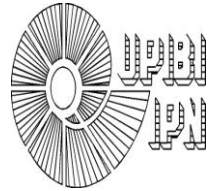




INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE
BIOTECNOLOGÍA



Biodegradación anaerobia de tricloroetileno (TCE) en un reactor

UASB

PRESENTA:

Ingeniera Ambiental: Selene Montserrat García Solares

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

DIRECTORA:

Dra. Claudia Guerrero Barajas

Co-Directora:

Dra. Elvia Inés García Peña



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F siendo las 10:00 horas del día 12 del mes de noviembre del 2010 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de UPIBI-IPN para examinar la tesis de grado titulada:

"BIODEGRADACION ANAEROBIA DE TRICLOROETILENO (TCE) EN UN REACTOR UASB"

Presentada por el alumno:

GARCÍA

Apellido paterno

SOLARES

materno

SELENE MONTSERRAT

nombre(s)

Con registro:

B	0	8	1	9	6	4
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de: Maestro en Ciencias en Bioprocesos

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directora de Tesis

DRA. CLAUDIA GUERRERO BARAJAS

Co-Director de Tesis

DRA. ELVIA INÉS GARCÍA PEÑA

DR. CLAUDIO GARIBAY ORIJEL

DR. LUIS GILBERTO TORRES BUSTILLOS

DR. JUAN SILVESTRE ARANDA BARRADAS

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

DR. EDGAR SALGADO MANJARREZ



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL
INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGIA
SECCION DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACION

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México, Distrito Federal siendo el día 18 de Noviembre del año 2010, la que suscribe SELENE MONTSERRAT GARCÍA SOLARES, alumna del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS con número de boleta B081964, adscrita a la UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la DRA. CLAUDIA GUERRERO BARAJAS y el permiso para utilizarlo como tema de tesis de maestría del Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICYT, D.F. PICS08-79), cede los derechos del trabajo titulado “BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA DE TRICLOROETILENO (TCE) EN UN REACTOR UASB” al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo al: Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICYT, D.F) y a las siguientes direcciones de correo electrónico: cguerrerob@ipn.mx, smon_87@hotmail.com. Si el permiso es otorgado, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



Selene Montserrat García Solares

Declaración de originalidad

“Yo, Selene Montserrat García Solares declaro que los resultados reportados en esta tesis son producto de mi trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a su concepción y análisis. Asimismo declaro que hasta donde yo sé no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona excepto donde se reconoce como tal a través de citas y con propósitos exclusivos de ilustración o comparación. En este sentido, afirmo que cualquier información presentada sin citar a un tercero es de mi propia autoría. Declaro, finalmente, que la redacción de esta tesis es producto de mi propio trabajo con la dirección y apoyo de mi directora de tesis y mi comité tutorial en cuanto a la concepción del proyecto, al estilo de la presentación o a la expresión escrita.”

Vo. Bo. Dra. Claudia Guerrero Barajas

EL TRABAJO EXPERIMENTAL SE DESARROLLO EN EL LABORATORIO DE POSGRADO DE BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL DE LA UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA DEL I.P.N.

ESTE TRABAJO FUE LLEVADO A CABO DENTRO DEL PROYECTO DEL **INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DEL D.F. REFERENCIA ICYT-D.F. PICS08-79**, CON UNA BECA DE MAESTRÍA PROPORCIONADA POR **CONACYT**, CON NÚMERO DE REGISTRO 225806 A QUIEN EL AUTOR AGRADECE.

Vo. Bo. Dra. Claudia Guerrero Barajas

Comité tutorial

Dra. Claudia Guerrero Barajas (Director de tesis)

Dra. Elvia Inés García Peña (Co-director de tesis)

Dr. Luis Gilberto Torres Bustillos (Asesor)

Dr. Claudia Garibay Orijel (Asesor)

Dr. Juan Silvestre Aranda Barradas (Asesor)

AGRADECIMIENTOS

Gracias Dios por darme la oportunidad de creer como profesional y como persona.

Por colocar en mi vida a las personas adecuadas en el momento adecuado para ayudarme y apoyarme algunas de esas personas son:

A mis Padres que siempre me han apoyado y confiado en mí. Son los mejores Padres del Mundo !!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!.

A mis hermanos Ner y Mar por todos los bellos momentos que hemos pasado juntos.

A mi bebé Hanielito por momentos de alegría que siempre me da.

Dra. Claudia Guerrero Barajas por su confianza, su apoyo, por sus consejos y sus regaños en el área profesional y en la personal.

Javier Pareja Camacho por su amistad y su colaboración en el desarrollo experimental de este trabajo.

A los miembros de mi comité tutorial por su tiempo invertido en la revisión y correcciones del presente trabajo.

Profesora Elvira Ríos Leal y Don Cirino del CINVESTAV del departamento de Biotecnología y Bioingeniería laboratorio 18 central analítica, por las facilidades otorgadas para permitirme usar el equipo que tienen a su cargo (Cromatógrafo de gas y HPLC), por la asesoría y ayuda en mi estancia en ese laboratorio.

A todos mis amigos Rafael, Lucero y Víctor por su apoyo en el desarrollo experimental, Kary, Xoch, Benja, Irais, Jonás, Sandy, Jess, Mony, Val y Lara.

Elier Ekberg Neri Torres por su ayuda en todo momento.

Dr. Luis Fernández Linares por su valiosa opinión en la redacción y formato del presente trabajo, por el material brindando durante el desarrollo del trabajo experimental por su amistad.

Ingeniero Biotecnólogo. Cesar Jiménez Sierra por su apoyo durante mi estancia en el laboratorio de Posgrado de Bioconversiones de la UPIBI-I.P.N.

RESUMEN

Diferentes reportes actuales indican que la sulfato reducción (SR) es una alternativa para el tratamiento de agua residual de tipo industrial conteniendo altas concentraciones de sulfato (SO_4^{-2}) y contaminantes orgánicos, como diferentes compuestos clorados como el tricloroetileno (TCE). El objetivo general de este trabajo fue estudiar el proceso biológico de SR aplicado a la biodegradación de TCE hasta compuestos menos tóxicos como el eteno, en un reactor anaerobio de lecho de lodo de flujo ascendente UASB (por sus siglas en inglés), utilizando un sedimento marino proveniente de ventilas hidrotermales como inóculo.

En primera instancia se estudió la SR en experimentos de microcosmos inoculados con sedimento a una temperatura mesofílica y operados en lote, mantenidos en incubación por periodos de tiempo con el fin de enriquecer los microorganismos sulfato reductores, usando una concentración inicial de SO_4^{-2} de 4000 mg/L y utilizando dos donadores de electrones, lactato (500 mg DQO/L) y una mezcla de ácidos grasos volátiles (350 mg DQO/L), obteniendo una reducción de SO_4^{-2} del 95% para el microcosmos con lactato como sustrato en 403 días y para el microcosmos con AGV's la reducción de SO_4^{-2} fue de 95% en 209 días.

Una vez establecida la SR en ambos microcosmos, se continuó con la biodegradación de TCE a una concentración inicial de 100 μM para el experimento con lactato como sustrato obteniendo un 89% de biodegradación en los 8 días posteriores a la adición del TCE. En el experimento de microcosmos que utilizó AGV's como donador de electrones la concentración inicial de TCE fue de 260 μM obteniendo una biodegradación del 70% en los primeros 5 días

Posteriormente se inoculó un reactor tipo UASB con 4.7 g SSV/L de sedimento marino que fue enriquecido con una concentración inicial de SO_4^{-2} de 4000 mg/L y fue operado en estado pseudo-estacionario, por un poco más de 365 días con el fin de desarrollar biomasa sulfato reductora. La operación del reactor UASB se dividió en ocho periodos, los primeros cinco periodos fueron de adaptación y desarrollo de la biomasa SR (309 días), obteniendo 98% de reducción de SO_4^{-2} y 2900 mg/L de sulfuro de hidrógeno (H_2S) correspondientes al 70% de conversión de la concentración inicial de SO_4^{-2} a H_2S . Los valores obtenidos para la actividad sulfato reductora (ASR) (188 mg DQO- H_2S /g SSV*d) corroboran el desarrollo de bacterias sulfato reductoras (BSR) en el inóculo del reactor. En el periodo VI (días 310-319) se realizaron cinéticas de reducción de SO_4^{-2} con un tiempo de retención hidráulico (THR) de 12 h y una concentración inicial de SO_4^{-2} de 4000 mg/L obteniendo una reducción de SO_4^{-2} del 98% en las primeras 4 h, la concentración total alcanzada de H_2S fue de 1200 mg/L (equivalente al 30% de conversión de la concentración inicial de SO_4^{-2} a H_2S) y la demanda química de oxígeno (DQO) removida por la SR fue de 70% al finalizar la cinética.

La biodegradación de TCE bajo condiciones SR en el reactor UASB se llevó a cabo en el periodo VII (días 320-348), probando dos concentraciones iniciales de TCE (250 y 300 μM) y tres diferentes THR's (24, 12 y 8 h) para cada concentración, enriqueciendo el reactor con una concentración inicial de SO_4^{-2} de 4000 mg/L. Los mejores porcentajes de biodegradación de TCE fueron de 77 y 74 % para la concentración de 260 μM con un THR de 8 h y para la concentración de 300 μM con un THR de 12 h, respectivamente. Bajo las condiciones impuestas en el reactor UASB para la biodegradación de TCE, la reducción de SO_4^{-2} fue de 98% presentándose en las primeras 5 h de cada THR.

Por último, el objetivo del periodo VIII (días 349-365) fue determinar el porcentaje de reducción de SO_4^{-2} , la producción de H_2S y la oxidación del sustrato en el reactor UASB después de la biodegradación de TCE.

Los resultados globales de este trabajo demuestran que el reactor es funcional para la remoción de ambos, sulfato y TCE en tiempos cortos y eficiencia alta. El presente trabajo se usará como antecedente para la precipitación de metales en el mismo reactor. Actualmente se están realizando análisis para la ecología microbiana del mismo.

ABSTRACT

Current different reports indicate that sulfate reduction (SR) is an alternative to be used in wastewater treatment from many types of industrial effluents containing high sulfate concentrations as well as various organic pollutants such as trichloroethylene (TCE). Therefore, the general aim of this work was to study the biological process of sulfate reduction in order to use it for the biodegradation of TCE to less toxic compounds such as ethene using an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor inoculated with hydrothermal vents sediments.

First at all, SR was carried out in long term batch-fed microcosms experiments incubated at mesophilic temperature using an initial sulfate concentration of 4000 mg/L and two different electron donors, lactate (500 mg DQO/L) and a mixture of volatile fatty acids (VFAs) (350 mg DQO/L). For lactate, SR reached up to 95% in 403 days and for VFAs SR was 95% in 209 days. Once SR was established in the microcosms, TCE was added to a final concentration of 100 and 260 μ M for experiments with lactate and VFAs respectively. TCE biodegradation was 89% in 8 days for lactate experiments and 70% in 5 days for incubations using VFAs as substrate.

At a second stage, the UASB reactor was inoculated with the sediments (4.7 g VSS/L) along with a sulfate concentration of 4000 mg/L and operated in a semi-continuous regime for a little longer than one year in order to enrich the sediments in sulfate reducing bacteria (SRB) within a robust microbial community. The operation of the reactor was divided in eight periods. Acclimation stage includes from period one to five (309 days), a span of time in which the bioreactor was maintained under appropriate conditions in order to enrich it in adequate biomass.

During these periods, SR reached 98% with a H₂S concentration of 2900 mg/L corresponding to 70% of sulfate conversion. The values obtained for the sulfate reducing activity (SRA) (188 mg DQO-H₂S/g VSS*d) demonstrate the appropriate development of SRB in the inoculum of the bioreactor. During period VI (days 310-319) SR kinetics were carried out at hydraulic retention time (HRT) of 12 h at an initial sulfate concentration of 4000 mg/L, yielding 98% of sulfate reduction in the first 4 h. In this kinetics, the total H₂S concentration was 1200 mg/L (which is equivalent to 30% of sulfate converted to H₂S) along with a COD removal of 70% at the end of the kinetics.

The TCE biodegradation under sulfate reducing conditions (initial sulfate concentration 4000 mg/L) in the UASB was conducted in period VII (days 320-348), for which two concentrations of TCE were tested (250 and 300 µM) along with three different HRTs (24, 12 and 8 h) for each TCE concentration. The best biodegradation efficiencies were 77% of TCE removal (TCE initial concentration 260 µM) at HRT of 8 h and 74% of TCE removal (TCE initial concentration 300 µM) at HRT of 12 h respectively. Under the established conditions for TCE biodegradation in the UASB reactor, SR was of 98% within the first 5 h at each TCE concentration and HRT. Finally, the objective of period VIII (days 349-365) was to determine SR, H₂S production and COD consumption in the UASB after the period in which TCE was biodegraded in order to estimate the damage (if any) that TCE had caused to the microbial community in the reactor. The overall results of this work demonstrate that the reactor can function efficiently for both, sulfate and TCE removal in short periods of time. The present work will be used as background for precipitation of metals using the same reactor. Ongoing experiments to describe the microbial ecology of the UASB reactor are being conducted.

INDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Tipos de tratamiento para agua residual de tipo industrial	1
1.1.1	Tratamientos físicos	2
1.1.2	Tratamientos químicos.....	2
1.1.3	Tratamientos biológicos	3
1.2	Proceso biológico de la sulfato reducción (SR).	7
1.3	Problemática en México del TCE.	10
1.4	Transformación del Tricloroetileno	14
1.5	Tecnologías anaerobias para la biodegradación de compuestos clorados (TCE).15	
1.6	Reactor anaerobio de lecho de lodos de tipo granular de flujo ascendente (UASB).	16
2	JUSTIFICACIÓN	18
3	HIPÓTESIS.....	19
4	OBJETIVOS.....	19
5	ALCANCE	20
6	METODOLOGÍA	21
6.1	Microorganismos.	22
6.2	Elaboración de experimentos de microcosmos para la biodegradación de TCE bajo condiciones de sulfato reducción.....	22
6.3	Métodos analíticos para los experimentos de microcosmos.	23
6.4	Arranque del reactor.....	23
6.5	Establecimiento del proceso de sulfidogénesis en el reactor.	26
6.6	Actividad sulfato reductora (específica).....	28
6.7	Cálculo de la actividad sulfato reductora.	28
6.8	Métodos analíticos empleados en la operación del reactor UASB.	29

6.9	Medio mineral.....	30
6.10	Balances de materia del aceptor (SO_4^{-2}) y el donador (AGV's) de electrones.....	30
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
7.1	Elaboración de experimentos de microcosmos para la sulfato reducción y biodegradación de TCE a 37°C.....	31
7.1.1	Sulfato reducción en los experimentos de microcosmos utilizando lactato como sustrato.....	31
7.1.2	Sulfato reducción en los experimentos de microcosmos utilizando AGV's como sustrato.....	34
7.1.3	Biodegradación de TCE en el experimento de microcosmos bajo condiciones sulfato reductoras utilizando lactato como sustrato.....	37
7.1.4	Biodegradación de TCE en el experimento de microcosmos bajo condiciones sulfato reductoras utilizando AGV's como sustrato.....	40
7.1.5	Efecto del TCE en la sulfato reducción en los experimentos de microcosmos.....	46
7.2	Establecimiento de sulfato reducción (SR) en el reactor UASB.....	46
7.3	Cinética de reducción de sulfato y consumo de sustrato en el reactor UASB.....	59
7.4	Degradación de TCE en el reactor UASB bajo condiciones SR.....	63
7.4.1	Degradación de TCE a una concentración inicial de 250 μM	63
7.4.2	Degradación de TCE a una concentración inicial de 300 μM	66
7.5	Cinética de reducción de sulfato y consumo de sustrato en el reactor UASB después de la presencia de TCE.....	71
7.6	Actividad específica sulfato reductora.....	73
8	CONCLUSIONES	76
8.1	Elaboración de experimentos de microcosmos para la sulfato reducción y biodegradación de TCE a 37°C.....	76
8.2	Establecimiento de sulfato reducción (SR) en el reactor UASB.....	76

8.3	Cinética de reducción de sulfato y consumo de sustrato en el reactor UASB ..	77
8.4	Degradación de TCE en el reactor UASB bajo condiciones SR	77
8.5	Cinética de reducción de sulfato y consumo de sustrato en el reactor UASB después de la presencia de TCE	78
8.6	Actividad específica sulfato reductora	78
8.7	Conclusión General	79
9	RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS PARA TRABAJOS FUTUROS	80
10	GLOSARIO	81
11	REFERENCIA.....	83
12	ANEXOS.....	91

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Reacciones metabólicas involucradas en la degradación de la materia orgánica en sistemas sulfato reductores (Adaptado de Gallegos-García 2009).....	7
Tabla 1.2. Principales contaminantes tóxicos de la ZMVM (Adaptado de SEMARNAT, 2006).	12
Tabla 1.3. Ventajas y desventajas de diversos tipos de reactores aplicados a la sulfato reducción (Adaptado de Kaksonen y Puhakka 2007).	15
Tabla 1.4. Tipos de reactores empleados en el tratamiento de agua residual ricas en sulfato (Adaptado de Lens et al. 1998).	16
Tabla 6.1. Periodos de operación del reactor UASB.	27
Tabla 6.2. Flujos empleados en la operación del reactor con TCE.	28
Tabla 6.3. Balances de materia de sulfato.	30
Tabla 7.1. Seguimiento de los parámetros de SR y producción de H ₂ S para el microcosmos con lactato como sustrato.	31
Tabla 7.2. Seguimiento de los parámetros de SR y producción de H ₂ S para el microcosmos con AGV's como sustrato.	34
Tabla 7.3. Porcentaje de la degradación de TCE usando lactato como donador de electrones.	38
Tabla 7.4. Porcentaje de la degradación de TCE usando AGV's como donador de electrones.	41
Tabla 7.5. Comparación de la degradación de compuestos clorados en estudios de microcosmos con los estudios de microcosmos del presente trabajo.	45
Tabla 7.6. Condiciones de operación para la sulfato reducción y degradación de TCE en el reactor	47
Tabla 7.7. Comparación de las condiciones de operación y reducción de sulfato en varios tipos de reactores.	58
Tabla 7.8. Condiciones de desempeño del reactor en la presencia de TCE a una concentración inicial de 250 µM y tres diferentes THR's.	64
Tabla 7.9. Condiciones del desempeño del reactor en la presencia de TCE a una concentración inicial de 300 µM y tres diferentes THR's.	67
Tabla 7.10. Comparación de la degradación de compuestos clorados en varios tipos de reactores con el reactor del presente trabajo.	70

Tabla 7.11. Evolución de la actividad específica del inóculo con respecto de los últimos tres periodos de operación del reactor UASB.	74
---	----

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema de la degradación de materia orgánica por BSR y metanogénicas.....	5
Figura 1.2. Ciclo biológico del azufre (Gallegos-García 2009, Tang <i>et al.</i> , 2009).....	8
Figura 1.3. Interacción del tricloroetileno (TCE) con el medio ambiente.....	10
Figura 1.4. Mancha espacial del tricloroetileno (TCE) en la zona metropolitana del valle de México (Secretaría del Medio Ambiente, 2008).....	13
Figura 1.5. Representación del reactor UASB.....	17
Figura 6.1. Estrategia experimental.....	21
Figura 6.2. Dimensiones del reactor UASB.....	24
Figura 6.3. Reactor UASB empacado con sedimento de ventilas hidrotermales. (A) fotografía del reactor UASB, (B) representación esquemática del reactor UASB donde: (1) recipiente de alimentación, (2) bomba peristáltica, (3) lecho de sedimentos, (4) bomba para la recirculación, (5) medio mineral y sedimento fluidizado, (6) campana de separación gas/líquido, (7) salida de gas (8) columna de desplazamiento del gas.....	25
Figura 7.1. Producción de sulfuro y reducción de sulfato. (A) Control, (B) tratamiento con lactato. Sulfato (\diamond), sulfuro (O). Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.....	32
Figura 7.2. Comparación de la SR para el tratamiento con lactato (O) y el control (\diamond)..	33
Figura 7.3. Producción de sulfuro y presencia de sulfato. (A) Control, (B) tratamiento con AGV's. Sulfato (\diamond), sulfuro (O). Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.....	35
Figura 7.4. Comparación en la reducción de sulfato para el tratamiento con lactato (O) y el control (\diamond). Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.....	36
Figura 7.5. Producción de intermediarios en la degradación de TCE. (A) Tratamiento, (B) control. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.....	39
Figura 7.6. Presencia de metabolitos en la degradación de TCE con respecto al tiempo. (A) Tratamiento, (B) control. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.....	44
Figura 7.7. Aclimatación del inoculo a las condiciones SR en el transcurso del tiempo de operación del reactor. (A) Periodo I-II, (B) periodo III, (C) periodo IV-V.....	48

Figura 7.8. Alimentación de sulfato y sustrato (AGV's) con respecto al tiempo de operación en el reactor UASB. (A) Porcentaje de reducción de sulfato, (B) concentración de sulfato presente en el medio. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=2. (C).Concentración de sustrato alimentado (\circ), concentración de sustrato consumido (\bullet).....	50
Figura 7.9. SR con respecto al tiempo de operación del reactor. Concentración de sulfuro (\bullet). Porcentaje de reducción de sulfato (\diamond).....	54
Figura 7.10. Porcentaje de la conversión de SO_4^{-2} a H_2S con respecto al tiempo.....	54
Figura 7.11. Relación de pH con la producción de gas en el reactor UASB con respecto del tiempo de operación. (A) pH, (B) producción de gas.....	56
Figura 7.12. Desempeño del reactor durante 12 horas. Reducción de sulfato (\diamond), concentración de sulfuro (\bullet). Los datos presentados son promedio de n=3.	60
Figura 7.13. Consumo de sustrato (AGV's) durante 12 h. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.	61
Figura 7.14. Variaciones del pH durante 12 h. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.	62
Figura 7.15. Efecto del THR en la degradación de TCE a una concentración inicial de 250 μM y presencia de metabolitos en los diferentes THR's en el reactor UASB. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=2	66
Figura 7.16. Efecto del THR en la degradación de TCE a una concentración inicial de 300 μM y presencia de metabolitos en los diferentes THR's en el reactor UASB. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=2.....	68
Figura 7.17. Desempeño del reactor durante 12 horas después de 29 días con TCE. Reducción de sulfato (\diamond), concentración de sulfuro (\bullet). Los datos presentados son promedio de n=2.	72
Figura 7.18. Consumo de sustrato (AGV's) durante 12 h después de 29 días con TCE. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=2.	72
Figura 7.19. Variaciones del pH durante 12 h después de 29 días con TCE. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.....	73
Figura 11.1. Presencia de productos en la fermentación del reactor UASB	96

NOMENCLATURA

DQO	Demanda Química de Oxígeno
UASB	Reactor anaerobio de lecho de lodo de flujo ascendente
BRS	Bacterias sulfato reductoras
ASR	Actividad sulfato reductora
THR	Tiempo hidráulico de retención
SO₄⁻²	Sulfato
H₂S	Sulfuro de hidrógeno
CH₄	Metano
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
AGV's	Ácidos grasos volátiles (acetato, propionato y butirato)
COV's	Compuestos orgánicos volátiles
PCE	Percloroetileno
TCE	Tricloroetileno
<i>cis</i>-DCE	<i>Cis</i> -1,2-dicloroeteno
<i>trans</i>-DCE	<i>Trans</i> -1,2-dicloroeteno
1-1-DCE	1,1-dicloroeteno
1-2 DCE	1,2-dicloroeteno
OMS	Organización Mundial de la Salud
EPA	Environmental Protection Agency
SEMARNAT	Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales
ZMVM	Zona Metropolitana del Valle de México

1 INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una gran variedad de industrias que generan compuestos que son persistentes a la biodegradación y por lo tanto persisten en el medio ambiente. En especial las industrias procesadora de papel, productora de alcohol, en la producción de ácidos grasos, productoras de azúcares que generan aguas residuales que contiene altas concentraciones de sulfato (SO_4^{-2}) de 50 a 59000 mg/L, y materia orgánica con concentraciones de 1 a 95 g/L; (Colleran *et al.*, 1995). Este tipo de efluente puede ser tóxico para diversos microorganismos y son una fuente potencial de contaminación para los cuerpos de agua superficial y subterránea. Debido a esta problemática se han generado procesos biológicos de sulfato reducción (SR) para tratar estos efluentes, generalmente se realizan en reactores anaerobios de lecho de lodo granular de flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés Upflow Anaerobic Sludge Blanket) (Lettinga *et al.*, 1980, Colleran *et al.*, 1995, Lens *et al.*, 2002, Tang *et al.*, 2009). Los procesos anaerobios pueden ser extremadamente eficientes debido a su bajo consumo de energía y producción de lodos comparados con los procesos aerobios (Yoda *et al.*, 1987). La aplicación de la digestión anaerobia a efluentes ricos en SO_4^{-2} promueve la proliferación de bacterias sulfato reductoras (BSR) con microorganismos metanogénicos que generan una competencia entre ambos grupos de microorganismos por el sustrato disponible, especialmente por los compuestos más comunes como el acetato y los ácidos grasos volátiles de cadena corta (Lens *et al.*, 2002, Wang *et al.*, 2008). El resultado de esta competencia determina los productos finales de ambos procesos que puede ser sulfuro de hidrógeno (H_2S), metano (CH_4) o ambos. En los casos extremos en que predomine una de las dos poblaciones se tendrá un ambiente totalmente metanogénico o sulfato reductor (Omil *et al.*, 1997).

1.1 Tipos de tratamiento para agua residual de tipo industrial

Existen diferentes tipos de tratamientos para el agua residual de tipo industrial dependiendo los contaminantes que contenga este tipo de agua. Los tratamientos físicos, químicos y biológicos consisten en someter al agua residual a procesos unitarios físicos, químicos y biológicos de forma que se consiga transformar el producto tóxico en otros que son menos y se pueden llevar a vertederos o usar como materia prima para diferentes procesos a continuación se describen los procesos para el tratamiento de agua residual (Lombardero 2008, Seoáñez-Calvo 2004).

1.1.1 Tratamientos físicos

Este tipo de tratamientos consiste en separar los distintos componentes del agua residual, que posteriormente podrán tratarse por separado, en este tipo de tratamiento predomina la acción de las fuerzas físicas. El agua residual puede someterse a procesos como flotación, filtración y sedimentación. A continuación se describe brevemente cada uno de estos procesos.

Flotación: Se suelen usar para la eliminación de partículas sólidas difíciles de eliminar por gravedad debido a su densidad. Esta separación se consigue introduciendo finas burbujas de gas normalmente aire en la fase líquida (Seoáñez-Calvo 2004).

Filtración: Este proceso se aplica para la eliminación de sólidos suspendidos y requiere un efluente de baja concentración de sólidos (Seoáñez-Calvo 2004).

Sedimentación: Consiste en la separación por acción de la gravedad de las partículas suspendidas cuyo peso específico es mayor en el agua. Esta operación se emplea para la eliminación de las arenas, materia en suspensión y flóculos que van sedimentando y se eliminan del fondo del tanque de sedimentación con un rascador automático (Seoáñez-Calvo 2004).

1.1.2 Tratamientos químicos

Estos tratamientos tienen como objetivo reducir o eliminar los compuestos tóxicos y peligrosos del agua residual a partir de reacciones químicas. Con el fin de alcanzar los objetivos del tratamiento de agua residual los procesos químicos unitarios se llevan a cabo en combinación con los tratamientos físicos. Algunos de los tratamientos químicos se describen brevemente a continuación.

Intercambio iónico: El fundamento de este proceso unitario es retener ciertos iones de la corriente residual, cediendo a cambio una cantidad equivalente de otros iones del mismo signo. De esta manera, cationes inocuos, como el hidrógeno pueden sustituir metales pesados tóxicos, mientras que aniones inocuos como el hidróxido pueden sustituir aniones tóxicos como los fenoles y cianuros (Lombardero 2008).

Precipitación química: Es la formación de compuestos insolubles de los elementos indeseables contenidos en el agua, facilitando su sedimentación, por adición de reactivos. Para este proceso se suele utilizar para eliminar los siguientes elementos: calcio y magnesio (dureza) y compuestos silicatados (Sans-Fronfría y Ribas 1999).

Desinfección: Es la destrucción selectiva de los organismos causantes de enfermedades. Los desinfectantes más corrientes son los productos químicos oxidantes, de los cuales el cloro es el más universalmente empleado, el ozono también es un desinfectante muy eficaz (Sans-Fronfría y Ribas 1999).

1.1.3 Tratamientos biológicos

El tratamiento biológico se lleva a cabo por fermentaciones y digestiones por medio de microorganismos, con el objetivo de eliminar sólidos coloides no sedimentables y la estabilización de materia orgánica. Los microorganismos se nutren de diversos compuestos que contienen las aguas residuales generando flóculos por agregación que se separan en forma de lodos o fangos. Los tratamientos biológicos se aplican para la eliminación de materia orgánica carbonosa, nitrificación, desnitrificación, eliminación de fósforo y estabilización de fangos.

Los tratamientos biológicos pueden ser aerobios y anaerobios, a continuación se describirán cada uno.

1.1.3.1 Tratamiento biológico aerobio

En el proceso de tratamiento aerobio del agua residual los microorganismos emplean la materia orgánica presente, junto al oxígeno disuelto para producir el crecimiento de células y CO_2 y agua como productos finales. Los procesos principales se llevan a cabo con sistemas de cultivo en suspensión o cultivo fijo. Se distinguen dos tipos de tratamiento aerobio:

Cultivo en suspensión: Este tipo de tratamiento se divide en dos tipos. Fangos activados: el residuo orgánico se introduce en un reactor donde se mantiene un cultivo bacteriano en suspensión con ambiente aerobio, mediante el uso de difusores o

aireadores mecánicos que además facilitan el mezclado. Lagunas aireadas: se realiza en lagunas de grandes extensiones en contacto con la atmosfera.

Cultivo fijo: Se emplea para eliminar la materia orgánica, pero también se emplea para el proceso de conversión del nitrógeno amoniacal a nitrato (nitrificación). Los microorganismos están fijos en un soporte sólido. Este tipo de tratamiento incluye los filtros percoladores y los reactores biológicos rotativos de contacto (biodisco).

1.1.3.2 Tratamiento biológico anaerobio

Este tipo de tratamiento transforma los residuos orgánicos en metano, H_2S y CO_2 . Una de las principales ventajas del tratamiento biológico anaerobio sobre el tratamiento biológico aerobio es que no se necesita el suministro de oxígeno. Los organismos anaerobios pueden estar dispuestos en suspensión o en cultivo fijo. El cultivo en suspensión se aplica para la estabilización de fangos concentrados producidos en el tratamiento de agua residual.

En el cultivo fijo los microorganismos están sujetos en un soporte sólido, sin aportación de oxígeno, un ejemplo de una tecnología en donde se puede desarrollar este cultivo es en reactores UASB en donde el agua residual fluye en sentido ascendente por una columna la cual contiene un lecho de material adecuado como gránulos o sedimento marino, en donde se desarrollan las bacterias anaerobias y se puede llevar a cabo la digestión anaerobia (Lombardero 2008).

En el proceso de la digestión anaerobia, los residuos orgánicos se transforman a biogás, el cual contiene principalmente metano y dióxido de carbono. Este proceso biológico es realizado por comunidades de bacterias en sistemas abiertos o cerrados conocidos como reactores y se lleva a cabo en varias etapas, como se muestra en la Figura 1.1 y se describe a continuación.

- A) Hidrólisis : Desintegración de la materia orgánica e insoluble
- B) Acidogénesis: En esta etapa las bacterias acidogénicas convierten las moléculas orgánicas en ácidos grasos volátiles (AGV's) tales como el butírico, propiónico y acético aunque también el láctico.
- C) Acetogénesis: Consiste en la conversión de AGV's en acetato e hidrógeno
- D) Metanogénesis: Es la formación de metano por la descarboxilación de acetato por microorganismos metanogénicos y por la hidrogenación de dióxido de carbono por microorganismos hidrogenotróficos.

En presencia de sulfato se lleva a cabo la sulfato reducción, en esta etapa ocurre la oxidación de AGV's con más de dos átomos de carbono así como la oxidación de acetato por bacterias sulfato reductoras (BSR) (Visser 1995).

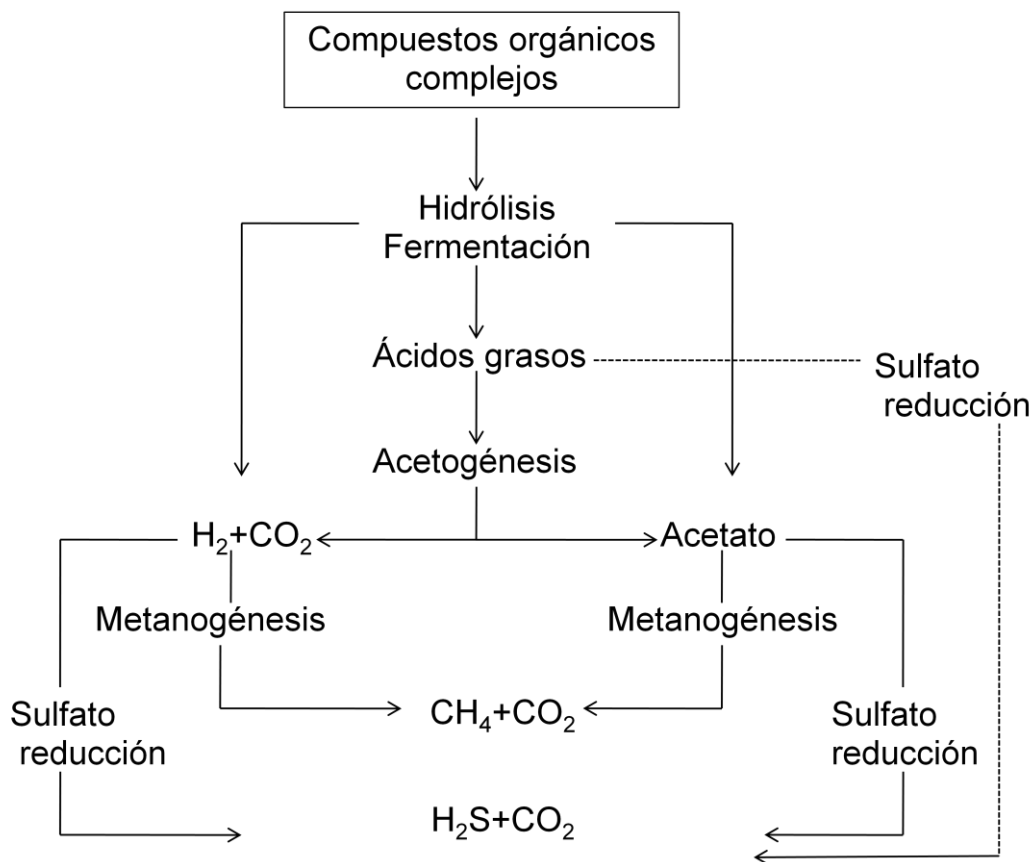
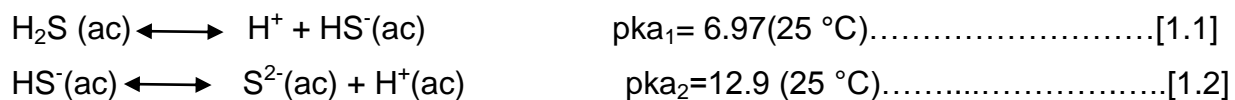


Figura 1.1. Esquema de la degradación de materia orgánica por BSR y organismos metanogénicos.

En presencia de sulfato los microorganismos metanogénicos y las BSR pueden competir por sustratos tales como los AGV's para la producción de CH₄ y H₂S. Una ventaja de las BSR sobre los organismos metanogénicos es que las BSR tienen una mayor afinidad por el hidrógeno y otros compuestos. Existen algunos factores que tienen influencia en la competencia microbiana de las BSR y los organismos metanogénicos como son la relación DQO/SO₄⁻² = 0.67 (teóricamente existe el suficiente sulfato en el medio para que toda la materia orgánica sea oxidada por las BSR)(Thabet *et al.*,2009), sustrato orgánico, factores ambientales tales como el pH y temperatura y composición del inoculo o procedencia del mismo, ya que la mayoría de los inóculos utilizados para la SR provienen de lodos granulares metanogénicos adaptados a condiciones de SR. Estos lodos metanogénicos se pueden adaptar a condiciones sulfato reductoras por medio de la relación DQO/SO₄⁻² = 0.67 con el objetivo de inhibir la competencia entre BSR y organismos metanogénicos. Sin embargo, existe la posibilidad de que no existan microorganismos metanogénicos, esto es posible utilizando un inóculo que no presente la competencia entre ambas poblaciones, este tipo de inóculo se pueden encontrar en el ambiente, por ejemplo, en los sedimentos marinos provenientes de ventilas hidrotermales. Este tipo de sedimentos poseen una gran variedad de microorganismos capaces de reducir el SO₄⁻² y oxidar la materia orgánica sin la competencia de microorganismos metanogénicos si prevalecen las condiciones adecuadas como por ejemplo, la temperatura, el contenido de materia orgánica, concentración de SO₄⁻² (de 2000 a 4000 mg/L) y pH (Elsgaard *et al.*, 1994, Elsgaard *et al.*, 1995, Elshahed *et al.*, 2003). El proceso de SR puede ser inhibido por el pH cuando este favorece el predominio de H₂S no disociado en el medio que es la forma más tóxica hacia las BSR para la membrana celular (Oleszkiewicz *et al.*, 1989, Visser *et al.*,1996). La concentración de H₂S en las fases líquida y gas depende del equilibrio químico (ecuación 1.1 y 1.2).



Para el primer valor de pK_{a1} , el cual es cercano a 7, pequeñas variaciones en el pH en un intervalo de 6-8 afectaría significativamente la concentración de H_2S (Oude Elferink *et al.*, 1994, Kaksonen *et al.*, 2004).

Varios estudios han reportado el efecto del sulfuro en el crecimiento de las BSR, por ejemplo, Visser *et al.* (1996), Lens *et al.* (2003) descubrieron que a altos valores de pH (8.7-9), el crecimiento de BSR es inhibido. Sin embargo, Celis-García *et al.* (2004) reportaron que las BSR en un sistema de biopelícula tienen una mayor tolerancia al sulfuro que un lodo granular.

Las reacciones involucradas en la degradación de materia orgánica por las BSR se presentan en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Reacciones metabólicas involucradas en la degradación de la materia orgánica en sistemas sulfato reductores (Adaptado de Gallegos-García 2009).

Reacción de Sulfato reducción	ΔG° (KJ/mol)
$CH_3CHOHCOO^- + \frac{1}{2}SO_4^{-2} \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + \frac{1}{2}HS^- + \frac{1}{2}H^+$	-80
$CH_3COO^- + SO_4^{-2} \rightarrow 2HCO_3^- + HS^-$	-47.6
$CH_3CH_2COO^- + \frac{3}{4}SO_4^{-2} \rightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + \frac{3}{4}HS^- + \frac{1}{4}H^+$	-37.7
$CH_3CH_2CH_2COO^- + \frac{1}{2}SO_4^{-2} \rightarrow 2CH_3COO^- + \frac{1}{2}HS^- + \frac{1}{2}H^+$	-27.8

Lactato: $CH_3CHOHCOO^-$, acetato: CH_3COO^- , propionato: $CH_3CH_2COO^-$, butirato: $CH_3CH_2CH_2COO^-$.

Uno de los procesos que actualmente se ha convertido en una alternativa conveniente para el tratamiento de efluentes de tipo industrial con un alto contenido de SO_4^{-2} , materia orgánica y otros contaminantes es el proceso biológico anaerobio de SR que a continuación se describe.

1.2 Proceso biológico de la sulfato reducción (SR).

Este proceso biológico es realizado por diferentes grupos o comunidades de bacterias en sistemas cerrados o abiertos conocidos como reactores. El proceso de SR forma parte del ciclo biológico del azufre y los principales pasos se muestran en la Figura 1.2.

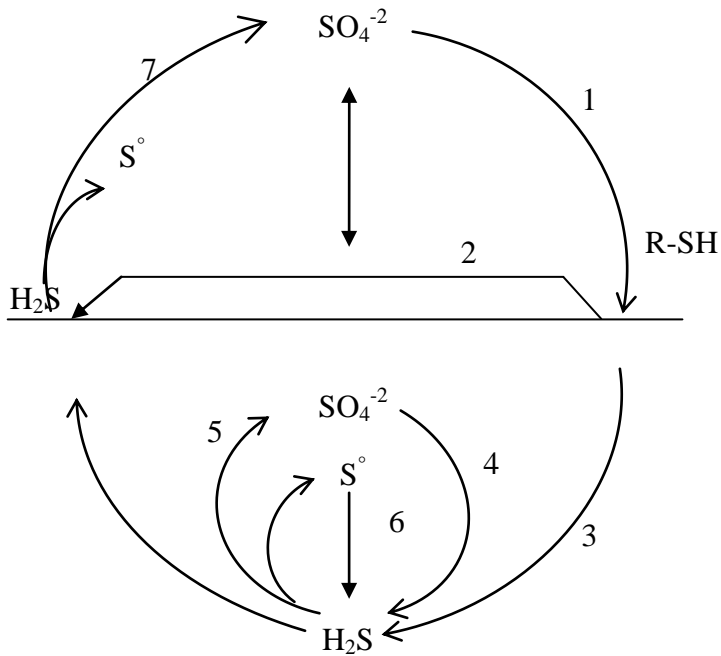


Figura 1.2. Ciclo biológico del azufre (Gallegos-García 2009, Tang *et al.*, 2009).

El proceso de sulfato reducción forma parte del ciclo biológico del azufre, este ciclo consiste en una serie de etapas de oxido-reducción, el sulfato (SO_4^{-2}) es reducido a sulfuro de hidrógeno (H_2S) según dos vías distintas: la asimilativa y la no asimilativa. La primera es utilizada por varios tipos de organismos para la síntesis de compuestos orgánicos de azufre. La segunda es respiratoria y específica para las bacterias sulfato-reductoras. Estas bacterias forman un grupo fisiológico de anaerobios estrictos con morfología diversa. Utilizan como aceptor de electrones sulfato u otros compuestos oxidados del azufre que se reducen a sulfhídrico, producto final de su respiración anaerobia. La reducción de sulfato a sulfuro se realiza a través de estados intermedios de oxidación de los que solamente se ha identificado el sulfito (SO_3^{-2}). La reacción de sulfato reducción se basa en la oxidación de un sustrato orgánico y la reducción de sulfato produciendo H_2S (ecuación 1.3).



Hoy se conocen ocho géneros de bacterias que reducen no asimilativamente el sulfato. Se reúnen fisiológicamente en dos grupos: 1) oxidan su fuente de energía a niveles de

acetato, obteniendo este ácido como producto final. Reducen el sulfato a sulfuro. A este grupo pertenecen los géneros: *Desulfovibrio*, *Desulfomonas* y *Desulfotomaculum*. 2) oxidan los ácidos C1-C14, y a veces benzoato, a CO₂. Reducen el sulfato a sulfuro. A este grupo pertenecen los géneros: *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfonema* y *Desulfosarcina* (Visser *et al.*, 1993, Visser *et al.*, 1995, Nagpal *et al.*, 2002). Algunos de los microorganismos mencionados arriba se pueden encontrar en sedimentos marinos de ventilas hidrotermales ya que estos lugares favorecen la presencia de bacteria sulfato reductoras, que en sintrofia con las bacterias halorespiradoras pueden llevar a cabo la degradación anaerobia de contaminantes importantes como lo puede ser el TCE obteniendo como producto final acetileno, eteno (Drzyzga *et al.*, 2001).

El proceso biológico de la SR también es utilizado para la biodegradación de diferentes contaminantes (Pavlostathis y Zhuang 1991; Sanz *et al.*, 2003; Ohlen *et al.*, 2005; Buzzini *et al.*, 2006; Bhatt *et al.*, 2008; Gallegos-García, 2009) como por ejemplo los compuestos clorados como el tricloroetileno (TCE), compuesto clorado que pertenece al grupo de los compuestos orgánicos volátiles (COV), encontrado en aguas subterráneas de la Ciudad de México (SEMARNAT 2008) y reconocido por la Organización Mundial de la Salud y la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos como un contaminante prioritario debido a los daños que puede ocasionar a la salud y al medio ambiente (OMS 2005, EPA 2005).

La principal fuente de disolventes clorados como el TCE en el medio ambiente proviene de la evaporación que se da en las fábricas y a malas prácticas de disposición final. Este compuesto puede permanecer en el suelo y el agua subterránea formando una fase líquida densa no acuosa (DNAPL) que se dispersa por el agua superficial hasta llegar al acuífero subterráneo. El TCE puede ser atrapado en las partículas del suelo provocando una limitación en la movilidad y disponibilidad del contaminante para su degradación (Figura 1.3) (Agency for Toxic Substances and Disease Registry).

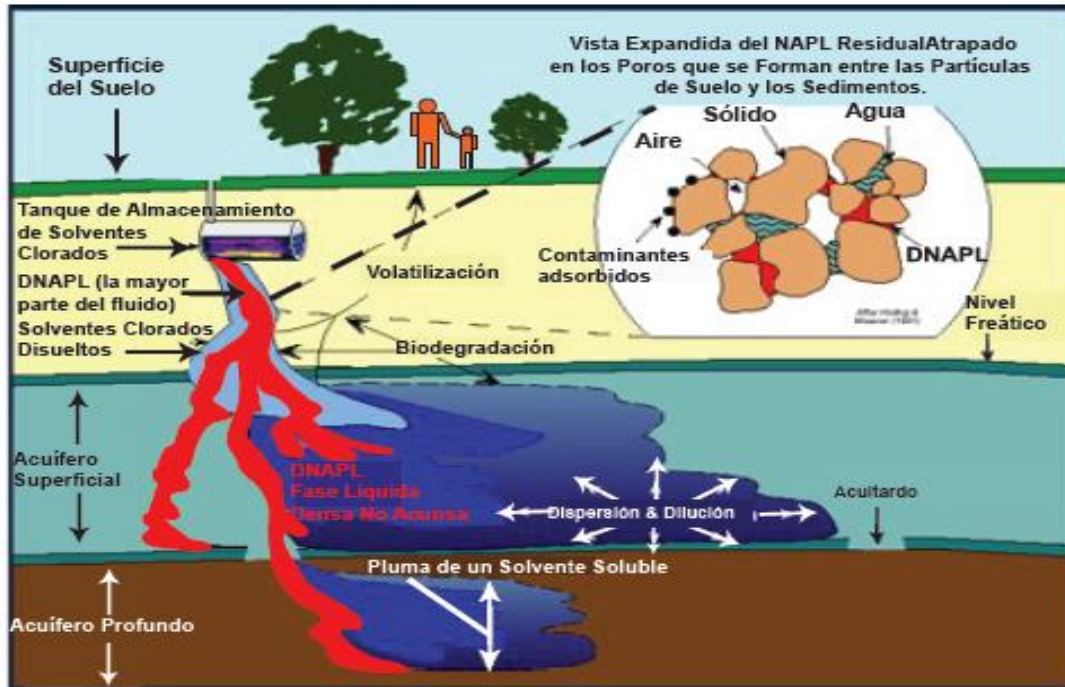


Figura 1.3. Interacción del tricloroetileno (TCE) con el medio ambiente.

1.3 Problemática en México del TCE.

México es una urbe altamente poblada, en ella se conjuntan una serie de actividades antropogénicas como son el transporte, la industria y los servicios; la demanda para satisfacer estas necesidades, ha ocasionado un aumento en la quema de combustibles y, a su vez, un incremento en las emisiones contaminantes. Uno de los grupos de contaminación generados por las actividades antropogénicas son los COV como el TCE. El TCE es una sustancia conocida también como tricleno y vitran, a temperatura ambiente, es un líquido no inflamable, incoloro, con un olor dulce y con un sabor entre dulce y ardiente; se usa principalmente como solvente para limpiar la grasa de los metales, en los líquidos correctores blancos de documentos, los removedores de pintura, los adhesivos y los quitamanchas (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). La mayoría de las personas puede empezar a percibir el olor del tricloroetileno en el aire cuando se encuentra a concentraciones de 100 partes por un millón de partes de aire (ppm). La principal fuente de tricloroetileno en el medio ambiente proviene de la evaporación que se da en las fábricas que lo utilizan para remover grasa de los metales, pero puede permanecer en el suelo y el agua subterránea (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). En el cuerpo, el tricloroetileno se puede descomponer en ácido

dicloroacético (DCA), ácido tricloroacético (TCA), hidrato de cloral y 2-cloroacetaldehído. Se ha demostrado que estos productos son tóxicos en los animales y probablemente lo son también para los seres humanos. El tricloroetileno se encuentra en algunos alimentos y se presume que proviene de la contaminación del agua utilizada para procesar los alimentos o del equipo que se utiliza para producirlos, el cual ha sido limpiado con productos que contienen tricloroetileno. Para el TCE el límite máximo permisible de concentración en cuerpos de agua es 70 µg/L (Proyecto de Norma Oficial Mexicana XXXX, 2007) y aporta un 4% del total de las emisiones anuales de contaminación (Tabla 1.2) (SEMARNAT 2006). En la Figura 1.4 se aprecia la distribución espacial del TCE en la Zona Metropolitana del Valle de México (S.M.A. 2008). Por otro lado, Este contaminante clorado se ha encontrado en por lo menos 852 de los 1,430 sitios de la Lista de Prioridades Nacionales identificados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 2000).

Tabla 1.2. Principales contaminantes tóxicos de la ZMVM (Adaptado de SEMARNAT, 2006).

Contaminante	Cantidad de contaminante emitida(ton/año)	Porcentaje de contaminante emitido
Tolueno	48,784	28
Metanol	16,652	9
1,1,1-Tricloroetano	14,228	8
Xilenos (isómeros y mezclas)	13,010	7
n-Hexano	8,952	5
Metil Terbutil Éter	7,051	4
Tricloroetileno (TCE)	6,950	4
Benceno	6,569	4
m-Xileno	6,173	4
2,2,4-Trimetilpentano	5,827	3
Formaldehído	4,568	3
Etilbenceno	4,101	2
o-Xileno	2,920	2
Bromuro de metilo (Bromometano)	2,918	2
Metil Etil Cetona (2-Butanona)	2,659	2
1,3-Dicloropropano	2,103	1
Metil Isobutil Cetona (Hexona)	2,019	1
Acetaldehído	1,858	1
Metales	1,951	1
Otros	15,587	9
Total	174,880	100

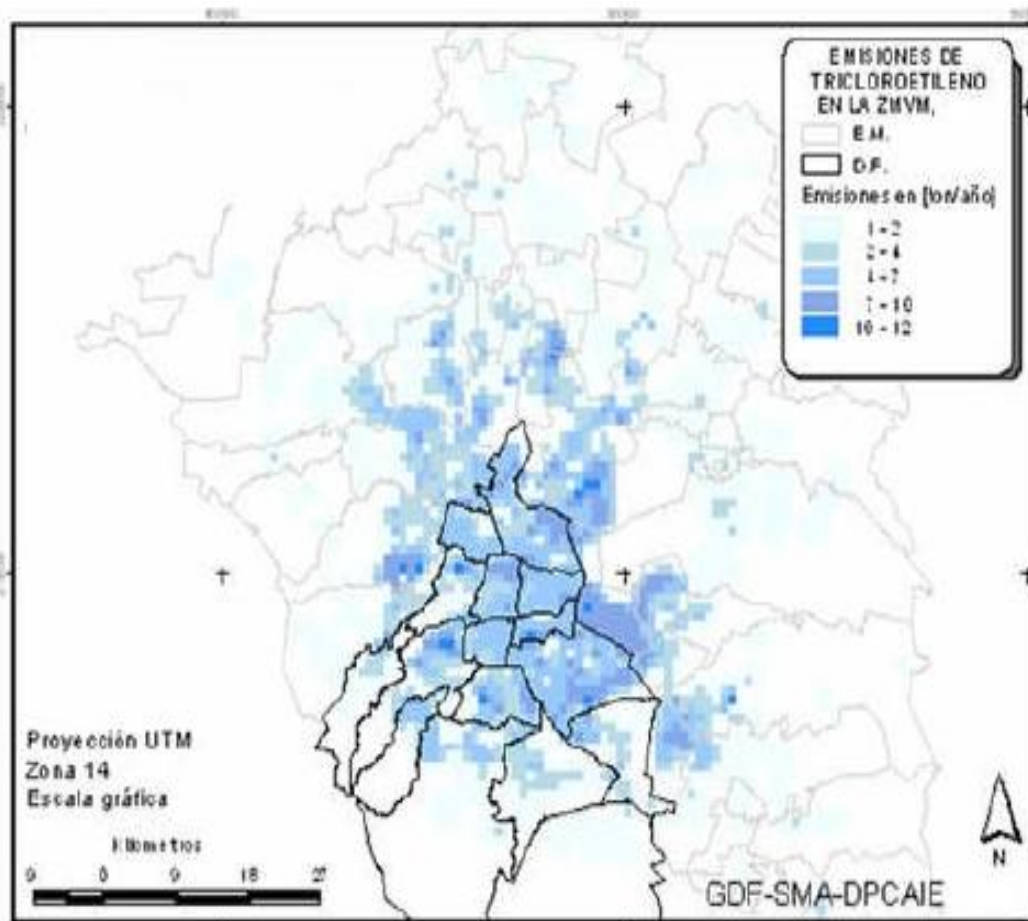


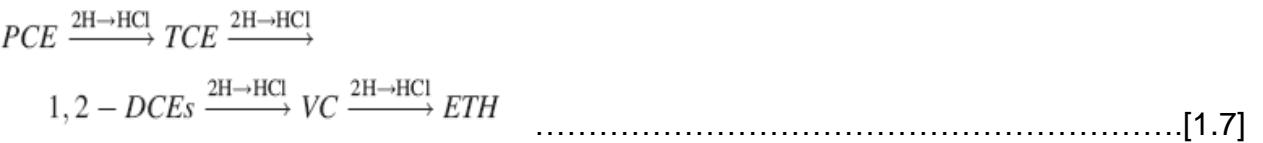
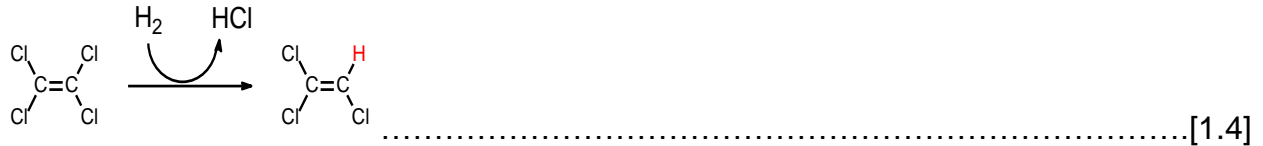
Figura 1.4. Mancha espacial del tricloroetileno (TCE) en la zona metropolitana del valle de México (Secretaría del Medio Ambiente, 2008).

1.4 Transformación del Tricloroetileno

Los principales métodos de transformación para el TCE son: abiótico que consiste en procesos químicos y físicos; el biótico que es la bioconversión del TCE por medio de un consorcio de microorganismos (Freedman, 1996; Freedman, 2001). Algunos ejemplos de estos métodos son: hidrogenólisis reductiva que consiste en que un átomo de cloro es sustituido por un átomo de hidrogeno liberando un mol de ácido clorhídrico (ecuación 1.4) (Holliger, 2003). La cloroeliminación reductiva involucra la eliminación de un halógeno de cada extremo de los carbonos terminales, y deshalogenación (Fetzner, 1998, Holliger, 1994; Holliger, 1998, Picardal, 1992).

La deshalogenación se puede llevar a cabo por los dos métodos; la deshalogenación abiótica es una reacción en presencia de un agente reductor como un sulfuro o hierro ferroso. La deshalogenación biótica puede llevarse a cabo por dos tipos: el primer tipo es por cometabolismo que es la transformación microbiana de un compuesto que no sirve como fuente primaria de carbono y energía, en la que se puede utilizar algunos aceptores de electrones como el sulfato y como donador de electrones un compuesto orgánico como una mezcla de ácidos grasos volátiles (ecuación 1.5 y 1.6) por medio de la sulfato reducción. El segundo tipo es la halorespiración es una reacción biológica en que un hidrocarburo clorado es utilizado como aceptor de electrones (respiración anaerobia) para apoyar el crecimiento microbiano. Requiere donadores de electrones simples (p.e. H_2).

Algunos microorganismos que son capaces de llevar a cabo la degradación de compuestos clorados se localizan en los sedimentos marinos de ventilas hidrotermales, estos lugares favorecen la presencia de bacteria sulfato reductoras, que en sintrofía con las bacterias halorespiradoras pueden llevar a cabo la degradación anaerobia de TCE obteniendo como producto final acetileno, eteno y etano (ecuación 1.7), (Drzyzga *et al.*, 2001).



1.5 Tecnologías anaerobias para la biodegradación de compuestos clorados (TCE).

El proceso biológico de sulfato reducción ha sido estudiado en numerosos diseños de reactores que han sido utilizados satisfactoriamente para tratar una gran variedad de agua residuales, especialmente para aguas con un alto contenido de sulfato. En la Tabla 1.3 se muestran las ventajas y desventajas de los tipos de reactor en cuestión de diseño, en la Tabla 1.4, se compara la eficiencia de reducción de sulfato en diferentes reactores. Los reactores más utilizados para la biodegradación de compuestos clorados como el TCE son del tipo UASB (Sponza 2002, Sponza *et al.*, 2004 y Sponza *et al.*, 2007).

Tabla 1.3. Ventajas y desventajas de diversos tipos de reactores aplicados a la sulfato reducción (Adaptado de Kaksonen y Puhakka 2007).

Tipo de reactor	Ventajas(+) Desventajas(-)
Reactor tanque agitado (CSTR)	-Pobre retención de biomasa +Rápida condición de equilibrio
Reactor filtro anaerobio	-Los gradientes de presión son grandes +Bajas fuerzas cortantes
Reactor anaerobio de lecho de lodo granular de flujo ascendente (UASB)	-La biomasa es lavada del sistema +No hay compactación de lodo +No hay obstrucción

Tabla 1.4. Tipos de reactores empleados en el tratamiento de agua residual ricas en sulfato (Adaptado de Lens *et al.*, 1998).

Tipos de reactor	Alimentación		Eliminación de sulfato y Sustrato		
	Tipo de sustrato	Concentración de sustrato (g DQO/L)	Concentración de sulfato (mg/L)	Sulfato reducido (%)	Sustrato consumido (%)
Reactor de flujo ascendente de lecho por etapas (USSB)		0.5-0.6	1000-12000	65	67-81
Reactor de lecho expandido (EGSB)	Acético/	0.5-2.5	1200-4600	27-68	59-67
Reactor anaerobio de lecho de lodo granular de flujo ascendente (UASB)	Propiónico/ Butírico	1.5-2.1	700-9000	70	50-90

1.6 Reactor anaerobio de lecho de lodos de tipo granular de flujo ascendente (UASB).

El concepto del reactor anaerobio de lecho de lodo granular de flujo ascendente (UASB por sus siglas en inglés Upflow Anaerobic Sludge Blanket) fue desarrollado por Lettinga *et al.*, (1980). Un esquema del reactor UASB se muestra en la Figura 1.5. Entre las características más importantes del reactor, se encuentran el flujo ascendente, el cual crea una presión de selección constante para organismos que pueden adherirse entre sí y formar gránulos. La configuración granular tiene ventajas entre las que se encuentran: 1) Los microorganismos se compactan densamente, sin perder espacio por adición de un soporte inerte, 2) Es un sistema de distribución del efluente el cual es bombeado desde afuera del reactor o se mantiene en recirculación y pasa a través del lecho donde los

compuestos orgánicos son biológicamente degradados por reacciones de óxido-reducción produciendo gas, 3) Los gránulos muestran propiedades de sedimentación excelentes debido a su gran tamaño comparado con una célula libre y 4) El área de reacción aumenta, es decir, aumenta la cantidad de biomasa viable incrementando la productividad volumétrica (Guiot *et al.*, 1992).

Los reactores UASB han sido utilizados para el tratamiento de una gran variedad de efluentes con diferentes concentraciones de SO_4^{-2} desde 50 a 50000 mg/L en los efluentes generados por refinerías de petróleo entre otras (Colleran *et al.*, 1995).

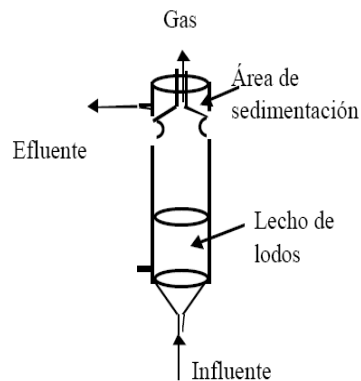


Figura 1.5. Representación del reactor UASB.

Las bacterias presentes en reactores UASB tienen la habilidad de formar partículas macroscópicas que contienen gran cantidad de células o microorganismos denominados gránulos; estos pueden aglomerarse naturalmente en forma de agregados celulares que se mantienen unidos por la generación de exopolímeros o artificialmente mediante la inmovilización de células en soportes sólidos (Bonet *et al.*, 1993; Bhatti *et al.*, 1995). Entre las ventajas que ofrecen estos sistemas se encuentra el incrementar la extensión de la reacción y la productividad volumétrica, disminuyendo la concentración del sustrato en la corriente de salida. En vista de que son varias las aplicaciones de este tipo de reactores y altas las eficiencias de remoción que presentan para compuestos como sulfato y contaminantes orgánicos, el presente trabajo se llevó a cabo utilizando un reactor UASB bajo condiciones sulfidogénicas utilizando como inóculo un consorcio de microorganismos de sedimentos de ventilas hidrotermales con el objetivo final de obtener la remoción tanto de sulfato como de TCE.

2 JUSTIFICACIÓN

El crecimiento económico se ha basado en el uso intensivo de materias primas y energía. Bajo este contexto recursos abundantes como el agua, son utilizados indiscriminadamente ya sea como insumos o como receptores de desechos.

Como ejemplo se encuentran las corrientes de agua residual de tipo industrial en las que existe una gran variedad de compuestos que afectan el proceso de potabilización de dichas corrientes; algunos de estos compuestos son: orgánicos como los alcoholes (etanol y metanol) y ácidos grasos volátiles, así como diversos tipos de iones como el sulfato (2- 54 g/L) (Colleran *et al.*, 1994) y compuestos clorados tales como el percloroetileno (PCE) y tricloroetileno (TCE), estos últimos se han encontrado con frecuencia en agua subterránea como resultado de malas prácticas de disposición final, provocando daños a la salud y al medio ambiente.

En México existe un proyecto de Norma Oficial Mexicana XXXX (SEMARNAT, 2007) que regula la presencia de compuestos clorados (TCE) en el ambiente, de esta forma, es necesario encontrar una vía de degradación del TCE que se encuentra en dichas corrientes utilizando tecnologías viables que promuevan la degradación de los metabolitos secundarios como el cloruro de vinilo (compuestos más tóxico que el TCE) y dicloroetenos. Una alternativa para la remoción de los compuestos antes mencionados es la aplicación de un reactor biológico de tipo UASB, ya que en este tipo de reactor no existe la compactación de inóculo, posee una mayor área superficial para la formación de biopelícula debido a que el inóculo se encuentra fluidizado, y puede desarrollarse una alta capacidad para reducir el sulfato y la materia orgánica que comúnmente se encuentran en las corrientes de agua residual de tipo industrial. El reactor UASB puede emplear diversos tipos de inóculos que sean capaces de llevar a cabo la degradación de TCE y al mismo tiempo la sulfato-reducción, estos microorganismos sulfato-reductores se encuentran en la naturaleza. Una opción para obtener enriquecimientos de estos es el sedimento marino proveniente de una ventila hidrotermal donde la diversidad microbiana es potencialmente alta. Para el presente trabajo se puso en marcha un reactor en condiciones sulfato reductoras tipo UASB para la reducción de altas concentraciones de sulfato y degradación de TCE, como una etapa previa para implementarse en el tratamiento de un efluente que contenga este compuesto clorado.

3 HIPÓTESIS

La sulfato reducción puede ocurrir en un reactor de tipo UASB inoculado con microorganismos enriquecidos de sedimento marino proveniente de ventilas hidrotermales, para la biodegradación de TCE a eteno, a partir de las interacciones y simbiosis que se presentan con los microorganismos crecidos en condiciones de sulfato reducción.

4 OBJETIVOS

General

Operar de un reactor UASB en condiciones sulfidogénicas para la biodegradación de tricloroetileno (TCE) a eteno usando como inóculo un sedimento de ventilas hidrotermales.

Particulares

- Enriquecer en experimento de microcosmos el inóculo bajo condiciones de sulfidogénesis utilizando diferentes fuentes de carbono (lactato y una mezcla de ácidos grasos volátiles, (AGVs)).
- Determinar la capacidad de los experimentos de microcosmos para la biodegradación de TCE (100 y 260 μM) bajo condiciones sulfato reductoras.
- Enriquecer el consorcio de los sedimentos en microorganismos sulfato reductores dentro del reactor UASB en régimen pseudo-estacionario.
- Determinar los parámetros cinéticos de sulfato reducción en el reactor UASB.
- Determinar las condiciones de operación del reactor sulfidogénico UASB que permitan una mayor conversión de TCE a eteno.
- Evaluar el efecto del TCE sobre la actividad sulfato reductora en el reactor.

5 ALCANCE

Se realizaron estudios de microcosmos bajo condiciones sulfato reductoras para evaluar la biodegradación de TCE (en adiciones sucesivas) utilizando ácidos grasos volátiles de cadena corta como sustrato con el objetivo de utilizar esos resultados como antecedente en la puesta en marcha y operación funcional de un reactor UASB sulfidogénico para la degradación de TCE hasta eteno.

6 METODOLOGÍA

La estrategia experimental desarrollada en el presente trabajo se dividió en tres etapas que constan de lo siguiente (Figura 6.1).

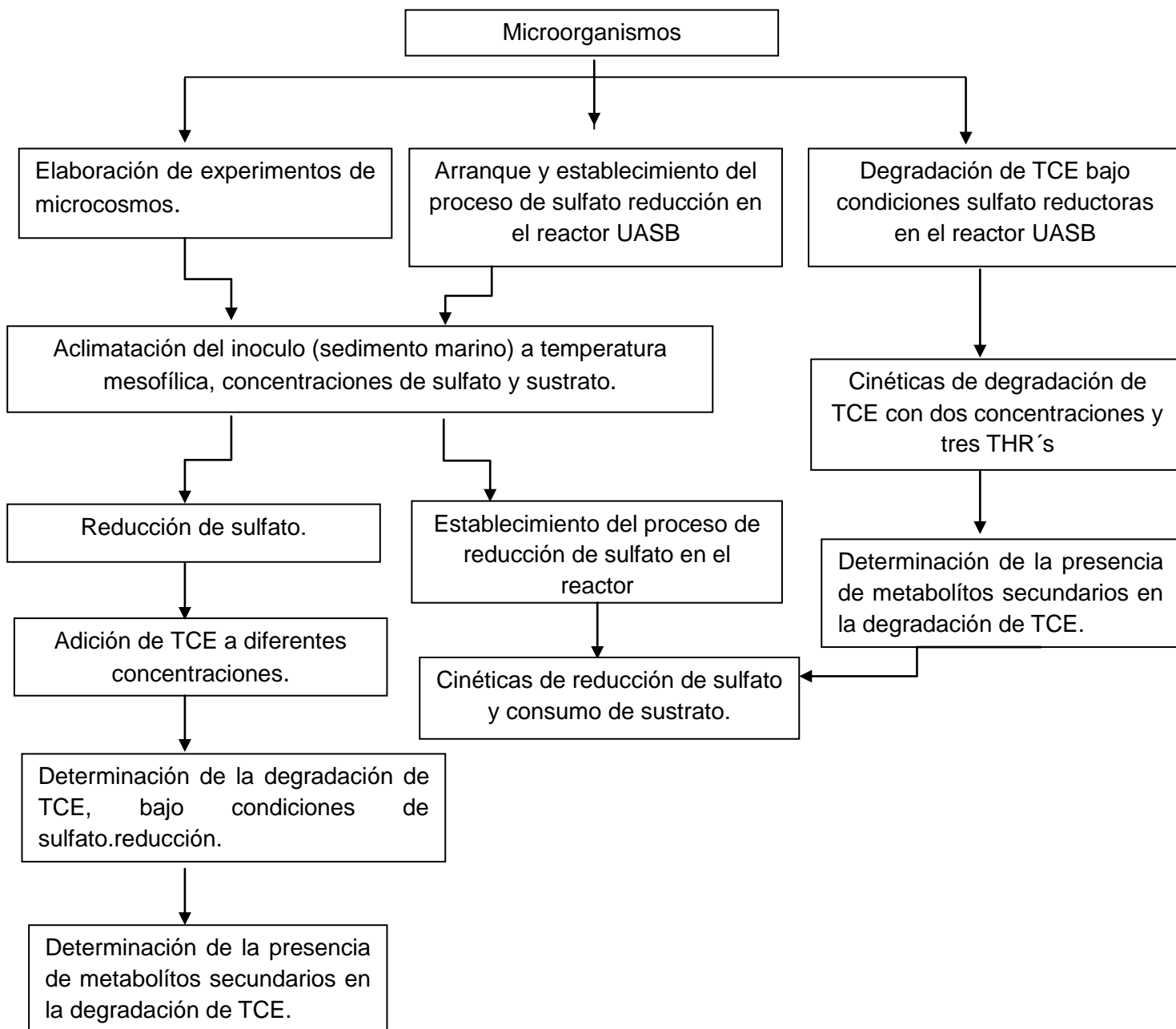


Figura 6.1. Estrategia experimental.

6.1 Microorganismos.

Los microorganismos para la elaboración de los experimentos se tomaron de sedimentos marinos que fueron recolectados de una ventila hidrotermal a 10 m de profundidad y 87°C, localizada en Punta Mita Nayarit México. El sedimento inicialmente presentaba un pH de 8.82 y contenía 0.0162 g SSV/g sedimento húmedo.

6.2 Elaboración de experimentos de microcosmos para la biodegradación de TCE bajo condiciones de sulfato reducción

Los experimentos se realizaron por triplicado bajo condiciones anaerobias, en botellas serológicas de 125 mL volumen total, de los cuales 55 mL fueron ocupados por el sedimento y el líquido y 65 mL corresponden al volumen de espacio gaseoso.

Se añadieron 15 g de sedimento marino húmedo equivalentes a 0.081g SSV/g sedimento húmedo (0.3g SSV), 10 mL de medio mineral, 10 ml/ L vitaminas y 2 ml/L metales traza (ver sección 6.8.), 5 g/L de solución amortiguadora de bicarbonato de sodio, 4000 mg/L de sulfato (SO_4^{-2}), se probaron dos sustratos por separado (donadores de electrones), lactato y una mezcla de AGV's a una concentración final de 500 mg DQO/L y 350 mg DQO/L (proporción 1:1:1 como DQO) respectivamente, el pH final fue de 7 y se incubaron a 37°C. Se realizaron controles los cuales no contenían sustrato, posteriormente se sellaron y se eliminó la atmosfera de oxígeno presente utilizando una mezcla gaseosa de N_2/CO_2 (80:20) durante 4 minutos; Se determinó la concentración de sulfato y sulfuro presente en cada uno de los experimentos de microcosmos.

Al cabo de 412 días de incubación en los experimentos en los que se usó lactato como sustrato se adicionó TCE a la fase líquida a una concentración final de 100 μM . Para los experimentos en los que se utilizó una mezcla de AGV's como sustrato, se adicionó TCE a la fase líquida a una concentración final de 260 μM , después de 218 días de incubación. A los experimentos se tomó una muestra de la fase gaseosa de 250 μL cada tercer día y se analizaron los siguientes compuestos: TCE, *cis*- 1,2- dicloroetileno (*cis*-1,2-DCE), *trans*-1,2-dicloroetileno (*trans*-1,2-DCE), cloruro de vinilo (CV) y eteno.

6.3 Métodos analíticos para los experimentos de microcosmos.

Para la determinación de sulfuro en el líquido se utilizó el método azul de metileno (Trüper, 1964). La concentración de sulfato se cuantificó usando el método turbidimétrico reportado en la Norma Mexicana NMXAA- 074-1981. Este método está basado en la precipitación del ion sulfato con cloruro de bario en un medio ácido para la formación de cristales de sulfato de bario, para después medir la turbiedad producida a través de espectrofotometría a una longitud de onda de 420 nm. Se cuantificó el volumen de gas producido a partir del desplazamiento de un embolo de una jeringa.

La degradación de TCE y la presencia de intermediarios se analizó en el espacio gaseoso, por cromatografía de gases de ionización a la flama (FID) utilizando un Cromatógrafo Perkin Elmer Modelo Claurus 500 equipado con una columna SPB-624, el gas acarreador fue helio, a una presión de 80, hidrógeno 86 y aire 56 psi respectivamente. La rampa de temperaturas para la separación de los disolventes fue la siguiente: 40°C durante 2 min, incrementó la temperatura 5°C/min hasta 100°C, posteriormente la temperatura subió 20°C/min hasta 200°C en esta última temperatura se mantuvo durante 3 min. Los tiempos de retención fueron (en minutos): 15.4, 11.8, 9.5, 5 y 3.72 para TCE, c-DCE, t-DCE, CV y eteno respectivamente.

6.4 Arranque del reactor

Se utilizó un reactor UASB como está descrito por Sponza *et al.*, 2004 y Sponza *et al.*, 2007. En la Figura 6.2 se presenta un esquema del reactor el cual indica las medidas de este que son; largo 82 cm, diámetro interno 7.7 cm, grosor del vidrio 0.8 mm y el volumen total es de 3 L, se operó a una temperatura mesofílica de 34°C \pm 1.7. Para mantener fluidizado el lecho de sedimento marino se utilizó una bomba Cole-Parmer Masterflex L/S[®] modelo 7524-50, cabezales Cole-Parmer modelos 7018-20 y 7016-50, para las conexiones se utilizó manguera viton Masterflex L/S[®].

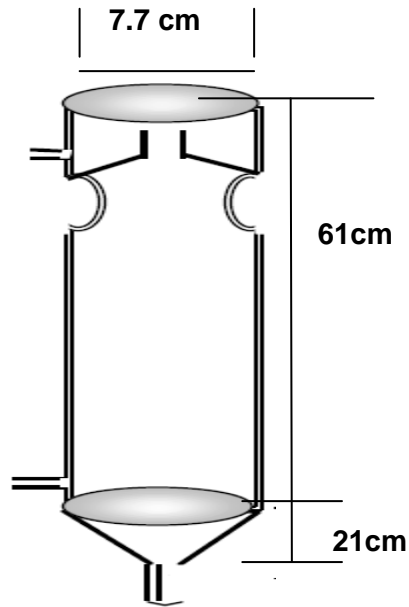


Figura 6.2. Dimensiones del reactor UASB.

Se realizaron análisis al afluente y efluente los cuales consistieron en: concentración de sulfato, producción de sulfuro, DQO total, temperatura, volumen de gas y pH. En el espacio gaseoso se determinó la concentración de TCE y presencia de metabolitos secundarios durante la degradación de TCE (Ver sección 6.8). En la Figura 6.3 se presenta un esquema del reactor UASB, la Figura 6.3A muestra una fotografía del reactor UASB, como se montó para la elaboración de este trabajo, en la Figura 6.3B se muestran un esquema de las partes y el funcionamiento del reactor. La concentración de H_2S en el gas se determinó asumiendo el equilibrio entre gas y líquido utilizando la ecuación 6.1:

$$[H_2S]_{\text{gas}} = [H_2S] * H * F \dots\dots\dots[6.1]$$

$[H_2S]_{\text{gas}}$: Concentración de sulfuro en el gas (mol/L)

$[H_2S]$: Concentración de sulfuro no disociado en el líquido (mol/L)

H: Constante de Henry (adimensional) a temperatura mesofílica 0.4772

F: Volumen de espacio gaseoso/volumen del líquido (adimensional)

El H_2S no disociado se determinó usando la ecuación 6.2:

$$[H_2S] = \frac{[H_2S]^*}{H \cdot F + \frac{1}{\alpha_0}} \dots\dots\dots [6.2]$$

Donde:

[H₂S]*: Concentración total de especies azufradas que entran al sistema y que pueden dar como resultado la formación de H₂S (mol/L). En este caso esto corresponde a la concentración inicial de sulfato introducido en el sistema (0.0417 mol/ L).

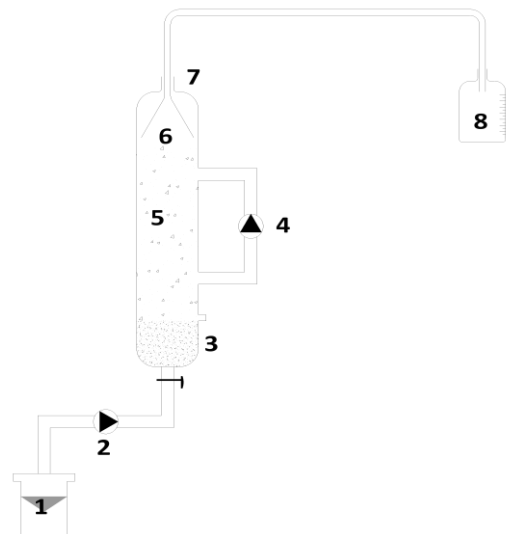
_____ [6.3]

α₀: Coeficiente de distribución adimensional

pK_a: Constante de disociación de H₂S para este caso es 7.



(A)



(B)

Figura 6.3. Reactor UASB empacado con sedimento de ventilas hidrotermales. (A) fotografía del reactor UASB, (B) representación esquemática del reactor UASB donde: (1) recipiente de alimentación, (2) bomba peristáltica, (3) lecho de sedimentos, (4) bomba para la recirculación, (5) medio mineral y sedimento fluidizado, (6) campana de separación gas/líquido , (7) salida de gas (8) columna de desplazamiento del gas.

6.5 Establecimiento del proceso de sulfidogénesis en el reactor.

El reactor UASB se inoculó con 850 g de sedimento marino húmedo equivalentes a 5 g SSV/g sedimento húmedo (14.13 g SSV) (25-30 % en volumen del reactor), medio mineral (ver sección 6.8), 5 g/L de solución amortiguadora de bicarbonato de sodio, 4000 mg/L de SO_4^{-2} , 30 mL de vitaminas, 10 mL de metales traza (ver sección 6.8) y una mezcla de AGV's como sustrato, dando un volumen total de 3L, se operó en lote alimentado, para favorecer condiciones anaerobias y la proliferación de bacterias sulfato reductoras (Figura 6.3A).

El reactor se operó bajo diferentes condiciones divididas en periodos, como se resume en la Tabla 6.1. En los dos primeros días después de la inoculación se mantuvo un volumen de 3 L sin espacio gaseoso, para el día 21 el volumen líquido (inóculo, medio, sustrato, vitaminas y metales traza) disminuyó a 2.3 L y la fase gaseosa fue de 700 mL, no hubo recirculación y se alimentó (afluente) con una concentración de 350 mg DQO/L de AGV's, en los 50 días posteriores a la inoculación del reactor, se cambió el volumen del mismo de la siguiente manera: 2.8 L de líquido y 200 mL de espacio gaseoso con el fin de asegurar las condiciones anaerobias y la producción de gas, operado en lote con una alimentación de sustrato de 350 mg DQO/L. En el día 51 el volumen del líquido fue de 2.3 L y 700 mL de la fase gaseosa, empezó la fluidización del sedimento con un tiempo de retención hidráulico (THR) de 24 horas, la concentración de sustrato (AGV's) se incrementó a 1g DQO/ L, se adicionaba metales traza, vitaminas y sustrato cada 10 días, se operó en lote alimentado. En el día 224 el volumen de líquido fue 2.1 L y 900 mL en la fase gaseosa, se alimentó cada 7 días con metales traza, vitaminas, sustrato y 4000 mg/L de SO_4^{-2} , en el 275 días el volumen de operación fue de 3L, la alimentación fue más frecuente cada 3 días, hasta que se observó la reducción de sulfato en menos de 12 h (310-319 días), en los días de operación del 320 al 348 se adicionó TCE a dos diferentes concentraciones (250 y 300 μM) y 3 THR (24, 12 y 8 h) para cada concentración, en los días del 349 al 365 se realizaron cinéticas de SO_4^{-2} a una concentración inicial de 4000 mg/L, AGV's a 1 g DQO/ L y utilizando un THR de 12 h, con el objetivo de conocer si la comunidad microbiana capaz de reducir SO_4^{-2} y consumir sustrato había sido afectada con la presencia de TCE (Tabla 6.1).

Tabla 6.1. Periodos de operación del reactor UASB.

Periodo	Días de operación	Condiciones de operación
I	0-50	Operación en lote, concentración de sustrato 350 mg DQO/L
II	51-100	Alimentación cada 10 días con recirculación concentración de sustrato 1g DQO/L
III y IV	101-224	Alimentación cada 7 días , con recirculación
V	225-309	Alimentación cada 3 días, con recirculación
VI	310-319	Cinética de reducción de SO_4^{-2} y consumo de sustrato
VII	320-348	Adición de TCE
VIII	349-365	Cinética de reducción de SO_4^{-2} y consumo de sustrato

Al cabo de 320 días de operación se adicionó TCE a la fase líquida probando 2 diferentes concentraciones finales (250 y 300 μM) y 3 THR 24, 12, y 8 horas. Posteriormente al término de cada cinética se vaciaba el reactor con un flujo de salida menor al flujo de la entrada, para evitar la pérdida de la biomasa, se propusieron ciclos de recirculación del efluente, estos ciclos indican cuantas veces el flujo de salida recorrerá el reactor antes de su salida del mismo. A continuación se muestra en la Tabla 6.2 la relación de ciclos de recirculación del efluente usados con respecto de THR y el flujo de salida de recirculación.

Tabla 6.2. Flujos empleados en la operación del reactor con TCE.

Tiempo de retención hidráulico (h)	Flujo de salida de recirculación (ml/min)	Ciclos de recirculación del efluente	Flujo del efluente (ml/min)
24	2.08	3	0.70
12	4.17	3	1.40
8	6.25	3	2.08

Los ciclos de recirculación del efluente fueron propuestos (Hollingsworth, 2004), y los flujos del efluente se calcularon de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Ciclos de recirculación del efluente} = \frac{\text{Flujo de salida de recirculación}}{\text{Flujo del efluente}} \dots\dots\dots [6.4]$$

En el día 349 el reactor se mantuvo libre del contaminante con alimentación constante de metales traza, vitaminas, sustrato, 4000 mg/L de SO_4^{-2} y medio mineral. El reactor fue operado en un total de 365 días.

6.6 Actividad sulfato reductora (específica).

La actividad sulfato reductora se determinó mediante la velocidad de producción de sulfuro con respecto al contenido de sólidos suspendidos volátiles en el sedimento con el que fue inoculado el reactor, los ensayos se realizaron por triplicado, una mezcla de AGVs como sustrato (1 g DQO/L) y SO_4^{-2} a una concentración de 4000 mg/L, con un THR de 12 h, a una temperatura de incubación mesofílica (34°C).

6.7 Cálculo de la actividad sulfato reductora.

La actividad sulfato reductora se calculó con la pendiente obtenida al trazar el gráfico la concentración de sulfuro producido expresada en DQO contra el tiempo (Gallegos-García, 2009).

Donde:

m_{H_2S} : Velocidad de producción de sulfuro expresada en DQO (g DQO- H_2S / h)

V: Volumen del líquido en el reactor (L)

SSV: Concentración de sólidos suspendidos volátiles (g SSV/L)

6.8 Métodos analíticos empleados en la operación del reactor UASB.

Para la determinación de sulfuro en el líquido se utilizó el método azul de metileno (Trüper, 1964). El gas producido se cuantificó mediante una técnica volumétrica que se basa en el desplazamiento de una solución salina en columna. Se utilizó una solución de NaOH a una concentración de 1M. La DQO se determinó por el método semi-micro descrito en Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998). Este método consiste en la oxidar la muestra en un medio ácido que contiene ácido sulfúrico como agente catalizador y dicromato de potasio como agente oxidante. La concentración de sulfato se elaboró usando el método turbidimétrico reportado en la Norma Mexicana NMXAA- 074-1981. Este método está basado en la precipitación del ión sulfato con cloruro de bario en un medio ácido para la formación de cristales de sulfato de bario, para después medir la turbiedad producida a través de espectrofotometría a una longitud de onda de 420 nm. La degradación de TCE y presencia de intermediarios se analizó en el espacio gaseoso, por cromatografía de gases de ionización a la flama utilizando un Cromatógrafo Perkin Elmer Claurus 500 con una columna SPB-624, equipado con un detector FID, el gas acarreador fue helio, a una presión de 52, hidrógeno 88 y aire 62 psi, respectivamente. La rampa de temperaturas fue bajo las siguientes condiciones: 40°C durante 2 min, incrementó la temperatura 5°C/min hasta 100°C, posteriormente la temperatura subió 20°C/min hasta 200°C en esta última temperatura se mantuvo durante 3 min. Los tiempos de retención fueron (en minutos): 15.4, 11.8, 9.5, 5 y 3.72 para TCE, c-DCE, t-DCE, CV y eteno respectivamente. El pH del reactor se midió basándose en Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998) tomando una muestra de 5 mL del efluente contenida en un vaso de precipitados, con un potenciómetro marca Oakton pH/CON S10 Series.

6.9 Medio mineral.

La composición del medio mineral utilizado en los microcosmos y el biorreactor consistió en (g/L): 0.02 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.04 extracto de levadura, 0.2 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.56 NH_4Cl , 1.20 K_2HPO_4 , 1.60 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2.0 CH_3COONa , 2.0 NaCl .

La solución de metales traza contiene (mg/L): 25.23 $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 50 H_3BO_3 , 50 $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 106 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 157 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 175 $\text{AlK}(\text{SO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 200 Resarzurina, 680 $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1000 EDTA, 2800 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3392.56 $\text{Na}_3\text{Co}(\text{NO}_2)_6$. La composición de la solución de vitaminas fue (mg/L): 20 biotina, 20 ac. fólico, 50 ac. pantotenoico, 50 nicotinamida, 50 ac. aminobenzoico, 50 tiamina, 50 ac. Lipoico y 100 piridoxina.

6.10 Balances de materia del aceptor (SO_4^{-2}) y el donador (AGV's) de electrones.

En la Tabla 6.3 muestra el balance de materia, que se calculó a partir de la concentración inicial de sulfato y la concentración de cada ácido (acético, propiónico y butírico) contenidos en la alimentación del reactor, en el balance se toma en cuenta la biomasa (Rittmann y McCarty 2001). (ver anexo).

Tabla 6.3. Balances de materia de sulfato.

Donador de electrones	Reacciones de sulfato, donador de electrones y biomasa										
Acetato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Propionato											
Butirato											

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Elaboración de experimentos de microcosmos para la sulfato reducción y biodegradación de TCE a 37°C.

7.1.1 Sulfato reducción en los experimentos de microcosmos utilizando lactato como sustrato.

Se realizaron experimentos de microcosmos con el objetivo de determinar la capacidad de reducción de sulfato, producción de sulfuro, porcentaje de conversión de sulfato a sulfuro y producción de gas que podía obtenerse con los microorganismos cultivados de los sedimentos utilizando como sustrato lactato para los tratamientos, y sin lactato para los controles. Una vez establecida la sulfato reducción (SR) en los microcosmos aproximadamente en el día 160 de incubación, se continuó el análisis de SR durante 399 días antes de la adición del TCE. El tiempo total de duración del experimento fue de 443 días.

La Tabla 7.1 presenta la reducción de concentración inicial de sulfato SO_4^{-2} (4000 mg/L), el promedio de la concentración de sulfuro (H_2S), el porcentaje de conversión de SO_4^{-2} a H_2S , y la producción de gas en el transcurso de 399 días de incubación para los tratamientos y los controles.

Tabla 7.1. Seguimiento de los parámetros de SR y producción de H_2S para el microcosmos con lactato como sustrato.

Tratamiento	Reducción de sulfato (%)	Concentración de sulfuro (mg/L)	Conversión de sulfato a sulfuro (%)	Producción de gas (mL/semana)
Tratamiento	95	280 (± 26)	7 (± 0.1)	9 (± 5)
Control	95	10 (± 5)	0.22 (± 0.1)	0

Control sin sustrato, tratamiento con 500 mg DQO/L lactato. Concentración inicial de TCE 100 μM , adición el día 403 de incubación. Los valores presentados son el promedio (\pm desviación estándar) de $n=3$.

La Figura 7.1 muestra la SR con respecto al tiempo así como la producción acumulada de sulfuro en el líquido para los tratamientos y controles. Existe una mayor producción de sulfuro en los tratamientos que en los controles, por otro lado, la reducción de SO_4^{-2} es

semejante en los tratamientos y controles (Figura 7.2). Sin embargo, esta semejanza de reducción de SO_4^{-2} , se puede deber a que el ión es acumulado en el sólido (inoculado con sedimento), y a la presencia de materia orgánica no identificada que pueda ser usada como donador de electrones, ya que en el transcurso del tiempo para el control no existe una reducción constante de sulfato claramente representada por la baja producción de sulfuro comparada con la estequiometría de la reacción (aproximadamente 10 ± 5 mg/L de sulfuro para los controles).

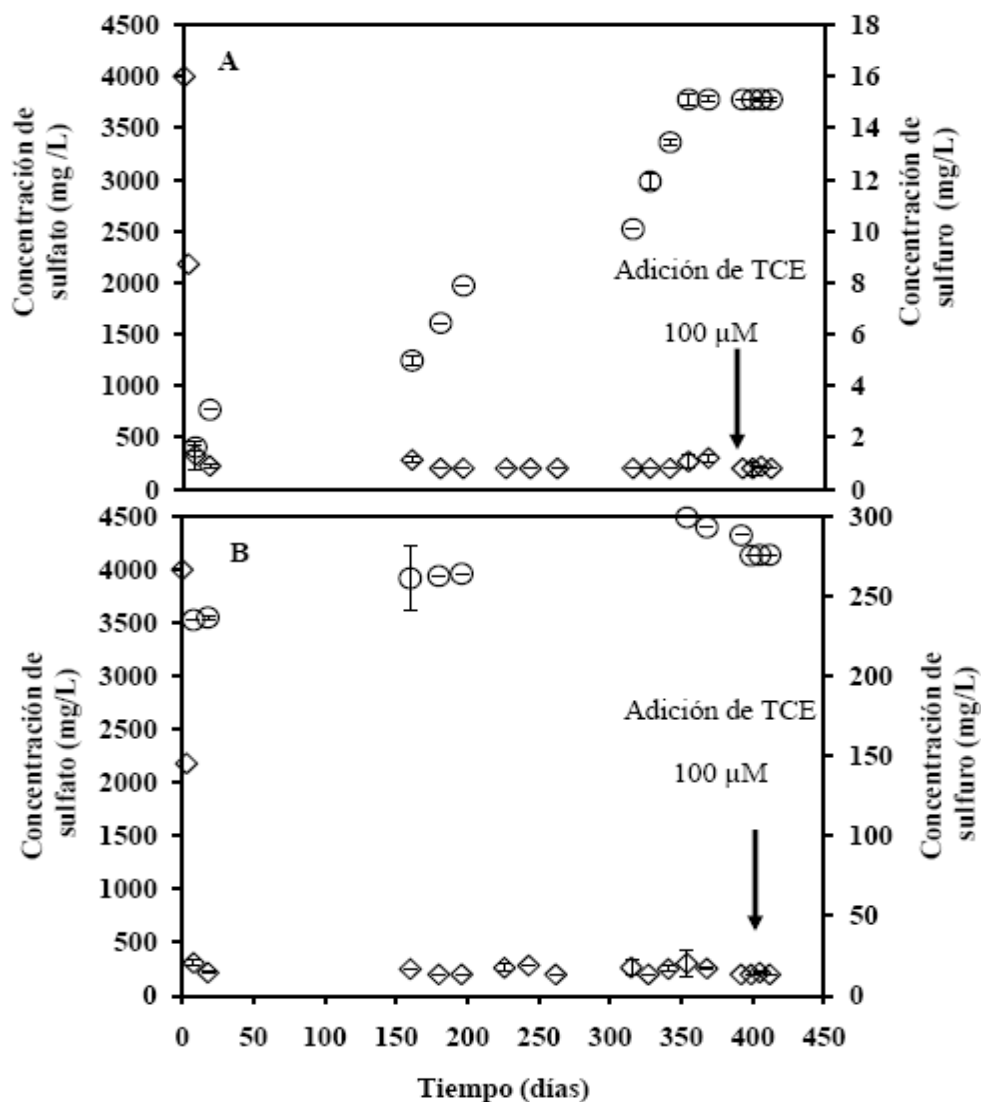


Figura 7.1. Producción de sulfuro y reducción de sulfato. (A) Control, (B) tratamiento con lactato. Sulfato (\diamond), sulfuro (O). Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de $n=3$.

En el día 403 de incubación (una vez establecida la SR), se añadió TCE al líquido a una concentración inicial de 100 μM , después de la adición del TCE se continuó analizando la reducción del sulfato, la producción de sulfuro en el líquido. Al reducirse el sulfato hasta un 98% en los controles y tratamientos (Figura 7.2), la producción de H_2S continuó para los tratamientos indicando que los intermediarios en la reducción de sulfato se transforman a H_2S , aún en la presencia de TCE, lo cual indica que la presencia de TCE no afectó la producción de H_2S .

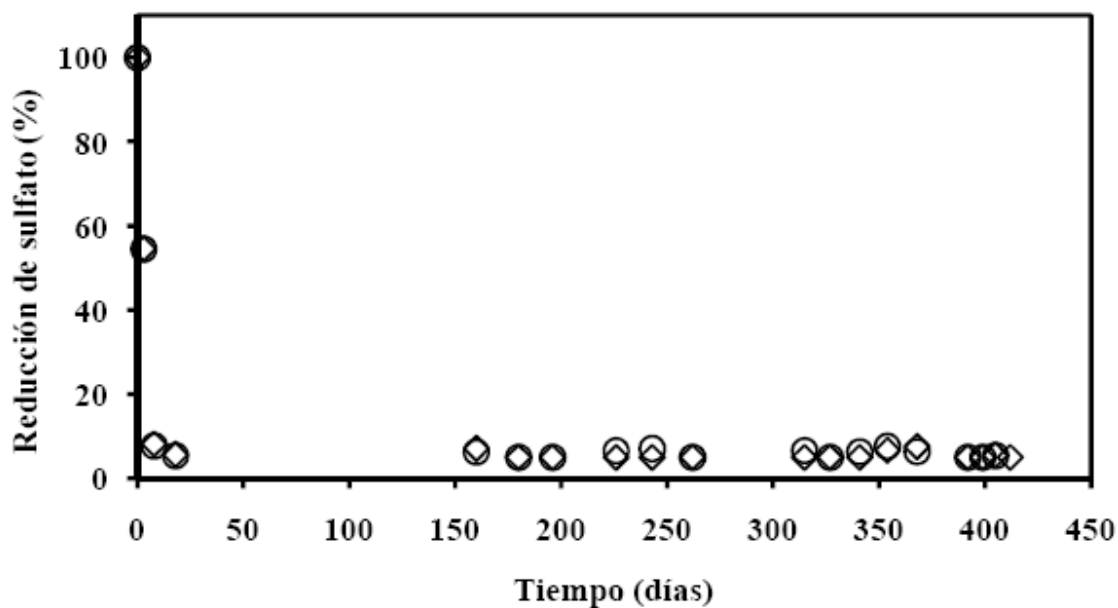


Figura 7.2. Comparación de la SR para el tratamiento con lactato (O) y el control (◇).

7.1.2 Sulfato reducción en los experimentos de microcosmos utilizando AGV's como sustrato.

La Tabla 7.2 presenta la reducción de SO_4^{-2} a una concentración inicial de 4000 mg/L, el promedio de la concentración de sulfuro (H_2S), el porcentaje de conversión de SO_4^{-2} a H_2S , y la producción de gas en el transcurso de 204 días de incubación (sin TCE). Observando que la reducción de SO_4^{-2} es igual en los tratamientos y controles, de esto se plantea una hipótesis: que la reducción de SO_4^{-2} en los controles se da por adsorción del ion en el sedimento y en los tratamientos si es una reducción biótica ya que hay mayor producción de H_2S y de gas.

Tabla 7.2. Seguimiento de los parámetros de SR y producción de H_2S para el microcosmos con AGV's como sustrato.

Tratamiento	Reducción de sulfato (%)	Concentración de sulfuro(mg/L)	Conversión de sulfato a sulfuro (%)	Producción de gas (mL/semana)
Tratamiento	95	260 (± 16)	7 (± 3)	17 (± 5)
Control	95	19 (± 10)	0.40 (± 0.4)	0

Control sin sustrato, tratamiento con 350 mg DQO/L AGV's. TCE a una concentración inicial de 260 μM en el día 209 de incubación. Los valores presentados son el promedio (\pm desviación estándar) de n=3.

La producción de H_2S y la reducción de SO_4^{-2} se presentan en la Figura 7.3, observando mayor producción de H_2S en el tratamiento que en el control. La producción de H_2S a una concentración de 260 mg/L y no hasta 4000 mg/L (concentración inicial de SO_4^{-2}) se debe principalmente a la presencia de intermediarios tales como el sulfito (SO_3^{-2}) (Gallegos-García 2009).

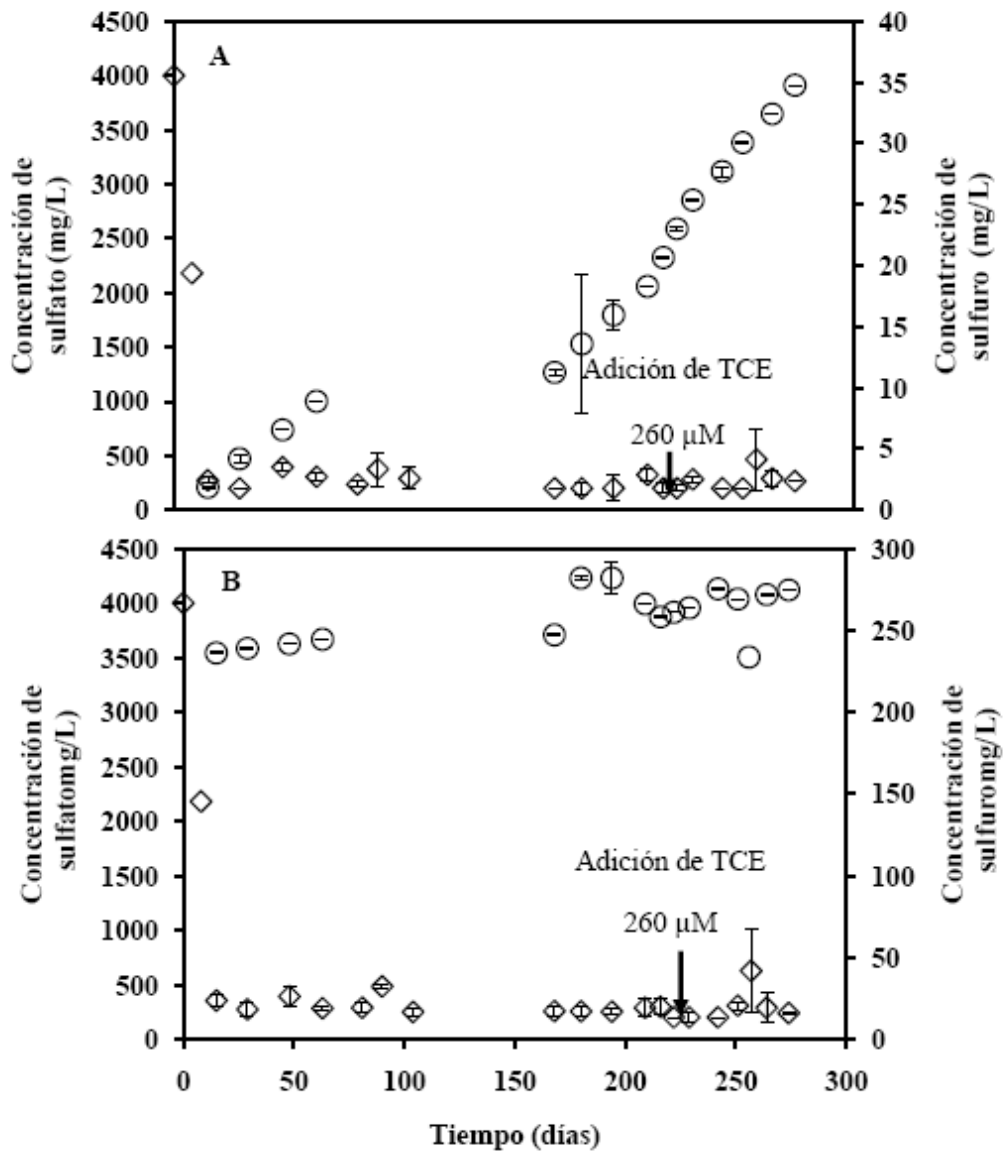


Figura 7.3. Producción de sulfuro y presencia de sulfato. (A) Control, (B) tratamiento con AGV's. Sulfato (\diamond), sulfuro (O). Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de $n=3$.

La Figura 7.4 muestra la reducción de SO_4^{2-} en los controles y tratamientos, indicando un 95 % en ambos casos.

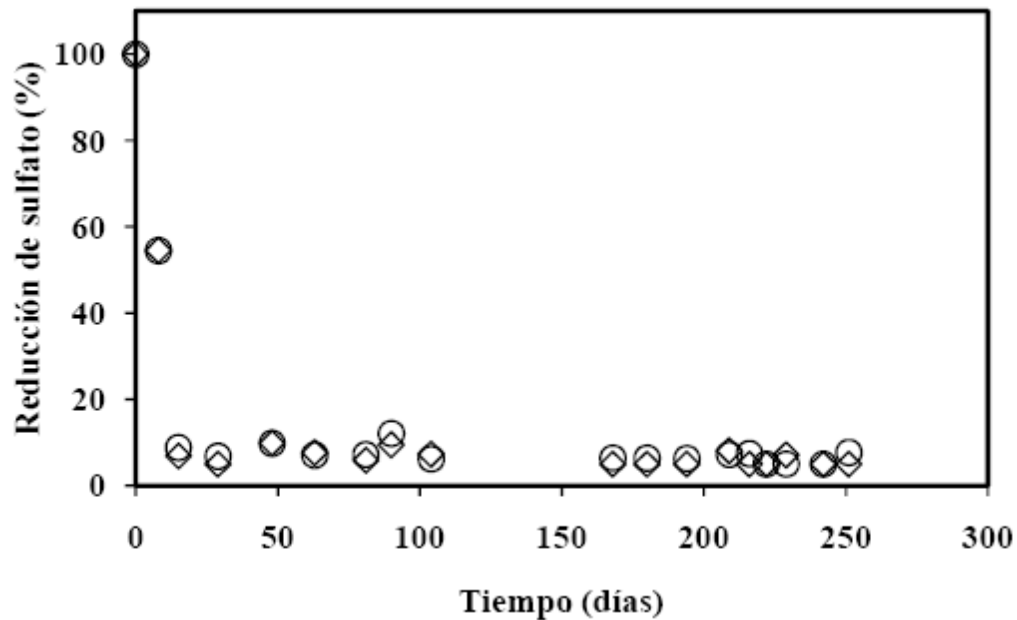


Figura 7.4. Comparación en la reducción de sulfato para el tratamiento con lactato (O) y el control (◊). Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de $n=3$.

Comparando los datos del experimento de microcosmos en el que se utilizó lactato como sustrato con el experimento de microcosmos en el cual se utilizó AGV's como sustrato se tiene que la producción de gas fue mayor para los microcosmos con AGV's como sustrato. Comparando la producción de H_2S del presente experimento con la producción de H_2S en el experimento que utiliza lactato como sustrato, ésta fue mayor en el experimento de microcosmos con lactato que cuando se usó AGV's (Figura 7.3) sin embargo, para el experimento con lactato el tiempo de incubación (399 días de incubación antes de la adición de TCE) fue casi el doble que para el caso de AGV's (204 días de incubación antes de la adición de TCE), por lo tanto, con AGV's la producción de sulfuro se llevó a cabo a la mitad de tiempo que en el experimento con lactato como sustrato. Para este experimento con AGVs la SR se vio favorecida al igual que para el caso del microcosmos con lactato como sustrato, obteniéndose la SR en un 95% al día 168, (Figura 7.4).

7.1.3 Biodegradación de TCE en el experimento de microcosmos bajo condiciones sulfato reductoras utilizando lactato como sustrato.

Como se explicó en la sección 7.1.2, una vez establecida la SR, a los 403 días de incubación se añadió el TCE y lactato a los microcosmos (en la cantidad suficiente para promover la actividad biológica), a una concentración remanente de sulfato de 200 mg/L (concentración inicial de sulfato de 4000 mg/L) y una producción promedio de sulfuro de 280 ± 26 mg/L para el tratamiento y de 10 ± 5 mg/L para el control, en el momento de la adición de TCE. La biodegradación de TCE se analizó durante 40 días después de la adición del disolvente.

En la Tabla 7.3 se muestra la concentración de SO_4^{-2} en presencia del disolvente, no hubo una reducción de sulfato en presencia de TCE. La concentración de H_2S se observa en la Tabla 3 en presencia del TCE, la producción de H_2S no se vio afectada por el TCE esto se debe a que en la reducción de SO_4^{-2} existen intermediarios que continúan con el metabolismo hasta H_2S .

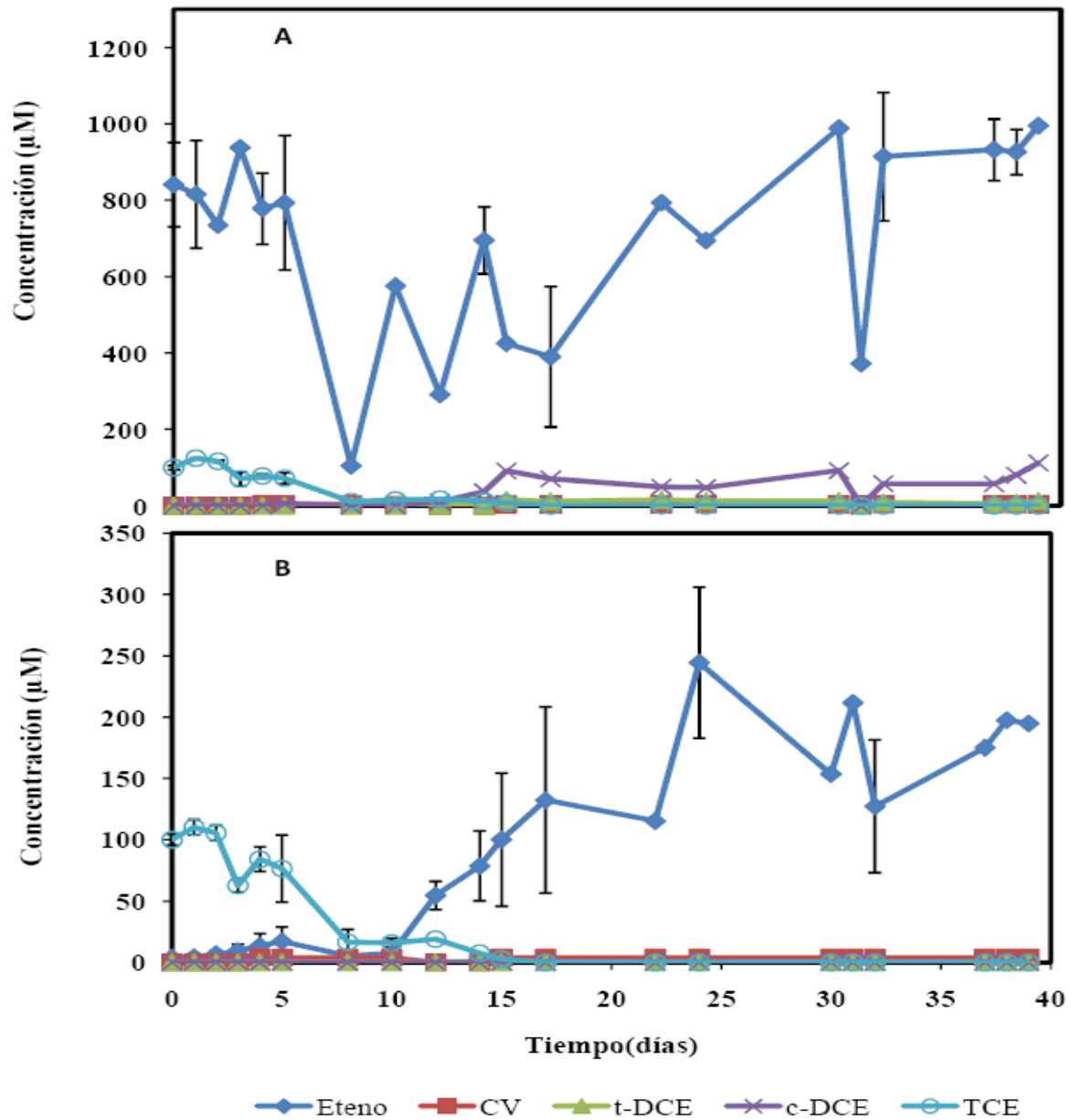
La degradación de TCE se presenta en la Tabla 7.3, en los primeros tres días después de la adición del disolvente, se degrada en un 30% para el tratamiento y en 40% para el control, obteniendo la mayor degradación en los 15 días después de la adición del TCE para el tratamiento en un 92% y el control en un 97%, esto se debe a que el TCE puede quedar adsorbido en el sedimento del control, en el tratamiento hay una biodegradación del compuesto clorado debido a que existe una mayor producción de eteno.

Tabla 7.3. Porcentaje de la degradación de TCE usando lactato como donador de electrones.

Tiempo de degradación de TCE (días)	Concentración de SO_4^{-2} en presencia de TCE(mg/L)		Concentración de H_2S en presencia de TCE(mg/L)		Concentración de TCE (μM)		Porcentaje de conversión del TCE (%)	
	Tratamiento	Control	Tratamiento	Control	Tratamiento	Control	Tratamiento	Control
0	200(± 0)	200 (± 40)	289 (± 0.06)	15 (± 0.1)	100(± 5)	100 (± 4)	0	0
3	200 (± 0)	219 (± 0)	275 (± 0.24)	15 (± 0)	71 (± 17)	63 (± 5)	29.3	37.2
8	216 (± 5)	200 (± 65)	276 (± 0.12)	15 (± 0.01)	11 (± 4)	17 (± 10)	88.5	83.3
15	200 (± 0)	200 (± 7)	276 (± 0.20)	15 (± 0.05)	8 (± 6)	3 (± 0)	92.4	97.3
40	200 (± 0)	200 (± 0)	**	**	0	0	100	100

** No se tomó muestra. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.

En la degradación de TCE en este experimento no existió la presencia de intermediarios tales como *cis*-DCE, *trans*-DCE y CV, utilizando lactato como donador de electrones (Figura 7.5). Las concentraciones de eteno para el tratamiento y el control (1000 y 200 μM respectivamente), son más altas que las esperadas por la estequiometría de reducción de TCE, lo que indica que en la fermentación del lactato se obtiene como producto eteno.



7.1.4 Biodegradación de TCE en el experimento de microcosmos bajo condiciones sulfato reductoras utilizando AGV's como sustrato.

Para el experimento con AGV's como sustrato se adicionó TCE a la fase líquida a una concentración inicial de 260 μM después de 209 días de incubación bajo condiciones sulfato reductoras, la concentración de SO_4^{-2} era de 276 y 250 mg/L para el tratamiento y el control respectivamente en el momento de la adición de TCE. El seguimiento de la biodegradación de TCE se determinó durante 44 días después de la adición del disolvente, mostrándose la conversión de TCE a eteno para el tratamiento y el control (Tabla 7.4). La producción de H_2S durante los 44 días en presencia de TCE se muestra en la Tabla 7.4. En el tratamiento la producción de H_2S se vio afectada después de 2 días de la adición de TCE, posteriormente se incrementó hasta 275 mg/L en el día 41 de la biodegradación de TCE, la producción de H_2S se debe principalmente a que en la reducción de SO_4^{-2} existe la presencia de intermediarios tales como el tiosulfato y bisulfato que posteriormente se reducen hasta H_2S , demostrando una reducción activa de intermediarios azufrados. En el caso del control hubo un ligero incremento en la producción de H_2S aún en presencia de TCE debido probablemente al consumo de la materia orgánica presente en los sedimentos (Tabla 7.4). La biodegradación de TCE se llevo a cabo hasta un 36% en los dos primeros días después de la adición del disolvente en el tratamiento y en el control.

Tabla 7.4. Porcentaje de la degradación de TCE usando AGV's como donador de electrones.

Tiempo de degradación de TCE (días)	Concentración de SO_4^{-2} en presencia de TCE(mg/L)		Concentración de H_2S en presencia de TCE(mg/L)		Concentración de TCE (μM)		Porcentaje de conversión del TCE (%)	
	Tratamiento	Control	Tratamiento	Control	Tratamiento	Control	Tratamiento	Control
0	288 (± 82)	323 (± 50)	266 (± 0.06)	18 (± 0.06)	260 (± 0.28)	260 (± 0.1)	0	0
2	288 (± 72)	323 (± 49)	258 (± 0.20)	20 (± 0.05)	166 (± 106)	79 (± 10)	36.0	70.0
5	296 (± 0)	200 (± 24)	260 (± 0.09)	23 (± 0.2)	79 (± 6)	8 (± 3)	70.0	97.0
34	200 (± 45)	200 (± 25)	263 (± 0.08)	25 (± 0.09)	2 (± 0.4)	1 (± 0.2)	99.4	99.6
41	200 (± 0)	200 (± 0)	275 (± 0.37)	27 (± 0.40)	0.9 (± 0.2)	0.2 (± 0.2)	99.7	99.9

Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3

En la Figura 7.6 se muestra los resultados obtenidos durante el seguimiento de la biodegradación de TCE para el tratamiento y el control. El TCE se biodegradó en un 98% en los primeros cinco días después de la adición del disolvente para el tratamiento, durante la biodegradación de TCE en los primeros cinco días se obtuvo CV en concentraciones bajas ($3\mu\text{M}$) y eteno, sin la presencia de otros intermediarios tales como *cis*-DCE y *trans*-DCE, la concentración de eteno incrementó con el transcurso del tiempo hasta alcanzar una concentración de $160\ \mu\text{M}$ en el día 34, equivalente al 60% de la concentración inicial del TCE, y concentraciones bajas de CV ($3\ \mu\text{M}$) durante todo el periodo experimental (44 días) (Figura 7.6A). La degradación de TCE fue de 98% en los primeros cinco días después de la adición del disolvente en los controles, la presencia de metabolitos fue nula lo que demuestra que la disminución de TCE no se debió a actividad biológica, si no que el TCE se quedó adsorbido en el sedimento (Figura 7.6B).

La Tabla 7.5 presenta una comparación entre diferentes trabajos los cuales reportan la degradación de compuestos clorados utilizando diferentes inóculos y sustratos a los utilizados en la degradación de TCE del presente trabajo, sin embargo todos los trabajos recopilados en la tabla presentan algo en común, la degradación de los compuestos clorados se lleva a cabo bajo condiciones sulfato reductoras. Si se compara el presente trabajo en el que se utilizó un inóculo virgen (sedimento marino adaptado a condiciones sulfato reductoras), con el que reportó Pavlostathis y Zhuang en 1991 en el que utilizaron un inóculo ya adaptado (sedimento contaminado) se obtiene mayor porcentaje de reducción de SO_4^{-2} en el presente trabajo (98%), que el reportado por estos autores que fue de 81% de reducción de SO_4^{-2} , en el presente trabajo y el reportado por Pavlostathis y Zhuang en 1991, se utilizaron concentraciones semejantes de SO_4^{-2} (4000 y $4400\ \text{mg/L}$ respectivamente).

A lo que se refiere a la degradación de los compuestos clorados, comparando el presente trabajo con los resultados obtenidos por Pavlostathis y Zhuang en 1991, estos últimos utilizaron una concentración más baja ($0.56\ \mu\text{M}$) que la utilizada en el presente trabajo ($260\ \mu\text{M}$), obteniendo una mayor degradación en el presente trabajo 99.7 % que lo reportado por Pavlostathis y Zhuang en 1991 que fue de 89%.

Otro trabajo con el cual se comparan los resultados obtenidos en el presente trabajo es el reportado por Guerrero-Barajas y García-Peña (2010) en el que se utilizó un inóculo virgen (sedimento marino), AGV's como sustrato, una concentración inicial de SO_4^{-2} de 4000 mg/L y una concentración inicial del compuesto clorado de 300 μM , obteniendo un 82% de reducción de SO_4^{-2} y 75% de degradación del compuesto clorado en 30 días, en el presente trabajo se utilizó AGV's como sustrato, una concentración inicial de SO_4^{-2} de 4000 mg/L y una concentración inicial del compuesto clorado de 260 μM , obteniendo mejores resultados en el presente trabajo ya que el SO_4^{-2} se redujo en un 98% y el compuesto clorado se degradó hasta un 99.7% en 41 días.

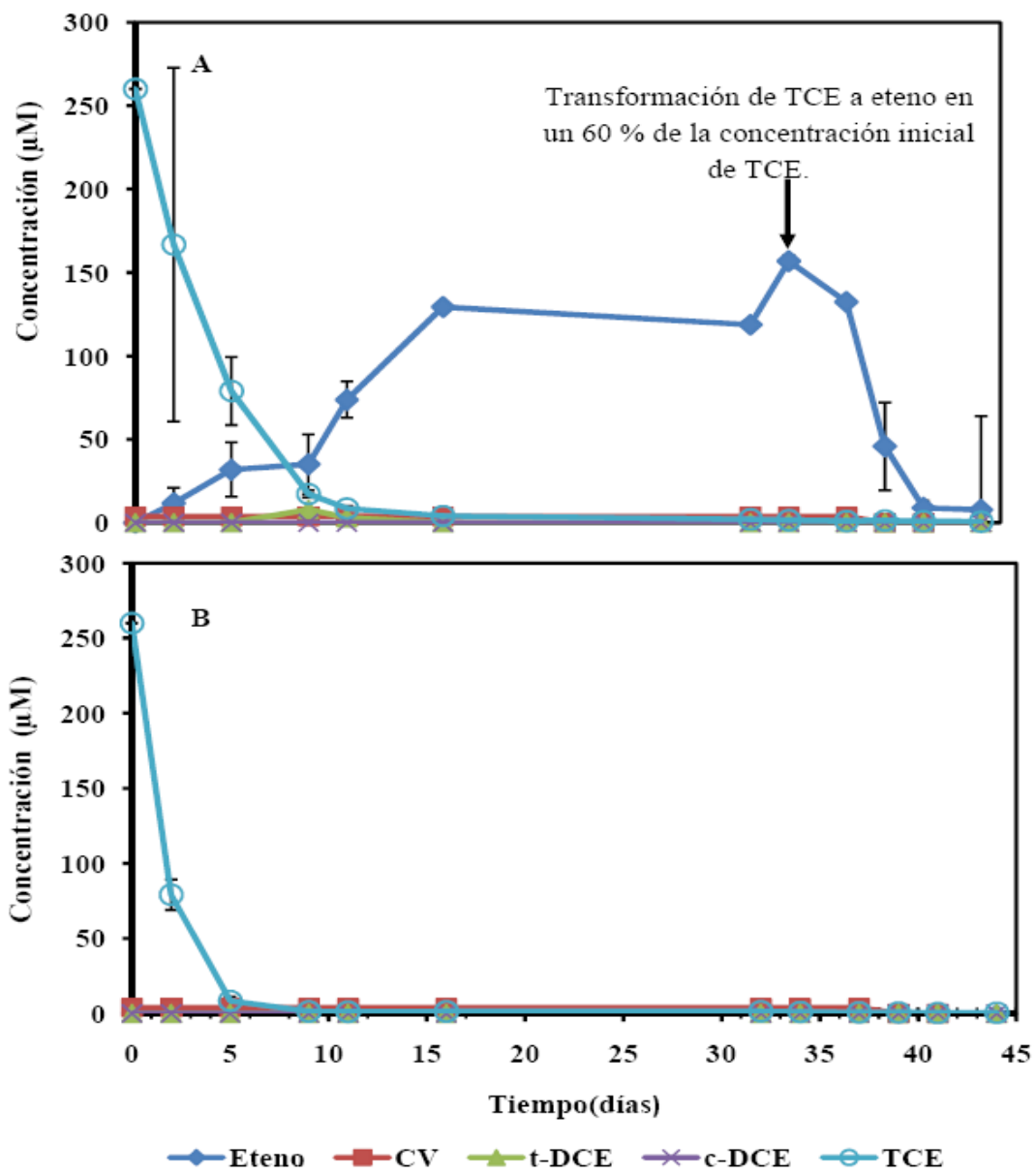


Figura 7.6. Presencia de metabolitos en la degradación de TCE con respecto al tiempo. (A) Tratamiento, (B) control. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de $n=3$.

Tabla 7.5. Comparación de la degradación de compuestos clorados en estudios de microcosmos con los estudios de microcosmos del presente trabajo.

Referencias	Inóculo	sustrato	Concentración de SO_4^{-2} (mg/L)	Porcentaje de reducción de SO_4^{-2} (%)	Concentración inicial del solvente clorado (μM)	Porcentaje de degradación del compuesto clorado (%)	Tiempo de degradación del compuesto clorado (días)
Pavlostathis y Zhuang 1991	Suelo contaminado	Lactato y acetato	4400	81	0.56 y 74.4	89 y 70	281
Drzyzga <i>et al.</i> , 2001	<i>Desulfitobacteria frappieri</i> TCE y <i>Desulfovibrio</i>	Lactato	4800	99	2000 (TCE)	75	120
Révész <i>et al.</i> , 2006	Sedimento contaminado	Suero de leche y molasa	0.07 y 0.7	88 y 73	80 y 3000 (TCE)	100	24
Bownan <i>et al.</i> , 2006	Sedimento contaminado	Corriente de agua con diferentes nutrientes	660	50	2700 (TCE)	60	28
Guerrero-Barajas y García-Peña 2010	Sedimento marino	AGV's	4000	40	300 (TCE)	93	55
Guerrero-Barajas <i>et al.</i> , 2010	Sedimento marino	AGV's	4000	82	300 (TCE)	75	30
El presente trabajo	Sedimento marino	AGV's	4000	98	260	99.7	41

7.1.5 Efecto del TCE en la sulfato reducción en los experimentos de microcosmos

En los experimentos en microcosmos usando lactato y AGV's como sustrato, después de que el inóculo redujo el sulfato, estuvo en contacto con TCE y se llevó a cabo la degradación, se pretendía recuperar la capacidad que presentaban inicialmente el inóculo para reducir el sulfato hasta un 98%, producir sulfuro y degradar TCE, esto se realizó añadiéndole, sulfato, sustrato, TCE, vitaminas y metales traza (a las concentraciones indicadas en la sección 6.2) a cada experimento, se incubaron a temperatura mesofílica, se determinó la reducción de sulfato, la producción de sulfuro y la degradación de TCE sin notar un cambio en la concentración inicial de sulfato y TCE, la producción de sulfuro fue nula.

7.2 Establecimiento de sulfato reducción (SR) en el reactor UASB.

La operación del reactor UASB se llevó a cabo primero en lote y después en estado pseudo estacionario y se dividió en ocho periodos (Tabla 7.6), en los periodos del I-V se adicionó constantemente sulfato y sustrato en forma de una mezcla de AGV's como se estableció en la sección de Metodología (Tabla 6.1) y se operó en lote-alimentado. En el periodo VI el reactor UASB se operó en estado pseudo-estacionario con un THR de 12 h, se realizaron pruebas para la obtención de datos de las cinéticas de SR, producción de sulfuro, consumo de sustrato y producción de gas. En el periodo VII se adicionó TCE a dos diferentes concentraciones con tres diferentes THR para cada concentración. En el Periodo VIII se realizaron cinéticas de reducción de SO_4^{-2} , producción de H_2S , consumo de sustrato y producción de gas en estado pseudo-estacionario para conocer si la comunidad microbiana capaz de reducir SO_4^{-2} , producir H_2S y consumir sustrato había sido afectada con la presencia de TCE. La Figura 7.7 muestra fotografías del reactor en las diferentes etapas aclimatación del inóculo cultivado en condiciones de SR así como el crecimiento de la biomasa y formación de biopelícula a lo largo del tiempo de operación. La Figura 7.7A (Periodo I-II) muestra el comienzo de la sulfato reducción, la cual implica anaerobiosis y el desarrollo de la comunidad microbiana capaz de reducir sulfato. Además, como se indicó en la sección de bv la solución de metales traza contenía un indicador redox (resazurina) el cual permite identificar cuando el oxígeno

está presente. En la Figura .7.7B, la cual representa al Periodo III, ya predominan las bacterias sulfato-reductoras puesto que el color negro presente en las paredes del reactor es un indicador de la presencia de estas como lo han indicado diversos autores (Bergey Vol 3, 1993; Révész *et al.*, 2006; Jong *et al.*, 2006). Finalmente, la Figura 7.7C representa a los Periodos IV-V en los cuales se formó una biopelícula cubriendo completamente las paredes del reactor.

Tabla 7.6. Condiciones de operación para la sulfato reducción y degradación de TCE en el reactor UASB.

Parámetros	Periodo Experimental							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Días de operación	0-50	51-100	101-190	191-224	225-309	310-319	320-348	349-365
AGV's (base DQO)	1:1:1	1:1:1	1:1:1	1:1:1	1:1:1	1:1:1	1:1:1	1:1:1
Concentración de sustrato (mgDQO/L)	350	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Concentración de sulfato (g/L)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
pH	8.5 ± 0.44	8.3 ± 0.45	8.2 ± 0.55	8.0 ± 0.43	7.8 ± 0.50	*	**	***

*Dependiendo de la cinética de reducción de sulfato, ** de acuerdo a la concentración de TCE añadida y al THR, ***cinéticas de reducción de sulfato después del TCE.



(A)



(B)



(C)

Figura 7.7. Aclimatación del inculo a las condiciones SR en el transcurso del tiempo de operación del reactor. (A) Periodo I-II, (B) periodo III, (C) periodo IV-V.

El reactor UASB se alimentó de acuerdo a lo explicado en la sección de Metodología con el objetivo de promover la sulfato reducción (SR). En la Figura 7.8 se muestra la sulfato reducción y el consumo de sustrato (AGV's) en el reactor a lo largo de los primeros 5 periodos (equivalente a aproximadamente 309 días). La Figura 7.8A muestra la sulfato reducción, en el periodo I, durante los primeros 20 días, la concentración de sulfato (SO_4^{-2}) se redujo en un 98% equivalente a 3900 mg/L consumidos de SO_4^{-2} (Figura 7.8B). Durante el mismo periodo I se adicionó SO_4^{-2} a una concentración de 4000 mg/L en el día 30 y posteriormente, en el día 40 se adicionó SO_4^{-2} nuevamente a una concentración de 4000 mg/L (Figura 7.8B) ya que el análisis de sulfato de ese día indicaba que la concentración del ión había disminuido en aproximadamente un 98% (Figura 7.8A). La cantidad de sulfato agregada en el día 40, se redujo en los 20 días siguientes en un 98% que equivalen a una concentración de 3900 mg/L de SO_4^{-2} . En el Periodo II no se adicionó SO_4^{-2} debido a la acumulación de intermediarios de reducción producidos en el periodo I. En los últimos días del Periodo III se adicionó SO_4^{-2} obteniendo una reducción del 90% en los siguientes 10 días, lo cual en términos de concentración equivale a 3600 mg/L de SO_4^{-2} . En los últimos días del periodo IV se adicionó SO_4^{-2} a una concentración de 4000 mg/L reduciéndose 98% en los siguientes 4 días lo que equivale a 3600 mg/L de SO_4^{-2} reducido. Para el Periodo V las alimentaciones con SO_4^{-2} (4000 mg/L) fueron cada 24 h, debido a que el SO_4^{-2} se reducía en un 99% en menos de 24 h (equivalente a 3950 mg/L de SO_4^{-2} reducido).

La conversión de materia orgánica con respecto al tiempo de operación del reactor se presenta en la Figura 7.8C. Durante los primeros 50 días de operación en lote del reactor (Periodo I) se alimentó una concentración de materia orgánica de 350 mg DQO/L como AGV's como sustrato y 4000 mg/L de sulfato para promover la SR y el incremento de la biomasa en el inóculo. Las concentraciones tan elevadas de sustrato se deben principalmente a la acumulación de AGV's (acetato) lo que indica que estequiométricamente es posible la reducción total de sulfato (Periodos II y III) (Figura 7.8C). En los Periodos II-V se incrementó la concentración teórica de carga orgánica a 1000 mg DQO/L, observándose una alta conversión de la misma (Figura 7.8C).

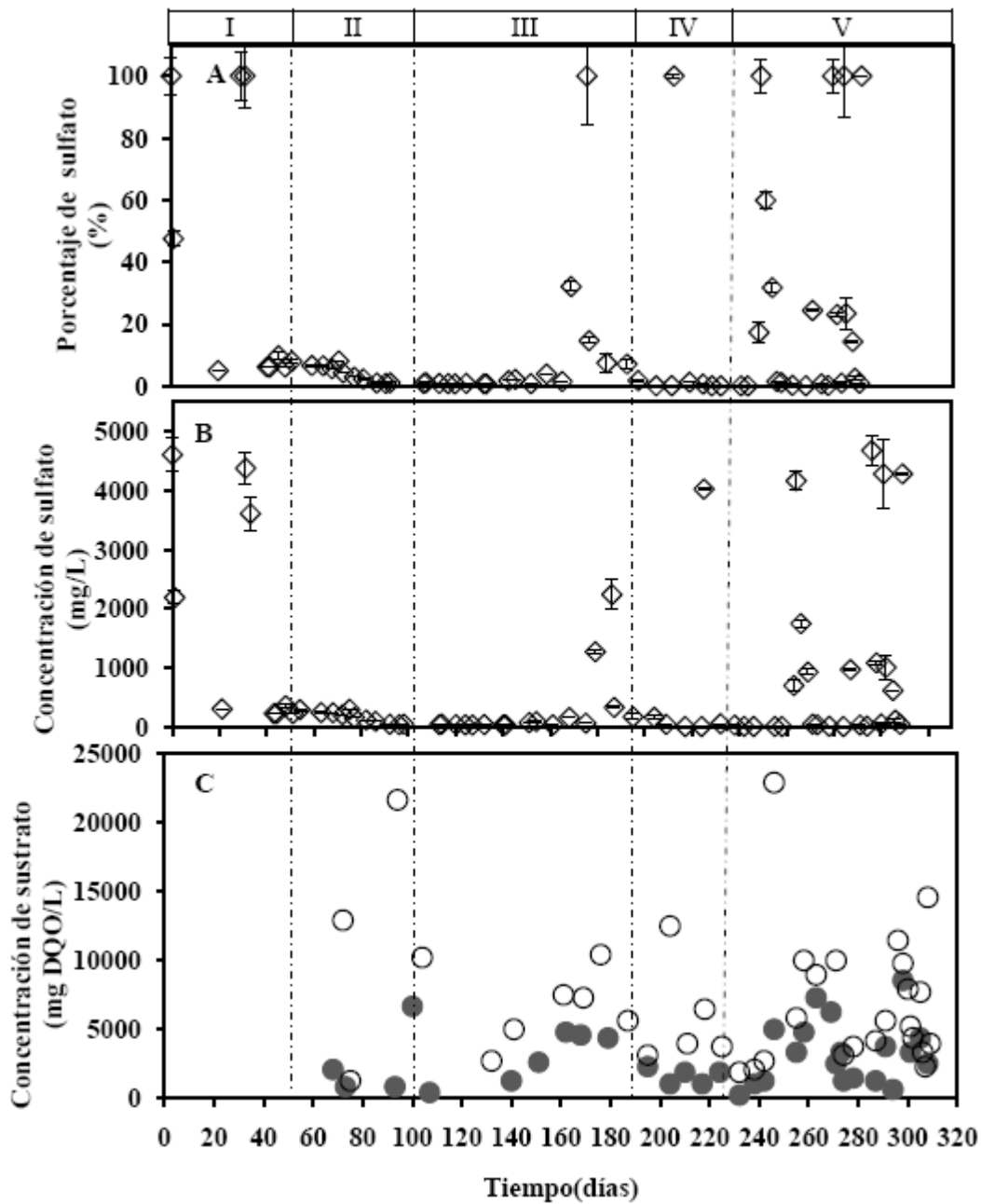


Figura 7.8. Alimentación de sulfato y sustrato (AGV's) con respecto al tiempo de operación en el reactor UASB. (A) Porcentaje de reducción de sulfato, (B) concentración de sulfato presente en el medio. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de $n=2$. (C). Concentración de sustrato alimentado (\circ), concentración de sustrato consumido (\bullet).

La relación DQO/SO_4^{-2} en los días de alimentación con sulfato y AGVs era de 0.25, esta relación con el objetivo de promover la SR (Thabet *et al.*, 2009). Esta relación, se toma en cuenta principalmente para los casos en los que el establecimiento de la sulfato reducción está en posible competencia con metanogénesis, ya que la mayoría de los reportes sobre reactores sulfidogénicos señalan que los inóculos utilizados son lodos granulares metanogénicos o cultivos mixtos metanogénicos adaptados a condiciones sulfidogénicas utilizando una gran variedad de donadores de electrones como pueden ser ácidos grasos volátiles de cadena corta como acetato, propionato, butirato y lactato. Otros donadores de electrones utilizados con frecuencia son metanol, etanol y CO_2 . En estos reactores donde puede existir competencia entre metanógenos y bacterias sulfato reductoras es común el uso de inhibidores de metanogénesis como el BES (Valdez *et al.*, 2005) aunados a relaciones DQO/SO_4^{-2} (0.65-10) para favorecer la sulfato reducción (Lopes *et al.*, 2007, Liamlean *et al.*, 2007, Wang *et al.*, 2008, Bayradkar *et al.*, 2009, Gallegos-García 2009). En el presente trabajo los microorganismos con los cuales se inoculó el reactor se enriquecieron de sedimentos de ventilas hidrotermales donde en principio se sabe que las poblaciones de bacterias sulfato reductoras son predominantes (Elsgaard *et al.*, 1994, Elsgaard *et al.*, 1995, Luther *et al.*, 1998, Weber *et al.*, 2002, Harayama *et al.*, 2004, Zynep *et al.*, 2009), por esta razón, no se utilizaron inhibidores de metanogénesis ni tampoco se establecieron relaciones $DQO/sulfato$ reportadas, para favorecer la reducción del ión ya que las concentraciones alimentadas del mismo se consideran altas comparadas con la concentración del ión sulfato en agua de mar (2.6 g/L) (Weber *et al.*, 2002). Por otro lado las concentraciones de sulfato en el reactor (Periodos II y III) son más altos que los reportados comúnmente para reactores en los que la SR está en competencia con la metanogénesis (Visser *et al.*, 1993c, Kaksonen *et al.*, 2003, Gallegos-García-2009, Archilha *et al.*, 2010).

Trabajos recientes sobre biorreactores diseñados para trabajar en condiciones de sulfato reducción se pueden comparar con el presente trabajo recordando que en el Periodo I de adaptación del inóculo en el reactor (aproximadamente 50 días) se obtuvo un porcentaje de reducción de sulfato de 98% (ya descrito anteriormente), por ejemplo, en su trabajo sobre precipitación de Zn bajo condiciones sulfato reductoras, Bayradkar *et al.* (2009),

reportó el comportamiento del reactor sulfidogénico en estado estacionario, previo a la adición del metal obteniendo una remoción de sulfato de 80% en aproximadamente 46 días para una concentración inicial del ión de 1000 mg/L usando lactato como donador de electrones (670 mg/L) y manteniendo una relación DQO/ SO_4^{-2} de 0.67 debido a que el reactor se inoculó con los lodos provenientes de un digestor anaerobio.

Thabet et al. (2009), reportó un 91% de reducción de sulfato y 87% de conversión de DQO en un periodo de 5 días partiendo de una concentración inicial de sulfato de 7 g/L con DQO de 4 g/L (DQO/Sulfato de 1.8) como lixiviado de tiradero de basura en un consorcio mixto en un reactor tipo UASB, esta relación en el presente trabajo es menor que las reportadas ya que el inóculo era sedimento marino que se adaptó a condiciones SR y no provenía de ningún otro proceso relacionado con la metanogénesis.

Baskaran et al. (2006), reportó un porcentaje de reducción de sulfato de 48.4% variando las cargas de concentración inicial de sulfato de 0.022 a 0.068 g/L h (equivalentes a 0.4 a 1.2 g/L) con un THR de 18.3 h usando lactato y acetato como donadores de electrones y un inóculo enriquecido de suelo de yacimientos de petróleo en un reactor tipo UASB operado en lote y en continuo.

A diferencia del presente trabajo, en los tres trabajos citados arriba, los inóculos utilizados habían estado expuestos a alguna forma de contaminación y existía la posibilidad de que la sulfato reducción estuviera en competencia con la metanogénesis.

En la Figura 7.9 se muestra la concentración de H_2S y la reducción de sulfato con respecto al tiempo de operación del reactor y la Figura 7.10 presenta el porcentaje de H_2S con respecto del SO_4^{-2} reducido. La producción de H_2S en el reactor UASB se analizó en la fase líquida y se estimó en el gas tomando en cuenta los cambios de pH (sección de Metodología ecuación. 6.1), por lo que en todos los casos en el transcurso de la operación del reactor (durante los ocho periodos), H_2S significa H_2S total = concentración de H_2S en el líquido + concentración de H_2S en el gas. A los primeros 50 días de arranque (Periodo I, ver Tabla 7.6 y Figura 7.9) se detectó sulfuro (H_2S) a una concentración de 400 mg/L, equivalente al 10 % de conversión con respecto a la

concentración inicial de SO_4^{-2} (4000 mg/L) (Figura 7.10). Durante el Periodos II la máxima concentración alcanzada de H_2S (gas+ líquido) fue de 1300 mg/L, correspondiente al 30% de la concentración de SO_4^{-2} (4000 mg/L) añadida en el día 40 de operación del reactor (Figura 7.10). En los periodos III-IV se observó la producción constante de H_2S (gas+ líquido) en concentraciones más bajas (500 mg/L) comparadas con el periodo anterior. En el Periodo V al cabo de 225 días de operación del reactor, la concentración de H_2S fue de 1600 mg/L lo que equivale al 40% de la concentración de SO_4^{-2} añadida en el periodo IV (Figura 7.10). En el Periodo V la adición de SO_4^{-2} fue de 4000 mg/L*d, la concentración de H_2S fue aumentando con el transcurso del tiempo, hasta obtener una concentración máxima de H_2S de 2900 mg/L, correspondientes al 70% del total de la concentración inicial de SO_4^{-2} (4000 mg/L*d) en el día 309 de operación. Por otro lado, como se ha citado por Colleran et al 1995 y varios autores más (Reis *et al.*, 1992, Van Hounten *et al.*, 1997, Briones *et al.*, 2009), es importante tomar en cuenta que los niveles de H_2S en los reactores sulfidogénicos no sean muy altos debido a la toxicidad que ejerce sobre varios microorganismos. Las concentraciones reportadas como tóxicas de H_2S disuelto para células en suspensión están entre 150 y 550 mg/L. Debido a la complejidad que implica el medir la toxicidad sobre las células que puede ejercer el H_2S no disociado, no hay reportes que permitan una comparación.

En un intento por mantener un crecimiento constante de microorganismos sulfato reductores en el reactor usado en el presente trabajo, en el periodo II, donde hubo concentraciones de H_2S (1300 mg/L) no se continuó adicionando sulfato hasta notar un decremento en la concentración de H_2S (periodo III, concentración promedio de H_2S 500 mg/L). A finales del periodo V se alcanzó la máxima concentración de H_2S en reactor (2900 mg/L), esto permitió, como se verá más adelante (periodo VI), que la comunidad microbiana fuera más abundante y que los niveles de H_2S tolerables por los microorganismos fueran altos (1500 mg/L H_2S en 12 horas).

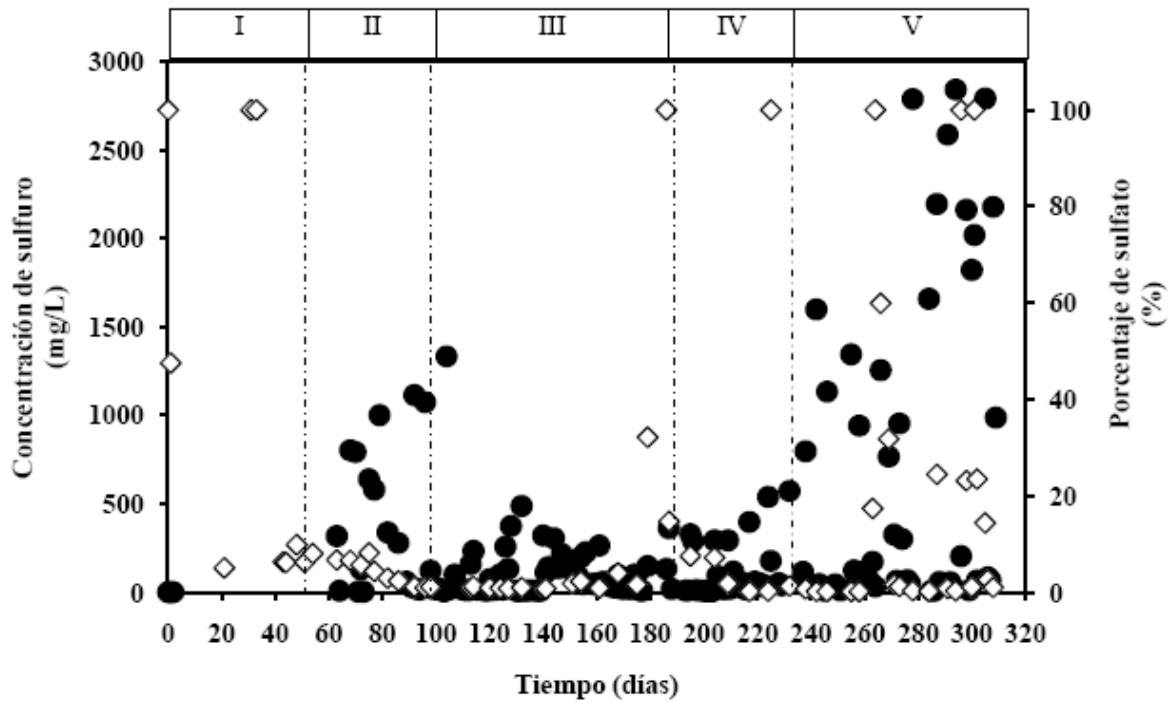


Figura 7.9. SR con respecto al tiempo de operación del reactor. Concentración de sulfuro (●). Porcentaje de reducción de sulfato (◇).

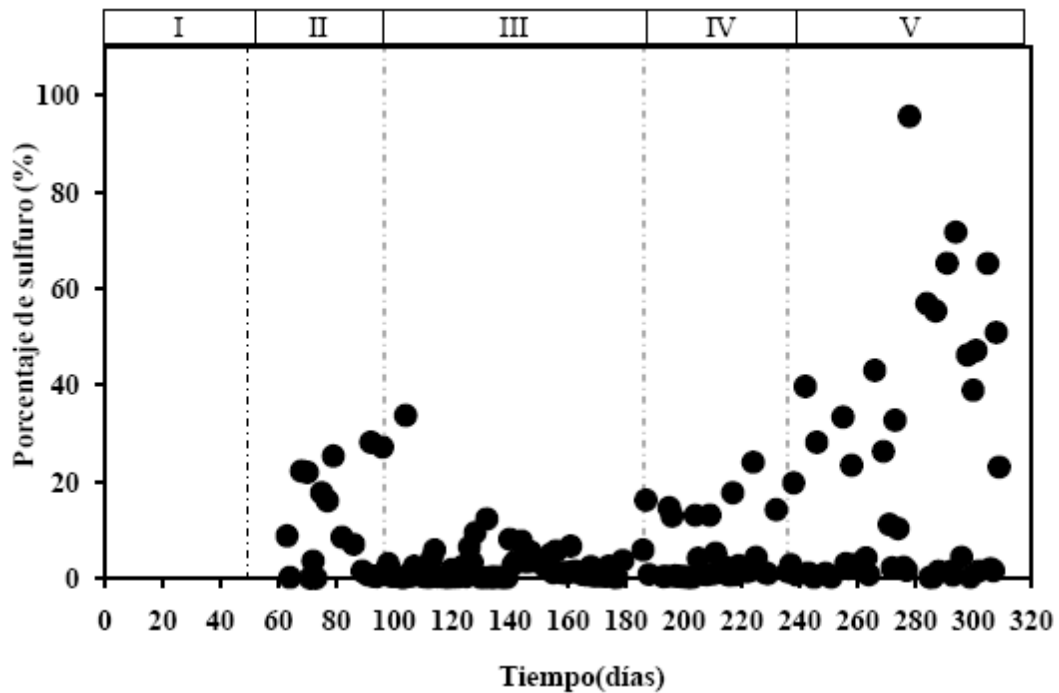


Figura 7.10. Porcentaje de la conversión de SO_4^{-2} a H_2S con respecto al tiempo.

En la Figura 7.11 se muestra el pH y el volumen de gas producido a lo largo de los 5 primeros periodos de operación del reactor (309 días). En los primeros 50 días el promedio del pH fue de 8.5 ± 0.44 , en el periodo II el pH promedio fue de 8.3 ± 0.45 , en este periodo empezó la producción de gas (Figura 7.11 B), el pH en el periodo III fue de 8.2 ± 0.55 por lo tanto existe una mayor producción de gas (1400 mL), para los periodos IV y V el pH fue de 8.0 ± 0.43 y 7.8 ± 0.50 respectivamente (Figura 7.11 A) y la producción promedio de gas fue de 700 mL para ambos periodos (Figura 7.11 B). Gutiérrez et al. (2009) reportó con un lodo metanogénico adaptado a condiciones SR y un pH de 8.6 y 9 que la actividad de las bacterias sulfato reductoras disminuye en un 30 y 50% respectivamente, por lo tanto comparando el presente trabajo con el realizado por Gutiérrez et al. (2009), el pH esta dentro del intervalo para prevalecer la actividad de las bacterias sulfato reductoras.

El valor de pH óptimo para que la SR se lleve a cabo debe estar en un intervalo de 6-8.5 (Hulshoff *et al.*, 1998; Gallegos-García 2009, Moosa *et al.*, 2002, Lens *et al.*, 2002, Alves *et al.*, 2005, Nagpal *et al.*, 2002). Como ya se describió, el reactor mantuvo un pH apropiado para la producción de H₂S durante todo el tiempo de operación (309 días).

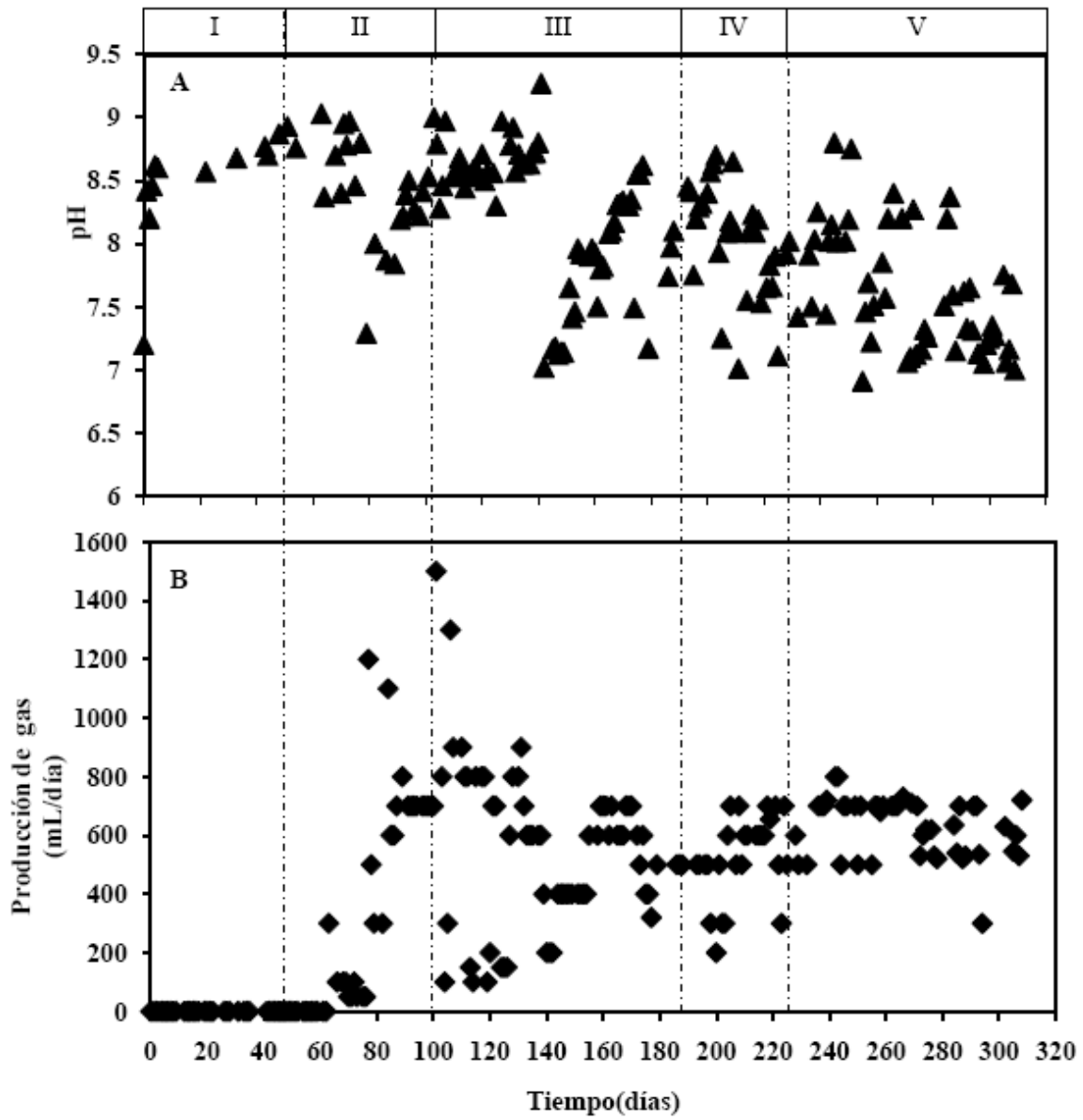


Figura 7.11. Relación de pH con la producción de gas en el reactor UASB con respecto del tiempo de operación. (A) pH, (B) producción de gas.

En cuanto al desempeño del reactor se refiere, los siguientes aspectos (mostrados en la Tabla 7.7) son importantes a considerar al comparar el presente trabajo con la literatura científica en donde se reportan reactores inoculados con diferentes microorganismos, establecidos para la remoción de SO_4^{-2} y materia orgánica, probando diferentes condiciones de operación por ejemplo TRH, pH y temperatura. Los ejemplos enlistados en la Tabla 7.7 incluyen en algunos casos reactores diseñados para la degradación de algunos contaminantes así como para la precipitación de metales.

A este aspecto, de acuerdo a la información contenida en la Tabla 7.7, es importante remarcar que Moosa et al. (2002), Kaksonen et al., (2003, 2004) al trabajar con inóculos básicamente metanogénicos y concentraciones de sulfato entre 1-2.2 g/L utilizando lactato como donador de electrones obtuvieron una reducción de sulfato de 67, 68 y 55% respectivamente, las cuales se pueden comparar a la reducción de sulfato en el reactor de los periodos I-V que fue de aproximadamente 98%. Nagpal et al. (2002) trabajó con un cultivo mixto de bacterias sulfato reductoras, etanol como sustrato y concentraciones de sulfato de 2 a 2.5 g/L obteniendo una reducción de sulfato de 54 %, la cual es menor si se compara con lo obtenido en el presente trabajo, que fue de 98 % en los periodos de I-V.

Tabla 7.7. Comparación de las condiciones de operación y reducción de sulfato en varios tipos de reactores.

Referencia	Tipo de Inoculo	Reactor	Fuente de carbono y energía	T (°C)	pH	Concentración inicial de SO ₄ ⁻² (mg/ L)	Porcentaje de SO ₄ ⁻² reducido (%)	Concentración de H ₂ S (mg/L)	THR (h)
Dries <i>et al.</i> , 1998	Lodo granular sulfidogénico	UASB/EGSB	Acetato	33-37	7.5- 8.2	7000	80-90	600	1.9-2.5
Sipma <i>et al.</i> ,1999	Lodo sulfidogénico (mesofílico) y metanogénico (termofílico)	UASB	Sacarosa/ propionato/ butirato	55	5.8-6.1	14500	95	400	3.7
Moosa <i>et al.</i> , 2002	Planta de tratamiento de agua residual	CSRT	Acetato/ peptona	35	8	1000-10000	65	-----	48 y 90
Kaksonen <i>et al.</i> ,2003	Lodo metanogénico de una mina	UASB	Lactato	35	2-5.6	1000-2200	68	-----	16
Esposito <i>et al.</i> , 2003	Lodo granular anaerobio metanogénico-sulfidogénico	gas-lift reactor	H ₂ /CO ₂	30	7	440-7400	99	200-900	4 y 12
Kaksonen <i>et al.</i> ,2004	Lodo metanogénico de una mina	FBR	etanol	35	6.9-7.3	2000-2500	55	-----	5.1
Alves <i>et al.</i> ,2005	Lodo anaerobio	UASB	Acético	29.5	7.7	10390	23	72.7	22
Lopes <i>et al.</i> , 2007	Lodo granular anaerobio	UASB	AGV's	55	5.95	451	65	200	10
Bayrakda <i>et al.</i> ,2009	Lodo anaerobio metanogénico	ABR	lactato	35	6.8-7.5	1000–2000	80	150-350	48
Archilha <i>et al.</i> ,2010	Células inmovilizadas de UASB Y Soporte polietano	Reactor de lecho	etanol	30	7.2	500-2500	84-98	<70	Estacionario
El presente trabajo	Sedimento marino	UASB	AGV's	34	7.8-8.5	4000	98	2900	Pseudo-estacionario

ABR: reactor anaerobio con deflactores o compartimentos, CSTR: Reactor de tanque agitado, EGSB: Reactor de lecho expandido, FBR: Reactor de lecho fluidificado, UASB: Reactor de lecho de lodo granular de flujo ascendente, USSB: Reactor de flujo ascendente de lecho por etapas. (Por sus siglas en inglés).

7.3 Cinética de reducción de sulfato y consumo de sustrato en el reactor UASB.

Cuando el inóculo se adaptó a condiciones de sulfato reducción en el reactor (Periodos I-V), se continuó con la elaboración de cinéticas de reducción de sulfato, consumo de sustrato, monitoreo de pH, temperatura y producción de gas, esta etapa del reactor se llama Periodo VI (días de 310 al 319). Las cinéticas se realizaron con el objetivo de conocer el tiempo en el que el inóculo presente en el reactor es capaz de reducir el SO_4^{-2} en su totalidad. Se adicionó medio fresco, vitaminas, metales traza, SO_4^{-2} a una concentración de 4000 mg/L, sustrato a una concentración de 1 g DQO/L y un THR de 12 h, para iniciar la cinética.

Un análisis para: sulfato (SO_4^{-2}), sulfuro ($\text{H}_2\text{S}_{\text{gas+ líquido}}$), DQO, pH y volumen de gas producido en el reactor se llevó a cabo cada hora a lo largo del THR (12 h) para obtener los datos cinéticos de la SR (ver sección de Metodología). La Figura 7.12 indica que la reducción de SO_4^{-2} en un 98%, se llevó a cabo en las primeras 4 horas de la cinética, al finalizar las 12 horas de cinética la reducción de SO_4^{-2} fue de 99 %. La producción de H_2S en el tiempo cero se ve afectada por la acumulación de los intermediarios del SO_4^{-2} presentes en el inóculo, y por el pH ya que como se indicó en la sección de Materiales y métodos, la concentración de H_2S en el gas se calcula con las ecuaciones de equilibrio correspondientes que se ven afectadas por el pH. La concentración de H_2S después de 12 h alcanzó una concentración de 1200 mg/L equivalentes al 30 % de la concentración inicial de SO_4^{-2} . El volumen promedio producido de gas fue de 773 ± 46 mL/d (TRH 12 h).

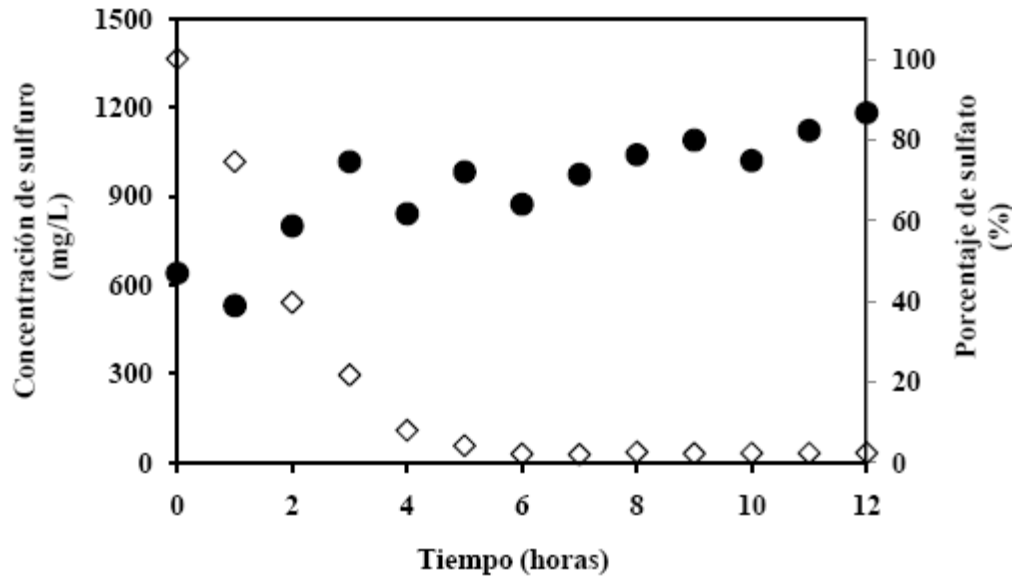


Figura 7.12. Desempeño del reactor durante 12 horas. Reducción de sulfato (◇), concentración de sulfuro (●). Los datos presentados son promedio de n=3.

Comparando los resultados obtenidos en el presente trabajo con los que reportaron Bayradkar et al. (2009), en los cuales obtuvo una reducción de SO_4^{-2} de 90% con una concentración inicial de 1000 mg/L del ión, una concentración de H_2S de 350 mg/L en un THR de 48 h, obteniendo mejores resultados en el presente trabajo ya que se utilizó una mayor concentración de sulfato (4000 mg/L), se redujo en menos tiempo (4 h) hasta un 98% y existe una mayor producción de H_2S (1200 mg/L). Por otro lado los resultados que reportaron Lopes et al. (2007), indican una reducción de SO_4^{-2} de 60% con una concentración inicial de SO_4^{-2} de 1855 mg/L, una concentración de H_2S de 140 mg/L en un THR de 10 h en un reactor UASB, estos datos son más bajos que los obtenidos en el presente trabajo ya que en 4 h el sulfato se redujo en un 98% con una concentración inicial del ion de 4000 mg/L y una producción de H_2S de 1200 mg/L (Figura 7.12). Otros resultados con los que se compara el presente trabajo son los reportados por Lens et al. (2003), en los que la reducción de SO_4^{-2} fue de 95 %, con una concentración inicial de SO_4^{-2} de 690 mg/L, obteniendo una concentración de H_2S 135mg/L en un THR de 4 h en un reactor tipo UASB, los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo indican una mayor reducción de sulfato en 4 h y una mayor producción de H_2S (Figura 7.12). Los trabajos antes mencionados con los que se comparan los resultados obtenidos en el presente trabajo, utilizaron un lodo metanogénico granular adaptado a condiciones SR,

el inóculo utilizado en el presente trabajo fue sedimento marino el cual tuvo periodos de adaptación (Periodos I-V) a condiciones de SR, por lo tanto el inóculo utilizado en el presente trabajo dio mejores resultados que con los que se comparó. Kaksonen et al. (2006) reportaron una reducción de SO_4^{-2} de 65 %, con una concentración inicial de SO_4^{-2} de 2290 mg/L, una concentración de H_2S de 300 mg/L en un THR de 16 h utilizando un FBR inoculado con lodo granular sulfato reductor. Tomando en cuenta la concentración inicial de SO_4^{-2} , el porcentaje de reducción y el THR, se obtiene mayor reducción de SO_4^{-2} en el presente trabajo (99 % en 12 h) y una mayor concentración de H_2S (1200 mg/L en 12 h). La concentración inicial de sustrato (AGV's) que se determinó por el método analítico fue de 13000 mg DQO/L para la elaboración de la cinética de reducción de SO_4^{-2} , obteniendo un consumo de sustrato del 70 % después de 12 h (THR), como se muestra en la Figura 7.13.

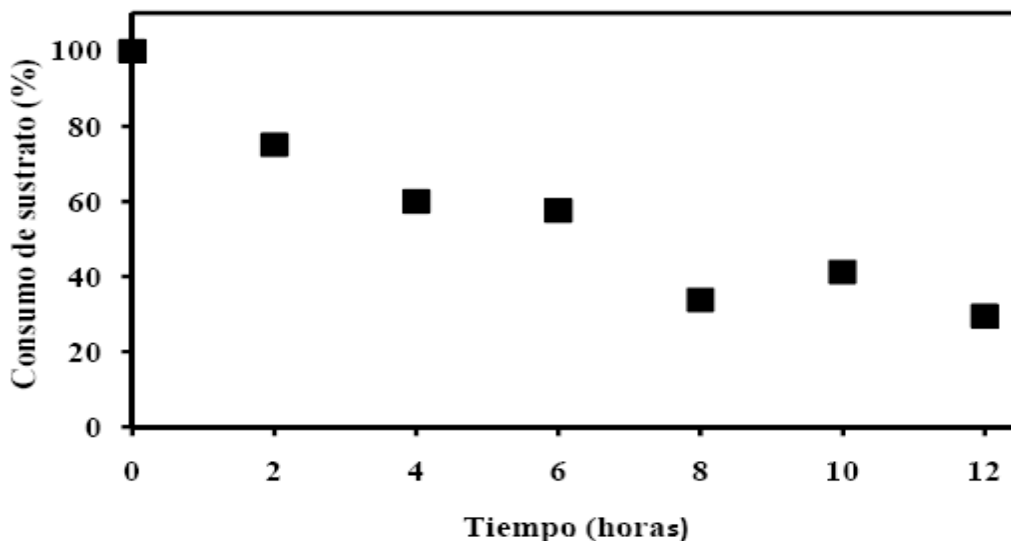


Figura 7.13. Consumo de sustrato (AGV's) durante 12 h. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=3.

En cuanto al consumo de sustrato se refiere los resultados obtenidos en el presente trabajo se comparan con otros autores que han trabajado con diferentes sustratos y THR's, en reactores similares, como primer ejemplo se cita el trabajo de Briones et al. (2009), reportaron un consumo de sustrato (tipo de sustrato) del 89 % con una concentración inicial de 5000 mg/L con un THR de 10 h en un UASB. Por otro lado, Lopes et al. (2007), reportaron un consumo de sustrato (sacarosa) de 100% con una

concentración inicial de 1930 mg/L y con un THR de 10 h en un reactor UASB. Dries et al. (1998), reportaron un consumo de sustrato de 85 % con una concentración inicial de 19400 mg/L con un THR de 2.5 h en un EGSB. Los resultados que obtuvieron Omil et al. (1996), indican un consumo de sustrato (acético/ propiónico/ butírico) de 97 % con una concentración inicial de 2500 mg/L en un EGSB. Finalmente Colleran et al. (1994) reportaron un consumo de sustrato (ácido cítrico) de 18 % con una concentración inicial 8000 mg/L en un filtro anaerobio.

Las mediciones de pH se llevaron a cabo durante las 12 h de cinética obteniendo los datos que se presentan en la Figura 7.14. La cinética inició con un pH cercano a 6.8, lo que implica que al tiempo de inicio la concentración de H_2S no es nula. El pH fue incrementándose paulatinamente hasta alcanzar un valor de 7.7. El incremento de pH esta relacionado con el consumo del sustrato ya que una oxidación parcial de AGVs promueve la presencia del ión bicarbonato (Gallegos-García 2009). Al mismo tiempo, a lo largo de la cinética, la concentración de H_2S disociado en el líquido aumentó.

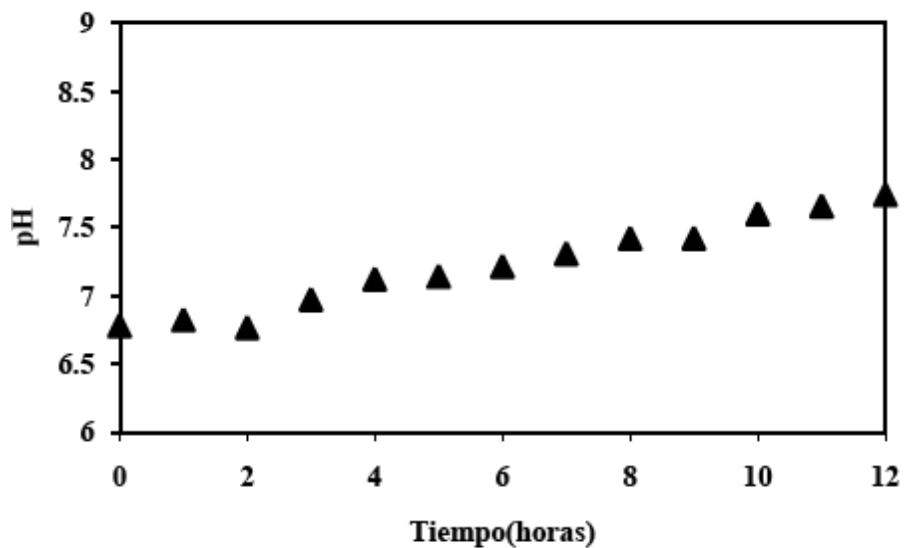


Figura 7.14. Variaciones del pH durante 12 h. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de $n=3$.

En el presente trabajo y en el Periodo VI se mantuvo el pH en un intervalo de 6.8 a 7.7 por lo tanto la producción de H₂S fue incrementando. Diversos autores reportan intervalos de pH para mantener la producción de H₂S, por ejemplo, el trabajo que reportaron Nagpal et al. (2002), indica que en pH de 5.8 a 6.67 la producción de H₂S sufre un decremento. Dries et al. (1998) reportaron que en un pH de 7.9 se previene la producción de H₂S en el gas (gas corrosivo), y solo existe en la fase líquida, Gallegos-García, 2009 reportó que un pH de 6.5 favorece las condiciones SR en un lodo metanogénico, Hollingsworth, en 2004 en su trabajo utilizó un pH de 7.5 a 8 para favorecer las condiciones SR en un lodo metanogénico y disminuir la producción de H₂S no disociado. Por lo tanto el intervalo de pH utilizado en el presente trabajo y para el Periodo VI se compara con lo reportado por Hollingsworth (2004) y Gallegos-García, (2009) ya que con esos intervalos se mantiene la producción de H₂S en la fase líquida y gaseosa y favorece la SR.

7.4 Degradación de TCE en el reactor UASB bajo condiciones SR.

En el Periodo VII de operación del reactor se adicionó TCE a dos diferentes concentraciones 250 y 300 µM, utilizando tres THR para cada concentración. A continuación se detallan los resultados obtenidos para este periodo.

7.4.1 Degradación de TCE a una concentración inicial de 250 µM

En la Tabla 7.8 se presentan los resultados obtenidos para concentración de 250 µM y los tres THR. Durante las cinéticas de degradación de TCE se determinó el pH, la concentración en el efluente de sustrato, la concentración final de TCE, la concentración de intermediarios de TCE, el porcentaje de degradación de TCE, el porcentaje de remoción de sustrato, la producción de gas, la reducción de SO₄⁻², la producción de H₂S y la actividad sulfato reductora.

Tabla 7.8. Condiciones de desempeño del reactor en la presencia de TCE a una concentración inicial de 250 μM y tres diferentes THR's.

Parámetros	THR (h)		
	24	12	8
pH	7.6 (\pm 0.007)	7.3 (\pm 0.01)	7.3 (\pm 0.1)
Concentración de sustrato en el efluente (mg DQO/L)	1352 (\pm 147)	1664 (\pm 0)	3432 (\pm 441)
Concentración final de TCE (μM)	194 (\pm 106)	113.06 (\pm 16)	57.07 (\pm 13)
Concentración de Cloruro de Vinilo (μM)	0	13.04 (\pm 5)	3.86 (\pm 0.005)
Concentración de Eteno (μM)	259.30 (\pm 197)	170.82 (\pm 127)	216.70 (\pm 237)
Degradación de TCE (%)	22.4	54.8	77.2
Consumo de sustrato (%)	90	88	75
Producción de gas (mL/d)	200	75	200
SO₄⁻² reducido (%)	98	98	98
Conversión de SO₄⁻² a H₂S (%)	27 (\pm 2)	26 (\pm 3)	20 (\pm 0.2)
Actividad sulfato reductora (mg DQO-H₂S/g SSV*d)	95 (\pm 0)	145 (\pm 10)	208 (\pm 13)

Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=2.

Comparando los resultados obtenidos después de llevar a cabo los experimentos a los tres THR, se obtiene mayor degradación de TCE para el THR de 8 h, presentándose cloruro de vinilo (CV) como el único intermediario a una concentración de $3 \pm 0.005 \mu\text{M}$ equivalente al 1 % de la concentración inicial de TCE ($250 \mu\text{M}$) y eteno como producto final de la degradación a una concentración de $216 \pm 237 \mu\text{M}$ que corresponde al 86 %

de la concentración inicial de TCE (250 μM). La presencia de eteno para el THR de 24 h fue alta (259.30 \pm 197 μM) y no proviene de la degradación de TCE ya que solo hubo un 22.4 % de degradación de la concentración inicial de TCE (equivalentes a 56 μM), la concentración de eteno obtenida para este THR es mayor si se compara con la esperada estequiométricamente, lo que indica que bajo condiciones reductoras (anaerobias) existe una transformación de acetato a eteno que no necesariamente involucra a los microorganismos, tal y como se ha comprobado en experimentos anteriores (Guerrero-Barajas *et al.*, 2011) (Tabla 8). Para el caso de los THR de 12 y 8 h la concentración de eteno producida proviene solamente de la degradación de TCE ya que para cada cinética se evacuó la atmósfera gaseosa con una mezcla de N_2/CO_2 80:20, para evitar la acumulación de intermediarios en la degradación de TCE.

La producción de gas fue igual a la de THR de 24 h (200 ml), la remoción de sustrato y la producción de H_2S fueron de 75 y 20 % respectivamente, más bajas comparadas con la de los otros THR (24 y 12). La reducción de SO_4^{2-} fue la misma para los tres THR (98 %), la velocidad de producción de H_2S (actividad SR) fue de 208 \pm 13 mg DQO- H_2S /g SSV*d, lo que es mayor que para los THR de 24 y 12 h. Durante la degradación de TCE a una concentración inicial de 250 μM se presentó como único intermediario CV y eteno a unas concentraciones de 13.04 \pm 5 y 3.86 \pm 0.005 μM para los THR de 12 y 8 h respectivamente. El eteno se detectó en los tres THR como lo indica la Figura 7.15.

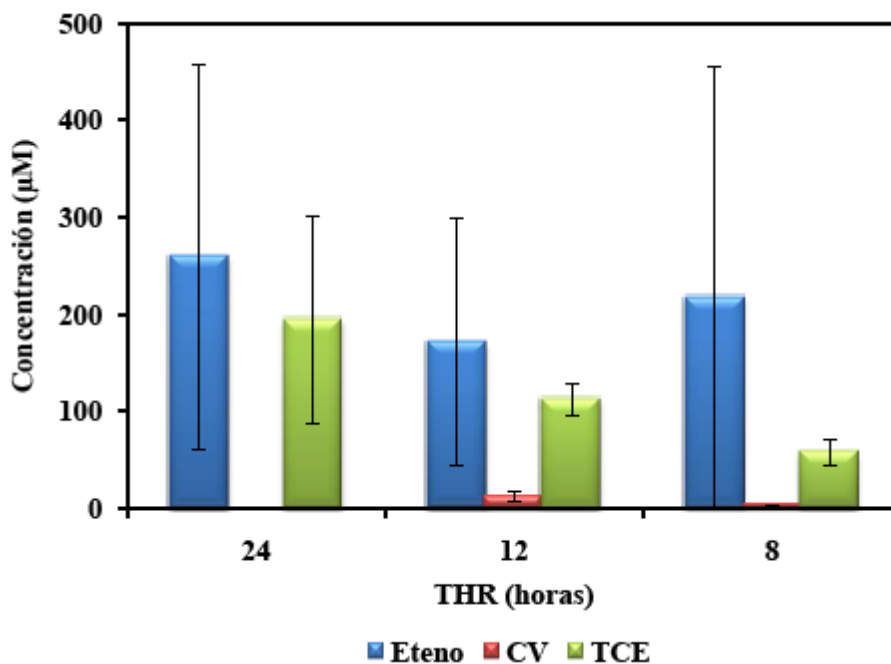


Figura 7.15. Efecto del THR en la degradación de TCE a una concentración inicial de 250 µM y presencia de metabolitos en los diferentes THR's en el reactor UASB. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=2

7.4.2 Degradación de TCE a una concentración inicial de 300 µM.

En la Tabla 7.9 se presentan los resultados obtenidos para una concentración inicial de TCE de 300 µM y los tres THR. Durante las cinéticas de degradación de TCE se determinó el pH, la concentración en el efluente de sustrato, la concentración final de TCE, concentración de intermediarios, el porcentaje de degradación de TCE, el porcentaje de remoción de sustrato, la producción de gas, la reducción de SO_4^{-2} , la producción de H_2S y la actividad SR.

Tabla 7.9. Condiciones del desempeño del reactor en la presencia de TCE a una concentración inicial de 300 μM y tres diferentes THR's.

Parámetros	THR (h)		
	24	12	8
pH	7.45 (\pm 0.07)	7.64 (\pm 0.1)	7.46 (\pm 0.08)
Concentración de sustrato en el efluente (mg DQO/L)	2184 (\pm 147)	832 (\pm 0)	3224 (\pm 147)
Concentración final de TCE (μM)	79.5 (\pm 30)	77 (\pm 8)	109 (\pm 92)
Concentración de Cloruro de Vinilo (μM)	10 (\pm 7)	16 (\pm 0.3)	12 (\pm 6)
Concentración de Eteno (μM)	140 (\pm 94)	202 (\pm 81)	190 (\pm 0.8)
Degradación de TCE (%)	73.5	74.3	64
Consumo de sustrato (%)	84 (\pm 0.9)	93 (\pm 0.1)	76 (\pm 0.8)
Producción de gas (mL/d)	670	200	125
SO_4^{-2} reducido (%)	98	98	97
Conversión de SO_4^{-2} a H_2S (%)	50 (\pm 2)	26 (\pm 2)	31 (\pm 4)
Actividad sulfato reductora (mg DQO-H_2S/g SSV*d)	149(\pm 9)	161 \pm 7	310 \pm 24

Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=2.

A un THR de 12 h se presentó una mayor degradación de TCE y la presencia de intermediarios tales como el CV a una concentración de $16 \pm 0.3 \mu\text{M}$, correspondiente al 5% de la concentración inicial de TCE ($300 \mu\text{M}$) y eteno a una concentración de $202 \pm 81 \mu\text{M}$ correspondiente al 67% de la concentración inicial de TCE ($300 \mu\text{M}$). La

eficiencia de remoción de DQO fue del 93% y la producción de H₂S fue de 26 %, más baja si se compara con los THR de 24 y 8 h. Para la reducción de SO₄⁻², esta fue mayor para los THR de 24 y 12 (98 %), indicando que la presencia de TCE no afecta la reducción de SO₄⁻². La velocidad de producción de H₂S (actividad SR) fue mayor en el THR de 8 h (310 ± 24 g DQO-H₂S/g SSV*d), esto también ocurre cuando se utiliza una concentración de TCE de 250 µM y un THR de 8 h (como se presentó en la sección 7.3.1.1). En la degradación de TCE a una concentración inicial de 300 µM se presentaron como intermediarios CV y eteno en los tres THR, como lo indica la Figura 7.16. En esta figura se comparan las concentraciones finales de TCE, CV y eteno al final de los experimentos de degradación para cada THR.

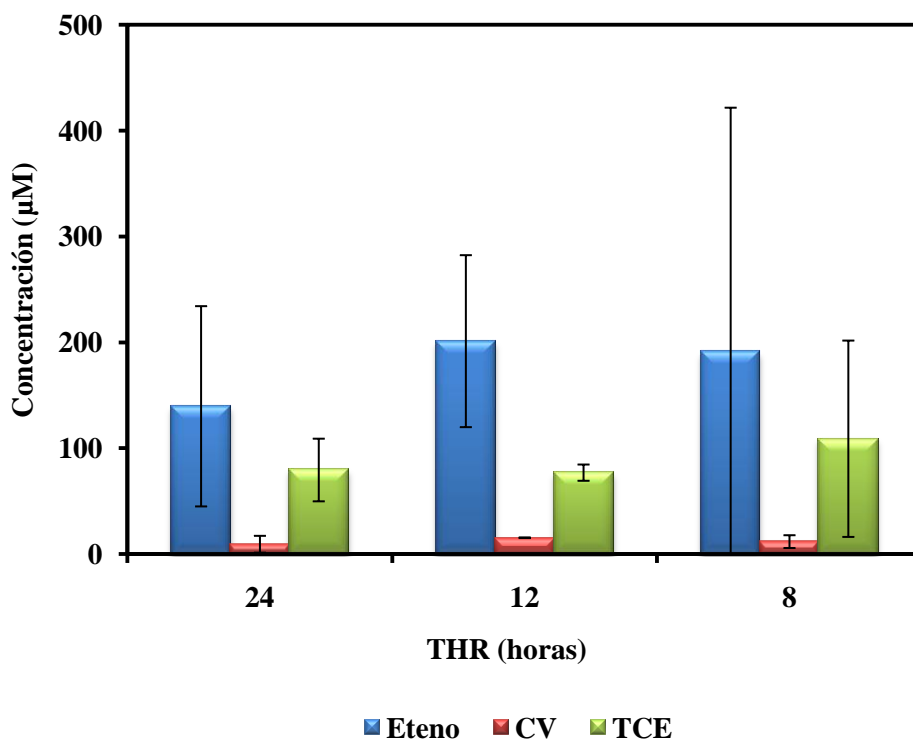


Figura 7.16. Efecto del THR en la degradación de TCE a una concentración inicial de 300 µM y presencia de metabolitos en los diferentes THR's en el reactor UASB. Los datos presentados son promedio (± desviación estándar) de n=2.

En cuanto a la degradación del compuesto clorado (TCE) se refiere, los siguientes aspectos (mostrados en la Tabla 7.10) son importantes a considerar al compararnos con la literatura científica en donde se reportan reactores inoculados con diferentes microorganismos en su mayoría metanogénicos, incubados bajo las condiciones propicias para la degradación de compuestos clorados a diferentes concentraciones, probando diversas condiciones de operación como por ejemplo TRH y temperatura.

De acuerdo a la información contenida en la Tabla 7.10, es importante remarcar que Sponza et al. (2001, 2002), al trabajar con un inóculo metanogénico, utilizando glucosa como donador de electrones y un THR de 60 h obtuvo una degradación de TCE del 90 %, este valor se puede comparar con el obtenido en el presente trabajo en el que se utilizó sedimento marino proveniente de ventilas hidrotermales adaptado a condiciones sulfato reductoras como inóculo, en el cual fue aproximadamente del 77 % de degradación de TCE con un THR de 12 h. Ohlen et al. (2005) trabajó con células inmovilizadas como inóculo, metanol como sustrato, una corriente de compuestos clorados a concentraciones de 15, 0.36 , 19 y 4 μM para CV, t-DCE, c-DCE y TCE respectivamente y un THR de 12 h , obteniendo 95, 0, 20 y 5 % de degradación para el CV, t-DCE, c-DCE y TCE respectivamente, el porcentaje de degradación de TCE es menor al obtenido en el presente trabajo que fue de 77 % con un THR de 12 h, donde no se obtuvieron ni t-DCE ni c-DCE como intermediarios de la degradación del TCE, sin embargo, si se obtuvo CV en un 5 % de la concentración inicial del TCE (300 μM).

Tabla 7.10. Comparación de la degradación de compuestos clorados en varios tipos de reactores con el reactor del

Referencia	Tipo de Inóculo	Reactor	Fuente de carbono y energía	T (°C)	Compuesto clorado	*Concentración inicial del compuesto clorado (µM)	Porcentaje de degradación (%)	THR (h)
Sponza <i>et al.</i> ,2001	Lodo acidogénico y metanogénico	UASB	Glucosa	35	TCE	1218	90	60
Sponza <i>et al.</i> ,2002	Lodo acidogénico y metanogénico	UASB	Glucosa	35	PCE	976	90	60
Ohlen <i>et al.</i> ,2004	Células inmovilizadas	FBR	Metanol	----	Corriente de agua subterránea con CV, t-DCE, c-DCE, TCE.	15 (CV), 0.36 (t-DCE), 19 (c-DCE), 4 (TCE)	95 (CV), 0 (t-DCE), 20 (c-DCE), 5 (TCE)	12
Sponza <i>et al.</i> ,2005	Lodo metanogénico	UASB	Melasas	45	Triclorotolueno	761	68	12
Sponza <i>et al.</i> ,2006	Lodo metanogénico	UASB	Glucosa	34	2,4 diclorofenol	0.6, 1.8 y 3	99, 97 y 95	20, 10 y 8
Partha <i>et al.</i> ,2007 Gupta	Microorganismos anaerobios metanogénicos	UASB		27	2-clorofenol	233	96	12
Bath <i>et al.</i> , 2008	Lodo anaerobio	UASB	Metanol	37	Hexaclorociclohexano	344	99	48
Partha <i>et al.</i> , 2008	Microorganismos anaerobios metanogénicos	UASB	Metanol	27	2,4 diclorofenol	183	81.1	12
Basu <i>et al.</i> ,2010	Lodo con compuestos clorados aromáticos	UASB	Acetato de sodio	27	1,1,2,2-tetracloroetano	122	98	12
El presente trabajo	Sedimento marino sulfato reductor	UASB	AGV's	34	TCE	250	77	8
El presente trabajo	Sedimento marino sulfato reductor	UASB	AGV's	34	TCE	300	74	12

FBR: Reactor de lecho fluidificado, UASB: Reactor de lecho de lodo granular de flujo ascendente. Los datos de las referencias citados fueron convertidos a µM para facilitar la comparación.

7.5 Cinética de reducción de sulfato y consumo de sustrato en el reactor UASB después de la presencia de TCE.

Al concluir las cinéticas de degradación de TCE, se realizaron cinéticas de reducción de SO_4^{-2} con el objetivo de conocer en que magnitud la presencia del TCE había afectado a la población microbiana encargada de la reducción de SO_4^{-2} en el reactor. Estas pruebas de SR posteriores a la adición de TCE también tuvieron el objetivo de comparar todos los parámetros del reactor antes y después de la adición del compuesto y registrarlos para futuras pruebas experimentales con dicho contaminante en el reactor a régimen continuo. Para estas pruebas se adicionó medio fresco, vitaminas, metales traza, SO_4^{-2} a una concentración de 4000 mg/L, sustrato a una concentración de 1 g DQO/L y se operó a un THR de 12 h para iniciar la cinética. Un análisis para: sulfato (SO_4^{-2}), sulfuro (H_2S gas+ líquido), DQO, pH y volumen de gas producido en el reactor se llevó a cabo cada hora a lo largo del THR (12 h) para obtener los datos cinéticos de la SR (ver sección de Materiales y métodos), y poderlos comparar con los obtenidos en el Periodo VI. La Figura 7.17 muestra la reducción de SO_4^{-2} y la producción de H_2S a lo largo del THR obteniendo una reducción de SO_4^{-2} en un 98 % en las primeras 5 h después de iniciar la cinética, este resultado se compara con el obtenido en el Periodo VI en donde el inóculo del reactor no había estado expuesto al TCE (Figura 7.12), y la reducción de SO_4^{-2} se llevó a cabo en las primeras 4 horas de la cinética en un 98%, por lo que al estar expuesto el inóculo con TCE la reducción de SO_4^{-2} se retardó 1 h. La producción de H_2S en el tiempo cero se ve afectada por la acumulación de los intermediarios del SO_4^{-2} presentes en el inóculo, y por el pH ya que como se indicó en la sección de Materiales y Métodos la concentración de H_2S en el gas se calcula con las ecuaciones de equilibrio correspondientes que se ven afectadas por el pH. La concentración de H_2S después de 12 h alcanzó una concentración de 1500 mg/L equivalentes al 37 % de la concentración inicial de SO_4^{-2} , este resultado se compara con el obtenido en el Periodo VI (Figura 7.12), en donde la producción de H_2S fue de 1200 mg/L equivalentes al 30 % de la concentración inicial de SO_4^{-2} . La producción de gas disminuyó al estar en contacto el inóculo con TCE ya que en el periodo VI tenía una producción promedio de volumen de 773 ± 46 mL/d (TRH 12h), y en el periodo VII fue de 100 ± 10 mL/d..

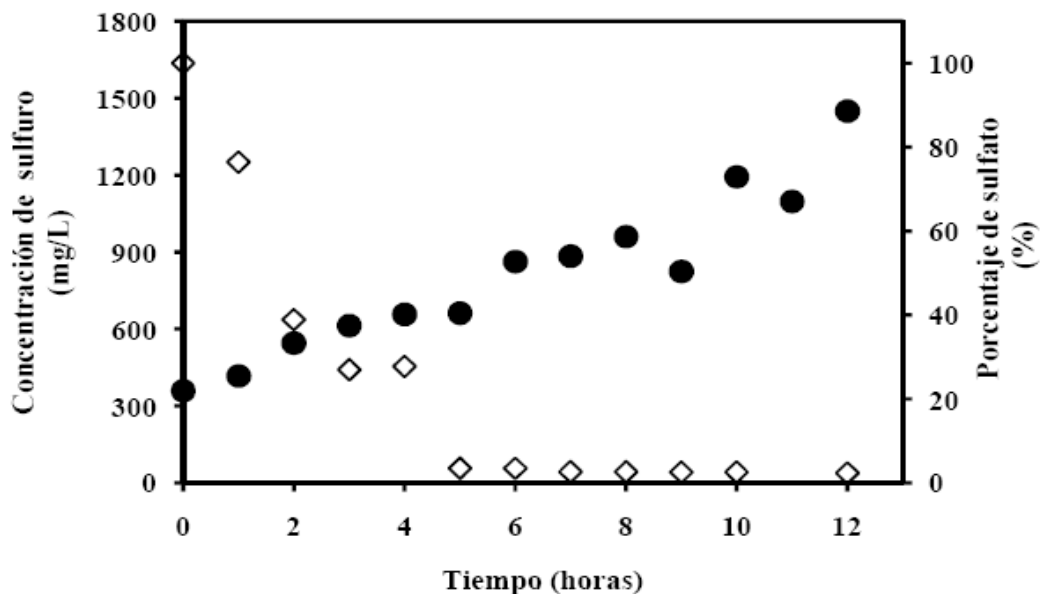


Figura 7.17. Desempeño del reactor durante 12 horas después de 29 días con TCE. Reducción de sulfato (◇), concentración de sulfuro (●). Los datos presentados son promedio de n=2.

La Figura 7.18 indica el consumo de sustrato después de que el inóculo estuvo en contacto con el TCE, obteniendo un 60% de consumo, este es menor al obtenido en el Periodo VI que fue de 70% (Figura 7.13).

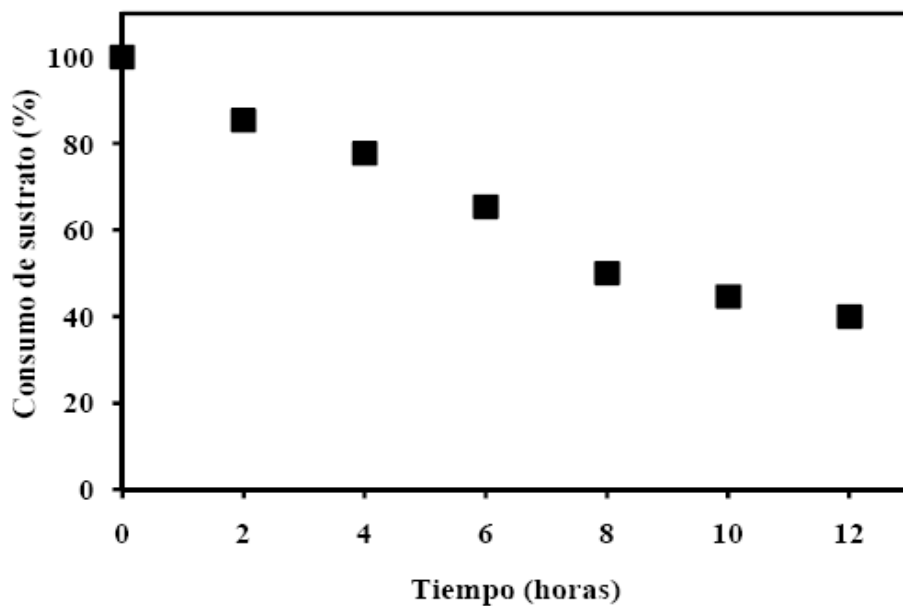


Figura 7.18. Consumo de sustrato (AGV's) durante 12 h después de 29 días con TCE. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de n=2.

En la Figura 7.19 se presenta el comportamiento del pH a lo largo de la cinética, iniciando con un pH cercano a 6.9, lo que implica que al tiempo de inicio la concentración de H_2S no es nula. Posteriormente el pH fue incrementándose hasta alcanzar un valor de 7.5 en las primeras 6 h de cinética manteniéndose constante hasta finalizar la cinética. El pH obtenido en el Periodo VI fue de 7.5 (Figura 7.14), por lo tanto es igual al del Periodo VIII.

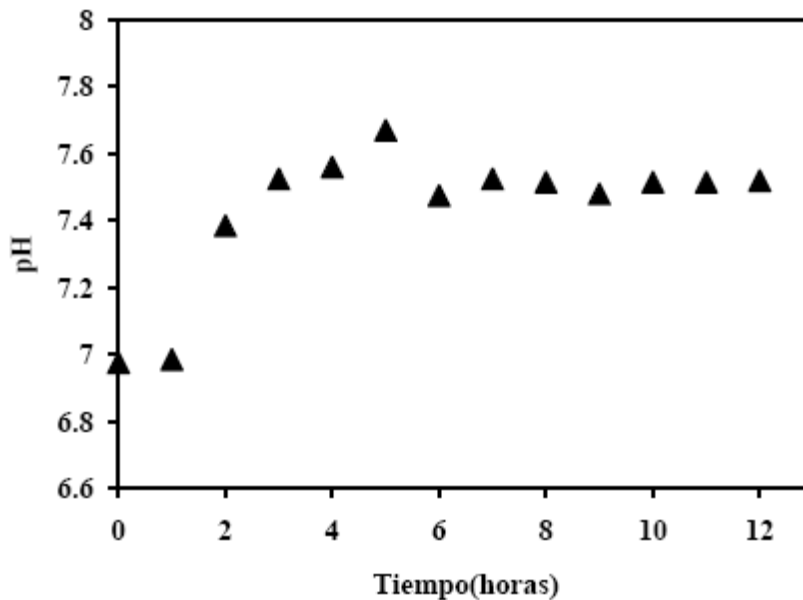


Figura 7.19. Variaciones del pH durante 12 h después de 29 días con TCE. Los datos presentados son promedio (\pm desviación estándar) de $n=3$.

7.6 Actividad específica sulfato reductora.

En la Tabla 11 se muestran los resultados de la actividad sulfato reductora (ASR), realizadas en los últimos tres periodos de operación del reactor con el objetivo de compararlos.

La máxima actividad sulfato reductora utilizando como sustrato una mezcla de AGV's fue de 188 mg DQO- H_2S /g SSV*d, después de 309 días, este valor corresponde al Periodo VI mostraron que existía una baja actividad de las bacterias sulfato reductoras (BSR) ya que otros autores han reportado valores de 490 y 2100 mg DQO- H_2S /g SSV*d a partir de AGV's (acético, propiónico y butírico) como sustrato y 10900 mg DQO- H_2S /g SSV*d con

H₂/CO₂ como sustrato (Visser *et al.*, 1993, Omil *et al.*, 1996, Esposito *et al.*, 2003). Sin embargo si se compara la ASR del presente trabajo, con la reportada por Hollingsworth, 2004 que fue de 15 y 21.3 mg DQO-H₂S/g SSV*d usando acetato e hidrógeno como sustrato en un lodo metanogénico adaptado a SR, es más alta la reportada para el Periodo VI del presente trabajo. En el presente trabajo se obtiene una mayor ASR si se compara con lo reportado por Gallegos-García 2009 que obtuvo una ASR de 150 mg DQO-H₂S/g SSV*d a partir de acetato como sustrato.

Tabla 7.11. Evolución de la actividad específica del inóculo con respecto de los últimos tres periodos de operación del reactor UASB.

Periodo	Actividad específica sulfato reductora (mg DQO-H ₂ S/g SSV*d)			
VI	188 (± 50)			
VII	THR (h)	24*	12*	8*
	Concentración (µM)			
	250	95 (±0)	145 (±10)	208 (±13)
	300	149 (±9)	161 (±7)	310 (±24)
VIII	248 (± 22)			

Los datos presentados son promedio (± desviación estándar) de n=3 y n=2*.

En el Periodo VII se obtiene una mayor ASR (310 ± 24 mg DQO-H₂S/g SSV*d) con un THR de 8 h y una concentración de TCE de 300 µM, incluso es mayor a lo obtenido en el Periodo VI. Estos valores no se pueden comparar porque no hay reportes de ASR obtenidos en presencia de contaminantes.

El Periodo VIII se obtiene una ASR mayor (248 ± 22 mg DQO-H₂S/g SSV*d) que la obtenida en el Periodo VI (188 ± 50 mg DQO-H₂S/g SSV*d), de igual manera, este valor es único ya que corresponde a la fase de “re-adaptación” de los microorganismos cultivados en el reactor usando como inóculo un sedimento de ventilas hidrotermales.

La ASR obtenida en el Periodo VII y VIII no se comparó con la literatura científica ya que no se encontraron reportes en los cuales se obtenga ASR con TCE y después de que el inóculo estuvo en contacto con algún contaminante.

Los resultados de la pruebas de ASR muestran que se obtiene un valor más alto de actividad con TCE presente en el reactor y un THR de 8 h. Se obtuvo un incremento en la biomasa de 41 g SSV/g sedimento húmedo (117 g SSV) para el reactor UASB.

8 CONCLUSIONES

8.1 Elaboración de experimentos de microcosmos para la sulfato reducción y biodegradación de TCE a 37°C.

- ❖ La reducción de sulfato se llevó a cabo en el consorcio de microorganismos cultivados de los sedimentos marinos para los experimentos de microcosmos en los que se utilizó lactato y AGV's como sustrato.
- ❖ La degradación de TCE se llevó a cabo en los experimentos de microcosmos que utilizaron lactato (90% al día 15) y AGV's como donador de electrones (70% al día 5).
- ❖ La degradación de TCE para ambos donadores de electrones utilizados (lactato y AGV's) fue favorecida en poco tiempo comparada con otros trabajos obteniendo como producto final eteno.
- ❖ En la degradación de TCE solo cloruro de vinilo se obtuvo en bajas concentraciones (3 μM) (contaminante más tóxico que el TCE).
- ❖ La reducción de bajas concentraciones de SO_4^{-2} en presencia de TCE se vio inhibida en los experimentos de microcosmos sugiriendo la posibilidad de que los microorganismos hayan tomado al TCE como el único aceptor de electrones.
- ❖ La SR y la degradación de TCE en experimentos en microcosmos operados en lote a una temperatura mesofílica, se puede llevar a cabo utilizando diferentes sustratos y sedimento marino como inóculo, obteniendo bajas concentraciones de metabolitos más tóxicos (CV) que el TCE.

8.2 Establecimiento de sulfato reducción (SR) en el reactor UASB.

- ❖ La relación DQO/ SO_4^{-2} que es de 0.25 favoreció la presencia de BSR.
- ❖ Las condiciones de operación para el reactor UASB durante los primeros cinco periodos permitieron la producción de H_2S en la fase líquida y gaseosa obteniendo mayor producción en el periodo V.
- ❖ El mayor porcentaje de conversión de SO_4^{-2} a H_2S se alcanzó en el periodo cinco en el cual se obtuvo un 70% de la concentración inicial de SO_4^{-2} como H_2S .

- ❖ Las concentraciones de H₂S producidas durante los cinco primeros periodos no fueron tóxicas para los microorganismos que llevaron a cabo la SR.
- ❖ El pH en el reactor se mantuvo dentro del intervalo que favorece la actividad de las BSR en los primeros cinco periodos.

En esta etapa se demostró que las condiciones de operación impuestas al reactor UASB inoculado con sedimento marino durante 309 días permitieron el desarrollo de microorganismos que redujeron el SO₄⁻² a H₂S y consumieron el sustrato.

8.3 Cinética de reducción de sulfato y consumo de sustrato en el reactor UASB

- ❖ En el periodo VI, la reducción de SO₄⁻² fue de 98% y se llevó a cabo en las primeras cuatro horas posteriores a la adición de SO₄⁻² (4000 mg/L).
- ❖ La conversión de SO₄⁻² a H₂S en el periodo VI alcanzó un 30% de la concentración inicial de SO₄⁻² después de 12 h.
- ❖ El consumo de sustrato en el periodo VI fue de un 70% después de 12 h, esto se debe a la formación de biopelícula en el reactor.
- ❖ Después de un periodo de aclimatación y enriquecimiento del inóculo en el reactor UASB con SO₄⁻² la velocidad de reducción de SO₄⁻² se incrementó.

8.4 Degradación de TCE en el reactor UASB bajo condiciones SR

- ❖ En el periodo VII la SR no se vio afectada por la presencia de TCE.
- ❖ La producción de H₂S y de gas en presencia de TCE disminuyó en un 15 y 50 % respectivamente (Periodo VII).
- ❖ En el periodo VII la degradación de TCE se vio favorecida para las concentraciones iniciales del compuesto clorado y los diferentes THR's propuestos.
- ❖ La mayor degradación de TCE en el reactor UASB tuvo lugar en los THR's de 8 y 12 h usando concentraciones de 250 y 300 µM, en un 77 y 74 % respectivamente.

- ❖ La biodegradación de TCE a metabolitos menos tóxicos se puede llevar a cabo bajo condiciones SR sin que se vea inhibida por la presencia del compuesto clorado en un reactor UASB.

8.5 Cinética de reducción de sulfato y consumo de sustrato en el reactor UASB después de la presencia de TCE

- ❖ La SR y la producción de H_2S posteriores a la adición de TCE no se vieron inhibidas (Periodo VIII).
- ❖ El porcentaje de consumo de sustrato obtenido después de la adición de TCE y analizado durante 12 h fue de 70% (Periodo VIII).
- ❖ Después de que el inóculo estuvo en contacto con el TCE, la SR no se inhibió en el reactor UASB.

8.6 Actividad específica sulfato reductora

- ❖ La proliferación de BSR se comprueba con el resultado obtenido de la ASR para el periodo VI (188 mg DQO- H_2S /g SSV*d).
- ❖ La ASR no se vio inhibida en presencia de TCE, para las dos concentraciones y los tres diferentes THR's (310 mg DQO- H_2S /g SSV*d).
- ❖ En el periodo VIII (o de recuperación) cuando el reactor UASB estaba libre de TCE la ASR incrementó (248 mg DQO- H_2S /g SSV*d).

8.7 Conclusión General

Las condiciones de operación impuestas para la operación de reactor UASB durante los ocho periodos indican el desarrollo de BSR capaces de soportar la presencia de TCE, y al mismo tiempo llevar a cabo la SR y producción de H_2S , lo cual se reflejó en los valores obtenidos de la ASR en los diferentes periodos (VI, VII y VIII). Finalmente, se puede afirmar que en el presente trabajo fue posible el desarrollo de biomasa sulfato reductora, la producción de sulfuro y llevar a cabo la biodegradación de TCE al mismo tiempo durante la operación del reactor anaerobio de tipo UASB inoculado con sedimento marino de ventilas hidrotermales, y que los objetivos planteados para dicho trabajo fueron cumplidos satisfactoriamente.

9 RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS PARA TRABAJOS FUTUROS

- ❖ Establecer un método analítico para la determinación de intermediarios de la SR.
- ❖ Determinar el consumo detallado de cada AGV's por medio de un método cromatográfico.
- ❖ Determinar la producción de eteno previo a la adición de TCE.
- ❖ Probar diferentes tipos de sustrato como el ácido butírico con varias concentraciones de SO_4^{-2} y diferentes THR's.
- ❖ Probar diferentes concentraciones de SO_4^{-2} y sustrato con diferentes THR's, con el objetivo de establecer el menor tiempo posible para la reducción de SO_4^{-2} , consumo de sustrato y producción de H_2S .
- ❖ Establecer las mejores condiciones de SR, consumo de sustrato y producción de H_2S , para operar el reactor en continuo.
- ❖ Utilizar concentraciones iniciales de TCE más elevadas que las propuestas en el presente trabajo, con el objetivo de conocer si la comunidad microbiana presente en el reactor es capaz de biodegradar dicho compuesto sin la presencia de metabolitos más tóxicos que el TCE.
- ❖ Operar el reactor en estado continuo para la biodegradación de TCE.
- ❖ Utilizar el reactor UASB con el inóculo empleado en el presente trabajo bajo condiciones SR para la biodegradación de diferentes contaminantes o la precipitación de metales pesados que comúnmente se encuentran en corrientes de agua residual de tipo industrial, en estado pseudo-estacionario y continuo.
- ❖ Alimentar el reactor UASB con una corriente real de agua residual de tipo industrial que contenga SO_4^{-2} , compuestos orgánicos y diversos contaminantes para probar la eficiencia de reducción, consumo y biodegradación o precipitación de estos compuestos.
- ❖ Evitar el lavado de la biomasa del reactor a partir de enriquecimiento constante de sedimento marino.

10 GLOSARIO

Aceptor de electrones: Compuesto que en una reacción de oxidación-reducción, es el compuesto que acepta los electrones de la oxidación del sustrato primario. Algunos aceptores comúnmente usados son el O_2 , NO_3 y SO_4^{2-} .

Biodegradación: Transformación catalizada biológicamente de un compuesto a formas más simples.

Biotransformación: Transformación del contaminante por un proceso biológico

Cometabolismo: Transformación biológica de un compuesto que no sirve como fuente primaria de carbono y energía.

Degradación: Transformación que se puede dar por procesos físicos o catalizada por compuestos químicos de compuestos a formas más simples.

Donador de electrones: Compuesto que en una reacción de oxidación-reducción es el compuesto que dona electrones (compuesto que se oxida), típicamente es un compuesto orgánico (sustrato primario) como ácidos grasos volátiles.

Estado en lote: Es un estado cerrado, no existen corrientes de entrada ni de salida para el medio de cultivo que se encuentra dentro de un biorreactor.

Estado en lote alimentado: Cuando el biorreactor se opera bajo este estado existe una corriente de entrada de medio de cultivo fresco y estéril sin que exista una corriente de salida.

Estado en continuo: Existe una corriente de entrada de medio de cultivo fresco y estéril y una corriente de salida del medio fermentado, con la característica de que el valor del flujo de ambas corrientes es el mismo y así, el volumen del medio de cultivo permanece constante.

Estado pseudo-estacionario: Se refiere en un parámetro en específico el cual presenta variaciones en función de las necesidades de la comunidad microbiana presente en el biorreactor, mientras que los otros se mantienen constantes

Fermentación: Es todo aquel proceso a través del cual, algún microorganismo, transforma una materia prima orgánica en un producto de interés industrial.

Mineralización: Transformación biológica de un compuesto orgánico a formas minerales.

Respiración anaerobia: Microorganismos que en su metabolismo utilizan otro aceptor de electrones en lugar del oxígeno. Por ejemplo: nitrato, SO_4^{-2} y CO_2 (reacciones anóxicas o anaerobias).

11 REFERENCIA

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry ToxFAQs September 1997.
- Alves, L. C., Henrique, H.M., Alcina, M.F.X y Cammarota ,M. C (2005). Potential treatment alternative for laboratory effluents. *Bioresource Technology* 96: 1650-1657.
- APHA, AWWA, WCF. (1992). Standard methods for examination of water and wastewater. 18th Ed. Washington, DC, USA.
- Archilha, N. (2010). Effecto of feeding strategy and COD/sulfate ratio on the removal of sulfate in an ABSSRB with recirculation of the liquid phase. *Journal of Environmental Management* 91: 1756-1765.
- Basu, D. (2010). Biodegradation of 1,1,2,2-tetrachloroethane in Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor. *Bioresource Technology* 101: 21-25.
- Bath, P. (2008). Enhanced biodegradation of hexachlorocyclohexane in upflow anaerobic sludge blanket reactor using methanol as an electron donor. *Bioresource Technology* 99: 2594-2602.
- Bayrakdar, A., Murat Gungor, E.S., Sinan Uyanik, A. y Atasoy, D. (2009). Performance of sulfidogenic anaerobic baffled reactor (ABR) treating acidic and zinc-containing wastewater. *Bioresource Technology* 100: 4354-4360.
- Bonet R., Simon M. D., Congregado F. (1993). Effects of nutrients on exopolysaccharide production and surface properties of *Aeromonas salmonicida*. *Appl. and Environ. Microbiol.* 59: 2437-2441.
- Bowman, K.S., Brian, A.R., Hee-Sung, B. y Rainey, F.A. (2006). Bacterial diversity of an acidic Louisiana groundwater contaminated by dense nonaqueous-phase liquid containing chloroethanes and other solvents *FEMS Microbiology Ecology*.
- Buzzini, A.P., Varesche, M.B. y Pires E.C. (2006). Evaluation of the microbial diversity in an UASB reactor treating wastewater from an unbleached pulp plant. *Process Biochemistry* 41: 168-176.
- Briones, A.M.B., Angenent, L.T., Rausch, K., Tumbleson, M. y Raskin, L. (2009). Characterization of microbial trophic structures of two anaerobic bioreactors processing sulfate-rich waste streams. *Water Research* 43: 4451-4460

- Celis-Gracia, L.B. y Monroy O. (2007). Performance of a down-flown fluidized bed reactor under sulphate reducing conditions using volatile fatty acids as electron donors. *Biotechnol Bioeng* 97: 771-779.
- Colleran, E., Fihnergan, S. y Lens, P.N.L. (1995). Anaerobic treatment of sulphate-containing waster streams. Department of Microbiology, University College, Galway, Republic of Irland, Ireland
- Colleran, E., Fihnergan, S. y O`Keeffe, R.B. (1994). Anaerobic digestion of high sulphate-containing wastewater from the industrial production of citric acid. In 7th International Symposium on Anaerobic Digestion: oral papers (pp 160-169) RSA (Litho) Ltd., Goodwood, South Africa
- Dries, J., Lode Goethals, A.D.S., Grootaerd, H. y Verstraete, W. (1998). High rate biological treatment of sulfate-rich wastewater in an acetate-fed EGSB reactor *Biodegradation* 9: 103–111.
- Drzyzga, O., Gerritse, J., Dijk, J.A., Elissen, H. y Gottschal, J.C. (2001) Coexistence of sulphate-reducing *Desulfovibrio* species and the dehalorespiring *Desulfitobacterium frappieri* TCE1 in defined chemostat cultures grown with various combinations of sulphate and tetrachloroethene. *Environ Microbiol* 3(2): 92–99.
- Elshahed, M.S., Najar, F.Z., Kenton, S.M., Roe, B.A., Dewers, T.A., Spear, J.R. y Krumholz L.R. (2003). Bacterial Diversity and Sulfur Cycling in a Mesophilic Sulfide-Rich Spring. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 5609-5621.
- Elsgaard, L., Barker, B.J., Alayse, A-M. y Jannasch, H.W. (1994). Microbial sulfate reduction in deep-sea sediments at the Guaymas Basin hydrothermal vent area: Influence of temperature and substrates. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58: 3335-3343.
- Elsgaard, L. y Prieur, D. (1995). Mesophilic sulfate- reducing bacteria from three-deep sea hidrothermal vent sites. *Oceanologia Acta* 8: 95-104.
- EPA (2000) Engineered Approaches to In Situ Bioremediation of Chlorinated Solvents: Fundamentals and Field Applications. U.S. Environmental Protection Agency.

- EPA (2005) In Situ Thermal Treatment of Chlorinated Solvents. Fundamental and Field Applications. U.S. Environmental Protection Agency Office of Solid Waste and Emergency Response Office of Superfund Remediation and Technology Innovation Washington, DC.
- Esposito, G., Weijma, J., Pirozzi, F. y Lens, P.N.L. (2003). Effect of the sludge retention time on H₂ utilization in a sulphate reducing gas-lift reactor. *Process Biochemistry* 39: 491-498.
- Freedman, D. L., A. S. Danko, and M. F. Verce. (2001). Substrate interactions during aerobic biodegradation of methane, ethene, vinyl chloride and 1,2-dichloroethenes. *Water Science and Technology* 43:333-340.
- Freedman, D. L., and S. D. Herz. (1996). Use of ethylene and ethane as primary substrates for aerobic cometabolism of vinyl chloride. *Water Environment Research* 68:320-328.
- Gallegos-García, M. (2009). Procesos biológicos de sulfato reducción en biopelículas para la precipitación de metales. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica Posgrado en Ciencias Aplicadas: Doctorado en Ciencias Aplicadas.
- Guerrero-Barajas C. y García-Peña, E.I. (2010). Evaluation of enrichments of sulfate reducing bacteria from pristine hydrothermal vents sediments as potential inoculum for reducing trichloroethylene. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26(1): 21-32
- Guerrero-Barajas, C., Garibay-Orijel, C. y Rosas-Rocha, Lilia E (2011). Sulfate reduction and trichloroethylene biodegradation by a marine microbial community from hydrothermal vents sediments. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 65 (1): 116-123
- Guiot, S.R., Pass, A., Costerton, J.W. (1992). A structured model of the anaerobic granule consortium. *Wat. Sci. Technol.*, 25: 1-10.
- Gutierrez, O., Keshab Raj, S. y Yuan, Z. (2009). Effects of long-term pH elevation on the sulfate-reducing and methanogenic activities of anaerobic sewer biofilms. *Water Research* 43: 2549-2557.
- Harayama, S. (2009). Microbial communities in oil-contaminated seawater. *Current Opinion in Biotechnology* 15: 205–214.

- Hollingsworth, J., Michael Zhou, R.S-A., Kimberly, L.O. y Field, J.A. (2005). Anaerobic biodegradability and methanogenic toxicity of key constituents in copper chemical mechanical planarization effluents of the semiconductor industry. *Chemosphere* 59: 1219-1228.
- Hulshoff Pol, L.W., Lens, P.N.L., Stams, J.M. y Lettinga, G. (1998). Anaerobic treatment of sulphate- rich wastewaters. University P.O. The Netherlands.
- Jong, T. (2006). Microbial sulfate reduction under sequentially acidic conditions in a upflow anaerobic packed bed bioreactor. *WatertRes* 40: 2561-2567.
- Kaksonen, A.H., Puhakka, J.A. (2003). Performance and ethanol oxidation kinetics of sulfate-reducing fluidized bed reactor treating acid metal containing wastewater. *Biodegradation* 14: 207-217.
- Kaksonen, A.H., Franzmann, P.D. y Puhakka, J.A (2004). Effect of hydraulic retention time and toxic on ethanol and acetate oxidation in sulphate-reducing metal-precipitating fluidized bed reactor. *Biotechnol Bioeng* 86: 333-342.
- Kaksonen, A.H., Robertson, W.J., Riekkola-Vanhanen, M., Franzmann, P.D. y Puhakka J.A. (2006). The performance, kinetics and microbiology of sulfidogenic fluidized-bed treatment of acidic metal- and sulfate-containing wastewater. *Hydrometallurgy* 83: 204-213.
- Kaksonen, A.H. y Puhaka, J.A. (2007). Sulfate reduction based bioprocesses for the treatment of acid mine drainage and the recovery of metals. *Eng life Sci* 7: 541-564.
- Lens, P.N.L., Viser, A., Janssen, A.J.H., Hulshoff Pol, L.W. y Lettinga, G. (1998). Biotechnological treatment of sulfate rich wastewaters. *Crit. Rev. Environm. Sci. & Technol.*, 28 (1): 41-88
- Lens, P.N.L., Esposito, G. y Zandvoort, M. (2002). Perspectives of sulfate reducing bioreactors in environmental biotechnology. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology* 1: 311-325.
- Lens, P.N.L., Van-Lier, J.B., Lettinga, G. (2003). Effect of specific gas loading rate on thermophilic (55°C) acidifying (pH 6) and sulfate reducing granular sludge reactors. *Water Research* 37: 1033-1047.

- Lettinga G., Hobman S., Zeeuw W., Klapwijk, W., Briones, A.M.B., Angenent, L.T., Rausch, K., Tumbleson, M. y Raskin, L. (1980). Use of upflow sludge blanket reactor concept for biological wastewater treatment especially for anaerobic treatment. *Biotechnol Bioeng* 22: 699-734.
- Liamleam,W. (2007). Lead removal through biological sulfate reduction process. *Bioresource Technology* 98: 2538-2548.
- Lombardero, J.L. (2008). Manual para la formación en medio ambiente. 1° edición. España: Editorial LEX Nov S.A. pag 221-235.
- Lopes, S.I.C., Capela, M.I. y Lens., P.N.L. (2007). Effect of COD/SO₄⁻² ratio and sulfide on thermophilic (55°C) sulfate reduction during the acidification of sucrose at pH 6. *Water Research* 41: 2379-2392.
- Majumder, P.S. (2007). Removal of chlorophenols in sequential anaerobic–aerobic reactors. *Bioresource Technology* 98: 118-129.
- Majumder,P.S. (2008). Effect of carbon sources and shock loading on the removal of chlorophenols in sequential anaerobic–aerobic reactors. *Bioresource Technology* 99: 2930-2937.
- Moosa, S. y Nemati, M. (2002). Harrison, A kinetic study on aerobic reduction of sulphate. Part I: Effect of sulphate concentration, *Chem. Eng. Sci.* 57: 2773–2780.
- Nagpal, S., Chuichulcherm, S., Peeva, L. y Livingston A. (2000), Microbial sulfate reduction in a liquid–solid fluidized bed reactor, *Biotechnol. Bioeng.* 70: 370–380.
- Norma Técnica Mexicana-NMX-AA-084-1982. Análisis de agua, determinación de sulfuros, Dirección general de normas
- Ohlen, k., Chang, Y.K., Hegemann, W., Yin, C.-R. y Lee, S.-T. (2005). Enhanced degradation of chlorinated ethylenes in groundwater from a paint contaminated site by two-stage fluidized-bed reactor. *Chemosphere* 58: 373-377.
- Oleszkiewics, J.A., Marstaller, T., Carhey, D.M (1989).Effect of pH on sulfide toxicity to anaerobic processes. *Environ Technol* 10: 815
- Omil, F., Elferink, S.J., Lens, P.N.L., Hulshoff Pol, L.W. y Lettinga, G. (1997a). Effect of the inoculation with *desulforhabdus amnigenus* and pH or O₂ shocks on the competition.

- Omil, F., Lens, P.N.L., Hulshoff Pol, L.W. y Lettinga, G. (1996). Effect of upward velocity and sulfide concentration on volatile fatty acid degradation in sulphidogenic granular sludge reactor, *Process Biochem.*, 31: 699-710.
- Organización Mundial de la Salud (2005).
- Oude-Elferink, S.J., Visser, A. y Hulshoff Pol, L.W. (1994). Sulphate reduction in methanogenic bioreactor. *FEMS Microbio Rev* 15: 119-136
- Pavlostathis, S.G., y Zhuang, P. (1991). Transformation of Trichloroethylene by sulfate-reducing cultures enriched from a Contaminated Subsurface Soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 36 (3): 416-420
- Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-XXXX, Agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad del agua, control y vigilancia de los sistemas de abastecimiento.
- Puyol, D., Mohedano, A.F., Sanz, J.L. y Rodríguez, J. J. (2009) Comparison of UASB and EGSB performance on the anaerobic biodegradation of 2,4-dichlorophenol *Chemosphere* 76: 1192–1198
- Reis, M.A., Almeida, J.S., Lemos, P.C. y Carrondo, M.J.T. (1992). Effect of hydrogen sulfide on the growth of sulfate reducing bacteria. *Biotechnol Bioeng* 40(5):593–600.
- Révész, S., Sipos, R., Kende, A., Rikker T., Romsics, C., Mészáros, É., Mohr, A., Táncsics, A. y Márialigeti, K. (2006). Bacterial community changes in TCE biodegradation detected in microcosm experiments. Department of Microbiology Eötvös Lorand University.
- Rittmann, B.E. y McCarty, P.L. (2001). *Environmental Biotechnology. Principles and Applications*. Estados Unidos de América: Editorial McGraw-Hill. pag 128-155.
- Sans-Fronfría, R. y Ribas, J.-P. (1999). *Ingeniería ambiental, contaminación y tratamientos*. 1º edición. España: Editorial Marcombo S.A. pag 112-115.
- Sanz, J.L., Culubret, E., Ferrer, J., Moreno, A. y Berna, J.L. (2003). Anaerobic biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors *Biodegradation* 14: 57–64.
- Secretaría del medio ambiente (2008).
- Secretaría de medio ambiente y recursos naturales (2003, 2006 y 2008).

- Seoáñez-Calvo, M. (2004). Depuración de las aguas residuales por tecnologías ecológicas y de bajo costo. 1° edición. España: Editorial Mundi prensa libros. pag 243-248.
- Sponza, D.T. (2001). Rapid granulation and sludge retention for tetrachloroethylene removal in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. Environmental Engineering Department, Engineering Faculty, Dokuz Eylül University, Buca Kaynaklar Campus, Izmir, Turkey
- Sponza, D. T. (2003). Enhancement of granule formation and sludge retainment for tetrachloroethylene (TCE) removal in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Advances in Environmental Research* 7: 453-462.
- Sponza, D.T. (2006). Anaerobic granule formation and tetrachloroethylene (TCE) removal in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. Environmental Engineering Department, Engineering Faculty, Dokuz Eylül University, Buca Kaynaklar Campus, Izmir, Turkey
- Sponza, D.T. (2005). Treatment of trichlorotoluene in an anaerobic/aerobic sequential reactor system. *Process Biochemistry* 40: 69-82.
- Tang, K. y Mehdi Nemati, V.B. (2009). Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal* 44: 73-94.
- Thabet, D. O. B., Bouallagui, H., Cayol, J.L., Ollivier, B., Fardeaub, M.-L. y Hamdia, M. (2009). Anaerobic degradation of landfill leachate using an upflow anaerobic fixed-bed reactor with microbial sulfate reduction. *Journal of Hazardous Materials* 167: 1133-1140.
- Trueper, H. G. an Schlegel, H. G., *Antonie van Leeuwenhoek* 30: 225-238 (1964), NEN 3235.8.3
- Van Houten, R.T., Yun, S.Y. y Lettinga, G. (1997). Thermophilic sulphate and sulphite reduction in lab-scale gas-lift reactors using H₂ and CO₂ as energy and carbon source. *Biotechnol Bioeng* 55(5):807–814.
- Visser, A., Gao, Y. y Lettinga, G.(1993) Effects of short-term temperature increases on the mesophilic anaerobic breakdown of sulfate containing synthetic wastewater. *Wat. Sci. Tech.*, 27 (4): 541-550.

- Visser, A., Beeksmá, I., Van der Zee, F., Stams, A.J.M. y Lettinga, G. (1993c). Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulfate concentrations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 40: 549-556.
- Visser, A. (1995). The anaerobic treatment of sulfate containing wastewater. Tesis doctoral wegeningen Agricultura University Holanda.
- Wang, A., Rena, N., Wang, X. y Lee, D. (2008). Enhanced sulfate reduction with acidogenic sulfate-reducing bacteria. *Journal of Hazardous Materials* 154: 1060–1065
- Weber, A. y Jørgensen, B. B. (2002) Bacterial sulfate reduction in hydrothermal sediments of the Guaymas Basin, Gulf of California, Mexico *Deep-Sea Research I* 49: 827–841
- Yoda, M., Kitagawa, M. y Miyaji, Y (1987). Long term competition between sulphate-reducing and methane-producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm. *Wat. Sci. Tech.*, 21 (12): 1547-1556
- Zeynep, C., Kasapgil, B. Mustafa, K. y Orhan, I. (2009). Biogeographical distribution and diversity of bacterial and archaeal communities within highly polluted anoxic marine sediments from the marmara sea *Marine Pollution Bulletin* 58: 384–395

ANEXO I.

Balances de materia del aceptor (SO_4^{-2}) y el donador (AGV's) de electrones.

El balance de materia se calculó a partir de la concentración inicial de sulfato y la concentración de cada ácido (acético, propiónico y butírico) contenidos en la alimentación del reactor, en el balance se toma en cuenta la biomasa (Rittmann y McCarty, 2001).

Acetato

Balance Global

$$\begin{array}{rcll} - & \cancel{m} & \longrightarrow & \cancel{m} & \cancel{m} & \cancel{m} & \cancel{m} & \cancel{m} & \text{Células} \\ - & \cancel{m} & \longrightarrow & \cancel{m} & \cancel{m} & & & & \text{Donador} \\ - & \cancel{m} & \cancel{m} & \longrightarrow & \cancel{m} & \cancel{m} & \cancel{m} & & \text{Aceptor} \\ \hline - & - & - & - & - & - & - & - & \dots [12.1] \end{array}$$

Si se desean procesar 4 g/L (4000 mg/L) de SO_4^{-2} , cuantos g/L de acetato se requieren.

Según la ecuación 12.1 -

$$- \quad \frac{\quad}{\quad} \quad - \quad \dots [12.2]$$

$$- \quad \frac{\quad}{\quad} \quad - \quad \dots [12.3]$$

Interpretando la ecuación 12.2 y 12.3 tenemos que:

12 g

Por lo tanto los g/L de acetato necesarios para que reaccionen 4 g/L (4000 mg/L) de SO_4^{-2} se calculan de la siguiente manera:

$$4 \text{ g/L de } \text{SO}_4^{-2} \text{ reaccionan con } \frac{12 \text{ g acetato}}{4000 \text{ mg/L}} \text{ para producir } \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 \text{ [12.4]}$$

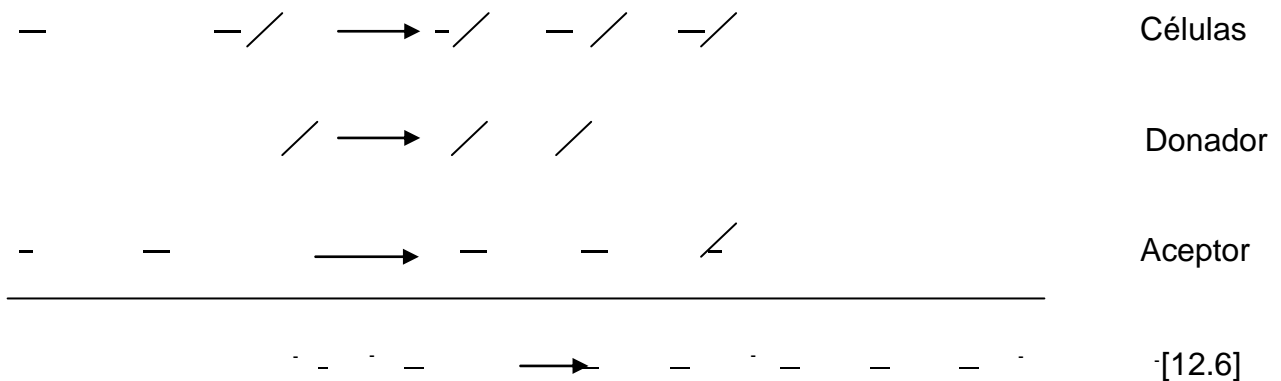
De acuerdo a lo alimentado de AGV's, en un 1 g DQO/L hay 312.48 mg/L de acetato, por lo tanto el balance tomando en cuenta la ecuación 12.4 y la cantidad de acetato alimentada se expresa de la siguiente manera:

¿Cuántos g/L de SO_4^{-2} se requieren para que reaccionen 0.31248 g/L de acetato?

$$0.3124 \text{ g/L acetato reaccionan con } \frac{4000 \text{ mg/L SO}_4^{-2}}{12 \text{ g acetato}} \text{ [12.5]}$$

Propionato

Balance Global



Si se desean procesar 4 g/L (4000mg/L) de SO_4^{-2} , cuantos g/L de propionato se requieren:



Si se desean procesar 4 g/L (4000mg/L) de SO_4^{-2} , cuantos g/L de butirato se requieren:

Según la ecuación 12.11 – reaccionan con 1 g mol de butirato.



Interpretando la ecuación 12.12 y 12.13 tenemos

Reaccionan con

Por lo tanto los g/L de butirato necesarios para que reaccionen 4 g/L de SO_4^{-2} se calculan de la siguiente manera:



De acuerdo a lo alimentado de AGV's, en un 1 g DQO/L hay 183.3 mg/L de butirato, por lo tanto el balance tomando en cuenta la ecuación 12.14 y la cantidad de butirato alimentada se expresa de la siguiente manera:

¿Cuántos g/L de SO_4^{-2} se requieren para que reaccionen 0.1833 g/L de butirato?



Y es así como se pueden calcular los coeficientes.

ANEXO II

Cromatogramas

En la Figura 12.1 se presenta un cromatograma el cual indica la presencia de TCE y los metabolitos presentes en la biodegradación del mismo, los cuales se separaron de acuerdo al punto de ebullición de cada uno. En la sección de Metodología se explicó a detalle la rampa de temperatura que se utilizó en el cromatógrafo de gases para la determinación de los diferentes intermediarios identificados durante la biodegradación de TCE.

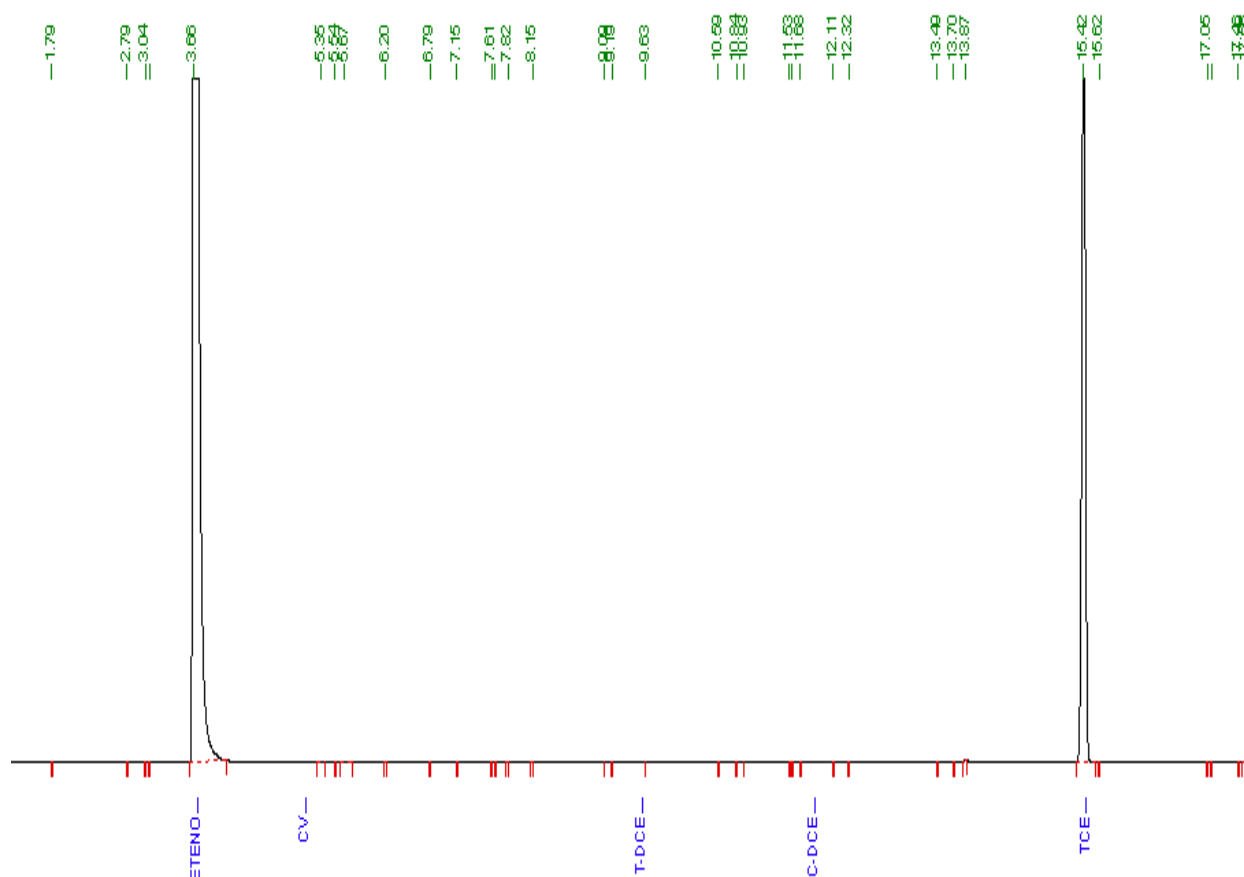


Figura 12.1. Perfil cromatográfico de la biodegradación de TCE y los intermediarios presentes.

En los primeros días de operación del reactor UASB se determinó la degradación individual de los ácidos grasos volátiles (acético, propiónico, butírico), por medio de cromatografía líquida (HPLC) y de gases (cromatógrafo de gases TCD), con el fin de conocer cuál era el ácido preferido por los microorganismos presentes en el reactor. Los resultados arrojados por estas pruebas preliminares indicaron que el acetato es que consumen en su totalidad, seguido por el butírico y el propiónico es el ácido menos degradado por los microorganismos. Algunos de los productos de la fermentación que se pudieron identificar en estos análisis preliminares fueron acetona, metanol, etanol y butanol como lo muestra la Figura 12.2.

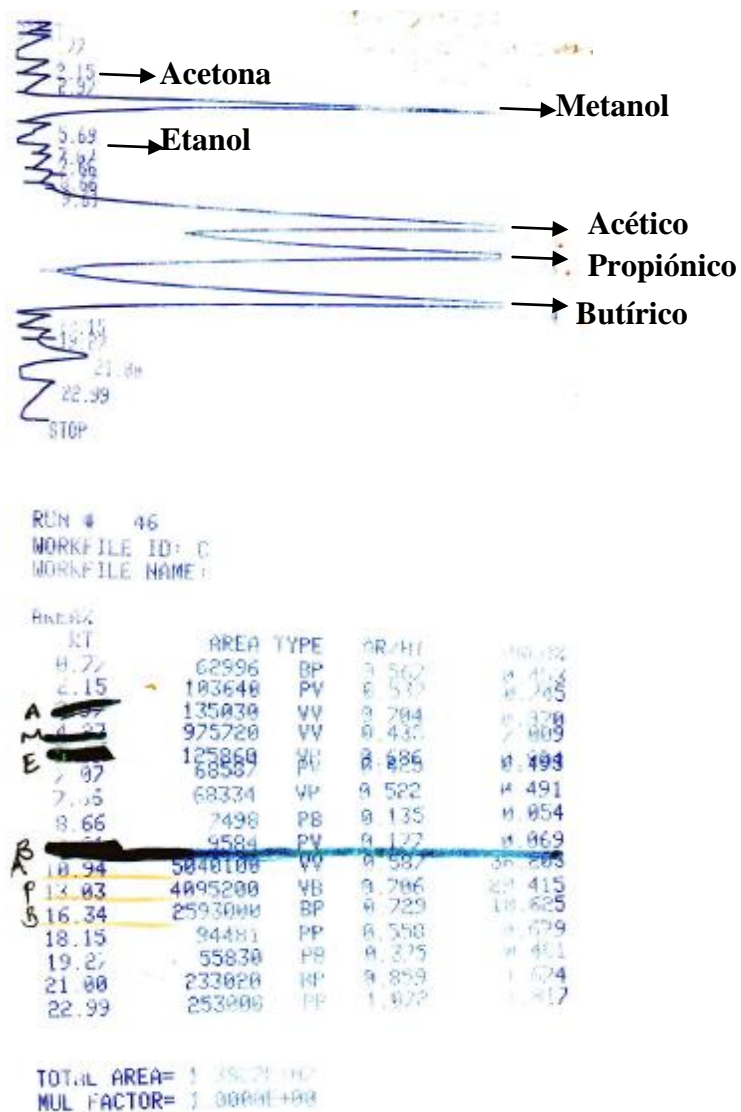


Figura 12.2. Presencia de productos en la fermentación del reactor UASB