura 4.41, tanto los valores de K_s como k , k_d y μ_{\max} incrementan sus valores con la temperatura pero no se observa el mismo comportamiento con los valores obtenidos para Y_b , que disminuyen. Este fenómeno de reducción del rendimiento de biomasa se aprecia experimentalmente, ya que aunque la biomasa es más activa es menos abundante, aunque es bastante mayor que los datos reportados por Malina y Pohland (1992) y Hu y col. (2002), que aparecen en la Tabla 2.23. A lo largo de esta experimentación hubo "elutriación" de biomasa con el efluente, por lo que al incrementar la temperatura, la proliferación neta de biomasa disminuye ligeramente como lo demuestran los parámetros cinéticos. Del mismo modo, el decaimiento de los microorganismos se incrementa en biomazas suspendidas, indicando afinidad de un lodo al sustrato cuando se tienen valores de K_s que se reducen (Sponza, 2001). En la presente investigación, los resultados pueden sugerir que, a mayor temperatura, aumenta



la afinidad al sustrato por los microorganismos y que no existe acumulación, lo cual puede corroborarse con los resultados de actividad metanogénica y sulfato-reductora del apartado 4.3.1, donde la eliminación de ácido propiónico se optimiza a 55°C. A 35 y 45°C se detecta una acumulación de ácido propiónico en el sistema.

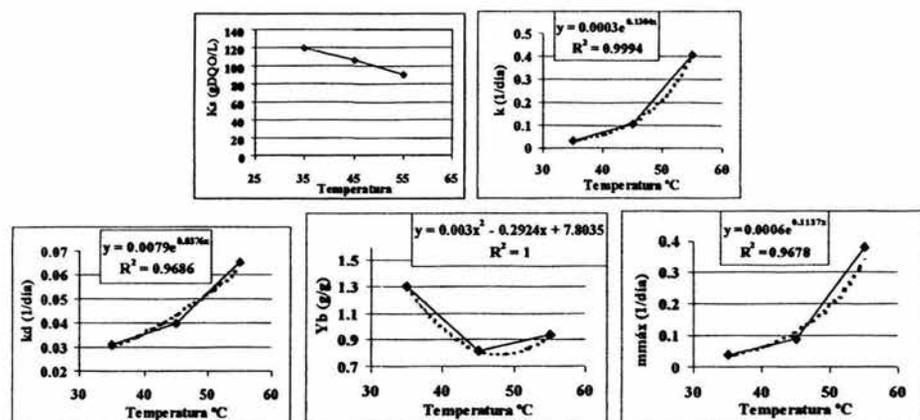


Figura 4.41 Efecto de la temperatura en las constantes cinéticas de las biomasas en vinazas (ecuaciones 2-13 a 2-15)

En el apartado 2.10 se muestra, como referencia, valores obtenidos de otras investigaciones para las constantes cinéticas (Tabla 2.23). Los obtenidos en el presente trabajo están dentro de los intervalos mostrados en esa tabla, lo cual indica que a mayor temperatura se incrementa la utilización de sustrato por los microorganismos. De los datos de la tasa de proliferación o “crecimiento” específico y la descomposición endógena puede inferirse que hay un equilibrio entre la proliferación y muerte de los microorganismos, conforme se aumenta la temperatura. Debe entonces cuidarse la producción de biomasa para que no se reduzca a niveles tan limitados que pongan en riesgo la producción de metano.

Fang y Chung (1999) en su trabajo suponen una fórmula química $C_5H_7O_2N$ para la biomasa usada en el tratamiento de aguas residuales proteínaceas. También suponen una equivalencia en DQO de los SSV (1.42 mgDQO/mgSSV) a 37 y 55°C. A condiciones mesofílicas y termofílicas obtuvieron una Y_b de 0.066 y 0.099 gSSV/gDQO, respectivamente. Los valores obtenidos por Fang y Chung están muy por debajo de los valores ilustrados en la Tabla 2.23 del apartado 2.10, y de los obtenidos en esta investigación, lo que posiblemente pudiera indicar que en el tratamiento de aguas residuales, los valores cambian dependiendo de la respuesta microbiana a la composición química del agua residual a tratar.

Los resultados de los estudios cinéticos obtenidos de estos experimentos pueden emplearse para la estimación de la eficiencia del tratamiento de reactores a escala industrial aplicando las mismas condiciones de operación de esta investigación. Al estimar la eficiencia del tratamiento en la presente investigación por medio de los parámetros cinéticos, puede



observarse que, al incrementar la temperatura, se incrementa la rapidez de consumo de sustrato por los microorganismos, 13 veces más de 35 a 55°C.

Pérez y col. (2001) realizaron cinéticas de biodegradación de un reactor de lecho fluidificado a 55°C con vinazas diluidas con una concentración de 15,000 mgDQO/L. Ellos obtuvieron valores de μ_{\max} de 0.72 día⁻¹ y de Y_b de 0.08 g/g. Estos valores, comparados con los obtenidos en la presente investigación (0.38 día⁻¹ y 0.94 g/g, respectivamente), muestran las diferencias de operar con efluentes diluidos y sin diluir (120,000 mgDQO/L).

Visser y col. (1993a) calcularon el coeficiente de descomposición endógena en una investigación del efecto a corto tiempo del incremento de la temperatura mesofílica a termofílica del tratamiento de un agua residual sintética conteniendo sulfatos. El valor de la descomposición endógena con base en la degradación de sustrato (k_d), al cambio de temperatura, fue de 1.71 a 10 h⁻¹. Esto revela el claro deterioro de la actividad metanogénica, sulfato-reductora y acetogénica a condiciones termofílicas después del choque térmico. La exposición de la biomasa a la temperatura termofílica en un periodo de 0.5 horas hizo que se perdiera la actividad de la biomasa. Ellos informan también que el decaimiento de la actividad para las BSR fue menor que para las BM. En la presente investigación se demostró que, una vez que la biomasa se adapta a la temperatura, los valores de k_d siguen estando en el mismo orden de magnitud que los que se obtienen a condiciones mesofílicas. Ciertamente, cuando se incrementó la temperatura de forma súbita al inicio de la investigación, la actividad metanogénica disminuyó considerablemente, como pudo observarse en la Figura 4.13 sobre kgDQO-CH₄/kgDQOremovida y en la Figura 4.14. La actividad sulfato-reductora también disminuyó, pero en menor medida que la actividad metanogénica (Figura 4.10) en la misma etapa de arranque. Los estudios realizados por Visser y col. (1993a) demuestran que la pérdida de la actividad de la biomasa después del choque térmico ocurre de manera similar a la de la presente investigación. Asimismo, la pérdida de la actividad de la biomasa es transitoria. El valor de k_d va aumentando con la temperatura, pero nunca llega al valor de k_d obtenido por Visser y col. (1993a).

4.3.3 Constantes de rapidez de reacción

Por medio de estos experimentos se obtuvo la cinética del tratamiento de vinazas (ver apartado 3.5) y la aplicación de la ecuación de Arrhenius. De acuerdo con el apartado mencionado se determinó el orden de reacción, resultando de primer orden. En varias investigaciones sobre tratamientos anaerobios de aguas residuales y sintéticas y metanogénesis en suelos se ha supuesto una reacción de primer orden (Duboc y von Stockar, 1998; Lokshina y Vavilin, 1999; Ahn y Forster, 2000; Sánchez y col., 2001; Faisal y Unno, 2002) y, aisladamente, una reacción de segundo orden (Büyükkamaci y Filibeli, 2002).

Desde un punto de vista práctico, existen muchas investigaciones sobre análisis cinéticos debido a su utilidad (Yang y col., 1987). Los modelos cinéticos que han sido probados en filtros anaerobios involucran el modelo de Monod (Williamson y McCarty, 1976; Hobson, 1983; Lindgren, 1983; Flora y col., 1995a,b), el modelo Haldane (Hill, 1983); modelos de



primer orden con respecto al sustrato (Pfeffer, 1968; Eastman y Ferguson, 1981); modelos de primer orden con respecto al sustrato y de orden cero con respecto a la biomasa (Rozzi y Verstraete, 1981) y el modelo de Contois (Chen y Hashimoto, 1980; Hill, 1983; Srivastava, 1995). Entre todos los modelos, el de Monod es el más empleado para describir sistemas de degradación anaerobia (Hanaki y Matsuo, 1985; Yang y col., 1987; Anderson y col, 1990; Anderson y Yang, 1992; Annachatre y Khanna, 1990). El modelo empleado en la presente investigación se describió en el apartado 2.10.

La Tabla 4.23 presenta los valores de la rapidez de reacción obtenidos, tanto para la metanogénesis como para la sulfato-reducción.

Tabla 4.23 Rapidez de reacción obtenidas para la producción de CH_4 y H_2S en pruebas realizadas en viales

Temperatura (T°C)	CH ₄			H ₂ S		
	35	45	55	35	45	55
Rapidez de reacción K (días ⁻¹)	0.0309	0.0530	0.1388	0.0072	0.0146	0.0227

La Tabla 4.24 muestra los valores obtenidos por otras investigaciones y ésta con respecto a la constante de rapidez de reacción. Rodríguez-Martínez (2002) calculó la constante de rapidez de reacción de la metanogénesis para el tratamiento anaerobio a 40°C de aguas residuales de un matadero de animales. Para la presente investigación a 45°C, el valor fue menor al de Rodríguez-Martínez (2002), de tal manera que si se considera la complejidad del tratamiento anaerobio de las vinazas versus aguas residuales fundamentalmente biodegradables en su mayoría, como las provenientes de un matadero de animales, puede observarse que la velocidad de reacción para la metanogénesis se lleva a cabo más lentamente para el tratamiento de vinazas que para el otro tipo de agua residual.

Tabla 4.24 Comparación de resultados de la constante de rapidez de reacción en la metanogénesis con otras investigaciones

Temperatura (T°C)	CH ₄ Rapidez de reacción K (días ⁻¹)				Referencia
	20	35	45	55	
Tratamiento anaerobio de vinazas	-	0.03	0.05	0.13	En la presente investigación
Tratamiento anaerobio de aguas residuales de mataderos de animales	-	-	0.16 (40°C)	-	Rodríguez-Martínez (2002)
Digestión de diversos materiales orgánicos	0.15	0.28 (30°C)	0.47 (40°C)	-	Veeken y Hammeler (1999)

Otras investigaciones relacionadas con la constante de rapidez de reacción de la metanogénesis pudieron observarse en la Tabla 2.24. Destaca la investigación de Veeken y Hammeler (1999), quienes calcularon las constantes de rapidez a 20, 30 y 40°C de diversos materiales orgánicos. El valor de las constantes se incrementó conforme a la temperatura como en la presente investigación. Los valores obtenidos por Veeken y Hammeler son más altos que



los de la presente investigación, nuevamente debido a la diferencia en la composición química de los sustratos en estudio.

Las constantes de rapidez de reacción en los tratamientos anaerobios a condiciones termofílicas son considerablemente más altas que en condiciones psicrófilas y mesofílicas (Varel y col., 1980; Wiegant y col., 1985; Romero y col., 1988; Jimeno y col., 1990; Safley y Westerman, 1992; Kotsyurbenko y col., 1993; Lepisto y Rintala, 1996, 1999; Vartak y col., 1997), como sucede con los resultados de la presente investigación.

Con la constante de rapidez de reacción para la sulfato-reducción se tiene también un aumento conforme se incrementa la temperatura. No se encontraron datos en la literatura para comparar los valores numéricos. En la Figura 4.42 se presentan los resultados de la constante de velocidad de reacción para la metanogénesis y sulfato-reducción con respecto a la temperatura. Puede observarse que, al incrementar la temperatura, aumentan la metanogénesis y la sulfato-reducción pero a una tasa diferente. En el caso de la rapidez de reacción de la sulfato-reducción su tasa es lineal mientras que la reacción de la metanogénesis se incrementa exponencialmente.

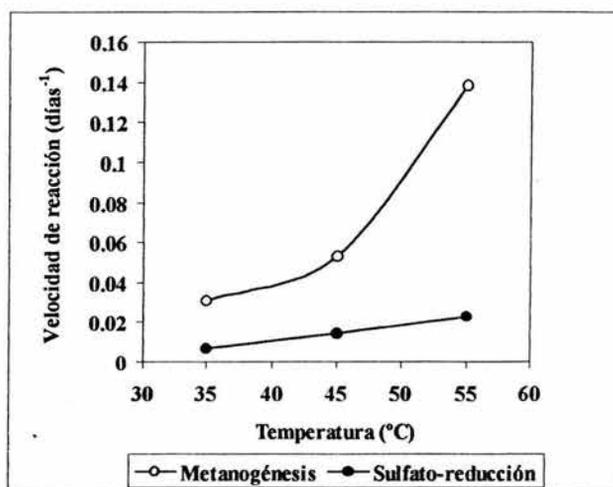


Figura 4.42 Efecto de la temperatura sobre la rapidez de reacción de la metanogénesis y de la sulfato-reducción

4.3.4 Obtención de la ecuación de Arrhenius a partir de los datos experimentales

La ecuación de Arrhenius se empleó para conocer el efecto de la temperatura sobre la rapidez de producción de CH_4 , H_2S y de la degradación de sustrato, para obtenerlos como productos de las reacciones de metanogénesis y sulfato-reducción, respectivamente, que es la materia de



esta investigación. La formulación para la obtención de los resultados se describió en el apartado 2.11 con las ecuaciones 2-17 a 2-19. Todos los datos se calcularon a PTS.

La Figura 4.43 muestra los resultados obtenidos para la metanogénesis, sulfato-reducción y consumo de sustrato, de acuerdo con la literatura (ecuación 2-19). La desviación estándar es baja y la correlación es cercana a 1 para las tres reacciones. De ella, se obtienen K_0 (constante de Arrhenius) y la energía de activación: La misma Figura muestra comparativamente las tres reacciones en cuestión, donde puede observarse que a mayor temperatura se presenta un aumento en el consumo de sustrato y un apreciable aumento en la metanogénesis mientras que la sulfato-reducción no presenta mayor cambio a la temperatura. Puede observarse que la metanogénesis presenta una mayor dependencia a la temperatura y, consecuentemente, después el consumo de sustrato y la sulfato-reducción tienen una respuesta a la temperatura relativamente menor. En conclusión, la sulfato-reducción permanece casi constante a la temperatura.

E_a = energía de activación de la reacción, kJ/mol
 $K_v=K_{CH_4}$ o K_{H_2S} constante de rapidez de reacción de metanogénesis o sulfato-reducción respectivamente (d^{-1})
 T =temperatura, K
 K_0 = Factor de frecuencia o constante de Arrhenius (d^{-1})

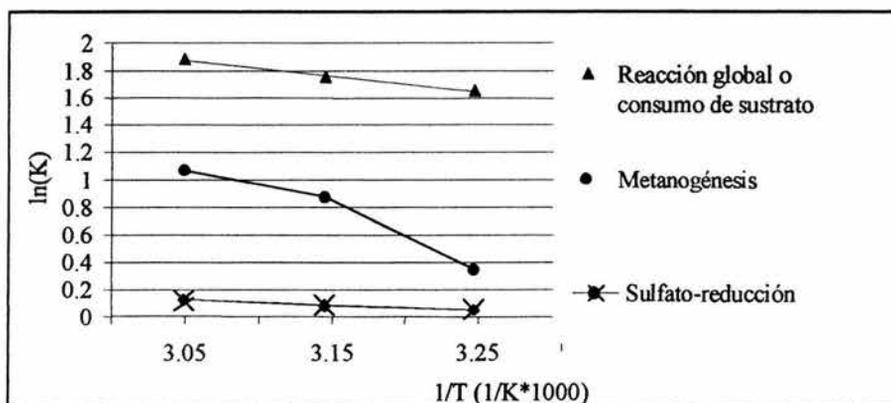


Figura 4.43 Energía de activación y constante de Arrhenius para: a) Metanogénesis ($E_a/R=7597$, $K_0=1.321 \times 10^6$) y b) Sulfato-reducción ($E_a/R=5815$, $K_0=1.18 \times 10^6$)

La Tabla 4.25 muestra los valores de la energía de activación obtenidos para la metanogénesis y para la sulfato-reducción. En la Tabla 2.24 del apartado 2.11, se citaron diferentes investigaciones sobre la aplicación de la ecuación de Arrhenius y los resultados de las energías de activación correspondientes. Si se observa la Tabla 2.24, no existen investigaciones sobre la actividad metanogénica en el intervalo analizado en la presente investigación (35-55°C), pero puede relacionarse con la investigación realizada por Lubberding y Stams (1995), que



calcularon la energía de activación de la metanogénesis en una biomasa mixta para la digestión de lodo y en un cultivo puro metanogénico. Estos resultados se compararon en la Tabla 4.26 con la presente investigación. De ellos, puede interpretarse que la energía de activación es mayor cuando la actividad metanogénica se obtiene por un cultivo puro metanogénico, que por una biomasa anaerobia mixta. Es decir, que la actividad metanogénica de un cultivo puro tiene una mayor respuesta a la temperatura que cuando se trata de un cultivo microbiano anaerobio mixto adaptado (como el de la presente investigación) y una menor respuesta cuando se trata de un cultivo microbiano anaerobio mixto no adaptado a la temperatura.

Tabla 4.25 Energías de activación obtenidas para la producción de CH₄ y H₂S en pruebas realizadas en viales

	CH ₄	H ₂ S
Constante de Arrhenius (d ⁻¹)	1.321x10 ⁹	1.18x10 ⁶
Energía de activación (kJ/mol)	62.8 kJ/mol	48.3 kJ/mol

Tabla 4.26 Comparación de resultados de la energía de activación en la metanogénesis con otras investigaciones

	Metanogénesis Energía de activación (Ea) (kJ/mol)	Referencia
Tratamiento anaerobio de vinazas (35-55°C)	63	Esta investigación
Cultivo metanogénico puro de <i>Methanotherix soehngeni</i> (25-38°C)	71	Lubberding y Stams, 1995
Digestión de lodo con inóculo no adaptado (15-30°C)	51	Lubberding y Stams, 1995

En la literatura, las aplicaciones de la ecuación de Arrhenius para sulfato-reducción son escasas, como lo muestra la Tabla 2.24. Las investigaciones existentes fueron realizadas en sedimentos marinos. En general, las energías de activación para la sulfato-reducción para sedimentos marinos van de 47 a 93 kJ/mol (Jorgensen, 1977; Abdollahi y Nedwell, 1979; Nedwell y Abram, 1979; Nedwell, 1982; Skyring y col., 1983). El incremento en la temperatura de 10°C estimula la rapidez de sulfato-reducción con un factor de 2 a 3.9 con base en la producción de H₂S en la fase gaseosa. La temperatura óptima de la mayoría de los cultivos puros de las BSR (Tabla 2.4) es de 28 a 32°C.

Si ahora se analizan los resultados de la producción de H₂S considerando la concentración de H₂S disuelto, la energía de activación tiene un valor de 48.3 kJ/mol y un incremento de la rapidez de sulfato-reducción cada 10°C con un factor de 0.1 para 35 a 45°C y un factor de 0.15 para 45 a 55°C. Debe considerarse que, en la literatura, las investigaciones se realizaron para un intervalo de temperatura psicrófilo y que en esta investigación iban de condiciones mesofílicas a termofílicas, en las que no se encontraron referencias del cálculo de energías de activación en la literatura.



Las energías de activación para los sistemas microbianos están habitualmente en el intervalo de 33.5 a 50.3 kJ/mol (Tchobanoglous y Schroeder, 1985), por lo que las obtenidas en esta investigación, de 48 y 63 kJ/mol, están dentro de ellos.

Las rapidezces de degradación disminuyen en un factor de 2 para una disminución de temperatura de 10°C como ocurre para las reacciones químicas (Ahn y Forster, 2000). Los resultados de esta investigación con base en la degradación de sustrato muestran que el aumento en la rapidez de degradación máxima específica (μ_{max}) fue de 2 veces al incrementar la temperatura de 35 a 45°C y de 4.5 veces al elevarla de 45 a 55°C. Es decir, en la literatura se informa que por cada 10°C menos, la degradación disminuye en un factor de 2, como se afirma con los resultados de esta investigación. Resulta interesante observar que, cuando la biomasa cambia de condiciones mesofílicas a termofílicas, de 45 a 55°C, el factor fue de 10. Esto podría indicar que no es posible comparar a las biomasas termofílica y mesofílica. Como se recuerda de las Tablas 2.4 y 2.6, los organismos que proliferan son muy diferentes.

La Tabla 4.27 muestra una comparación entre la energía de activación requerida para la degradación de sustrato en los reactores de 1.6 L de 98 kJ/mol. Esto refuerza la aseveración de que la degradación de sustrato es dependiente de la temperatura. La energía de activación se calculó también a partir de los resultados obtenidos en los reactores de 1.6 L con base en el consumo de sustrato en equivalentes de DQO. La Tabla 4.27 muestra estos resultados y los compara con los obtenidos en los viales usando esta misma metodología. Dado que la cantidad real de biomasa presente en los reactores de 1.6 L fue estimada y no calculada, como ocurre con los viales, las energías de activación obtenidas no son iguales aunque tienen el mismo orden de magnitud (18% de diferencia).

Tabla 4.27 Cuadro comparativo de energías de activación en los reactores de 1.6 L y viales por consumo de sustrato con la equivalencia a DQO

	gDQOremovida/gSSVdía		Energía de activación (Ea) consumo de sustrato kJ/mol	
	Reactores 1.6 L	Viales	Reactores 1.6 L	Viales
35	0.26	0.30	98	120
45	0.30	0.34		
55	0.33	0.45		

4.3.5 Balances de materia en los viales para corroboración de los resultados en los reactores

Como ya se describió en el apartado 3.2 se analizaron un total de 81 viales. De ellos, 72 viales correspondieron a cada actividad (36 para la metanogénica y 36 para la sulfato-reductora), para los estudios con cada sustrato (9 para vinazas, 9 para el ácido acético, 9 para el ácido propiónico y 9 para el ácido butírico). Para las pruebas con vinazas se obtuvieron también 9 viales adicionales para realizar la cinética de degradación, la aplicación de la ecuación de



Arrhenius y realizar los balances de materia. A continuación se presentan los resultados de estos balances.

4.3.5.1 Balances de carbono

Mediante las pruebas de degradación puede simularse el ambiente de los reactores anaerobios en condiciones más controladas. De esta forma, se compararon los resultados obtenidos de los balances de C, N, S y DQO para los reactores anaerobios de 1.6 L con los de los viales. La Tabla 4.28 muestra un resumen de los resultados promedio para los viales una vez que se terminó la fase experimental. La información “etiquetada” como materia no degradada representa no solamente el carbono que realmente no se degradó sino también los gases carbonosos disueltos (CH₄ y CO₂ disueltos).

Para los RALLFA a 35, 45 y 55°C se obtuvieron 65, 72 y 88% de CH₄ en el biogás, respectivamente. Para las pruebas de viales para vinaza se obtuvieron 66, 71 y 87% de CH₄ en el biogás, respectivamente. Las variaciones entre ambos sistemas en los porcentajes de metano no son notables a pesar de la diferencia de escala del volumen (1.6 L versus 5 mL).

Tabla 4.28 Balance de carbono de las pruebas realizadas en viales (volumen de trabajo 5 mL)

C reactivo	C productos	35°C		45°C		55°C	
		gC	%	gC	%	gC	%
0.1457 gC con la vinaza 100%	Gas CH ₄	0.0261±0.008	17.91	0.0446±0.01	30.61	0.0785±0.01	53.88
	Gas CO ₂	0.0098±0.001	6.73	0.0125±0.009	8.58	0.008±0.001	5.49
	Gas	0.0359±0.01	24.64	0.0571±0.01	39.19	0.0865±0.02	59.37
	Materia no degradada*	0.0727±0.015	49.90	0.0532±0.01	36.51	0.0207±0.009	14.21
	Biomasa dentro del reactor**	0.0013±0.0002	0.89	0.0012±0.00005	0.82	0.001±0.0005	0.69
	% diferencia	***	24.57	***	23.47	***	25.74

* Efluente líquido que sale del reactor previamente centrifugado (sin considerar la biomasa sólida que arrastra)

** Considerando el volumen inicial de biomasa inoculada (en el orden de miligramos)

*** Se considera aquí el carbón que sale con la biomasa elutriada y el “error” de medición en la biomasa que permanece dentro del reactor y las muestras tomadas de biomasa y de efluente para medir en el analizador elemental

La Tabla 4.29 presenta los balances de materia para carbono se empleó un estudio de reproducibilidad estadística para validar los resultados obtenidos. Los balances muestran que, en lo referente a la concentración de CH₄, los valores no presentan variación significativa entre ellos. Para la producción de biogás total como gCgas/gC removido, los valores presentan variación significativa al 1% con un índice de confianza de 73%, pero con la misma tendencia entre ellos para cada una de las pruebas. Esta información indica claramente que parte del carbono está siendo utilizado para las funciones metabólicas de la biomasa presente (no siendo convertido ni a metano ni a CO₂). Por ejemplo las BSR utilizan ese carbono como fuente de energía para producir H₂S.



Tabla 4.29 Resultados comparativos de los balance de carbono en viales y en los reactores de 1.6 L. a las tres temperaturas

°C	Viales		RALLFA	
	molCH ₄ /gC removido		gC-CH ₄ /gC removido	
35	0.030	0.024	0.36	0.28
45	0.040	0.034	0.48	0.40
55	0.052	0.039	0.63	0.47
°C	molCO ₂ /gC removido		gC-CO ₂ /gC removido	
	mol gas total/gC removido		gCgas total/gC removido	
35	0.011	0.009	0.13	0.11
45	0.011	0.011	0.13	0.13
55	0.005	0.004	0.06	0.08
35	0.041	0.033	0.49	0.36
45	0.051	0.045	0.62	0.53
55	0.057	0.043	0.69	0.55

* La concentración de carbono inicial en los viales era de 0.1457 gC (el experimento duró 45 días) y en los RALLFA era de 4.91 gC/día

Considerando el factor de escala, los resultados de los balances de carbono de los reactores de 1.6 L, mostrados anteriormente, indican que el porcentaje de remoción de carbono a 55°C fue ligeramente mayor al obtenido en los RALLFA, 85.4 versus 79%, respectivamente; a 35°C, fueron similares y a 45°C, los porcentajes fueron de 63.5% para los viales y de 69% para los RALLFA. Estos datos dan validez a los experimentos a microescala (5 mL versus 1.6 L).

En la Tabla 4.28 puede verse que el error experimental en los balances de carbono es alrededor del 25%. Este error es relativamente pequeño considerando el factor de escala (5 mL). Por ejemplo, las cantidades de biomasa de cada vial eran del orden de microgramos, medida como carbono.

4.3.5.2 Balances de azufre

La Tabla 4.30 presenta los resultados comparativos entre las pruebas en los viales y la operación de los RALLFA en los balances de azufre.

Los moles de H₂S mostrados en la Tabla 4.30 se refieren a los presentes en la fase gaseosa debido a que los gS removidos incluyen el H₂S disuelto en el efluente. Los balances indican que, referente al gSgas/gS removido, los valores no presentan variación significativa entre ellos.

Los resultados de remoción de azufre en los viales fueron de 42, 64 y 82% y en los RALLFA fueron de 51, 61 y 81%, a 35, 45 y 55°C, respectivamente. Los porcentajes de remoción de azufre en las pruebas realizadas en los viales a las tres temperaturas se obtuvieron empleando los datos de azufre inicial versus azufre remanente o no degradado en el líquido antes y después de la prueba.



Tabla 4.30 Resultados promedios del balance de azufre de las pruebas realizadas en viales

S reactivo	S productos	35°C		45°C		55°C	
		gS	%	gS	%	gS	%
0.0127 gS con la vinaza 100%	Gas H ₂ S	0.006162 ±0.0012	48.52	0.007266 ±0.00152	57.21	0.009811 ±0.0018	77.25
	Materia no degradada*	0.0060 ±0.0012	47.24	0.0046 ±0.0011	36.22	0.0024 ±0.0009	18.90
	Biomasa dentro del reactor	0.0004 ±0.0001	3.24	0.0003 ±0.0001	2.36	0.0001 ±0.00005	0.78
	% diferencia	***	1.00	***	4.21	***	3.07

- * Efluente líquido que sale del reactor previamente centrifugado (sin considerar la biomasa sólida que arrastra)
 ** Considerando el volumen inicial de biomasa inoculada (1mL.)
 *** Se considera aquí el azufre que sale con la biomasa elutriada y el "error" de medición en la biomasa que permanece dentro del reactor y las muestras tomadas de biomasa y de efluente para medir en el analizador elemental

Tabla 4.31 Resultados comparativos de los balance de azufre en viales y en los reactores de 1.6 L a las tres temperaturas

Temperatura °C	Viales	RALLFA
molH₂S/gS removido		
35	0.01474	0.01868
45	0.0203	0.02694
55	0.0213	0.02649
gSgas/gS removido		
35	0.4719	0.5949
45	0.65012	0.8688
55	0.6806	0.8430

4.3.5.3 Balances de DQO en los viales

La Tabla 4.32 muestra los resultados promedio de los balances. Los resultados están calculados a PTS, de acuerdo al apartado 2.12 y ecuación 2-21. De las pruebas descritas en el apartado 3.5, se tomó el valor inicial, que era de 8.5 gDQO/gSSV. Los cálculos están basados en los gDQO al inicio y al final. Los resultados referidos como gDQO de gases representan la equivalencia de todos los productos gaseosos como CH₄ y H₂S a DQO.

La Tabla 4.32 presenta los diferentes porcentajes que corresponden a cada tipo de especie presentada como producto, cuando la cantidad de reactivo es igual a 100%. La diferencia representa el error experimental, que está entre 4 y 6%.

La Tabla 4.33 muestra en forma individual los equivalentes de DQO en la suma de productos como gases en las fases gaseosa y líquida. La generación de CH₄ muestra que, a 55°C, se obtuvo la mayor producción y se presentan diferencias significativas tanto a 90% como 95%



de nivel de confianza entre los valores en 35-45°C, 35-55°C y 45-55°C. Esto puede confirmar que la producción de metano se incrementa con la temperatura. La producción de H₂S muestra que no hay gran variación entre la producción de 45 y 55°C y aún a 35°C, a diferencia de lo observado en la producción de CH₄. Tampoco existe diferencia significativa entre los valores de la producción de H₂S, tanto para 90 como 95% de nivel de confianza. Esto reafirma que la producción de CH₄ en el biogás se incrementa con la temperatura y la producción de H₂S permanece relativamente constante.

Tabla 4.32 Resultados promedio del balance de DQO en las pruebas realizadas en los viales

gDQO reactivo	gDQO productos	35°C		45°C		55°C	
		gDQO	%	gDQO	%	gDQO	%
0.395 gDQO con la vinaza 100%	CH ₄ (gas+disuelto)	0.1212 ±0.02	30.68	0.1893 ±0.03	47.92	0.2993 ±0.03	75.77
	H ₂ S (gas+disuelto)	0.0107 ±0.003	2.71	0.01348 ±0.004	3.41	0.01463 ±0.001	3.70
	Gas total+disuelto (sumatoria de los dos anteriores)	0.1319 ±0.008	33.39	0.2028 ±0.017	51.33	0.3139 ±0.05	79.47
	Materia no degradada*	0.163 ±0.03	41.27	0.126 ±0.009	31.90	0.047 ±0.009	11.90
	Biomasa dentro del reactor**	0.0026 ±0.0007	0.66	0.0025 ±0.0008	0.63	0.0021 ±0.0009	0.53
	% diferencia	***	5.66	***	2.15	***	3.52

* Efluente líquido que sale del reactor previamente centrifugado (sin considerar la biomasa sólida que arrastra)

** Considerando el volumen inicial de biomasa inoculada

*** Se considera aquí la DQO que sale con la biomasa elutriada y el "error" de medición en la biomasa que permanece dentro del reactor y las muestras tomadas de biomasa y de efluente para ser medidas

Tabla 4.33 Equivalente de DQO en los productos del biogás generado en las pruebas realizadas en viales (CH₄, CO₂ y H₂S)

Temperatura °C	Pruebas en viales
gDQO-CH ₄ (fase gaseosa+fase líquida)	
35	0.118
45	0.189
55	0.299
gDQO-H ₂ S (fase gaseosa+fase líquida)	
35	0.01075
45	0.01348
55	0.01463

La Tabla 4.34 presenta los resultados de productividad confrontándolos con los obtenidos en los RALLFA, ambos en las fases gaseosa y líquida. Aplicando la estadística a los datos por grupo de valores, comparando resultados de viales contra resultados de RALLFA para gCH₄/gDQO removida (fase gaseosa), no hay diferencias significativas en un nivel de significancia de 5%. Comparando los valores de gCH₄/gDQO removida (fase gaseosa+fase



líquida) también como grupos, tampoco hay diferencias significativas en un nivel de significancia de 5%. Al aplicar la estadística a los valores de $\text{gH}_2\text{S/gDQO}$ removida (fase gaseosa), usando un nivel de significación del 5% tampoco presentó diferencias significativas. Para los valores de $\text{gH}_2\text{S/gDQO}$ removida (fase gaseosa+fase líquida), al nivel de significación del 5% sí hubo diferencias significativas pero al 10% no las hubo.

Todo lo anterior se interpreta como que los valores obtenidos en los reactores de 1.6 L son similares a los obtenidos en los viales, a pesar de la diferencia de volúmenes. Las reacciones entre reactivos y generación de productos son cuantitativamente análogas.

Tabla 4.34 Resultados comparativos de los balances de DQO en los viales y en los reactores de 1.6 L a las tres temperaturas

Temperatura °C	Viales	RALLFA
gCH_4/gDQO removida (fase gaseosa)		
35	0.187	0.151
45	0.266	0.262
55	0.335	0.301
gCH_4/gDQO removida (fase gaseosa+fase líquida)		
35	0.188	0.151
45	0.266	0.262
55	0.335	0.302
$\text{gH}_2\text{S/gDQO}$ removida (fase gaseosa)		
35	0.014	0.011
45	0.016	0.018
55	0.022	0.023
$\text{gH}_2\text{S/gDQO}$ removida (fase gaseosa+fase líquida)		
35	0.062	0.048
45	0.052	0.045
55	0.045	0.044

La duración del experimento en viales fue de 45 días

4.4 DISCUSIÓN GENERAL

A continuación, se presenta un compendio de los resultados originales alcanzados con esta investigación:

La estrategia de arranque del reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente propuesta en esta investigación para el tratamiento de las vinazas a 35°C constó de varias etapas. La inoculación del reactor y la determinación de los parámetros hidráulicos para operar el reactor se iniciaron con la adaptación de un inóculo anaerobio que proliferaba a una concentración de materia orgánica baja. Esta adaptación de la biomasa anaerobia a vinazas a condiciones mesofílicas en un reactor anaerobio de 10 L se realizó lentamente. Para ello, se llevó a cabo mediante la dilución de las vinazas en la alimentación del reactor hasta lograr alimentar vinazas sin diluir. El tiempo de adaptación fue relativamente prolongado,



aproximadamente 600 días. Probablemente, inóculos adaptados a altas cargas orgánicas puedan adaptarse más rápidamente para degradar vinazas u otro sustrato complejo similar. Una vez obtenido el inóculo adaptado, se caracterizó la biomasa anaerobia, así como el agua residual a tratar, como base para determinar las mejores condiciones de arranque del reactor anaerobio. A continuación, en la Tabla 4.35 se ilustran los parámetros operacionales recomendados para futuras investigaciones que inicien la adaptación de un inóculo que trate aguas residuales de alta concentración de DQO o sustratos con una composición química compleja.

Tabla 4.35 Parámetros hidráulicos de arranque a 35°C para el tratamiento anaerobio de vinazas

Parámetro	Obtenido para vinazas
Concentración del inóculo	10 kgSSV/m ³ reactor
Temperatura	35°C
Velocidad ascendente	0.0988 m/h
Tiempo de residencia hidráulica	24 h
Carga orgánica másica	0.65 kgDQO/kgSSVdía
Carga orgánica volumétrica	10.24 kgDQO/m ³ día
Concentración de DQO en el influente del reactor	10,241 mgDQO/L

Los parámetros hidráulicos encontrados durante la etapa de arranque del reactor a 35°C con una concentración de vinaza al 10% son específicos para estos efluentes complejos. Por ello, estos parámetros difieren a los que se encuentran en la literatura. Al iniciar este período de adaptación debe siempre considerarse el tipo de agua residual a tratar y el efecto de “elutriación” o arrastre de biomasa debido a la composición química del agua residual en cuestión (para el caso de las vinazas que tiene la propiedad de romper los flóculos anaerobios esto debe considerarse). La biomasa “elutriada” se recolectó en un sedimentador para ser nuevamente introducida al lecho de lodos del reactor. Se requirió de TRH prolongados que variaron de acuerdo a los parámetros operacionales que fueron aplicados en forma sucesiva. Además, como el equilibrio anaerobio es muy sensible al cambio de cargas orgánicas aplicadas en la operación, los parámetros hidráulicos se fueron estableciendo según la tabla 4.36.

El seguimiento analítico del arranque del reactor hasta lograr la adaptación de la biomasa anaerobia a vinazas indicó que era necesario ir aumentando el TRH, el cual llegó hasta 10 días, alcanzando un porcentaje de remoción de DQO soluble de 62%. Al medir el parámetro alfa de alcalinidad, se obtuvo un valor de 0.1 a 0.2 a lo largo del periodo de adaptación, debido en gran medida a la fórmula amortiguadora mezclada con la alimentación [600 mgCa(OH)₂/L y 1200 mg NaHCO₃/L], lo que evitó la acidificación ya que proporciona al sistema iones HCO₃⁻.

La medición de H₂S se realizó en esta etapa mediante una técnica yodométrica modificada obteniendo un error de 0.5%, comparado con los valores obtenidos cromatográficamente, lo que puede plantear una metodología alternativa cuando no se tenga disponibilidad de equipo cromatográfico. También la metodología cromatográfica planteó innovaciones, las cuales ya



están publicadas (Castro-González y Durán-de-Bazúa, 2002). De la misma forma, se instrumentó una metodología para la medición de C, N y S en un equipo de análisis elemental, que consistió en un cambio de reactivos en la columna reaccionante, recalibración y reformulación del programa de cómputo a emplear para la determinación del programa obteniendo con tan sólo un duplicado, un valor confiable, preciso y exacto, con un porcentaje de variación de 0.001% entre los dos valores. Con los datos obtenidos del analizador elemental, en particular los de carbono, se estableció una correlación entre la DQO y el C presentes en las vinazas.

Tabla 4.36 *Parámetros de arranque a diferentes concentraciones de DQO en el influente a 35°C*

DQO* mg/L	% remoción DQO*	Carga orgánica volumétrica kgDQO/m ³ día	Velocidad ascendente m/h	Carga orgánica másica kgDQO/kgSSVdía	Concentración del inóculo kgSSV/m ³ reactor	TRH (días)
10,241	71	10.24	0.0988	0.654	15.6	1
15,344	72	10.23	0.0658	0.654	18.9	1.5
21,497	72	10.23	0.0470	0.654	19.2	2.1
23,556	66	7.85	0.0329	0.502	19.8	3.0
25,478	67	6.37	0.0247	0.407	20.4	4.0
35,473	64	7.22	0.0219	0.461	21.3	4.5
43,315	60	8.66	0.0198	0.553	21.2	5.0
54,101	61	10.41	0.0190	0.665	20.9	5.2
56,450	61	10.45	0.0183	0.668	21.0	5.4
65,444	62	10.06	0.0152	0.643	22.3	6.5
77,109	62	10.86	0.0139	0.694	22.9	7.1
96,463	62	12.05	0.0123	0.770	23.0	8.0
115,319	61	11.53	0.0099	0.737	23.1	10.0
117,256	61	11.72	0.0099	0.749	23.3	10.0

Para adaptar la biomasa mesofílica del reactor de 10 L a 45 y 55°C, se realizaron experimentos siguiendo la formulación química presentada por Bryant y col. (1971) que propicia la proliferación de las BM. El procedimiento se realizó en tres reactores (a 35, 45 y 55°C) con una misma configuración, de 1.6 L. Los parámetros hidráulicos empleados se establecieron por ensayo y error para reducir el tiempo de adaptación, tomando como base los resultados obtenidos en los experimentos en el reactor de 10 L y la información de la literatura. La Tabla 4.37 presenta los parámetros empleados, que pueden ser considerados para siguientes investigaciones con sustratos complejos.

Un parámetro hidráulico a resaltar es el TRH empleado (de 17 días) para los reactores de 1.6 L, el cual es un TRH más prolongado al que tradicionalmente se utiliza en los RALLFA. Al igual que para la etapa de adaptación, se inició con el TRH de 10 días y se fue incrementando conforme se realizaba la adaptación. Este TRH de 17 días fue un factor determinante para favorecer el incremento de poblaciones metanogénicas y reducir el tiempo de adaptación en un 50% (de 600 días a 300 días).



Tabla 4.37 *Parámetros de arranque a 45 y 55°C para el tratamiento de vinazas*

<i>Parámetro</i>	<i>45°C</i>	<i>55°C</i>
Concentración del inóculo, kgSSV/m ³ reactor	28.96	27.28
Temperatura	45°C	55°C
Velocidad ascendente, m/h	0.0012	0.0012
Tiempo de residencia hidráulica, días	17	17
Carga orgánica másica, kgDQO/kgSSVdía	1.62	1.65
Carga orgánica volumétrica, kgDQO/ m ³ día	7.06	7.06

El método cromatográfico desarrollado en la presente investigación para el seguimiento de la producción de biogás en los reactores y, posteriormente, en las pruebas en viales aporta a la medición de CH₄, H₂S, CO₂ la posibilidad de obtener una mayor precisión en una sola determinación empleando una columna cromatográfica específica. Este método cromatográfico puede adaptarse para futuras investigaciones sin problemas, ya que la columna puede solicitarse a cualquier proveedor de insumos cromatográficos. La producción de CH₄, H₂S y DQO conforme al tiempo para el reactor de 55°C se presentan en la Tabla 4.38.

Tabla 4.38 *Producción de CH₄, H₂S y porcentaje de remoción obtenida a 35°C en proceso de estabilización de la biomasa a vinazas*

Día	CH₄ (L/día)	H₂S (L/día)	% remoción de DQO
0-25	0	0.08	45
55	0.2	0.11	50
100	3.0	0.22	70

El seguimiento analítico de la operación de los reactores de 1.6 L alimentados con vinazas muestra que los resultados obtenidos pueden usarse para estudiar el comportamiento de las BSR y las BM. El pH en el efluente a 35, 45 y 55°C se conservó alrededor de 7.8 debido a la fórmula química adicionada en la alimentación de los reactores. Las BM son más sensibles a cambios operacionales que las BSR. La adaptación de un inóculo mesofílico a condiciones termofílicas implica el incremento de la temperatura y, por consecuencia, el cambio de especies microbianas anaerobias. Por tanto, los fenómenos de lisis microbiana ocurrieron, lo que fue demostrado por la concentración mayor de SSV en el efluente del reactor durante esa etapa. Para alcanzar la etapa estable, el reactor a 55°C mostró más facilidad de adaptación que el de 45°C ya que al desaparecer la mayor parte de las comunidades mesofílicas, las termofílicas rápidamente se establecieron.

El método para recobrar la eficiencia del funcionamiento habitual del reactor después de un desequilibrio externo que afecte a las comunidades anaerobias, es el de aumentar en la alimentación la formulación amortiguadora en un 10% (0.9 gCa(OH)₂/L y 1.32 gNaHCO₃/L) y disminuir en un 10% el flujo de alimentación (de 0.0027 a 0.0024 L/día), para que cuando sea alcanzado el equilibrio nuevamente, pueda reestablecerse la concentración de la fórmula amortiguadora y el flujo a sus valores habituales.



El desequilibrio en un sistema anaerobio puede detectarse de forma temprana manteniendo un seguimiento de la producción de CO₂ presente en el biogás ya que esta manifestación es más rápida que la del aumento de relación de alcalinidad.

En la etapa estable de los tres reactores, los porcentajes de remoción de DQO soluble alcanzados y la producción de metano fue de 0.46, 0.65 y 0.85 kgDQO-CH₄/kgDQOremovida a 35, 45 y 55°C y en litros a condiciones estándar de temperatura y presión (PTS) se presentan en la Tabla 4.39. La producción de H₂S también se presenta en la Tabla 4.39.

Tabla 4.39 Resultados de la etapa estable a 35, 45 y 55°C

Parámetro	35°C	45°C	55°C
% remoción de DQO soluble	62	71	78
LCH ₄ /gDQOremovida (PTS) en la fase gaseosa	0.23	0.33	0.40
LCH ₄ /día en la fase gaseosa	1.47	2.78	3.32
moles CH ₄ /día en las fases líquida y gaseosa	0.066	0.12	0.15
% H ₂ S en la fase gaseosa (PTS)	3.43	3.52	4.13
LH ₂ S/día (PTS) en la fase gaseosa	0.08	0.13	0.20
moles H ₂ S/día en las fases líquida y gaseosa	0.009	0.0100	0.0107

Para el estudio del equilibrio gas-líquido, la ley de Henry fue la herramienta empleada para dilucidar la capacidad de solubilidad de los gases generados en un reactor anaerobio. La solubilidad en agua de los tres gases formados en los sistemas anaerobios se representa como: H₂S >> CO₂ > CH₄. El factor controlante de la concentración en las fases líquido-gas para el CH₄ es la cinética mientras que para el H₂S es la reacción química y la desorción.

Con la ley de Henry se calculan también las concentraciones de H₂S no ionizado. En el presente trabajo se obtuvieron concentraciones promedio de H₂S no ionizado de 217, 198 y 165 mgH₂S/L a 35, 45 y 55°C, en la fase líquida, respectivamente, a un pH de 8. A 35°C se presenta inhibición de las BM, a 45°C inhibición de las BM y BSR y a 55°C solamente inhibición de las BSR. Como la concentración de H₂S no ionizada es inversamente proporcional a la temperatura y, por otro lado, a mayor temperatura hay una mayor actividad metanogénica, cuando se incrementa la temperatura, la concentración de H₂S no ionizada en la fase líquida se reduce y, por ende, las BM producen más metano. Cuando la concentración de H₂S no ionizado en la fase líquida es igual o mayor de 165 mgH₂S/L, a un pH de 8, puede distinguirse un efecto inhibitorio mayor para las BSR que para las BM, afectando la actividad sulfato-reductora. Estudios realizados por otros investigadores concluyen que las BSR disminuyen en número y posiblemente en su actividad a condiciones termofílicas. Pero no existen otras investigaciones que sustenten los resultados, por tanto, en la presente investigación conforme a los resultados obtenidos, la producción de H₂S total asevera que la actividad sulfato-reductora permaneció prácticamente constante a 35, 45 y 55°C.

La presente investigación deduce que las BM son menos sensibles que las BSR a las concentraciones de H₂S no ionizado (ver tabla anterior). Las BSR fueron más sensibles que las BM a la concentración de H₂S no ionizado a un pH neutro-alcalino. Puede considerarse que



las especies de BSR termofílicas son más sensibles a las concentraciones de H_2S no ionizado presentes que las BSR mesofílicas. Las observaciones sugieren que el H_2S puede ser más tóxico al nivel de pH estudiado para las BSR que para las BM. En la Tabla 4.40 puede corroborarse el efecto de la concentración de H_2S no ionizado.

Tabla 4.40 Producción de CH_4 y H_2S con respecto a la concentración de H_2S no ionizado presente en la fase líquida

Parámetro	35°C	45°C	55°C
mol H_2S /día	0.0090	0.0100	0.0107
mol CH_4 /día	0.066	0.124	0.148
mg H_2S no ionizado/L	217	198	165

Esto puede vincularse con los valores de $LCH_4/gDQO$ removida, que fueron de 0.23, 0.33, 0.4 para 35, 45 y 55°C respectivamente. A 55°C, como la inhibición por la concentración de H_2S no ionizado es menor, la actividad metanogénica se modifica y tiene una mayor producción de CH_4 .

En todo estudio experimental en reactores anaerobios es conveniente el uso de pruebas intermitentes en viales para poder llevar a cabo los balances de materia y estudiar respuestas anaerobias desde el punto de vista microbiológico, químico y de ingeniería. Además de requerir volúmenes mucho menores, resultan ser prácticos por sus tiempos de respuesta (45 días versus 300 a 600 días en los reactores de 1.6 L y 10 L).

La mayor conversión de materia carbonosa a metano a 55°C fue 2 veces mayor que la obtenida a 35°C. Por otro lado, la remoción de sulfatos está relacionada indirectamente con la actividad sulfato-reductora, ya que un mayor o menor consumo de sulfatos en el sistema no indica una mayor o menor actividad sulfato-reductora y, por tanto, la relación $DQO/sulfatos$ no es directamente proporcional a la actividad sulfato-reductora. El azufre es un nutrimento esencial para el desarrollo y estabilización de las BM, además de la utilización de azufre en forma de sulfatos por las BSR.

Los balances de carbono revelan que el sistema a 55°C ofrece una mayor capacidad de conversión de materia carbonosa a metano que a 35 y 45°C como se muestra en la Tabla 4.41.

Con los datos obtenidos de los mismos experimentos en viales se obtuvo el orden de reacción para el sistema empleado en la presente investigación. El resultado indicó que era de primer orden.

La aplicación de la ecuación de Arrhenius en los resultados de los viales determinaron el valor de la E_a , en este caso, para las BM y para las BSR considerando la degradación de sustrato (vinazas). La reacción de sulfato-reducción presenta un valor menor que la de metanogénesis. Las energías de activación se presentan en la Tabla 4.42.



Tabla 4.41 Balance de carbono a las tres temperaturas

Parámetro	% C		
	35°C	45°C	55°C
CH ₄	18	30	38
CO ₂	8	9	11
Biomasa	0.76	0.56	0.80
No degradado	50	33	22

Tabla 4.42 Energías de activación obtenidas

	Metanogénesis	Sulfato-reducción	Consumo de sustrato (consumo global)
Energía de activación (kJ/mol)	62.8	48.3	98.2
Constante de Arrhenius (d ⁻¹)	1.321x10 ⁹	1.18x10 ⁶	2.56x10 ¹²

Se concluyó que la metanogénesis tiene un mayor número de choques en sus moléculas para la reacción de la metanogénesis que el consumo de sustrato y por último para la sulfato-reducción.

Los parámetros cinéticos indican que la tasa de crecimiento específico y la descomposición endógena obtenida en la presente investigación puede significar que existe un equilibrio entre el crecimiento y muerte de los microorganismos por tanto, la producción de la biomasa no fue la esperada. La producción de biomasa alcanzó, como era de esperarse, niveles limitados. Las constantes cinéticas pueden sugerir que a mayor temperatura aumenta la afinidad al sustrato por los microorganismos y que no existe acumulación de subproductos intermedios de la degradación anaerobia.

La medición de las actividades metanogénica y sulfato-reductora ofreció un panorama más amplio para dilucidar la competencia entre las BSR y las BM con diferentes sustratos intermedios de la degradación anaerobia y de la vinaza.

La temperatura tiene un efecto positivo en la actividad metanogénica y la actividad sulfato-reductora disminuye. Esto pudo corroborarse también aplicando la fórmula de flujo de electrones sugerida por Harada y col. (1994).

La metodología establecida en el presente trabajo puede ser una opción práctica para la determinación de las actividades en futuros experimentos. Los experimentos mostraron que la acumulación de ácido propiónico a 35 y 45°C fue notable por ausencia de degradación de este compuesto químico. La degradación de ácido propiónico como producto intermedio de la degradación anaerobia fue óptima a 55°C por una simbiosis posiblemente establecida por BA termofilicas y BM termofilicas. Las BSR termofilicas fueron incapaces de degradar el ácido propiónico directamente. La actividad microbiana de una especie determinada es directamente proporcional a la cantidad relativa de biomasa viable del grupo trófico correspondiente y a un



sustrato determinado utilizado para las pruebas de actividad. Esto podrá corroborarse en estudios posteriores.

La intervención de las BSR y de las BM en la degradación de ácido propiónico no es suficiente a 35 y 45°C. La competencia en la degradación de ácido butírico es aproximadamente análoga entre las BSR y las BM a 35, 45 y 55°C. La competencia en la degradación de vinaza es la misma entre las BSR y las BM a 35 y 45°C. A 55°C, las BM degradan en un 50% a la vinaza mientras que las BSR participan en un 40%. La actividad sulfato-reductora se incrementa directamente en proporción al número de carbonos en el sustrato mientras que la actividad metanogénica tiende a disminuir. Para corroborar esto será necesario en estudios posteriores estudiar los compuestos intermedios y los organismos que proliferan. Las BM y BSR degradadoras de ácido propiónico a 35 y 45°C fueron las más sensibles a las condiciones de presencia de H₂S no ionizado.

Los balances de DQO revelaron que el porcentaje de DQO utilizado, medido como la DQO soluble de las vinazas, por las BSR es inversamente proporcional a la temperatura y el porcentaje de DQO utilizado por las BM es directamente proporcional a la temperatura.

El ácido acético se convierte completamente a metano y CO₂ por las BM acetoclásticas aún en presencia de concentraciones de sulfatos. La ausencia de degradación de ácido acético por las BSR probablemente se deba a que la biomasa en experimentación está adaptada a vinazas a una relación de DQO/sulfatos mayor de 2.7. La deficiencia bacteriana de una especie es debida al origen del inóculo adquirido, lo cual influye directamente en la degradación por BSR o BM de un producto intermedio de la degradación anaerobia en cualquier sistema. Las BM y BSR degradadoras de ácido propiónico a 35 y 45°C fueron las más sensibles a las condiciones de presencia de H₂S no ionizado y pH.

Consecuentemente, la temperatura sí tiene una influencia en la actividad de las BM y de las BSR. Con base en esta investigación, a continuación se presenta las conclusiones derivadas de ella.



Capítulo 5

5 CONCLUSIONES

5.1 CONCLUSIÓN GENERAL

La hipótesis planteada en esta tesis es que el aumento de la temperatura de 35 a 55°C tiene un efecto positivo sobre la actividad metanogénica mientras que tiene un efecto negativo sobre las bacterias sulfato-reductoras. Los resultados fueron que la producción de metano tiene un efecto positivo pero la producción de H₂S permanece constante.

De los resultados obtenidos en esta investigación, considerando el intervalo de temperaturas estudiado (35-55°C), puede decirse que las especies de BM son activas a altas temperaturas y, por ende, este parámetro tiene un efecto positivo en la generación de CH₄. Dado que la solubilidad del CH₄ en la fase líquida es muy baja, el CH₄ prácticamente es desorbido conforme es generado, lo que permite tener una excelente recuperación del gas. Este efecto es contrario al H₂S, el cuál es muy soluble en agua favoreciendo a la formación de H₂S no ionizado, que resultó tóxico para las BSR a concentraciones de 165 mg/L y para las BM a 217 mg/L.

Para las bacterias sulfato-reductoras, la cinética de producción de H₂S aunque también se favorece por la temperatura levemente, su mayor solubilidad en la fase líquida afecta directamente a las BSR y no a las BM a 55°C. La capacidad de las BSR como competidores por el carbono disponible podría considerarse limitada en el intervalo de temperaturas estudiado (produciendo entre 0.009 y 0.107 moles de H₂S/d con 217 y 165 mgH₂S no ionizado/L a 35 y 55°C respectivamente). La concentración de 165 mgH₂S no ionizado/L afecta a las BSR y no a las BM.

La actividad neta de las BSR como competidores no se incrementa pero la actividad de las BM si lo hace con la temperatura (produciendo entre 0.066 y 0.15 moles de CH₄ d). Al incrementar



la temperatura, aumentan la velocidad de metanogénesis y la velocidad de sulfato-reducción pero a una tasa diferente. En el caso de la rapidez de reacción de la sulfato-reducción, su tasa es lineal mientras que la reacción de la metanogénesis se incrementó exponencialmente. A 35°C, la metanogénesis es mayor 4.3 veces que la sulfato-reducción mientras que a 45 y 55°C es 3.6 y 6.1 mayor respectivamente.

Un factor como la DQO/sulfatos (de 8) influyó en el predominio de las BM sobre las BSR. Las concentraciones de sulfatos no son tan altas para que las BSR predominaran fuertemente en el consumo de sustrato. El tiempo de adaptación de la biomasa a la temperatura fue un factor clave para determinar la competencia de las BM sobre las BSR. Las BM termofílicas necesitaron un largo periodo de adaptación a la temperatura de aproximadamente 100 días, alcanzando al cabo de este tiempo la producción de metano de 3.32 LCH₄/día que en un inicio fue de 0.5 LCH₄/día. El casi nulo incremento en la producción de H₂S de 35 a 55°C fue debida a la presencia de H₂S no ionizado en el líquido (217, 198 y 165 mg/L a 35, 45 y 55°C). Las BSR son más sensibles a estas concentraciones de H₂S no ionizado que las BM. La naturaleza de la biomasa del inóculo (proveniente de la industria cervecera) y la temperatura (35, 45 y 55°C) determinaron la competencia entre las BSR y las BM. Entre dos inóculos anaerobios no existe duplicidad exacta en sus comunidades microbianas que conforman cada uno de ellos, las BM termofílicas en la biomasa inoculada se encontraban posiblemente en mayor proporción que las BSR termofílicas, específicamente como fue revelado en el experimento con las BSR degradadoras de ácido propiónico.

La conversión de materia carbonosa fue mayor a 55°C debido a que la actividad metanogénica se incrementó de 0.452 a 0.723 gDQO-CH₄/gSSVdía de 35 a 55°C respectivamente. La materia carbonosa degradada por las BSR tiene una tendencia lineal mientras de la degradación por las BM fue exponencial a 55°C. La velocidad de reacción y la conversión de carbono a 55°C fue exponencial.



En la producción de H_2S , la energía de activación tiene un valor de 48.3 kJ/mol y un incremento de la rapidez de sulfato-reducción cada $10^\circ C$ con un factor de 0.1 para 35 a $45^\circ C$ y un factor de 0.15 para 45 a $55^\circ C$.

La metanogénesis presenta una mayor dependencia a la temperatura (energía de activación de 62.8 kJ/mol) con un factor de 10 por cada $10^\circ C$ y, consecuentemente, después la sulfato-reducción que tiene una respuesta a la temperatura relativamente menor.

5.2 LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS

En el desarrollo de esta investigación se plantearon muchas incógnitas que representan las líneas de investigación que pueden y deben ser abordadas con objeto de enriquecer el conocimiento sobre el desempeño de los reactores anaerobios que operen a alta temperatura para depurar aguas residuales con altos contenidos de sulfatos. Algunas de ellas son:

- El estudio de la composición química de las vinazas y sus efectos en las propiedades aglutinantes de las biomasas termofílica y mesofílica corroborando la capacidad de los grupos microbianos metanogénicos y sulfatorreductores para autoinmovilizarse o inmovilizarse en partículas inorgánicas como las sales de calcio reduciendo los fenómenos de "elutriación" o arrastre de la biomasa con el efluente de los RALLFA que tratan de las vinazas
- El estudio de los mecanismos de degradación de los compuestos químicos recalcitrantes, como los polifenoles, presentes en las vinazas
- El estudio del efecto de concentraciones de sulfatos mayores a la estudiada en el tratamiento de las vinazas usando sistemas modelo
- El estudio de la formación y degradación de otros compuestos intermediarios durante la degradación anaerobia usando biomasas adaptadas a vinazas
- El aislamiento, identificación y cuantificación de las especies microbianas que intervienen en la degradación de la materia orgánica de las vinazas por las biomasas termofílica y mesofílica (en diferentes sustratos asociados con las vinazas).
- El estudio de las propiedades termodinámicas de los gases en un disolvente que no es agua pura sino vinazas



Bibliografía

La bibliografía citada en el presente documento conjunta las investigaciones de diferentes equipos abocados a la línea de investigación en sulfato-reducción. A continuación son listados estos equipos de investigación para que de una forma práctica puedan ser intercambiadas intereses del lector sobre el tema de este documento con otros investigadores

- Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental, Facultad de Química, UNAM, México, D.F. México (Castro-González, Durán)
- Instituto de Ingeniería, UNAM, México, D.F. México (Rodríguez-Rivera, Noyola, Espinoza, Briones, Illangovan)
- Departamento de Tecnología Ambiental de la Universidad de Agricultura de Wageningen, Wageningen, Países Bajos (Van Langerak, Omil, Visser, Jules, Lettinga, Lens)
- Departamento de Microbiología. Centro de Ciencias Biomoleculares de la Universidad de Agricultura de Wageningen, Wageningen, Países Bajos (Wiegant, Lettinga)
- Departamento de Citología y Morfología de Plantas de la Universidad de Agricultura de Wageningen, Wageningen, Países Bajos (Van Langerak)
- Departamento de Ecología Teórica de la Universidad de Agricultura de Wageningen. Wageningen, Países Bajos (van Hulzen)
- Agencia regional de manejo de colección de aguas residuales y su tratamiento de Vancouver y municipios contiguos. Vancouver, Canadá (Krugel)
- Departamento de Microbiología y Genética y Desarrollo de la Universidad de Illinois, Urbana, Illinois y el Departamento de Ciencias Biofísicas de la Universidad de Houston, Houston, Texas, EEUUA (Bryant)
- Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental de la Universidad de Cincinnati. Cincinnati, EEUUA (Gupta)
- Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental de la Universidad de Tulane. Tulane, Nueva Orleans, EEUUA (Bhattacharya)
- Ciencia e Ingeniería Ambiental del Departamento de Ingeniería Civil de la Universidad de Illinois. Urbana-Champaign, Urbana, Illinois, EEUUA (Griffin, Lutgarde-Raskin)
- Centro de Investigación Ambiental, Departamento de Ingeniería Civil de la Universidad de Hong Kong. Pokfulam Road Hong Kong (Fang y Chung, Lau)
- Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Provenza. Provenza, Francia (Cord-Ruwisch)



- Unidad de Agronomía de Laon-Péronne. Laon, Cedex, Francia
- Instituto de Problemas de Agua de la Academia de Ciencias de Rusia. Novaja, Basmannaja, Moscú Rusia (Vavilin)
- Departamento de Ingeniería Ambiental de la Universidad Técnica de Dinamarca. Lyngby, Dinamarca (Ahring, Hansen)
- Departamento de Ingeniería Civil de la Universidad Tecnológica de Nagaoka. Kamitomioka, Nagaoka-shi, Niigata, Japón (Shigeki, Harada)
- Departamento de Ingeniería Civil de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Tohoku. Aoba, Sendai, Japón (Mizuno)
- Industria de Agua Kurita. Wakamiya, Morinosato, Atsugi, Japón (Yoda)
- Departamento de Ingeniería Civil de la Universidad de Auburn. (Jenkins)
- Departamento de Microbiología y Biología de la Universidad de Marburg Philipps. Marburg, Alemania (Kristjansson)
- Departamento de Biología de la Universidad de Essex. Colchester, Inglaterra (Nedwell)
- Laboratorio de Microbiología Microbiana de la Universidad del Estado de Ghent. Ghent, Bélgica (Isa)
- Departamento de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Córdoba. Córdoba, España (García)
- Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, Galicia. España (Soto)
- Departamento de Ingeniería Química, Tecnología Ambiental y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad de Cádiz. Puerto Real, Cádiz, España (Pérez, Romero)
- Laboratorio de Tecnología Química y Química Orgánica de la Universidad Técnica de Atenas. Atenas, Grecia (Vlyssides)
- División de Ciencias Microbiológicas del Instituto de Investigaciones de Agharkar. Agharkar, India (Ranade)
- Departamento de Biología y Ciencias Ambientales de la Universidad de Jyväskylä. Jyväskylä, Finlandia (Rintala)
- Departamento de Ingeniería Mecánica y de Proceso y Escuela de Ciencias Aplicadas de la Universidad de Glamorgan. Pontypridd, Glamorgan, Alemania (Dinsdale)
- Consultoría Biometano. Pradópolis, Brasil (Souza)



- Abdollahi, H. y Nedwell, D. 1979. Seasonal temperature as a factor influencing bacterial sulfate reduction in a saltmarsh sediment. *Microb. Ecol.* 5:73-79.
- Aguilar, A., Casas, C. y Lema, J. 1995. Degradation of volatile fatty acids by differently enriched methanogenic cultures: Kinetics and inhibition. *Wat. Res.* 29(2):505-509.
- Ahn, J. y Forster, C. 2000. Kinetic analyses of the operation of mesophilic and thermophilic anaerobic filters treating a simulated starch wastewater. *Process Biochem.* 36(2000):19-23.
- Ahring, B. 1994. Status on science and application of thermophilic anaerobic digestion. *Wat. Sci. Technol.*, 30:241-249.
- Ahring, B. y Westermann, P. 1987. Thermophilic anaerobic degradation of butyrate by a butyrate-utilizing bacterium in coculture and triculture with methanogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53:429-433.
- Alphenaar, P. 1994. Anaerobic granular sludge: Characterization, and factors affecting its functioning. Tesis doctoral. Wageningen Agricultural University, Wageningen, Países Bajos.
- Alphenaar, P., Visser, A. y 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. *Biores. Technol.* 13, 801-812.
- Anderson, G., Ozturk, I. y Saw, C. 1990. Pilot-scale experiences anaerobic fluidized bed treatment of brewery waste. *Wat. Sci. Technol.* 22:157-166.
- Anderson, G. y Yang, G. 1992. pH control in anaerobic treatment of industrial wastewater. *J. Environ. Eng.* 118:551-561.
- Annachhatre, A. y Khanna, P. 1990. Fixed film biomethanation modeling. *J. Environ. Eng.* 116:49-57.
- APHA, 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16a Ed. American Public Health Association. Washington, DC, EEUUA.
- Áspe, E., Martí, C. y Roedel, M. 1997. Anaerobic treatment of fishery wastewater using a marine sediment inoculum. *Wat. Res.*, 31(9):2147-2160.
- Baetens, D., Vanrolleghem, P.A., van Loosdrecht, M. y Hosten, L. 1999. Temperature effects in bio-P removal. *Wat. Sci. Technol.* 39(1):215-255.
- Bak, F. y Pfenning, N. 1987. Chemolithotrophic growth of *Desulfobacterium sulfodismutans* sp. nov. by disproportionation of inorganic sulfur compounds. *Arch. Microbiol.*, 147:184-189.
- Bak, F. y Widdel, F. 1986. Anaerobic degradation of indolic compounds by sulfate-reducing enrichment cultures, and description of *Desulfobacterium indolicum* gen. nov. sp. nov. *Arch. Microbiol.*, 146:170-176.



- Balaguer, M., Vicent, M. y Paris, J. 1992. Anaerobic fluidized bed reactor with sepiolite as support for anaerobic treatment of vinasse. *Biotechnol. Lett.* 14 (5), 433-438.
- Balch, W., Fox, L., Magrum, C., Woese, R. y Wolfe, R. 1979. Methanogens: Reevaluation of a unique biological group. *Microbiol. Rev.*, 43:260-296.
- Banat, I. 1981. Evidence for coexistence of two distinct functional groups of sulfate reducing bacteria in salt marsh sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 42(6):985-992.
- Bautista-Zúñiga, F., Reyna-Trujillo, T., Villers-Ruiz, L. y Durán-de-Bazúa, C. 2000. Mejoramiento de suelos agrícolas usando aguas residuales agroindustriales. Caso: Vinazas crudas y tratadas. Serie: Química Ambiental del suelo. Vol. 1. Primera edición. PIQAyQA.
- Belyaev, S., Wolkin, R., Kenealy, M., DeNiro, J., Epstein, S. y Ziekus, G. 1983. Methanogenic bacteria from the Bondyuzhskoe oil field: General characterization and analysis of stable-carbon isotopic fractionation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45:691-697.
- Blotevogel, K. y Fisher, U. 1985. Isolation and characterization of a new thermophilic and autotrophic methane producing bacterium: *Methanobacterium thermoaggregans spec. nov.* *Arch. Microbiol.*, 142:218-222.
- Blotevogel, K., Fisher, U., Mocha, M., y Jannsen, S. 1985. *Methanobacterium thermoalcaliphilum spec. nov.*, a new moderately alkaliphilic and thermophilic autotrophic methanogen. *Arch. Microbiol.*, 142:211-217.
- Bonastre, M., Paris, J. y Camprubi, M. 1987. Development of new methods for the determination of methanogenic activity in anaerobic digesters. Proc. of 4th Mediterranean Congress on Chemical Engineering, Pp. 750-751. Barcelona, España.
- Boone, D. y Bryant, M. 1980. Propionate-degrading bacterium, *Syntrophobacter wolinni* *so. nov.* from methanogenic ecosystems. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, 626-632.
- Boone, D., Whitman, W. y Rouviere, P. 1993. Diversity and taxonomy of methanogens. En *Methanogens: Ecology, Biochemistry and Genetics*. Ed. J. Ferry, Chapman and Hall. New York, EEUUA. Pág. 35-81.
- Brdjanovic, D., Logemann, S., van Loosdrecht, M., Hooijmans, M., Alaerts, G. y Heijnen, J. 1998. Influence of temperature on biological phosphorous removal: Process and molecular ecological studies. *Wat. Res.* 32(4):1035-1048.
- Brury, A. 2001. Kinetics Program version 2.10. Water Analyzer Series,.
- Bryant, M., Tzeng, S., Robinson, M. y Joyner, A. 1971. Nutrient requirements of methanogenic bacteria. En: *Anaerobic Biological Treatment Process (Advances in Chemistry Series 105)*. Pp. 23-40. American Chemical Society Washington, D.C., EEUUA.
- Buhr, H. y Andrews, J. 1977. The thermophilic anaerobic digestion process. *Wat. Res.*, 11:129:143.



- Butlin, K., Selwyn, R. y Wakerley, D. 1956. Sulfide production from sulfate-enriched sewage sludges. *J. Appl. Bacteriol.* 19:3-15.
- Büyükkamaci, N. y Filibeli, A. 2002. Determination of kinetic constants of an anaerobic hybrid reactor. *Process Biochem.* En prensa.
- Cail, R. y Barford, J. 1985. The Development of Granulation in an Upflow Floc Digester and an Upflow Anaerobic Sludge Blanket Digester Treating Cane Juice Stillage. *Biotechnol. Lett.* 7(7):493-498.
- Campbell, L. y Postgate, J. 1965. Classification of the spore-forming sulfate-reducing bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 29:359-363.
- Casarrubias, M. y Hernández, J. 1996. Tratamiento de aguas residuales derivadas del ensilado y prensado del cempasúchil (*Tagetes erecta*) en un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA o UASB-reactor). Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", UNAM. México, D.F., México.
- Castro-González, A. 1997. Diseño, construcción, arranque y operación de un reactor anaerobio para el tratamiento del exceso de lodos generados en una planta de tratamiento de aguas residuales. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. Orizaba, Veracruz, México.
- Castro-González Alejandra, Enríquez-Poy Manuel y Durán-de-Bazúa María del Carmen, 2001. Biological sludge generated in a wastewater treatment plant. *Anaerobe.* 7(3):143-149.
- Castro-González, A. y Durán-de-Bazúa, C., 2002. Separation processes: Applications for biogas production quantification in anaerobic reactors. *Rev. Tecnol. Ciencia Educ.* 17(2):84-94.
- Castro-González, A. 1999. Informe interno de la visita técnica al ingenio azucarero "El Potrero", Potrero, Veracruz, México. Programa de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental. Facultad de Química, UNAM. México, D.F., México.
- Cecchi, F., Pavan, P., Mata-Álvarez, J. 1992. Fast digester start-up under mesophilic conditions using thermophilic inoculum. *Wat. Sci. Technol.* 25:391-398.
- Celis, L. 2000. Papel de las bacterias metanogénicas y sulfato-reductora: en la competencia por acetato en un reactor de lecho de lodos de flujo ascendente (UASB) Tesis de maestría. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. México.
- Chen, Y. y Hashimoto, A. 1980. Substrate utilization kinetic model for biological treatment processes. *Biotechnol. Bioengng.* 22:2081-2095.
- Chiang, C. y Dague, R. 1989. Determination of acetoclastic methanogenic activity in anaerobic systems. 43rd Purdue Industrial Waste Conf. Proc. Pp. 353-362. Purdue, Ciudad, EEUA.
- Choi, E. y Rim, J. 1991. Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment. *Wat. Sci. Technol.*, 23:1259-1264.
- Clancy, P., Venkataraman, N. y Lynd, L. 1992. Biochemical inhibition of sulfate reduction in batch and continuous anaerobic digesters. *Wat. Sci. Technol.*, 25:51-60.



- Colleran, E., Finnegan, S. y Lens, P. 1995. Anaerobic treatment of sulphate containing waste stream. *Antoine van Leuwenhoek*. 67:29-46.
- Colleran, E., Finnegan, S. y O'Keefe, R. 1994. Anaerobic digestion of high-sulphate-content wastewater from the industrial production of citric acid. *Wat. Sci. Technol.*, 30(12):263-273.
- Concannon, F., Reynolds, P., Henningen, A. y Colleran, E. 1988. Development of a computerized continuous assay for specific methanogenic activity measurement. En: Tilche, A. y Rozzi, A. (ed.). *Proc. 5th ISAD*, Poster Publicaciones, Monduzzi Editor, Pp.177-181. Bologna, Italia.
- Corder, R., Hook, L., Larkin, J. y Frea, J. 1983. Isolation and characterization of two new methane-producing cocci: *Methanogenium olentangyi*, sp. nov., and *Methanococcus deltae*, sp. nov. *Arch. Microbiol.* 134:28-32.
- Cord-Ruwisch, R. y García, J. L. 1985. Isolation and characterization of anaerobic benzoate-degrading spore-forming sulfate-reducing bacterium, *Desulfotomaculum sapomandens* sp. nov. *FEMS Microbiol. Lett.*, 29:325-330.
- Cord-Ruwisch, R., Kleinitz, W. y Widdel, F. 1987. Sulfate-reducing bacteria and their activities in oil production. *J. Petrol. Technol.*, 1:97-106.
- Cord-Ruwisch, R., Steitz, H. y Conrad, R. 1988. The capacity of hydrogenotrophic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of the terminal electron acceptor. *Arch. Microbiol.* 149:350-357.
- Crockford, H. y Knight, S. 1964. Fundamentals of physical chemistry. Ed. John Wiley and Sons, Inc.
- Craveiro, A., Rocha, B., Schmidell, W. 1986. Water treatment conference. Aquatech '86, Elsevier: Amsterdam, Países Bajos. Pp. 307-319.
- Cruz, M. e Iriarte, R. 1998. Arranque y operación dinámica de un reactor anaerobio a escala de laboratorio: Pruebas usando lodos de una planta de tratamiento biológico de aguas residuales. Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM. México, D.F. México.
- De Jong, E. 1986. Standard Activity Test. Doktoraal Veriagen Serie Nr. 86, Dept. Water Pollution Control, Agriculture Univ., Wageningen, Países Bajos.
- De Zeeuw, W. 1988. Granular sludge in UASB-reactors. En: *Granular anaerobic sludge, microbiology and technology*. GASMAT (ed.). Pp. 132-145. Wageningen, Países Bajos.
- Dinsdale, R., Hawkes, R. y Hawkes, D. 1997a. Comparison of mesophilic and thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactors treating instant coffee production wastewater. *Wat. Res.*, 31(1):163-169.
- Dinsdale, R., Hawkes, R. y Hawkes, D. 1997b. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion with thermophilic pre-acidification of instant coffee production wastewater. *Wat. Res.*, 31(8):1931-1938.



- Dolling, J. y Bloemen, W. 1985. Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. *J. Microbiol. Methods*. 4 (1):1-12.
- Doucet, P. y Sloep, P.B. 1992. Mathematical modeling in the life sciences. Ellis Horwood limited, Chinchester, Inglaterra.
- Drury, W. 1999. Treatment of Acid Mine Drainage with Anaerobic Solid Substrate Reactors.
- Duboc, P. y von Stockar, U. 1998. Dual limitations: Kinetic and stoichiometric analyses. *Thermochimica Acta* 309(1998):121-128.
- Durán, C., Medellín, P., Noyola, A., Poggi-Varaldo, H y Zedillo, L.E. 1988. Caracterización de vinazas y su degradación en un sistema combinado de tres reactores anaerobios y un reactor aerobio de biodiscos. *Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ)*, 3(2):33-43.
- Durán-de-Bazúa, C., González, S., Medellín, P., Noyola, A., Poggi-Varaldo, H. y Zedillo, E. 1990. Retos a la industria azucarera para la próxima década: Reaprovechamiento de sus aguas residuales a través de su degradación biológica para obtener biogás y biomasa microbiana. En: Memorias del XVI Congreso de la Academia Nacional de Ingeniería A.C. Querétaro, México, México.
- Eastman, J. y Ferguson, J. 1981. Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of an- aerobic digestion. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 53:352-366.
- Ehlinger, F., Gueler, F., Ball, X. y Prevot, C. 1992. Treatment of vinasses of red wine by methanogenic fermentation in presence of tannins and sulphides. *Wat. Sci. Technol.* 25(7):275-284.
- Espinoza, A. y Noyola, A. 1992. Tratamiento anaerobio de vinazas: Recuperación de un reactor UASB acidificado. En: Memorias VII Congreso Nacional Sociedad Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Sección 2. México, D.F. México.
- Faisal, M. y Unno, H. 2002. Kinetic analysis of palm oil mill wastewater treatment by a modified anaerobic baffled reactor. *Biochem. Eng. J.* 9:25-31.
- Fang, H. y Chung, C. 1999. Anaerobic treatment of proteinaceous wastewater under mesophilic and thermophilic conditions. *Wat. Sci. Technol.*, 40(1):77-84.
- Fang, H. y Lau, W. 1996. Startup of thermophilic (55°C) UASB reactors using different mesophilic:seed sludges. *Wat. Sci. Technol.*, 34(55-6):445-452.
- Field, J. 1989. The effect of tannic compounds on anaerobic wastewater treatment. Tesis doctoral. Wageningen Agricultural University. Wageningen, Países Bajos.
- Field, J., Sierra, R. y Lettinga, G. 1988. Ensayos Anaerobios. *Proc. 4th Symp. on Wastewater Anaerobic Treatment*. Pp. 52-81. Valladolid, España.
- Flaherty, V. 1997. Microbial interactions during anaerobic treatment of sulphate containing wastewaters. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Irlanda. Irlanda.



- Flaherty, V., Colohan, S., Mulkerrins, D. y Colleran, E. 1999. Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. II. Microbial interactions and toxic effects. *Biores. Technol.*, 68:109-120.
- Flaherty, V., Lens, P., Leahy, B. y Colleran, E., 1998b. Long term competition between sulphate-reducing and methane-producing bacteria during anaerobic digestion of sulphate-containing wastewater from the industrial production of citric acid. *Wat. Res.*, 32:815-825.
- Flaherty, V., Mahony, T., Kennedy, R. y Colleran, E. 1998a. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. *Process Biochem.* 33(5):555-569.
- Flora, J., Suidan, M., Biswas, P. y Sayles, G. 1995a. A modeling study of anaerobic biofilm system: I. Detailed biofilm modeling. *Biotech. Bioeng.* 46:43-53.
- Flora, J., Suidan, M., Biswas, P. y Sayles, G. 1995b. A modeling study of anaerobic biofilm system: II. Reactor modeling. *Biotech. Bioeng.* 46:54-64.
- García, I., Bonilla, J., Jiménez, P. y Ramos, E. 1997. Biodegradation of phenol compounds in vinasse using *Aspergillus terreus* and *Geotricum candidum*. *Wat. Res.*, 31(8):2005-2011.
- Gogotova, G. y Vainshtein, M. 1983. Spore-forming, sulfate-reducing bacterium *Desulfotomaculum guttoideum* so. nov. *Microbiology* (Engl. Transl. Mikrobiologiya). 52:618-622 (Mikrobiologiya 52:789-793).
- Griffin, M., McMahon, K., Mckie, R. y Lutgarde, R. 1998. Methanogenic populations dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. *Biotechnol. Bioeng.*, 57(3):342-355.
- Gujer, W. y Zehnder, A. 1983. Conversion proceses in anaerobic digestion. *Wat. Sci. Technol.* 15(8-9):127-167.
- Gupta, A., Flora, J., Gupta, M., Sayles, G. y Suidan, M. 1994. Methanogenesis and sulfate reduction in chemostats-I. Kinetic studies and experiments. *Wat. Res.*, 28:781-793.
- Gupta, A., Gupta, M., Flora, J., Suidan, M. y Sayles, G. 1993. Methanogenesis and sulfate reduction in chemostats: A fundamental experimental kinetic study modelling. Proc. 66th Ann. Conf. Wat. Environm. Fed, Anaheim, Calif. EEUUA.
- Hanaki, K. y Matsuo, T. 1985. Mathematical modeling of the anaerobic digestion process. En: *Mathematical Models in Biological Wastewater Treatment*, eds. S. E. Jorgensen y M. J. Gromiec, pp. 357-418. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Países Bajos.
- Hansen, H., Angelidaki, I. y Ahring, K. 1999. Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure. *Wat. Res.*, 33(8):1805-1810.
- Harada, H., Uemura, S. y Momonoi, K. 1994. Interaction between sulfate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulfate. *Wat. Res.*, 28(2):355-367.



- Harper, S. y Pohland, F. 1986. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewaters treatment. *Biotechnol. Bioeng.*, 27:585-602.
- Harris, J., Pinn, P. y Davis, R. 1984. Isolation and characterization of a novel thermophilic, freshwater methanogen. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:1123-1128.
- Haslam, E. 1974. Polyphenol-protein interactions. *Biochem J.* 139:285-288.
- Hatchikian, E. y Zeikus, J. 1983. Characterization of a new type of dissimilatory sulfite reductase present in *Thermodesulfobacterium commune*. *J. Bacteriol.*, 153:1211-1220.
- HCP, 1991. Handbook of Chemistry and Physics. 42Ed. Chemical Rubber Publishing Company, Cleveland Ohio, EEUUA.
- Heipieper, H., Keweloh, H. y Rehm, H. 1991. Influence of phenols on growth and membrane permeability of free and immobilized *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:1213-1217.
- Heipieper, H., Diefenbach, R. y Keweloh, H. 1992. Conversion of cis unsaturated fatty acids to trans, a possible mechanism for the protection of phenol-degrading *Pseudomonas putida* P8 from substrate toxicity. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:1847-1852.
- Henze, M. y Harremões, P. 1983. Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors. A literature review. *Wat. Sci. Technol.* 15(8-9:1-101).
- Herbert, R. 1986. The ecology and physiology of psychrophilic microorganisms. En: Microbes in extreme environments. Editado por Herbert, R. y Codd, G. Pág. 1-23. Academic Press, Orlando, Florida, EEUUA.
- Hill, D. 1983. Simplified Monod kinetics of methane fermentation of animal wastes. *Agric. Wastes.* 5:1-16.
- Hilton, B. y Oleskiewicz, J. 1988. Sulfide-induced inhibition of anaerobic digestion. *J. Environ. Engin.*, 114 :1377-1391.
- Hilton, M. y Archer, D. 1988. Anaerobic digestion of a sulfate-rich molasses wastewater: Inhibition of hydrogen sulfide production. *Biotechnol. Bioeng.*, 31:885-888.
- Hobson, P. 1983. The kinetics of anaerobic digestion of farm wastes. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 33:1-20.
- Hoeks, F., Ten Hoopen, H., Roels, J. y Kuenen, J. 1984. Anaerobic treatment of acid water (methane production in a sulfate rich environment). *Progr. Ind. Microbiol.*, 20:113-119.
- Hu, W., Thayanithy, K. y Foster, C. 2002. A kinetic study of the anaerobic digestion of ice-cream wastewater. *Proc. Biochem.* 37:965-971.
- Huber, H., Thomm, M., König, H., Thies, G. y Stetter, K. 1982. *Methanococcus thermolithotrophicus*, a novel thermophilic lithotropic methanogen. *Arch. Microbiol.* 132:47-50.



- Hulshoff Pol, L. 1987. Arranque y operación de reactores UASB. En Manual del curso: Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodo (UASB). Universidad del Valle, Corporación Autónoma Regional del Cauca y Universidad Agrícola de Wageningen. Noviembre, Santiago de Cali.
- Hulshoff Pol, L., Lens, P., Stams, A. y Lettinga, G. 1998. Anaerobic treatment of sulfate-rich wastewaters. *Biodegradation*, 9(3-4):213-224.
- Hulshoff Pol, L., Lettinga G. van de Worp J.J.M. y Beverloo W.A. 1986. Physical characterization of anaerobic treatment. A grow-up technology. Aquatic'86 Pp 89-101. Amsterdam, Países Bajos.
- Husain, A. 1998. Mathematical models of the kinetics of anaerobic digestion: A selected review. *Biomass and Bioenergy*. 14(5/6):561-571.
- Huser, B. Wuhrmann, K. y Zehnder, A. 1982. *Methanohalobium* gen. nov. sp. nov., a new acetotrophic non-hydrogen-oxidizing methane bacterium. *Arch. Microbiol.* 132:1-9.
- Ilangovan, K. y Noyola, A. 1993. Availability of micronutrients during anaerobic digestion of molasses stillage using an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Environm. Technol.* 14:795-799.
- Imai, T., Ukita, M., Sekine, M., Nakanishi, H. y Fukagawa, M. 1998. Treatment characteristics of high sulfate and ammonia by UAHB process. *Wat. Sci. Technol.*, 38(8-9):377-384.
- Imhoff-Stuckle, D. y Pfenning, N. 1983. Isolation and characterization of a nicotinic acid-degrading sulfate-reducing bacterium, *Desulfococcus niacini*, sp. nov. *Arch. Microbiol.*, 136:194-198.
- Ingvorsen, K., Zehnder, A. y Jorgensen, B. 1984. Kinetics of sulfate and acetate uptake by *Desulfobacter postgatei*. *Appl. Environm. Microbiol.*, 47:1029-1036.
- Inniss, W. e Ingraham, J. 1978. Microbial life at low temperatures: Mechanisms and molecular aspects. En: Microbial life in extreme environments. Editado por Kushner, D. Pág. 73-104. Academic Press, Londres, Inglaterra.
- Isa, Z., Grusenmeyer, S. y Verstraete, W. 1986a. Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: Technical aspects. *Appl. Environm. Microbiol.*, 561:580-587.
- Isa, Z., Grusenmeyer, S. y Verstraete, W. 1986b. Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: Microbiological aspects. *Appl. Environm. Microbiol.*, 561:580-587.
- James, A., Chernicharo, C. y Campos, C. 1990. The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. *Water Res.* 24(7):813-825.
- Jansen, K., Thauer, R., Widdel, F. y Fuchs, G. 1984. Carbon assimilation pathways in sulfate reducing bacteria. Formate, carbon dioxide, carbon monoxide, and acetate assimilation by *Desulfovibrio baarsii*. *Arch. Microbiol.*, 138:257-262.



- Jenkins, R., Morgan, J. y Zhang, X. 1991. Alkalinity control. *Res. J. Water. Pollut. Control Fed.* 63:28-34.
- Jiménez, R., Martínez, M., Espinoza, A., Noyola, A. y Durán-de-Bazúa, C. 1995. La caña de azúcar, su entorno ambiental. Parte II. Tratamiento de vinazas en una planta piloto en México en un reactor anaerobio de lecho de lodos. Informe técnico de proyecto VIN-01-95. GEPLACEA, CNIIAA, PIQAYQA-FQ-UNAM. Pub. Facultad de Química. UNAM. México D.F. México.
- Jimeno, A., Bermúdez, J., Conovas-Díaz, M. e Iborra, A. 1990. Effect of feed procedure and different temperatures on anaerobic trickling filters: Intermediate consumption profile. *Proc. Biochem.* 4:55-60.
- Jones, H. 1971. A re-examination of *Desulfovibrio africanus*. *Arch. Mikrobiol.*, 80:78-86.
- Jones, W., Leigh, J., Mayer, F., Woese, C. y Wolfe, R. 1983a. *Methanococcus jannaschii* sp. nov., an extremely thermophilic methanogens from a submarine hydrothermal vent. *Arch. Microbiol.* 136:254-261.
- Jones, W., Paynter, M. y Gupta, R. 1983b. Characterization of *Methanococcus maripaludis* sp. nov., a new methanogen isolated from salt marsh sediment. *Arch. Microbiol.* 135:91-97.
- Jorgensen, B. 1977. The sulfur cycle of a coastal marine sediment (Limfjorden, Denmark). *Limnol. Oceanogr.* 22:814-832.
- Jules, B., Groeneveld, N. y Lettinga, G. 1996. Development of thermophilic methanogenic sludge in compartmentalized upflow reactors. *Biotechnol. Bioeng.*, 50(2):15-124.
- Kalyuzhnyi, S. y Fedorovich, V. 1997. Integrated mathematical model of a UASB reactor for competition between sulphate reduction and methanogenesis. *Wat. Sci. Technol.*, 36(6-7):201-208.
- Karhadkar, P., Audic, J., Faup, G. y Khanna, P. 1987. Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis. *Wat. Res.* 21:1061-1066.
- Klemps, R., Cypionka, H., Widdel, F. y Pfenning, N. 1985. Growth with hydrogen, and further physiological characteristics of *Desulfotomaculum species*. *Arch. Microbiol.*, 143:203-208.
- König, H. 1984. Isolation and characterization of *Methanobacterium uliginosum* sp. nov. from a marshy soil. *Can. J. Microbiol.* 30:1477-1481.
- König, H. y Stetter, K. 1982. Isolation and characterization of *Methanolobus tindarius*, sp. nov., a coccoid methanogen growing only on methanol and methylamines. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. I Abt. Orig.* C3:478-490.
- Koster, I., Rinzema, A., de Vegt, A. y Lettinga, G. 1986. Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at different pH levels. *Wat. Res.* 12:1561-1567.



- Kotsyurbenko, O., Nozhevnikova, A., Kalyuzhnyi, S. y Zavarzin, G. 1993. Metnahe digestion of cattle manure at low temperatures. *Microbiology*. 62:761-772.
- Kristjansson, K., Schonheit, P. y Thauer, K. 1982. Kinetic mechanism for the ability of sulfate reducers to out-compete methanogens for acetate. *Arch. Microbiol.*, 132:285-288.
- Kroiss, H. y Wabnegg, F. 1983. Sulfide toxicity with anaerobic wastewater treatment. En Proceedings of the European Symposium on Anaerobic Wastewater Treatment (AWWT). TNO Corporate Communications Department. The Hague, Países Bajos.
- Krugel, S., Nemeth, L. and Peddie, C. 1998. Extending thermophilic anaerobic digestion for the greater Vancouver regional districts island wastewater treatment plant. *Wat. Sci. Technol.*, 38(8-9):409-416.
- Laanbroek, H., Geerlings, H., Sijtsma, L. y Veldkamp, H. 1984. Competition for the sulphate and ethanol among *Desulfobacter*, *Desulfobulbus* and *Desulfovibrio* species isolated from intertidal sediments. *Appl. Environ Microbiol.* 47:329-334.
- Lau, I. y Fang, H. 1997. Effect of temperature shock to thermophilic granules. *Wat. Res.*, 31(10):2626-2632.
- Lawrence, A., McCarty, P. y Guerin, F. 1964. The effects of sulphide on anaerobic treatment. En: Proceedings of the 19th Industrial Waste Conf., Engineering Extension Series No. 117, Universidad Purdue, Lafayette, Ind. Pág. 343. EEUUA.
- Lema, J., Méndez, R. y Soto, M. 1992. Bases cinéticas y microbiológicas en el diseño de digestores "anaerobios" (Kinetic and microbiological basis for anaerobic digesters design) *Ingeniería Química*, Pp. 191-201.
- Lens, P. y Hulshoff Pol, L. 2000. Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution-Principles and Engineering. Edición IWA, Londres, Inglaterra.
- Lens, P., Sipma, J., Hulshoff Pol, L. y Lettinga, G. 1999. Effect of staging and nitrate addition on sulfidogenic acetate removal. *Wat. Res.*, 34:31-42.
- Lens, P., Visser, A., Janssen, A., Hulshoff Pol, L. y Lettinga, G. 1998. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Crit. Rev. Environm. Sci. Technol.*, 28(1):41-81.
- Lepisto, S. y Rintala, J. 1996. Conversión of volatile fatty acids in an extreme thermophilic (76-80°C) upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Bioresour. Technol.* 56:221-227.
- Lepisto, S. y Rintala, J. 1997. Start-up and operation of a thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactor treating vegetable processing wastewaters. *J. Chemical Technol. Biotechnol.*, 68:331-339.
- Lepisto, S. y Rintala, J. 1999. Kinetics and characteristics of 70°C VFA growth, UASB granular sludge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52:730-736.
- Lescure, J., Delannoy, B., Verrier, D. y Albagnac, G. 1988. Consequence of a thermal accident on the microbial activity of an industrial anaerobic filter. En: Proceedings of the 5TH



- International Symposium on Anaerobic Digestion. Editado por Tilche, A. y Roíz, A. Pág. 211-214.
- Lettinga, G., De Zeeuw, W., Hulshoff Pol, L., Hobma, S., Grin, P., Wiegant, W., Van Velse, A. y Koster, I. 1982. Anaerobic waste water treatment using the RALLFA treatment process. En: *Memorias del simposio Internacional "Avances en Digestión anaerobia", II Curso Regional de la OEA, UAM-I, ICATI*, México D.F. México.
- Lier, J. 1993. Digestión anaerobia termofílica. Aspectos relacionados con la temperatura (Thermophilic anaerobic digestion. Temperature related aspects). En: *Proceedings of the 5th Symposium on Wastewater Anaerobic Treatment*. Editado por Chem. Eng, Dept. Universidad de Valladolid, Valladolid, España. Pp. 11.1-11.12.
- Lindgren, M. 1983. Mathematical modeling of the anaerobic filter process. *Wat. Sci. Technol.* 15:197-208.
- Lokshina, A., Vavilin, A., Kettunen, R., Rintala, J., Holliger, C. Y Nozhevnikova A. 2001. Evaluation of kinetic coefficients using integrated Monod and Haldane models for low-temperature acetoclastic methanogenesis. *Wat.Res.*35(12):2913-2922,
- Lokshina, L. y Vavilin, A. 1999. Kinetic analysis of the key stages of low temperature methanogenesis. *Ecological Modelling*. 117:285-303.
- Lovley, D., Dwyer, D. y Klug, M. 1982. Kinetic análisis of competition between sulfate reducers and methanogens for hydrogen in sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 43(5):1373-1379.
- Lubberding, H. y Stams, F. 1995. Microbiology. *Proc. of Int. Course on Anaerobic Wastewater Treatment: Fundamentals*, February 13 to March 18, Santiago de Cali, Colombia. Pp. 80-132.
- Lutgarde-Raskin, Bruce-Rittmann, E. y Stahl A. 1996. Competition and coexistence of sulfate-reducing and methanogenic populations in anaerobic biofilms. *Appl. Environm. Microbiol.*, 62:3847-3857.
- Mackie, U. y Bryant, M. 1981. Metabolic activity of fatty acid-oxidizing bacteria and the contribution of acetate, propionate, butyrate, and CO₂ to methanogenesis in cattle waste 40 and 60°C. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41:1363-1373.
- Maestro-Durán, R., Borja, R., Luque, M. y Martín, A. 1993. Phenolic compounds in waste water from wine distilleries (vinasse). *Rev. Española Ciencia Tecnol. Alimentos.* 35:517-528.
- Mah, R. 1980. Isolation and characterization of *Methanococcus mazei*. *Curr. Microbiol.*, 3:321-326.
- Mah, R. y Smith, M. 1981. The methanogenic bacteria. In: *The prokaryotes*. Springer-Verlag, Heidelberg, Alemania. Pp. 948-977.



- Malina, J. y Pohland, F. 1992. Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes. Ed. Technomic Publishing Inc. Vol. 7. Lancaster, Pennsylvania, EEUUA.
- Márquez-Codina, G. 1994. Producción de inóculo anaerobio granular a partir de lodos activados de purga. *Tesis profesional*. Facultad de Química, UNAM. México D.F.
- Mc Cartney, D. y Oleskiewicz, J. 1991. Sulphide inhibition of anaerobic degradation of lactate and acetate. *Wat. Res.*, 25:203-209.
- Mc Cartney, D. y Oleskiewicz, J. 1993. Competition between methanogens and sulphate reducers: Effect of COD/sulphate ratio and acclimatization. *Wat. Environ. Res.*, 65:655-664.
- McInerney, M. 1992. The genus *Syntrophomonas* and other syntrophic anaerobes. En: The prokaryotes. Pp. 2048-2057. 2ª edición, Springer-Verlag, Nueva York, EEUUA.
- Melin, E., Järvinen, T. y Puhakka, A. 1998. Effects of temperature on chlorophenol biodegradation kinetics in fluidized-bed reactors with different biomass carriers. *Wat. Res.* 32(1):81-90.
- Middleton, A. y Lawrence, A. 1977. Kinetics of microbial sulfate reduction. *J. Water Poll. Control Fed.* 49:1659-1670.
- Miller, T. y Wolin, M. 1985. *Methanosphaera stadtmaniae* gen. nov., sp. nov.: species that forms methane by reducing methanol with hydrogen. *Arch. Microbiol.* 141:116-122.
- Minami, K., Oamura, K., Ogawa, S. y Naritomi, T. 1991. Continuous anaerobic treatment of wastewater from a kraft pulp mill. *J. Ferment. Bioeng.*, 71:270-274.
- Mizuno, O., Li, Y. y Noike, T. 1996. Effects of sulfate concentration and sludge retention time on the interaction between methane production and sulfate reduction for butyrate. *Wat. Sci. Technol.*, 30:45-54.
- Monroy-Hermosillo, 2002. Comunicación personal.
- Moore, W. y Holdeman, L. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, Genus *Desulfomonas*, En: Krieg, N. y Holt, J. (Eds.), Vol. 1. p. 672-673. Williams y Wilkins, Baltimore, EEUUA.
- Moore, W., Johnson, J. y Holdeman, L. 1976. Emendation of *Bacteroidaceae* and *Butyrivibrio* and descriptions of *Desulfomonas* gen. nov. and ten new species in the genera *Desulfomonas*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Clostridium*, and *Ruminococcus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 26:238-252.
- Moreno, G., Espinoza, A. y Briones, R. 1993. Tratamiento anaerobio de aguas residuales. Notas para curso. Pub. IMTA, Cuernavaca Mor., e Instituto de Ingeniería, UNAM. México, D.F. México.
- Motoyuki, Y., Miko, K. y Yusho, M. 1987. Long term competition between sulfate-reducing and methane-producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm. *Wat. Res.* 21, 1547-1556.



- Mounfort, D. y Asher, R. 1979. Effect of inorganic sulfide on the growth and metabolism of *Methanosarcina barkeri* strain DM. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37:670-675.
- Mulder, A. 1984. The effects of high sulfate concentration on the methane fermentation of waste water. *Prog. Ind. Microbiol.*, 20:133-143.
- Nedwell, D. y Abram, J. 1979. Relative influence of temperature and electron donor and electron acceptor concentrations on bacterial sulfate reduction in Salt-marsh sediment. *Microb. Ecol.* 5:67-72.
- Nedwell, D. 1982. The cycling of sulphur in marine and freshwater sediments. En: *Sediment Microbiology*. Society for General Microbiology. Ed. D. Nedwell. y C. Brown. Academic Press. Pp. 73-106. Londres, Inglaterra.
- Nielsen, P. y Hvitved-Jacobsen, T. 1988. Effect of sulfate and organic matter on the hydrogen sulfide formation in biofilms of filled sanitary sewers. *J.WPCF* 60:627-634.
- Noyola, A. y Briones, R. 1988. Tratamiento anaerobio de vinazas a escala piloto: Inoculación y arranque de reactores tipo lecho de lodos y filtro anaerobio. En: *Memorias del VI Congreso Nacional Saneamiento Ambiental, El Gran Reto*. Agosto 10-13. Pp. 20-24. Querétaro, Qro. México.
- Nozhevnikova, A. y Chudina, V. 1984. Morphology of the thermophilic acetate methane bacterium *Methanotrix thermoacetophila* sp. nov. *Microbiology* (Eng. Transl. Mikrobiologiya) 53:618-623.
- Oaxaca-Grande, A. 1997. Estudio comparativo para la determinación de la demanda química de oxígeno entre el método estándar de reflujo abierto y el método colorimétrico (rápido) de reflujo cerrado. Tesis profesional. Instituto Tecnológico de Orizaba. Orizaba, Veracruz, México.
- Obaya, M., Valdés, E. y Ramos, J. 1994. Stability studies of thermophilic anaerobic sludges under suboptimal feeding conditions and temperatures. *Acta Biotechnol.* 14(2):193-198.
- Ohtsuki, T., Tomunaga, S., Morita, T. y Yoda, M. 1994. Thermophilic UASB system start-up and management change in sludge characteristics in the start-up procedure using mesophilic granular sludge. En: *Proceedings of the 7th International Symposium on Anaerobic Digestion, International Association of Water Quality*, Cape Town, South Africa, January 23-27. Pp. 348-357.
- Ohtsuki, T., Watanabe, M. y Miyaji, Y. 1992. Start-up of thermophilic UASB (upflow anaerobic sludge blanket) reactors using microcarrier and mesophilic granular sludge. *Wat. Sci. Technol.*, 26(3-4):877-886.
- Okabe, S., Nielson, P. y Characklis, W. 1992. Factors affecting microbial sulfate reduction by *Desulfovibrio desulfuricans* in continuous culture: Limiting nutrients and sulfide concentrations. *Biotechnol. Bioeng.* 40:725-734.



- Oleskiewicz, J., Marstaller, T. y Mc Cartney, D. 1989. Effects of pH on sulfide toxicity to anaerobic processes. *Environ. Technol. Lett.* 10:815-822.
- Olliver, B., Mah, R., García, J. y Boone, D. 1986. Isolation and characterization of *Methanogenium bourgense* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36:297-301.
- Olliver, B., Mah, R., García, J. y Robinson, R. 1985. Isolation and characterization of *Methanogenium aggregans* sp. nov. *Int. Syst. Bacteriol.* 35:127-130.
- Omil, F., Bakker, C., Hulshoff Pol, L. y Lettinga, G. 1997. The effect of pH and low temperature shocks on the competition between sulphate reducing and methane producing bacteria in UASB reactors. *Environ. Technol.*, 18:255-264.
- Omil, F., Lens, P., Hulshoff Pol, L. y Lettinga, G. 1996. Effect of upward velocity and sulfide concentration on volatile fatty acid degradation in a sulphidogenic granular sludge reactor. *Process Biochem.*, 31:699-710.
- Omil, F., Lens, P., Visser, A., Hulshoff Pol, L. y Lettinga, G. 1998. Long-term competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids. *Biotechnol. Bioeng.*, 57(6):676-685.
- Oremland, R. y Polcin, S. 1982. Methanogenesis and sulfate reduction: Competitive and noncompetitive substrates in estuarine sediments. *Appl. Environm. Microbiol.*, 44:1270-1276.
- Oude-Elferink, S, Visser, A, Hulshoff Pol, L. y Stams, A, 1994. Sulphate reduction in methanogenic bioreactors. *FEMS Microbiology Reviews.* 15:119-136.
- Overmeire, A., Lens, P. y Vrstraete, W. 1994. Mass transfer limitation of sulfate in methanogenic aggregates. *Biotechnol. Bioeng.*, 44:387-391.
- Owen, W., Stuckey, D., Healy, J., Young, L. y McCarty, P. 1979. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Wat. Res.* 13, 485-493.
- Parkin, G., Lynch, W. y Bhattacharya, A. 1990. Interaction between sulfate reducers and methanogens fed acetate and propionate. *Res. J. Water Pollut. Control. Fed.*, 62:780-788.
- Patel, G. 1984. Characterization and nutritional properties of *Methanotheroxillum concilii* sp. nov., a mesophilic aceticlastic methanogen. *Can. J. Microbiol.* 30:1383-1396.
- Patel, H. y Madamwar, D. 2002. Effects of temperatures and organic loadings rates on biomethanation of acidic petrochemical wastewater using an anaerobic upflow fixed-film reactor. *Biores. Techn.* 82:65-71
- Paterek, J. y Smith, P. 1985. Isolation and characterization of a halophilic methanogen from Great Salt Lake. *Appl. Environ Microbiol.* 50:877-881.
- Pérez, M. 1995. Utilización de bio-reactores avanzados en la degradación anaerobia de vertidos de alta carga orgánica. Tesis doctoral. Serv. Pub. Universidad de Cádiz, España.



- Pérez, M., Romero, L. y Sales, D. 1998. Comparative performance of high rate anaerobic thermophilic technologies treating industrial wastewater. *Wat. Res.*, 32(3):559-564.
- Pérez, M., Romero, L., Nebot, E. y Sales, D. 1997. Colonization of a porous sintered-glass support in anaerobic thermophilic bioreactors. *Biores. Technol.* 59(1997):177-183.
- Perez, M., Romero, L. y Sales, D. 2001. Organic matter degradation kinetics in an anaerobic thermophilic fluidised bed bioreactor. *Anaerobe.* 7:25-35.
- Perkin Elmer, 1994. Programa de cómputo Nelson para cromatografía de gases. Editado por la compañía Perkin Elmer.
- Pfeffer, J. 1974. Temperature effects on anaerobic fermentation of domestic refuse. *Biotechnol. Bioeng.*, 16:771-787.
- Pfeffer, J. 1968. Increased loading on digesters with re-cycle of digester solids. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 40:1920-1933.
- Pfenning, N. y Widdel, F. 1981. Ecology and physiology of some anaerobic bacteria from the microbial sulfur cycle. En: Biology of inorganic nitrogen and sulfur. H. Bothe and R. Trebst (Eds.). Pp. 169-177, Springer-Verlag, Heidelberg, RFA
- Pfenning, N., Widdel, F. y Trüper, H. 1981. The dissimilatory sulfate-reducing bacteria, En: The prokaryotes. Starr, M., Stolp, H., Trüper, H., Balows, A. y Schlegel, H. (Eds.), Vol. 1. Pp. 926-940. Springer-Verlag, Heidelberg, RFA.
- Pirt, S. 1975. Effects of temperature. En: Principles of Microbe and Cell cultivation. Pp. 137-142. Blackwell Scientific, Oxford, EEUUA.
- Polprasert, C. y Haas, C. 1995. Effect of sulfate on anaerobic processes fed with dual substrates. *Wat. Sci. Technol.*, 31:101-107.
- Postgate, J. 1984. The sulphate-reducing bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, MA. EEUUA.
- Postgate, J. y Campbell, L. 1966. Classification of *Desulfovibrio* species, the nonsporulating sulfate-reducing bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 30:732-738.
- Qatibi, A., Bories, A. y García, J. 1990. Effects of sulfate on lactate and C₂, C₃-volatile fatty acid anaerobic degradation by a mixed microbial culture. *J. Microbiol. Serol.*, 58, 241-248.
- Ranade, D., Dighe, A., Bhirangi, S., Panhalkar, V. y Yeole, T. 1999. Evaluation of the use of sodium molybdate to inhibit sulphate reduction during anaerobic digestion of distillery waste. *Biores. Technol.*, 68:287-291.
- Razo-Flores, E. 1997. Biotransformation and biodegradation of N-sustituted aromatics in methanogenic granular sludge. Tesis doctoral, 162 páginas. Universidad Agrícola de Wageningen. Wageningen, Países Bajos.
- Reis, M., Almeida, J., Lemos, P. y Carrondo, M. 1992. Effect of hydrogen sulfide on growth of sulfate reducing bacteria. *Biotechn. and Bioeng.* 40, 93-600.



- Rintala, A. y Lepisto, S. 1992. Anaerobic treatment of thermomechanical pulping whitewater at 35-70°C. *Wat. Res.*, 26:1297-1305.
- Rintala, A. y Lepisto, S. 1997. Anaerobic treatment of wastewaters from seasonal vegetable processing industry. *Wat. Sci. Technol.*, 36(2-3)279-285.
- Rintala, A., Lepisto, S. y Ahring, B. 1993. Acetate degradation at 70°C in upflow anaerobic sludge blanket reactors and temperature response of granules grown at 70°C. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59:1742-1746.
- Rintala, J., Sanz-Martin, J. y Lettinga, G. 1991. Thermophilic anaerobic treatment of sulfate-rich pulp and paper integrated process water. *Wat. Sci. Technol.*, 24:149-160.
- Rinzema, A. 1988. Anaerobic treatment of wastewater with high concentrations of lipids or sulfate. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Países Bajos.
- Rinzema, A. y Lettinga, G. 1988a. The effect of sulphide on the anaerobic degradation of propionate. *Environ. Technol. Lett.*, 9:83-88.
- Rinzema, A. y Lettinga, G. 1988b. Anaerobic treatment of sulfate containing wastewater. En: Biotreatment systems. Ed. D.L Wise. Vol. III. Pp. 65-109. CRC Press Inc., Boca Raton, EEUUA.
- Rinzema, A., Paardekooper, A., De Vegt, A. y Lettinga, G. 1986. Anaerobic treatment of edible oil refinery wastewater in granular sludge UASB reactors. In Proceedings EWPCA conference Anaerobic Treatment: A grown Up Technology, pp. 205-217. Amsterdam.
- Rivard, C. y Smith, P. 1982. Isolation and characterization of a thermophilic marine methanogenic bacterium, *Methanogenium thermophilicum* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32:430-436.
- Rivard, C., Henson, J., Thomas, M. y Smith, P. 1983. Isolation and characterization of *Methanomicrobium paynteri* sp. nov., a mesophilic methanogen isolated from marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 46:484-490.
- Rodríguez-Martínez, J., Rodríguez-Garza, I., Pedraza-Flores, E., Balagurusamy, N., Sos-Santillana, G. y Garza-García, Y. 2002. Kinetics of anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater in batch and upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Biores. Techn.* 85:235-241.
- Rodríguez-Rivera, 1993. Tratamiento de vinazas empleando reactores anaerobios avanzados (UASB y FA) con eliminación de H₂S. Tesis profesional, Facultad de Química, UNAM. México, D.F. México.
- Rojas-Chacón, O. 1988a. La alcalinidad como parámetro de control de los ácidos grasos volátiles en digestores. En: Manual del Curso, Tratamiento "Anaeróbico" de Aguas Residuales-Microbiología y Bioquímica. d1-d31. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.



- Rojas-Chacón, O. 1988b. Factores ambientales que inciden en la aplicación de los procesos anaerobios. En: *Manual del curso de tratamiento anaerobio de aguas residuales*. Medellín, Colombia.
- Romero, L., Sales, D., Cantero, D. y Galan, M. 1988. Thermophilic anaerobic digestion of winery waste (Vinasses): Kinetics and process optimization. *Proc. Biochem.* 8:119-125.
- Rönnow, P. y Gunnarson, L. 1981. Sulphide dependent methane production and growth of a thermophilic methane bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42:580-591.
- Rožanova, E. y Khudyakova, A. 1974. A new nonspore-forming thermophilic sulfate-reducing organism, *Desulfovibrio thermophilus* nov. spec. *Microbiology* (Engl. Transl. Mikrobiologiya). 43:908-9012 (Mikrobiologiya 43:1069-1075).
- Rožanova, E. y Nazina, T. 1976. A mesophilic, sulfate-reducing, rodshaped, nonsporeforming bacterium. *Microbiology* (Engl. Transl. Mikrobiologiya). 45:711-716 (Mikrobiologiya 45:825-830).
- Rozzi, A. y Verstraete, W. 1981. Calculation of active biomass and sludge production vs waste composition in anaerobic contact process. *Trib. Cebedeau.* 34:421-427.
- Safley, Jr. L. y Westerman, P. 1992. Performace of a low temperature lagoon digester. *Bioresour. Technol.* 41:167-175.
- Salkinoja, M., Nyns, E., Sutton, P., van der Berg, L. y Wheatley, A. 1983. Starting-up of anaerobic fixed-film reactor. *Wat. Sci. Technol.*, 15:305-308.
- Samain, E., Dubourguier, H. y Albagnac, G. 1984. Isolation and characterization of *Desulfobulbus elongatus* sp. nov. from a mesophilic industrial digester. *Syst. Appl. Microbiol.*, 5:391-401.
- Sánchez, E., Borja, R., Weiland, P., Travieso, L. y Martín, A. 2001. Effect of substrate concentration and temperature on the anaerobic digestion of piggery waste in a tropical climate. *Proc. Biochem.* 37:483-489.
- Sander, R., 1999. Compilation of Henry's law constants for inorganic and organic species of potential importance in environmental chemistry. Non-commercial reproduction permitted. Air Chemistry Department. Max-Planck Institute of Chemistry. Mainz, Alemania.
- Sax, R. 1982. Advantages of the biotane system for the anaerobic pretreatment of industrial wastewater. Texas Water Pollution Control Association. Junio 9-11, Longview, Texas, EEUUA.
- Schink, B. 1992. Syntrophism among prokaryotes. En: *The prokaryotes*. Pp. 276-299. 2ª edición, Springer-Verlag, Nueva York, EEUUA.
- Schmid, K., Thomm, M., Laminet, A., Laue, F., Kessler, C., Setter, K. y Schmitt, R. 1984. Three new restriction endonucleases *Mae I*, *Mae II* and *Mae III* from *Methanococcus aeolicus*. *Nucl. Acids Res.* 12:2619-2628.



- Schmidt, J. y Ahring, B. 1996. Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechn. and Bioeng.* 49:229-246.
- Schraa, G. y Jewell, W. 1984. High rate conversion of soluble organics with a thermophilic anaerobic attached film expanded bed. *J. Water Poll. Control. Fed.*, 56:226-232.
- Skyring, W., Chambers, A. y Bauld, J. 1983. Sulfate reduction in sediments colonized by cyanobacteria, Spencer Gulf, South Australia. *Aust. J. Mar freshwater Res.* 34:359-374.
- Shelton, D. y Tiedje M. 1984. General method for determining anaerobic biodegradation potential. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:850-857.
- Shi, D y Forster, O. 1993. An examination of the start-up of a thermophilic upflow sludge blanket reactor treating a synthetic coffee waste. *Environ. Technol.*, 14:965-972
- Shigeki, U. y Harada, H. 1993. Microbial characteristics of methanogenic sludge consortia developed in thermophilic UASB reactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 39:654-660.
- Shin, H., Bae, B. Lee, J. y Paik, B. 1992. Anaerobic digestion of distillery wastewater in a two-phase UASB system. *Wat. Sci. Technol.* 25(7):361-371.
- Shin, H., Jung, J., Bae, B. y Paik, B. 1995. Phase-separated anaerobic toxicity assays for sulfate and sulfide. *Wat. Environ. Res.* 67:802-806.
- Sierra-Álvarez, R., Field, J. y Lettinga, G. 1988. Methanogenic toxicity of phenolic and lipidic compounds. En: *Proceedings of the 4th Seminar on Anaerobic Wastewater Treatment*. Pp. 83-110. Universidad de Valladolid, Valladolid, España.
- Smul, A., Goethals, L. y Verstraete, W. 1999. Effect of COD to sulphate ratio and temperature in expanded-granular-sludge-blanket reactors for sulphate reduction. *Proc. Biochem.* 34:407-416.
- Snell, R. 2000. Estudio sobre la biodegradabilidad del colorante azo marino terasil por un lodo granular anaerobio vía sulfato-reducción. Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM. Ciudad Universitaria, México, D.F., México.
- Solera, R., Romero, L. y Sales, D. 2000. Determination of the microbial population in thermophilic anaerobic reactors. En Memorias del Congreso Internacional del Agua. París, Francia.
- Sorlini, C., Andreoni, V., Ferrari, A. y Ranalli, G. 1986. The influence of some phenolic acids present in oil mill water on microbial groups for the methanogenesis. En: *International Symposium on Olive Byproducts Valorization*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.
- Soto, M., Méndez, R. y Lema, J. 1992. Characterization and comparison of biomass from mesophilic and thermophilic fixed bed anaerobic digesters. *Wat. Sci. Technol.*, 25(7):203-212.



- Soto, M., Méndez, R. y Lema, J. 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Wat. Res.* 27(8):1361-1376.
- Souza, M., Fuzaro, G. y Polegato, A. 1992. Thermophilic digestion of vinasse in pilot plant UASB reactor. *Wat. Sci. Technol.*, 25(7):213-222.
- Sowers, K. y Ferry, J. 1983. Isolation and characterization of a methylotrophic marine methanogen, *Methanococcoides methylutens* gen. nov., sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:684-690.
- Sowers, K., Baron, S. y Ferry, J. 1984. *Methanosarcina acetivorans* sp. nov., an acetotrophic methane-producing bacterium isolated from marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 47:971-978.
- Speece, R. 1983. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Env. Sci. Technol.* 17, 416A-427A.
- Sponza, T. 2001. Anaerobic granule formation and tetrachloroethylene (TCE) removal in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Enzyme and Microbial Technology.* 29:417-427.
- Srivastava, R. 1995. Kinetics of fresh water hyacinth digestion in semi-continuous operation. *Chem. Eng. J. B.* 56:109-121.
- Steiert, J., Thoma, W., Ugrubil, K y Crawford, R. 1988. ³¹P nuclear magnetic resonance studies of effects of some chlorophenols on *Escherichia coli* and a pentachlorophenol-degrading bacterium. *J. Bacteriol.* 170:4954-5957.
- Stetter, K., Thomm, J., Winter, G., Wildgruber, H., Zillig, D., Jáne-Covic, H., König, P., Palm, S. y Wunderl, S. 1981. *Methanothermus fervidus* sp. nov., a novel extremely thermophilic methanogen isolated from an Icelandic hot spring. *Zentralbl. Bakteriologie. Mikrobiol. Hyg. I Abt. Orig.* C2:166-178.
- Stronach, S.M., Rudd, T. y Lester, J.M. 1986. Anaerobic Digestion Processes in Industrial Wastewater Treatment. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Pp. 59-68, 149-158. República Federal de Alemania.
- Szewzyk, R. y Pfenning, N. 1987. Complete oxidation of catechol by strictly anaerobic sulfate-reducing *Desulfobacterium catecholicum* sp. nov. *Arch. Microbiol.*, 147:163-168.
- Tchobanoglous, G. y Schroeder, E. 1985. Water Quality. Addison-Wesley, Reading, MA.
- Thayanithy, W. y Forster C. 2002. A kinetic study of the anaerobic digestion of ice-cream wastewater. *Process Biochem.* 37(2002):965-971.
- Tieelbard, M. 1992. Experience with treatment of cane vinasse by UASB reactors. *Int. Sugar J.*, 94(1127):277-290.



- Tsutsuki, K., Ponnampereuma, F. 1987. Behaviour of anaerobic decomposition products in submerged soils: Effects of organic material amendment, soil properties and temperature. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 33:13-33.
- Uberoi, V. y Bhattacharya, K. 1995. Interactions among sulfate reducers, acetogens, and methanogens in anaerobic propionate systems. *Wat. Environ. Res.* 67(3):330-339.
- Ueki, K., Ueki, A. y Simogoh, Y. 1988. Terminal steps in the anaerobic digestion of municipal sewage sludge: Effects of inhibitors of metanogénesis and sulfate reduction. *J. Gen Appl. Microbiol.* 34:425-432
- Ueki, K., Ueki, A., Oguma, A. y Ohtsuki, C. 1989. Partition of electrons between methanogenesis and sulfate reduction in the anaerobic digestion of animal waste. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 35, 151-162.
- Updegraff, K., Pastor, J., Bridgham, S.D., Johnston, C.A., 1995. Environmental and substrate controls over carbon and nitrogen mineralization in northern wetlands. *Ecological Applications* 5(151:163).
- Valcke, D. y Verstraete, W. 1983. A practical method to estimate the acetoclastic methanogenic biomass in anaerobic sludges. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 55 (9) 1191-1195.
- Van Bruggen, J., Zwart, K. Hermans, F., van Hove, E., Stumm, C. y Vogels, G. 1986. Isolation and characterization of *Methanoplanus endosymbiosus* sp. nov., an endosymbiont of the marine sapropelic ciliate *Metopus contortus* Quennerstedt. *Arch. Microbiol.* 144:367-374.
- van den Berg, L. 1977. Effect of temperature on growth and activity of a methanogenic culture utilising acetate. *Can. J. Microbiol.* 23(7) 898-902.
- Van Hulzen, B., Segers, R., Van Bodegom, M. y Leffelaar, A. 1999. Temperature effects on soil methane production: An explanation for observed variability. *Soil Biol. Biochem.*, 31:1919-1929.
- Van Langerak, E., González, G., Van Aelst, A., Van Lier, B., Hamelers, M. y Lettinga, G. 1998. Effects of high calcium concentrations on the development of methanogenic sludge in upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactors. *Wat. Res.*, 32(4):1255-1263.
- Van Langerak, E., Ramaekers, H., Wiechers, J., Veeken, A., Hamelers, H. y Lettinga, G. 2000. Impact of location of CaCO₃ precipitation on the development of intact anaerobic sludge. *Wat. Res.*, 34(2):437-446.
- Van Lier, J. y Lettinga, G. 1995. Limitations of thermophilic anaerobic digestion waste water treatment and the consequences for process design. En: *Proc. Int. Meeting Anaerobic Processes for Bioenergy and Environment*, January 25-27. Copenhagen, Dinamarca.
- Van Lier, J., Groeneveld, N. y Lettinga, G. 1996. Development of thermophilic methanogenic sludge in compartmentalized upflow reactors. *Biotechnol. Bioeng.*, 50:115-124.



- Van Lier, J., Rintala, J., Saenz, J. y Lettinga, G. 1990. Effect of short-term temperature increase on the performance of a mesophilic UASB reactor. *Wat. Sci. Technol.* 15:183-190.
- Van Lier, J., ten Brumelner, E. y Lettinga, G. 1993. Thermo-tolerant anaerobic degradation of volatile fatty acids by digested organic fraction of municipal solid waste. *J. Ferment. Biotechnol.*, 76(2):140-145.
- Varel, V., Hashimoto, A. y Chen, Y. 1980. Effect of temperature and retention time on methane production from beef cattle waste. *Appl. Environ Microbiol.* 40:217-222.
- Vartak, D., Englar, C., McFarland, M. y Rickie, S. 1997. Attached-film media performance in psychrophilic anaerobic treatment of dairy cattle wastewater. *Bioresour. Technol.* 62:79-84
- Vasiliev, V.B., Vavilin, V.A., Rytov, S.V., Ponomarev, A.V., 1993. Simulation model of anaerobic digestion of organic matter by a microorganism consortium: Basic equations. *Wat. Res.* 20, 633-643.
- Vavilin, A., Lokshina, L., Rytov, V., Kotsyurbenko, O., Nozhevnikova, A. y Parshina, N. 1997. Modelling methanogenesis during anaerobic conversion of complex organic matter at low temperatures. *Wat. Sci. Technol.*, 36(6-7):531-538.
- Vavilin, V.A., Vasiliev, V.B., Rytov, S.V., 1994. Self-oscillating coexistence of methanogenic and sulfate-reducers under hydrogen sulfide inhibition and the pH regulating effect. *Biores. Technol.* 49, 105-119.
- Veeken, A. y Hamelers, B. 1999. Effect of temperature on hydrolysis rates of selected biowastes components. *Biores. Technol.* 69:249-254.
- Visser, A. 1993. Anaerobic treatment of sulphates in wastewaters. En: *Proceedings of the 5th Symposium on Wastewater Anaerobic Treatment*. Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Valladolid. Pp. 10.0 a 10.13. Valladolid, España.
- Visser, A. 1995. The anaerobic treatment of sulfate-containing wastewater. PhD Thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands.
- Visser, A., Alphenaar, P., Gao, Y., van Rossem, G. y Lettinga, G. 1993. Granulation and immobilization of methanogenic and sulfate reducing bacteria in high rate anaerobic reactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40, 575-581.
- Visser, A., Beeksmá, I., Van der Zee, F., Stams, A. y Lettinga, G. 1993b. Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulfate concentrations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 40:549-556.
- Visser, A., Gao, Y. y Lettinga, G. 1992. The anaerobic treatment of a synthetic sulfate containing wastewater under thermophilic (55°C) conditions. *Wat. Sci. Technol.*, 25:193-202.



- Visser, A., Gao, Y. y Lettinga, G. 1993a. Effects of short-term temperature increases on the mesophilic anaerobic breakdown of sulfate containing synthetic wastewater. *Wat. Res.*, 27(4):541-550.
- Visser, A., Hulshoff Pol, L. y Lettinga, G. 1996. Competition of methanogenic and sulfidogenic bacteria. *Wat. Sci. Technol.*, 33:99-110.
- Visser, A., Nozhevnikova, A. y Lettinga, G. 1993c. Sulphide inhibition of methanogenic activity at various pH levels at 55°C. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 57:9-13.
- Vlyssides, A. 1986. Anaerobic digestion of liquid wastes of spirit factories. En: *Anaerobic Digestion: Results of Research and Demonstration Projects*. M. P. Ferrant, G., Ferrero y Hermitte (Ed.). Elsevier, Amsterdam, Holanda. Pp. 261-266.
- Vlyssides, A. 1987. Anaerobic digestion of liquid wastes of spirit factories. En: 1st EEC Symposium on Anaerobic Digestion Results of Research and Demonstration Projects. Lille, Francia. Pp. 261-267.
- Vlyssides, A. y Zouboulis, A. 1993. Thermophilic anaerobic digestion of alcohol distillery wastewaters. *Biores. Technol.* 43:131-140.
- Vlyssides, A., Israilides, C., Loizidou, M., Karvouni, G. y Mourafeti, V. 1997. Electrochemical treatment of vinasse from beet molasses. *Wat. Sci. Technol.*, 36(2-3):271-278.
- Vollertsen, J., Almeida, M. y Hvitved-Jacobsen, T. 1999. Effects of temperature and dissolved oxygen on hydrolysis of sewer solids. *Wat. Res.*, 33(14):3119-3126.
- Vroblesky, D., Bradley, P. y Chapelle, F. 1996. Influence of electron donor on the minimum sulfate concentration required for sulfate reduction in a petroleum hydrocarbon-contaminated aquifer. *Environm. Sci. Technol.*, 30(4):1377-1381.
- Ward, D. y Olson, G. 1980. Terminal processes in the anaerobic degradation of an algal-bacterial mat in a high-sulfate hot spring. *Appl. Environm. Microbiol.*, 40:67-74.
- Ward, D. y Winfrey, M. 1985. Interaction between methanogenic and sulfate-reducing bacteria in sediments. En: *Advances in Aquatic Microbiology*. Ed. H. W. Jannasch y P. J. Ieb. Williams. Academic Press, vol. 3. Pp. 141-179., Orlando, Florida, EEUUA.
- Watson, A. y Nedwell, B. 1998. Methane production and emission from peat: The influence of anions (sulphate, nitrate) from acid rain. *Atmos. Environ.*, 32(19):3239-3245.
- Welander, T. y Hansson, G. 1983. Anaerobic treatment of a pulp industry wastewater. En: *Proceedings of the European Symposium on Anaerobic Wastewater Treatment (AWWT)*. AWWT Symposium Secretariat, TNO Corporate Communication Department, the Hague, Holanda.
- Westrich, J. y Berner, R. 1988. The Effect of Temperature on Rates of Sulfate Reduction in Marine Sediments. *Geomicrobiol. Jour.* 6:99-117.
- Whitman, W., Ankwarda, E. y Wolfe, R. 1982. Nutrition and carbon metabolism of *Methanococcus voltae*. *J. Bacteriol.* 149:852-863.



- Widdel, F. 1988. Microbiology and ecology of sulphate and sulfur reducing bacteria. En: Zehnder, A. (Ed.), *Biology of Anaerobic Microorganisms*. John Wiley and Sons, Nueva York, EEUUA. Pp. 469-586.
- Widdel, F. y Pfennig, N. 1977. A new anaerobic, sporing, acetate-oxidizing, sulfate-reducing bacterium, *Desulfotomaculum* (emend.) *acetoxidans*. *Arch. Microbiol.*, 112:119-122.
- Widdel, F. y Pfennig, N. 1981. Sporulation and further nutritional characteristics of *Desulfotomaculum acetoxidans*. *Arch. Microbiol.*, 112:119-122.
- Widdel, F. y Pfennig, N. 1982. Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. II. Incomplete oxidation of propionate by *Desulfobulbus propionicus* gen. nov., sp. nov. *Arch. Microbiol.*, 131:360-365.
- Widdel, F. y Pfennig, N. 1984. Dissimilatory sulfate or sulfur-reducing bacteria. En: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Krieg, N. y Holt, J. (Ed.), Vol. 1. Pp. 663-679. Williams y Wilkins, Baltimore. EEUUA.
- Widdel, F., Kohring, G. y Mayer, F. 1983. Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. III. Characteriation of the filamentous gliding *Desulfonema limicola* gen. nov. sp. nov., and *Desulfonema magnum* sp. nov. *Arch. Microbiol.*, 134:286-294.
- Wiegant, W. 1985. Thermophilic anaerobic digestion for wastewater treatment. Tesis doctoral. Agricultural University, Wageningen, Wageningen, Países Bajos.
- Wiegant, W. y de Man, A. 1986. Granulation of biomass in thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactors treatment acidified wastewaters. *Biotechnol. Bioeng.*, 27:1603-1607.
- Wiegant, W. y Lettinga, G. 1985. Thermophilic anaerobic digestion of sugars in upflow anaerobic sludge blanket reactors. *Biotechnol. Bioeng.*, 27:1603-1607.
- Wiegant, W., Claasen, J. y Lettinga, G. 1985. Thermophilic anaerobic digestion of high strength wastewaters. *Biotechnol. Bioeng.*, 27:1374-1381.
- Wildgruber, G., Thomm, M., König, H., Ober, K., Ricchiuto, T. y Stetter, O. 1982. *Methanoplanus limicola*, a plate-shaped methanogen representing a novel family, the Maethanoplanaceae. *Arch. Microbiol.* 132:31-36.
- Williamson, K. y McCarty, P. 1976. A model of sub-strate utilization by bacterial films. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 48: 9-16.
- Winfrey, M. 1983. Substrates for sulfate-reduction and methane production in intertidal sediments. *Appl. Environm. Microbiol.*, 45:193-199.
- Winfrey, M. y Zeikus, J. 1977. Effect of sulfate on carbon flow and electronic flow during methanogenesis in freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 33:275-281.



- Winter, J. Lerp, H., Zabel, F., Wildenauer, H. y Schindler, F., 1984. *Methanobacterium wolfei*, sp. nov., a new tungsten-requiring, thermophilic, autotrophic methanogen. *Syst. Appl. Microbiol.* 5:457-466.
- Wolfe, R. 1971. Microbial formation of methane. In: Advances in microbial physiology, Vol. 6 Academic Press. Nueva York, EEUUA.
- Worakit, S., Boone, R., Mah, M., Abbel-Samie, D. y Halwagi, M. 1986. *Methanobacterium alcaliphilum* sp. nov., an H₂-utilizing methanogen that grows at high pH values. *Int. Syst. Bacteriol.*, 36:380-382.
- Wu, W., Hu, J., Gu, X., Zhao, Y., Zhang, H. y Gu, G. 1988. Cultivation of anaerobic granular sludge in UASB reactors with aerobic activated sludge as seed. *Water Res.* 21(7):789-799.
- Yadav, V. y Archer, D. 1989. Sodium molybdate inhibits sulphate reduction in the anaerobic treatment of high sulphate molasses wastewater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 31:103-106.
- Yang, B., Jahan, K. y Young, J. 1987. Modeling of anaerobic filter performance. Proc. of 8th Inter. Conf. on Alternative Energy Sources, pp. 214-220. Miami Beach, FL, EEUUA.
- Yoda, M., Kitagawa, M. y Miyayi, Y. 1987. Long term competition between sulfate-reducing and methane-producing bacteria in anaerobic biofilm. *Wat. Res.*, 21:1547-1556.
- Yu, H., Wilson, F. y Tay, J. 1998. Kinetic analysis of an anaerobic filter treating soybean wastewater. *Wat. Res.*, 32(11):3341-3352.
- Yu-You, L., Lam, S. y Fang, H. 1996. Interactions between methanogenic, sulphate-reducing and syntrophic acetogenic bacteria in the anaerobic degradation of benzoate. *Wat. Res.*, 30(7):1555-1562.
- Zabel, H., König, H. y Winter, J. 1984. Isolation and characterization of a new coccoid methanogen, *Methanogenium tatii* spec. nov. from a solfataric field on Mount Tatio. *Arch. Microbiol.* 137:308-315.
- Zabel, H., König, H. y Winter, J. 1985. Emended description of *Methanogenium thermophilicum*, Rivard and Smith, and assignment of new isolates to this species. *Syst. Appl. Microbiol.* 6:72-78.
- Zehnder, A. 1988. Biology of anaerobic microorganisms. Wiley Series In Ecological And Applied Microbiology. Ed. John Wiley and Sons. Agricultural University, Wageningen, Países Bajos.
- Zehnder, A., Ingvorsen, K. y Marti, T. 1982. Microbiology of methane bacteria. En: Anaerobic Digestion. Ed. D. E. Hughes, D. A. Stafford, B. I. Wheatley, W. Baader, G. Lettinga, E. J. Nyns, y W. Verstraete. Elsevier. Pp. 45-68. Amsterdam, Holanda.
- Zehnder, A. y Wuhrmann, K. 1977. Physiology of a *Methanobacterium*, Strain AZ. *Arch. Microbiol.*, 111:199-205.



- Zeikus, J., Dawson, M., Thompson, T., Ingvorsen, K. y Hatchikian, E. 1983. Microbial ecology of volcanic sulphidogenesis: isolation and characterization of *Thermodesulfobacterium commune* gen. nov. and sp. nov. *J. Gen. Microbiol.*, 129:1159-1169.
- Zhilina, T. 1983. A new obligate halophilic methane-producing bacterium. *Mikrobiologiya*. 52:375-382.
- Zhilina, T. y Ilarionov, 1984. Isolation and comparative characteristics of methanogenic bacteria assimilating formate with the description of *Methanobacterium thermoformicum* sp. nov. *Mikrobiologiya* 53:785-790.
- Zhilina, T. y Zavarzin, G. 1979. Comparative cytology Methanosarcinae and description of *Methanosarcina vacuolata* n. sp. *Mikrobiologiya*. 48:279-285.
- Zinder, S. 1988. Conversion of acetic acid to methane by thermophiles. En: Anaerobic digestion, 1988. E. R. Hall and P. N. Hobson, Ed., Pergamon Press, London, pp. 1-12.
- Zinder, S. 1993. Physiological ecology of methanogens. En: Methanogenesis, Ecology, Physiology, Biochemistry, and Genetics. Ed. James Ferry. Primera edición. Chapman and Hall. Nueva York, EEUUA.
- Zinder, S., Anguish, T. y Cardwell, S. 1984. Effects of temperature on methanogenesis in a thermophilic (58°C) anaerobic digester. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47:808-813.
- Zinder, S., Sowers, K. y Ferry, J. 1985. *Methanosarcina thermophila* sp. nov., a thermophilic, acetotrophic, methane-producing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 35:522-523.

