



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Universidad Nacional Autónoma de México

**PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN
INGENIERIA**

INSTITUTO DE INGENIERÍA

**Cinética de la sulfato reducción y la sulfuro oxidación biológica en un
proceso en lote**

T E S I S

QUE PARA OBTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERIA

ING. AMBIENTAL - AGUA

P R E S E N T A :

Jaime González Martínez

TUTOR:

Dr. Germán Buitrón Méndez



**INSTITUTO
DE INGENIERÍA
UNAM**

2008

JURADO ASIGNADO:

Presidente: Dra. Mónica Meraz Rodríguez

Secretario: Dra. Georgina Fernández Villagómez

Vocal: Dr. Germán Buitrón Méndez

1er Suplente: Dr. Alfonso Durán Moreno

2do Suplente: Dr. Oscar González Barceló

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

Instituto de Ingeniería, UNAM, Coordinación de Bioprocesos Ambientales

Instituto de Ingeniería, Campus Juriquilla-UNAM, Juriquilla, Querétaro

TUTOR DE TESIS:

NOMBRE

Dr. Germán Buitrón Méndez

FIRMA

Agradecimiento:

A mis **miembros del jurado** por sus útiles correcciones y sugerencias en el escrito de este trabajo, especialmente a la Dra. Mónica Meraz Rodríguez y a la Dra. Georgina Fernández Villagómez por su gran atención y sinceridad.

Al **Dr. Germán Buitrón Méndez** por su atención y confianza.

A la **M. en C. Gloria Moreno Rodríguez** y al **M. en B. Jaime Pérez Trevilla** por su apoyo técnico.

Al **Dr. Alejandro Vargas Casillas** por su tiempo y valiosa atención para la parte de simulación y modelado. Así como al **Dr. Jaime Alberto Moreno** y al **M. en I. Lenin Ruiz Mejía** por su orientación y apoyo en la modelación

Al **M. en C. Francisco Torner Morales** por toda su entrega y profesionalismo en el laboratorio, así como por su revisión y enriquecimiento de este trabajo

A mis padres y hermanos:

Que me brindaron su apoyo y consejos, y en los momentos más difíciles me alentaron a seguir adelante. **¡Gracias!**

Mis compañeros y amigos:

A Nancy (La conse) que llego a ser alguien especial en mi vida, por esa amistad y ese compañerismo en noches de desvelo en tiempos de entrega de tutorales, por esos detalles tan significantes que mostró y por esas invitaciones a los tacos.

A Marianita, mi marianita!!!, por sus consejos siempre sabios y todo su apoyo en momentos difíciles, además por su mensaje del Messenger “James; gracias por tu sincera amistad”.

A Gastón (**mi compadre**) por todo ese apoyo y compañía en todo momento y sobre todo en esas noches de desvelo, y por tener siempre una mano amiga cuando la he necesitado.

A Selenita por esos consejos y esas horas de platica que fueron clave, pero siendo lo mejor esa agradable risa.

A Torner por su sincera amistad, compañerismo y confianza.

A Caro (La dura) por su gran compañerismo y apoyo, y **por ser lo máximo**, pero sobre todo por ese “¡Eres lo máximo James!”.

A Dorian Prato por su amistad y compañerismos y por sus agradables platicas.

A Toñito B., por esa gran amistad y compañerismo.

A Gloria M. por su confianza y sus consejos tan sabios y por esa amistad, así como la atención tan personal que tuvo hacia el grupo “**Azufres**”, pero sobre todo por sus mejores deseos para mi persona.

Y a todos aquellos que se me quedaron en el tintero, muchas gracias.

Pero sin olvidar a todas aquellas personas, **mi gente**, que me han apoyado a lograr todo

lo que me he propuesto, **Merci.**

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
Resumen	viii
Abstract	ix
Nomenclatura.....	x
Capítulo 1. Antecedentes	1
1.1. Contaminación con compuestos azufrados.....	2
<i>1.1.1. Características y efectos de la contaminación del agua por sulfatos.....</i>	<i>4</i>
1. 2. Utilización de sustrato en condiciones anaerobias ricas en sulfato.....	6
<i>1.2.1. Toxicidad.....</i>	<i>7</i>
1.3. Ciclo del azufre	10
<i>1.3.1. Rendimiento energético de la reducción de sulfato.....</i>	<i>12</i>
<i>1.3.2. Rendimiento energético de la oxidación del azufre.....</i>	<i>15</i>
1.4. Biorreactores.....	18
<i>1.4.1. Reactor Discontinuo Secuencial (Sequencing Batch Reactor, SBR).....</i>	<i>19</i>
1.5. Tratamiento de compuestos azufrados	20
<i>1.5.1. Tratamientos físicoquímicos.....</i>	<i>20</i>
<i>1.5.2. Tratamientos biotecnológicos.....</i>	<i>21</i>
1.5.2.1 Potencial redox.....	23
1.6. Modelos matemáticos	27
Capítulo 2. Objetivos y Justificación.....	33
2.1 Objetivo General	34
2.2 Objetivos particulares.....	34
2.3 Justificación.....	34

Capítulo 3. Metodología	35
3.1. Materiales	36
3.1.1. Inóculo	36
3.1.2. Reactor SBR anaerobio.....	36
3.1.3. Reactor SBR aerobio.....	37
3.1.4. Software matemático.....	38
3.2. Métodos.....	38
3.2.1. Técnicas analíticas.....	38
3.2.2. Actividad sulfato reductora.....	41
3.2.2.1. Efecto de la concentración de lactato en la sulfato reducción.....	42
3.2.2.2. Efecto de la concentración de sulfuro y pH en la sulfato reducción	42
3.2.3. Actividad sulfuro oxidante	43
3.2.4. Estrategia de aclimatación de la biomasa.....	43
3.2.4.1. Sulfato reducción	44
3.2.4.2. Sulfuro oxidación.....	46
3.2.5. Parametrización de un modelo matemático para describir el proceso sulfato reductor	47
3.2.6. Validación del modelo matemático.....	50
Capítulo 4. Resultados y Discusión.....	51
4.1. Reactores; Sulfato reductor y Sulfuro oxidante	52
4.2. Actividad sulfato reductora.....	53
4.3. Aclimatación de la biomasa sulfato reductora.....	55
4.3.1. Reactor A: Relación $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$	55
4.3.2. Reactor B: Relación $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro por la acumulación de sulfuro en el reactor por dos semanas	56
4.3.3. Reactor C: Relación $DQO/SO_4^{2-} = 1$	59
4.4. Efecto de la concentración de lactato en la sulfato reducción	63
4.4.1. Relación DQO/SO_4^{2-} de 1.75.....	63
4.4.2. Relación DQO/SO_4^{2-} de 2.....	65
4.4.3. Relación DQO/SO_4^{2-} de 5.6.....	68

4.5. Efecto de la concentración de sulfuro y pH en la sulfato reducción.....	70
4.5.1. <i>Relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....</i>	<i>70</i>
4.5.2. <i>Relación DQO/SO₄²⁻ de 2 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....</i>	<i>73</i>
4.5.3. <i>Relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....</i>	<i>76</i>
4.6. Aclimatación de biomasa sulfuro oxidante.....	78
4.7. Modelado.....	84
Capítulo 5. Conclusiones.....	87
Capítulo 6. Recomendaciones para trabajos futuros.....	90
Referencias bibliográficas.....	92
Publicaciones.....	99
<i>En memorias de congresos internacionales.....</i>	<i>100</i>
<i>En memorias de congresos nacionales.....</i>	<i>100</i>
ANEXOS	101
<i>Anexo 1. Secuencia de ejecución de programa para determinar parámetros y graficar datos experimentales y datos simulados.....</i>	<i>102</i>
<i>Anexo 2. Figuras; datos experimentales y simulaciones.....</i>	<i>106</i>
<i>Anexo 3. Modelado para validación del modelo.....</i>	<i>109</i>
<i>Anexo 4. Figuras; datos experimentales y simulaciones de acuerdo a cinética orden cero.</i>	<i>110</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.1. Formas predominantes de sulfuro a diferentes valores de pH	5
Figura 1.2. Ciclo de oxido reducción del azufre, DMSO, dimetilsulfóxido; DMS, dimetilsulfuro.....	11
Figura 1.3. Bioquímica de la reducción de sulfato esquema de la reducción a) des asimiladora b) asimiladora de sulfato	13
Figura 1.4. Transporte de electrones y conservación de energía en las bacterias sulfato reductoras.	14
Figura 1.5. Diferentes tipos de reactores usados en el tratamiento de aguas residuales; a) Reactor discontinuo secuencial (SBR, Sequencing Batch Reactor), b) Reactor completamente agitado, c) Reactor abierto flujo pistón, d) Reactor cerrado flujo pistón, también conocido como reactor tubular, e) Reactores completamente mezclados en serie, f) Reactor de lecho empacado, g) Reactor empacado de flujo ascendente, h) Reactor de lecho expandido	18
Figura 1.6. Regiones de tolerancia de pH y potencial oxido reducción (E_h) de varias bacterias implicadas en distintos procesos.....	24
Figura 1.7. Variación de la concentración de H_2S y pH a diferentes profundidades de un lago.....	25
Figura 1.8. Diagrama de zonas de predominancia de especies azufradas.....	27
Figura 1.9. Dinámica compleja de reactores anaerobios: Subsistemas presentes y sus interacciones30	30
Figura 3.1. Distribución detallada del sistema experimental sulfato reductor	37
Figura 3.2. Distribución detallada del sistema experimental sulfuro oxidante.....	38
Figura 4.1. Reactor sulfato reductor para la aclimatación.....	52
Figura 4.2. Reactor sulfato reductor para el desarrollo experimental	52
Figura 4.3. Reactor sulfuro oxidante para aclimatación y desarrollo experimental	53
Figura 4.4. Ejemplo de cinética de sulfato reducción con dos velocidades de reducción.....	54
Figura 4.5. Cinética sulfato reductora exploratoria para determinar el tiempo de reacción de las cinéticas posteriores	54
Figura 4.6. Evolución de las actividades de utilización con $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ en reactor (A), tiempo de reacción 48 h	55
Figura 4.7. Incremento en velocidad específica de utilización de sulfato con $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ en reactor (A)	56
Figura 4.8. Evolución de las actividades de utilización con $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro (320 ppm) por la acumulación de sulfuro en el reactor por 2 semanas, en reactor (B), tiempo de reacción 48 h.....	57

Figura 4.9. Incremento en velocidad específica de utilización de sulfato con $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro (320 ppm) por la acumulación de sulfuro en el reactor por 2 semanas, en reactor (B).....	58
Figura 4.10. Cinética 15 de sulfato reducción con $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro (320 ppm) por la acumulación de sulfuro en el reactor por dos semanas, en reactor (B)	59
Figura 4.11. Evolución de las actividades de utilización con $DQO/SO_4^{2-} = 1$ en reactor (C), tiempo de reacción 48 h	60
Figura 4.12. Incremento en velocidad específica de utilización de sulfato con $DQO/SO_4^{2-} = 1$ en reactor (C)	60
Figura 4.13. Cinética 15 de sulfato reducción con $DQO/SO_4^{2-} = 1$, en reactor (C).....	61
Figura 4.14. Comparación de velocidad específica de reducción de sulfato bajo diferentes estrategias de enriquecimiento y aclimatación.....	62
Figura 4.15. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO_4^{2-} de 1.75.	64
Figura 4.16. Seguimiento de pH en cinéticas con una relación DQO/SO_4^{2-} de 1.75	64
Figura 4.17. Seguimiento de ORP en cinéticas con una relación DQO/SO_4^{2-} de 1.75.	65
Figura 4.18. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO_4^{2-} de 2	66
Figura 4.19. Seguimiento de pH en cinética con una relación DQO/SO_4^{2-} de 2	67
Figura 4.20. Seguimiento de ORP en cinéticas con una relación DQO/SO_4^{2-} de 2	67
Figura 4.21. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO_4^{2-} de 5.6	68
Figura 4.22. Seguimiento de pH en cinética con una relación DQO/SO_4^{2-} de 5.6	69
Figura 4.23. Seguimiento de ORP en cinéticas con una relación DQO/SO_4^{2-} de 2	70
Figura 4.24. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO_4^{2-} de 1.75 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....	71
Figura 4.25. Seguimiento de pH en cinéticas con una relación DQO/SO_4^{2-} de 1.75	71
Figura 4.26. Seguimiento de ORP en cinética con una relación DQO/SO_4^{2-} de 1.75 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....	72
Figura 4.27. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO_4^{2-} de 2 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....	73
Figura 4.28. Seguimiento de pH en cinéticas con una relación DQO/SO_4^{2-} de 2 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....	74
Figura 4.29. Seguimiento de ORP en cinética con una relación DQO/SO_4^{2-} de 2 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....	75

Figura 4.30. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....	76
Figura 4.31. Seguimiento de pH en cinéticas con una relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....	77
Figura 4.32. Seguimiento de ORP en cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.....	78
Figura 4.33. Perfil del pH durante el enriquecimiento y aclimatación de la biomasa sulfuro oxidante... ..	79
Figura 4.34. Desarrollo de la biomasa sulfuro oxidante durante el enriquecimiento y aclimatación... ..	81
Figura 4.35. Seguimiento de las velocidades específicas de oxidación de sulfuro durante la aclimatación de la biomasa sulfuro oxidante a diferentes concentraciones de sulfuro	81
Figura 4.36. Velocidades específicas de oxidación de sulfuro a diferentes concentraciones de sulfuro	83



ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.1. Características típicas de aguas residuales industriales ricas en sulfatos.....	2
Tabla 1.2. Estequiometría y cambio de la energía libre estándar por las reacciones de sulfato reducción, acetogénesis y metanogénesis.....	6
Tabla 1.3. Concentraciones (mg/L) de sulfuro no ionizado (H ₂ S) y sulfuro total (ST) que causan 50% de inhibición de metanogénesis, sulfato reducción o la degradación de sustratos específicos.	9
Tabla 3.1. Medio de cultivo para la sulfato reducción.....	45
Tabla 3.2. Solución de oligoelementos.....	45
Tabla 3.3. Medio de cultivo sulfuro oxidación.	46
Tabla 4.1. Porcentajes de recuperación de azufre a través del enriquecimiento de consorcio sulfuro oxidante	80
Tabla 4.2. Velocidades específicas de consumo de sulfato bajo modelo de orden cero	85
Tabla 4.3. Velocidades específicas de consumo de lactato bajo modelo de orden cero.....	85
Tabla 4.4. Comparativo de porcentajes de disminución de reducción de sulfato y disminución de velocidad específica de consumo de sulfato con y sin arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno .	86

Resumen

Las aguas residuales ricas en sulfato son generadas por muchas industrias que usan ácido sulfúrico o alimentaciones ricas en sulfato (Industria procesadora de alimentos del mar o fermentadoras). De esta manera el estudio del ciclo del azufre resulta de gran importancia con el fin de proponer alternativas de manejo de los compuestos relacionados. Es interesante explorar biotecnologías que implican la reducción biológica de sulfato a sulfuro y una subsiguiente oxidación del sulfuro a azufre elemental bajo condiciones limitadas de oxígeno por medio de bacterias sulfuro oxidantes en sistemas espaciadamente separados. Por lo que en este trabajo se realizó la evaluación cinética de los procesos sulfato reductor y sulfuro oxidante por separado.

La biomasa sulfato reductora se logró enriquecer y aclimatar a partir de un cultivo mixto proveniente de un reactor UASB de una planta de tratamiento de aguas residuales de una industria cervecera bajo relaciones DQO/SO₄²⁻ de 0.66 y 1, así como una relación de 0.66 más una exposición de la biomasa a una concentración de sulfuro de 320 ppm. La biomasa sulfuro oxidante se enriqueció y aclimató con una concentración de sulfuro de 3.125 mM (100 mg/L). El seguimiento de la oxidación de sulfuro se fue dando de forma indirecta por el seguimiento del pH y confirmando por la medición de sulfuro y sulfato. Las recuperaciones de azufre como sulfato fueron de hasta 88 % con tiempos de reacción de 48 horas. Después de 189 días de operación del reactor sulfuro oxidante se dio por enriquecida y aclimatada la biomasa al observar que la actividad específica de oxidación del sulfuro no cambió en el tiempo. Dicha biomasa mostró una actividad específica de 1.74 $\mu\text{molO}_2/\text{mgProt}\cdot\text{min}$. Los datos experimentales de las cinéticas efecto de la concentración de lactato, pH y sulfuro mostraron una tendencia de cinética de orden cero. La concentración de sulfuro no mostró un efecto inhibitorio. La relación DQO/SO₄²⁻ de 5.66, fue la que presentó una eficiencia de reducción de sulfato del 100% en 5 h, asimismo fue la que presentó una mayor concentración de sulfuro en el medio de 13.31 mM (425.92 ppm). De esta forma el sulfuro se descartó como un factor inhibitorio y no se contempló en el modelo. Al realizar los balances de carbono y de azufre se puede apreciar que la estequiometría corresponde a la biorreacción realizada por *Desulfovibrio*.

La obtención de los parámetros cinéticos para modelar la sulfato reducción con un modelo doble de Monod fueron; $K_{\text{SO}_4^{2-}}$ de 239 mg/L, K_{Lac} de 1390 mg/L, q ($\mu_{\text{max}}/Y_{\text{SO}_4^{2-}}$) de 0.176 h^{-1} , y q ($\mu_{\text{max}}/Y_{\text{Lac}}$) de 190.6 h^{-1} . Y al tratar los datos bajo una cinética de orden cero se determinaron las velocidades específicas para las condiciones con y sin arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno; q ($\mu_{\text{max}}/Y_{\text{SO}_4^{2-}}$) de 0.107 h^{-1} y 0.248 h^{-1} , y q ($\mu_{\text{max}}/Y_{\text{Lac}}$) de 0.173 h^{-1} y 0.448 h^{-1} .

Abstract

Wastewaters containing organic matter and sulfate are generated by many industrial processes which use sulfuric acid or sulfate rich feed stocks (fermentation or sea food processing industry). Thus, the study of the sulfur removal has taken great importance in order to propose alternatives to manage this pollutant. It is interesting to explore biotechnologies which imply the biological reduction of sulfate to sulfide and a subsequent oxidation of sulfide to elemental sulfur under conditions of oxygen limitation with sulfide oxidizing bacteria in separated systems.

In this work the kinetic evaluation of the sulfate reduction and sulfide oxidation processes was carried out by separate. The sulfate reducing biomass was enhanced and acclimated from inoculums coming from an anaerobic digester treating a brewery plant effluent in an upflow anaerobic sludge blanket reactor (UASB). A COD/SO₄²⁻ ratio of 0.66 and 1, were studied, as well a COD/SO₄²⁻ ratio of 0.66 plus a sulfide shock load of 320 ppm was also investigated. The measure of the sulfide oxidation was given indirectly by the measure of the pH and confirming with the measure of sulfide and sulfate. The recovery of sulfur as sulfate was up 88 % with reactions times of 48 h. After 189 days of operation of the reactor, sulfide oxidizing was acclimated, observing that the specific activity of oxidation of the sulfide did not change in the time. The biomass showed a specific activity of 1.74 μmolO₂/mgProt-min. The experimental data of the kinetic effect of the concentration of lactate, pH and sulfide showed a zero order kinetic. The concentration of sulfur did not show an inhibitory effect, for the COD/SO₄²⁻ ratio of 5.66, and in this case a sulfate reduction efficiency of the 100% in 5 h was observed. Under this condition the greater concentration of sulfide production of 13.31 mM (425.92 ppm) was observed. In this way, the sulfide was not considered as an inhibitory factor and it was not contemplated in the model. The balances of carbon and of sulfur suggested that the stoichiometry corresponds to the biorreaction carried out by *Desulfovibrio*.

The kinetic parameters obtained for the model of the sulfate reduction with a double model of Monod they were; K_{SO42-} of 239 mg/L, K_{Lac} of 1390 mg/L, q (μ_{max}/Y_{SO42-}) of 0.176 h⁻¹, and q (μ_{max}/Y_{Lac}) of 190.6 h⁻¹. Treating the data under a kinetic of order zero were determined the specific velocities for the conditions with and without dragging of sulfide with nitrogen bubbling; q (μ_{max}/Y_{SO42-}) of 0.107 h⁻¹ and 0.248 h⁻¹, and q (μ_{max}/Y_{Lac}) of 0.173 h⁻¹ and 0.448 h⁻¹.



Capítulo 1. Antecedentes

En este capítulo se muestran los fundamentos de la contaminación con compuestos azufrados, se explica el ciclo biológico del azufre, destacando los procesos de sulfato reducción y sulfuro oxidación ya que son los procesos a estudiar, así como los tratamientos de compuestos azufrados. Se describe el modelado de procesos biológicos y se aborda el desarrollo de los modelos de los procesos sulfato reducción y sulfuro oxidación.

La contaminación del agua cobra gran importancia en la necesidad de preservar el medio ambiente, puesto que los contaminantes pueden ser acumulados y transportados en arroyos, ríos, lagos, presas y depósitos subterráneos, afectando directamente la salud del hombre y la vida silvestre. Las fuentes más importantes de contaminación de las aguas superficiales y subterráneas son las aguas residuales industriales y urbanas.

1.1. Contaminación con compuestos azufrados

Las aguas residuales domésticas típicamente contienen entre 20 y 500 mg/L de sulfatos. En tanto varias aguas residuales industriales contienen altas concentraciones de sulfatos, sulfuros, u otros compuestos azufrados (Tabla 1.1). La contaminación de las aguas residuales con compuestos de azufre puede ser debida al uso de materiales que contienen azufre en aplicaciones de procesos industriales (Industria alimenticia, pulpa y papel) (Lens *et al.*, 1998).

Las fábricas de pulpa y papel usan azufre en varias formas y procesos: sulfatos (proceso kraft) y dióxido de azufre (blanqueado con sulfito) como agentes digestores, y adicionado como agente blanqueador. El sulfato es la forma más común de azufre en las aguas residuales del proceso de pulpa y papel.

Tabla 1.1. Características típicas de aguas residuales industriales ricas en sulfatos

Fuente	DQO (mg/L)	Sulfato (mg/L)	Referencias
Fermentación de melazas	44800 - 55600	2500 - 3450	Carrondo et al. 1983
Procesadora de alimentos del mar	10000 - 50000	600 - 2700	Mendez et al. 1995
Fabrica de almidón	2900 - 8200	750 - 1250	Nanninga et al. 1986
Tenería	2900 - 8200	750 - 1250	Genschow et al. 1996
Derrames de destilería	95000	6000	Szendry. 1983
Refinación de aceites comestibles	1000 - 8200	3100 - 7400	Anderson et al. 1988
Planta farmacéutica	28500	14800	Mohanrao et al. 1970
Pulpa y papel Termo mecánicamente	2000 - 5000	200 - 700	Hanbets and de Vegr. 1991
Ácido cítrico	30000	4500	Svardal et al. 1993

Fuente: Polanco *et al.*, 2006

La principal fuente de contaminación con azufre en la industria de la fermentación es el uso de ácido sulfúrico para el control de pH. Adicionalmente varios productos de la fermentación son recuperados de los procesos líquidos con la precipitación con sulfato de calcio; siendo las corrientes de desecho de las industrias de refinación de aceites comestibles las que presentan altas concentraciones de sulfatos. En estas industrias, el ácido sulfúrico es usado para recuperar ácidos grasos volátiles (AGV) de aguas de proceso muy alcalinas. Estas aguas ácidas contienen arriba de 50 g/L de sulfato y una insuficiente materia orgánica para llevar a cabo la completa sulfato reducción.

Las aguas residuales originadas de la producción de alimentos del mar contienen bajas concentraciones de SO_4^{2-} (0.6 g/L) y altas concentraciones de DQO (55.4 g/L), y específicamente las aguas residuales de la cocción de mejillones, atún y pulpo contienen entre 2.1 a 2.7 g/L de sulfatos (SO_4^{2-}) y 12.4 a 16.9 g/L de DQO (Mendez *et al.*, 1995).

En el sector fotográfico el tiosulfato es usado como revelador; el cual es usado para la producción de una imagen negativa y una impresión. La potencia y composición de efluentes del proceso pueden variar considerablemente debido a la amplia variación en el tipo de proceso fotográfico empleado. Teniendo un pH de 7 a 9 típicamente contienen de 85 a 600 mg/L de DBO. El azufre es principalmente incorporado en detergentes en la forma de sulfonato o grupo sulfato, ligado a un núcleo aromático (surfactantes lineares alquil bencen sulfonato, tintes sulfonato), o a una cadena alifática (detergentes alquil sulfato). En aguas residuales domésticas las concentraciones de surfactantes son usualmente de 1 a 10 mg/L. No obstante, efluentes de la elaboración de surfactantes contienen altas concentraciones (300 mg/L) (Lens *et al.*, 1998).

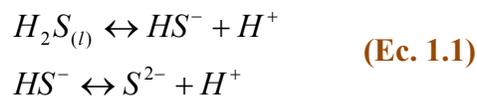
En la industria petrolera, las bacterias sulfato reductoras causan serios problemas, incluyendo corrosión de instalaciones, contaminación del petróleo con sulfuro de hidrógeno (H_2S) acidificándolo en la formación. Se ha reportado que la presencia y crecimiento de bacterias sulfato-reductoras (BSR) termofilicas a temperaturas de 60 °C fueron una fuente de producción de sulfuro en un campo petrolero en el Mar del Norte (Okabe *et al.*, 1992). Otras fuentes de contaminación del agua con compuestos organo azufrados son la

producción y uso de medicamentos tioamido y agroquímicos, tiocarbamato y fosforotinato. Todos estos compuestos organo azufrados bajo condiciones aerobias o anaerobias generan sulfatos y sulfuro (Lens *et al.*, 1998).

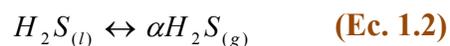
1.1.1. Características y efectos de la contaminación del agua por sulfatos

Las emisiones de sulfatos no son una amenaza directa para el ambiente ya que es un compuesto químicamente inerte, no volátil, y no tóxica. Algunos minerales que contienen sulfato incluyen el sulfato de magnesio (sal de Epsom), sulfato de sodio (sal de Glauber) y el sulfato de calcio (yeso). Sin embargo, altas concentraciones de sulfatos pueden desbalancear el ciclo natural del azufre. En ambientes anaerobios ricos en compuestos oxidados del azufre, la sulfato reducción ocurre (además de la metanogénesis) como un paso final en el proceso de mineralización anaerobia (Lens *et al.*, 1998).

La producción de sulfuro es el mayor problema asociado con el tratamiento anaerobio de aguas residuales ricas en sulfatos. El sulfuro producido en un reactor anaerobio es distribuido entre S^{2-} , HS^- y $H_2S_{(g)}$ en el biogás y sulfuros metálicos insolubles de acuerdo al equilibrio físico y químico. El sulfuro en solución es un ácido débil y disociado como:



A pH neutro sólo la primera disociación de H_2S es importante, ya que el valor de pKa de ésta es de 6.9 a 30°C. Consecuentemente, pequeñas variaciones de pH en el intervalo de 6 a 8 afectarán significativamente la concentración de H_2S (Figura 1.1). El equilibrio entre H_2S en solución y H_2S en la fase gas es gobernado por la ley de Henry.



Siendo α el coeficiente de absorción de H_2S de 1.99 a 30 °C. De esta manera la remoción de H_2S del biogás producido puede significativamente disminuir la concentración de H_2S en la fase líquida.

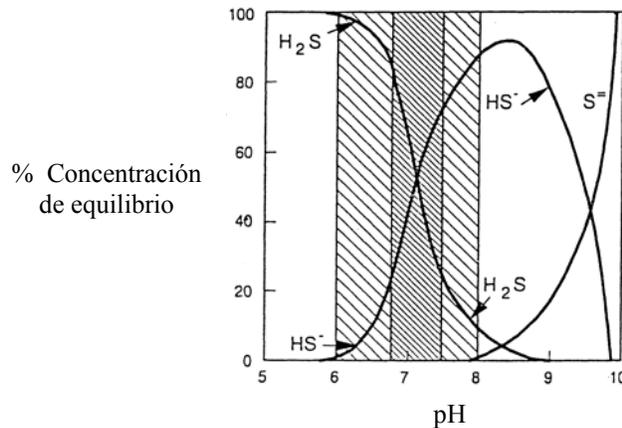


Figura 1.1. Formas predominantes de sulfuro a diferentes valores de pH

Fuente: Lens et al., 1998

La producción de sulfuro puede causar los siguientes problemas técnicos al proceso de tratamiento de aguas residuales:

- ✓ Es tóxico para las bacterias metanogénicas (BM), acetogénicas y sulfato reductoras (SRB) (Fernández-Polanco *et al.*, 2006). Toxicidad que se considera en general directamente relacionada con la concentración de sulfuro de hidrógeno (H_2S) libre.
- ✓ Durante el tratamiento anaerobio de las aguas residuales, parte de los compuestos orgánicos en el agua residual son usados por la BM que compiten con las BSR y por lo tanto no son convertidos a metano. Esto resulta en un bajo rendimiento de metano por unidad de materia orgánica degradada (Fernández-Polanco *et al.*, 2006; Bruser *et al.*, 2000), afectando en forma negativa sobre todo el balance de energía del proceso. Además, la calidad del biogás es reducida debido a la presencia de sulfuro como H_2S en el biogás. Remover el H_2S del biogás es por lo tanto usualmente requerido.
- ✓ El sulfuro producido tiene un mal olor y puede causar problemas de corrosión a tuberías, motores, calentadores (Smet *et al.*, 1998) y al concreto. De esta manera, el costo de mantenimiento de las instalaciones se incrementa y un costo extra de inversión es necesario para evitar estos problemas.
- ✓ Parte del sulfuro está contenido en el efluente del reactor anaerobio. Esto resulta en una baja eficiencia de tratamiento, como el sulfuro contribuye a la DQO del agua residual

(son requeridas dos moles de O₂ por mol de sulfuro para una completa oxidación a sulfato) (Janssen *et al.*, 2001). Además, el sulfuro puede afectar la eficiencia del post-tratamiento anaerobio, por ejemplo, esponjamiento del lodo activado. Por lo que se requerirá un sistema post-tratamiento para remover del agua residual el sulfuro.

1. 2. Utilización de sustrato en condiciones anaerobias ricas en sulfato

En presencia de sulfato, sulfito o tiosulfato las bacterias sulfato reductoras son capaces de usar diversas fuentes de carbono en el proceso de mineralización anaerobia (Tabla 1.2). Además de los sustratos directos de la metanogénesis, hidrógeno molecular (H₂), formato, acetato, metanol, y piruvato (Lens *et al.*, 1998).

Tabla 1.2. Estequiometría y cambio de la energía libre estándar por las reacciones de sulfato reducción, acetogénesis y metanogénesis.

Reacción	ΔG° kJ/mol
Reacciones de sulfato reducción	
$4 \text{ H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4 \text{ H}_2\text{O}$	-38.1
$\text{Acetato}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HS}^- + 2 \text{ HCO}_3^-$	-47.6
$\text{Propionato}^- + \frac{3}{4} \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \frac{3}{4} \text{HS}^- + \text{Acetato}^- + \text{HCO}_3^- + \frac{1}{4} \text{H}^+$	-37.7
$\text{Propionato}^- + \frac{7}{4} \text{SO}_4^{2-} + \frac{1}{4} \text{H}_2\text{O} \rightarrow \frac{7}{4} \text{HS}^- + 3 \text{HCO}_3^- + \frac{1}{2} \text{H}^+ + \frac{1}{4} \text{OH}^-$	NR
$\text{Butirato}^- + \frac{1}{2} \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \frac{1}{2} \text{HS}^- + 2 \text{Acetato}^- + \frac{1}{2} \text{H}^+$	-27.8
$\text{Butirato}^- + \frac{5}{2} \text{SO}_4^{2-} + \frac{1}{4} \text{H}_2\text{O} \rightarrow \frac{5}{2} \text{HS}^- + 4 \text{HCO}_3^- + \frac{3}{4} \text{H}^+ + \frac{1}{4} \text{OH}^-$	NR
$2 \text{Lactato}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HS}^- + 2 \text{Acetato}^- + 2 \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	-189
$2 \text{Lactato}^- + 3 \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 3 \text{HS}^- + 6 \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	-255.3
Reacciones sintróficas	
$\text{Propionato}^- + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 3 \text{H}_2$	+76.1
$\text{Butirato}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{Acetato}^- + \text{H}^+ + 2 \text{H}_2$	+48.3
Reacciones metanogénicas	
$4 \text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3 \text{H}_2\text{O}$	-33.9
$\text{Acetato} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31.0

NR. No reportada

Fuente: Compilado de Hao *et al.*, 1996, Lens *et al.*, 1998

Si la materia orgánica es oxidada vía sulfato reducción, 8 electrones son aceptados por la molécula de sulfato. Debido a que una molécula de oxígeno puede sólo aceptar 4 electrones, la capacidad de aceptación de electrones de dos moles de O₂ equivalen a un mol

de sulfato; esto es 0.66 g de O₂ por g de SO₄²⁻. Esto significa que en las aguas residuales con una relación DQO/SO₄²⁻ de 0.66 teóricamente hay suficiente sulfato disponible para consumir la materia orgánica (DQO) vía sulfato reducción.

Para relaciones DQO/SO₄²⁻ menores de 0.66, la cantidad de materia orgánica es insuficiente para una completa reducción del sulfato presente y una cantidad de substrato extra deberá ser adicionado si la reducción de sulfato es el objetivo del tratamiento. Para aguas residuales con una relación DQO/SO₄²⁻ mayor a 0.66, se puede alcanzar una remoción completa de la materia orgánica, además de la sulfato reducción, ocurrirá la metanogénesis (Lens *et al.*, 1998).

Las reacciones de las bacterias sulfato reductoras son independientes de la presión parcial del H₂. Así, la actividad de las BSR puede estimular la degradación de propionato, mientras que la adición de propionato puede de igual forma estimular la sulfato reducción (Tabla 2). La degradación de sintrófica de substratos en condiciones ricas de sulfato puede proceder por una variedad de vías (Smet *et al.*, 1998).

A concentraciones suficientemente altas de sulfato las BSR acetotróficas (ABSR) pueden desplazar a las bacterias metanogénicas utilizadoras de acetato (ABM) y llegar a ser la especie dominante. Además, las BSR hidrogenotróficas mantienen la presión parcial de hidrógeno por debajo del valor límite de las BM hidrogenotróficas, así limitan el hidrógeno para que las BM hidrogenótroficas lo utilicen.

1.2.1. Toxicidad

En cuanto a la toxicidad por sulfuro, para muchas bacterias anaerobias su acumulación puede resultar en una inhibición grave de los procesos de purificación o puede incluso causar el fallo total del proceso. El efecto inhibitorio por sulfuro se cree que es causado por el sulfuro de hidrógeno no disociado, ya que solo moléculas neutras pueden permear al interior de la célula (Fernández-Polanco *et al.*, 2006; Okabe *et al.*, 1995). El mecanismo exacto de inhibición por H₂S no ha sido completamente esclarecido. Una vez que el H₂S

atraviesa la pared celular puede desnaturalizar proteínas formando puentes de sulfuro o bisulfuro entre las cadenas polipeptídicas. El H_2S también puede interferir con las coenzimas A y M formando uniones sulfuro. Esto puede interferir en la ruta de la acetil coenzima A para la fijación de CO_2 que es común para las BSR y BM.

El sulfuro puede también inhibir a las BSR cuando cualquiera de las especies azufradas reducidas (H_2S , HS^- y S^{2-}) se combina con el hierro de la ferredoxina, del citocromo y de otros compuestos esenciales que contienen hierro en la célula, causando que los sistemas de transporte de electrones cesen su actividad (Hao *et al.*, 1996).

Por otro lado el sulfito ejerce un fuerte efecto de inhibición aguda en las bacterias anaerobias. En experimentos en lote, el sulfito causa una fase de retardo en la producción de metano, con una duración que depende de la historia de la biomasa. Se ha encontrado un 50% de inhibición de la actividad metanogénica a valores entre 150 y 200 mg/L de SO_3^{2-} (Tabla 1.3). Sin embargo, Fernández-Polanco *et al.*, 2006, muestran que después de repetidas dosis de sulfito la inhibición se vuelve significativamente menor como resultado de la adaptación del lodo. La adaptación del lodo puede presumiblemente ser atribuida al desarrollo de BSR en el lodo, las cuales oxidan el sulfito a sulfato.

Kaksone *et al.*, (2004) demostraron que la inhibición por sulfuro en un cultivo puro (*Desulfovibrio desulfuricans*) y con un cultivo mixto anaerobio las BSR es de tipo no competitivo y puede ser reversible. Estudios realizados con diferentes sustratos orgánicos (donadores de electrones) como alimentación en un sistema sulfato reductor han demostrado diferentes sensibilidades al H_2S o sulfuro total (Fernández-Polanco *et al.*, 2006). Estas diferencias pueden deberse posiblemente a diversos factores como la concentración del sustrato y tipo e historial del inóculo, entre otros.

Se ha observado que la inhibición de las BM depende de las características del lodo, siendo los lodos suspendidos más sensibles que el lodo granular (Fernández-Polanco *et al.*, 2006). Omil *et al.*, (1997b) reportan que la mayor concentración de sulfuro fue de 756 mg/L para

un reactor de lecho de lodo expandido (EGSB por sus siglas en inglés) operado a eficiencias de remoción de 75% alimentando con acetato, propionato y butirato a pH de 8.

Tabla 1.3. Concentraciones (mg/L) de sulfuro no ionizado (H₂S) y sulfuro total (ST) que causan 50% de inhibición de metanogénesis, sulfato reducción o la degradación de sustratos específicos.

Tipo de lodo	Sustrato	T (°C)	pH	H ₂ S (mg/L)	ST (mg/L)	Referencias
Metanogénesis						
Lodo suspendido	Acetato	35	6.5-7.4 7.7-7.9	125 100	NR NR	Oleszkiewicz et al., 1989
Lodo suspendido	Lactato/Acetato	35	7.7-7.6	NR	240	McCartney and Oleszkiewicz, 1991
Lodo suspendido	Lactato	35	7.0 8.0	100 100	270 1258	McCartney and Oleszkiewicz, 1993
Lodo suspendido	Acetato	55	6.3-6.4 7.1-7.2 7.9-8.0	18 21 24	33 78 400	Visser et al., 1993a
Lodo granular	Acetato	30	6.4-6.6 7.0-7.2 7.8-8.0	246 252 90	357 810 841	Koster et al., 1986
Lodo granular	Acetato	30	7.2-7.4 8.1-8.3	184 38	564 590	Visser et al., 1996
Lodo granular	Acetato	55	6.3-6.4 7.1-7.2 7.9-8.0	54 75 24	81 338 450	Visser et al., 1993 ^a
Biopelícula	Acetato Acetato/Etanol	35	7.7 7.3	>1000 >1000	NR NR	Isa et al., 1986b
Sulfato reducción						
Desulfobivrio desulfuricans	Lactato	35	7.0	250	500	Okabe et al., 1992
Lodos suspendido	Lactato/Acetato	35	7.2-7.6	NR	83	McCartney and Oleszkiewicz, 1991
Lodo suspendido	Lactato	35	7.0 8.0	>300 185	NR 2244	McCartney and Oleszkiewicz, 1993
Sulfato reducción Lodo granular	Acetato	30	7.2-7.4 8.1-8.3	171 57	615 1125	Visser et al., 1996
Sustrato específico						
Lodo suspendido	Propionato	35	6.5-7.4 7.7-7.9	100 60	NR NR	Oleszkiewicz et al., 1989
Lodo suspendido	Butirato	35	6.5-7.4 7.7-7.9	235 >200	NR NR	Oleszkiewicz et al., 1989
Lodo suspendido	Lactato	35	6.5-7.4 7.7-7.9	320 390	NR NR	Oleszkiewicz et al., 1989
Lodo granular	Propionato	30	7.0-7.5	140	NR	Rinzema and Lettinga, 1988b

NR. No reportado

Fuente: *Lens P. et al., 1998*

En otros experimentos utilizando lodos suspendidos la mayor concentración de sulfuro reportada por [McCartney y Oleszkiewickz, \(1993\)](#) fue de 270 mg/L con lactato como fuente de carbono y un pH de 7. Por otro lado el efecto del pH es reportado ([O'Flaherty et al., 1998](#)) que entre 6.8 y 7.2 la inhibición por sulfuro sobre varias especies de bacterias sintróficas, metanógenicas y sulfato reductoras estaba relacionada con el sulfuro no ionizado, mientras que a pH mayor a 7.2 la inhibición estuvo más relacionada con la concentración de sulfuro disuelto.

La toxicidad del sulfuro es vista como dependencia al pH porque sólo la molécula no disociada H_2S puede pasar a través de la membrana celular. Como se explicó previamente, en condiciones alcalinas por encima de valores de pH entre 8 y 9, virtualmente todo el sulfuro está disuelto en su forma ionizada HS^- , y asumiendo que la forma inhibitoria del sulfuro es la no disociada H_2S , se podría esperar una relación directa entre la concentración de H_2S y el efecto inhibitorio ([O'Flaherty y Colleran, 2000](#)).

En cuanto a lo correspondiente a Bacterias Sulfuro Oxidantes (BSO) [Steffes et al., \(1996\)](#) reportan que las concentraciones inhibitorias del sulfuro sobre las BSO están entre 4.8 y 32 mg/L. Sin embargo, [Buisman et al., \(1990\)](#) reportan que la inhibición por sulfuro se observó hasta una concentración de 600 mg/L para un cultivo que operaba con una concentración de 95 mg/L. Por lo que parece ser que el origen e historial del inóculo tiene que ver sobre la tolerancia al sulfuro. [Boltyskaya et al., 2004](#) reportan que alrededor de 3 mM (96 mg/L) de sulfuro se reduce la tasa de crecimiento de Bacteria Sulfuro Oxidantes Alcalófilas (BSOA) y una completa inhibición a concentraciones superiores a 6 mM (192 mg/L).

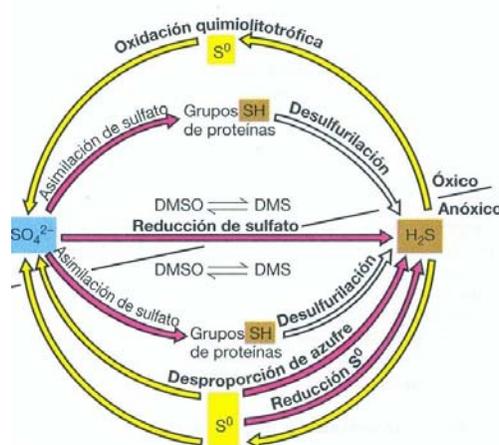
1.3. Ciclo del azufre

El azufre se presenta en una gran variedad de estados de oxidación, desde completamente reducido (estado de oxidación -2) a completamente oxidado (estado de oxidación +6). Sin embargo, solamente tres de estos estados de oxidación son abundantes en la naturaleza: -2 en la forma de sulfuro, 0 en la forma de azufre elemental, y +6 en la forma de sulfato ([Lomans et al., 2002](#); [Madigan et al., 2006](#)).

Como se puede observar en la [Figura 1.2](#), el ciclo consiste de una parte oxidativa y otra reductora, y de una parte asimilativa y una desasimilativa, en donde el azufre completa ciclos pasando del estado oxidativo +6 para el sulfato al -2 para el sulfuro y éste a su vez es oxidado de nuevo a sulfato pasando por azufre elemental 0. Estos compuestos son continuamente convertidos entre ellos por una combinación de procesos biológicos, químicos y geoquímicos.

Bajo condiciones anaerobias, en ausencia de nitrato, el sulfuro es la forma de azufre energéticamente más estable; similarmente bajo condiciones aerobias el sulfato es el compuesto de azufre más estable ([Metcalf & Eddy, 2003](#)). La oxidación biológica del sulfuro puede ocurrir bajo condiciones anóxicas y aerobias. En presencia de nitrato las bacterias incoloras del azufre oxidan al sulfuro hasta azufre o sulfato, los electrones del sulfuro se utilizan para convertir el oxígeno o nitrato en H₂O o N₂ ([Lens et al., 1998](#)).

Las conversiones de los compuestos de sulfuro inorgánico y, en un grado inferior también, los compuestos de sulfuro orgánicos son dominados por transformaciones microbiológicas. La combinación de estos procesos da lugar al ciclo global del azufre. La complejidad del ciclo del azufre es incluso más alta ya que está fuertemente ligada al de otros elementos como el carbono, el nitrógeno, y el hierro a través de varios procesos biológicos y (geo)químicos. La parte principal del sulfuro de la tierra se deposita en el sedimento y oscila como el yeso y piritita y en los océanos como sulfato ([Lomans et al., 2002](#)).



[Figura 1.2.](#) Ciclo de oxido reducción del azufre, DMSO, dimetilsulfóxido; DMS, dimetilsulfuro

Fuente: [Madigan et al., 2005](#)

La reducción de sulfato y sulfito puede ser asimilatoria para la síntesis de compuestos orgánicos o bien desasimilatoria para disponer de un exceso de equivalentes de reducción. El sulfuro producido puede ser depositado como sulfuros metálicos o puede ser oxidado a azufre elemental o sulfato (Lomans *et al.*, 2002).

El metabolismo asimilativo y el desasimilativo son muy diferentes (Figura 1.3b). En el primer caso, solo se producen los compuestos suficientes (NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2) para satisfacer las necesidades nutritivas durante el crecimiento, los átomos reducidos se convierten finalmente en material celular en forma de macromoléculas. En el metabolismo desasimilativo, se reducen cantidades comparativamente mayores de aceptores de electrones y el producto reducido es expulsado al medio. Muchos organismos llevan a cabo un metabolismo asimilador de compuestos como NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2 (Bacterias, Archaea, Hongos, Algas y plantas superiores), mientras que un grupo limitado de organismos, principalmente procariontes, realizan metabolismo desasimilativo. Siendo éste el de principal interés para la presente tesis.

1.3.1. Rendimiento energético de la reducción de sulfato

La reducción de SO_4^{2-} a H_2S ocurre a través de algunas fases intermedias. El ión sulfato es estable y no puede reducirse si antes no está activado. El sulfato se activa por el ATP. La enzima *ATP sulfurilasa* cataliza la unión del ión sulfato a un fosfato del ATP, dando lugar a la formación de adenosina fosfosulfato (APS) como se indica en la Figura 1.3. En la reducción desasimilatoria de sulfato, la parte sulfato de la APS se reduce directamente a sulfito (SO_3^{2-}) por la acción de la enzima APS reductasa, con liberación de AMP. En la reducción asimiladora se añade otro P a la APS, formando *fosfoadenosina fosfosulfato* (PAPS). En ambos casos, el primer producto de la reducción del sulfato es el sulfito, SO_3^{2-} . Una vez formado SO_3^{2-} , se forma sulfuro mediante la enzima *sulfito reductasa* (Madigan *et al.*, 2006) (Figura 1.3).

En la reducción desasimilatoria de sulfato, las reacciones de transporte de electrones dan lugar a la formación de una fuerza protón motriz y ésta impulsa la síntesis de ATP por la ATPasa. El portador principal de electrones es el citocromo c_3 , que es periplasmático y de bajo potencial. El citocromo c_3 acepta electrones de una hidrogenasa localizada en el periplasma y los transfiere a un complejo proteico asociado a la membrana llamada Hmc, que transporta a través de la membrana citoplasmática. De esta forma, están disponibles para la APS reductasa y la sulfato reductasa, que son enzimas citoplasmáticas (Figura 1.4) (Madigan *et al.*, 2006).

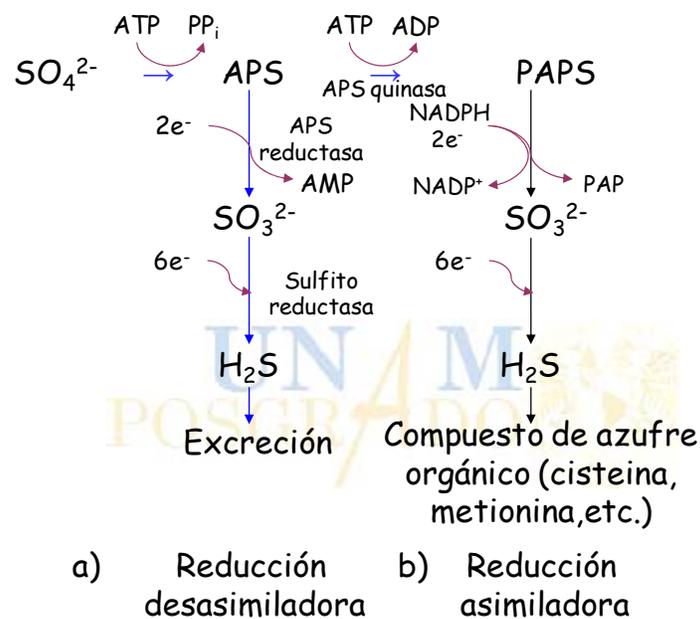


Figura 1.3. Bioquímica de la reducción de sulfato esquema de la reducción a) des asimiladora b) asimiladora de sulfato

Fuente: Madigan *et al.*, 2005

La enzima hidrogenasa parece desempeñar un papel central en la reducción del sulfato cuando un organismo como *Desulfuivibrio dusulfuricans* crece con H_2 *per se*, o con un compuesto orgánico, como el lactato. Resultados experimentales indican que el lactato se convierte en acetato a través de piruvato, con producción de H_2 ; el acetato es excretado porque *D. dusulfuricans* es un sulfato reductor que no oxida acetato. El H_2 producido atraviesa la membrana citoplasmática y es oxidado por la hidrogenasa periplasmática, iniciando una fuerza protón motriz (Figura 1.4). El rendimiento del crecimiento de las

bacterias sulfato reductoras indican que por cada mol de SO_4^{2-} reducido a HS^- se consume una molécula de ATP. Con H_2 la reacción es la siguiente (Madigan *et al.*, 2006):



Cuando el piruvato o el lactato es el donador de electrones, no solamente se produce ATP por fuerza protón motriz, sino también ATP extra durante la oxidación del piruvato a acetato, más CO_2 vía acetyl-CoA y acetylfosfato.

Además del hidrógeno externo (H_2), el H_2 procedente del catabolismo de compuestos orgánicos tales como lactato y piruvato pueden activar la hidrogenasa. Las enzimas hidrogenasa, el citocromo c_3 y el complejo de citocromo (Hmc) son proteínas periplasmáticas. Una diferente funciona como extrusora de electrones a través de la membrana citoplasmática para una ferrosulfoproteína citoplasmática que suministra electrones a la APS reductasa (formando SO_3^{2-}) y a la sulfito reductasa (formando H_2S) (Madigan *et al.*, 2006)

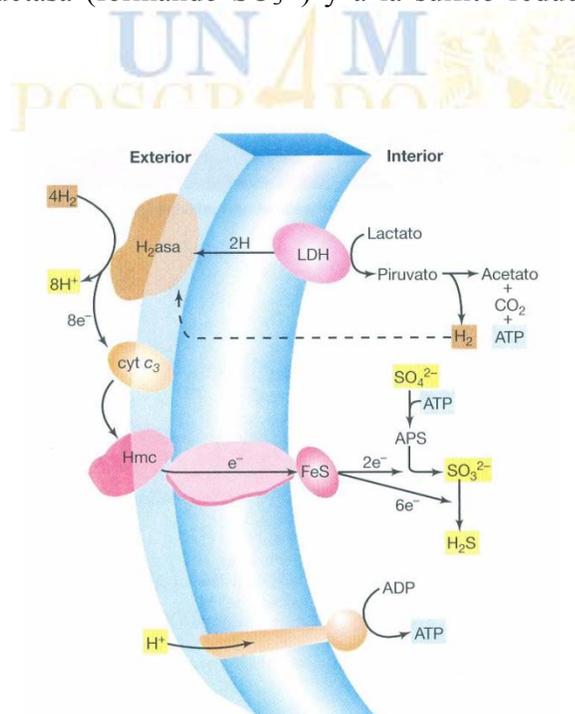


Figura 1.4. Transporte de electrones y conservación de energía en las bacterias sulfato reductoras

Fuente: Madigan *et al.*, 2005

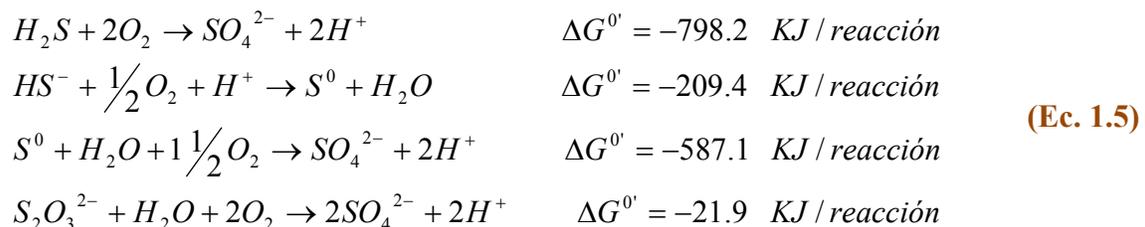
Algunas bacteria sulfato reductoras llevan a cabo una forma singular de metabolismo llamado reducción desproporcionada, usando compuestos de azufre de estado de oxidación intermedio. El término reducción desproporcionada hace referencia a la ruptura de un compuesto en dos nuevos, uno de los cuales está más oxidado y el otro más reducido que el compuesto original; tal es el caso de la bacteria *Desulfovibrio sulfodismutans* capaz de oxidar desproporcionadamente compuestos de azufre de la siguiente forma:



En donde se nota que un átomo de azufre del $S_2O_3^{2-}$ se oxida formando SO_4^{2-} y el otro se reduce formando H_2S . La oxidación del tiosulfato por *D. sulfodismutan* impulsa la formación de una fuerza protón motriz que el microorganismo utiliza para formar ATP. Otros compuestos reducidos de azufre como el sulfito (SO_3^{2-}) y el azufre (S^0) también pueden resultar desproporcionados por la acción de diversos sulfato reductores. Estas formas de metabolismo puede que sean vías por las cuales las bacterias sulfato reductoras recuperen energía a partir de los intermediarios del azufre producidos por la oxidación de H_2S debida a microorganismos quimiolitotrofos del azufre (Madigan *et al.*, 2006).

1.3.2. Rendimiento energético de la oxidación del azufre

Los compuestos del azufre más comunes que se usan como fuente de energía son el sulfuro de hidrógeno (H_2S), azufre elemental (S^0), y el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$). En la mayor parte de los casos, el producto final de la oxidación es el sulfato (SO_4^{2-}) y el número total de electrones que se transfieren entre el H_2S (estado de oxidación -2) y sulfato (estado de oxidación +6) es de ocho. Hay menos energía disponible cuando se usa uno de los estados de oxidación intermedios:



En la oxidación parcial de sulfuro a azufre elemental las bacterias fotosintéticas pueden metabolizar el H_2S efectivamente. Sin embargo, la desventaja de usar bacterias fotosintéticas a gran escala reside en su naturaleza anaerobia, así como el requerimiento de energía luminosa que implica tener un área superficial extensa y transparente. Así como la necesidad de un buen mezclado pues la formación de azufre elemental produce suspensiones turbias, incrementando los costos de iluminación (Jensen y Webb, 1995).

El uso de bacterias quimioautótrofas como las pertenecientes al género *Thiobacillus* tiene la capacidad de secretar al azufre elemental, ventaja sobre bacterias que producen y acumulan el azufre elemental, como las bacterias *Beggiatoa*, *Thiothrix* y *Thiospira* (Lens y Kuenen, 2001). Así mismo, las bacterias de este género tienen una mayor afinidad por el sulfuro, permitiéndoles competir exitosamente con la oxidación química del sulfuro (Gadre, 1989)

La oxidación del compuesto más reducido del azufre, H_2S , ocurre en fases y el primer paso de oxidación origina la formación de azufre elemental, S^0 . Algunas bacterias oxidadoras de H_2S depositan el azufre elemental intracelularmente. El azufre depositado como resultado de la oxidación inicial es reserva de energía, y cuando se agota el suministro de H_2S , se puede obtener energía adicional mediante la oxidación de azufre a sulfato (Ec. 1.5). Dicho reservorio de energía es estabilizado por proteínas de función puramente estructural. Sin embargo, de acuerdo con Kleinjan *et al.*, (2003) la mayoría de las bacterias utilizadoras de compuestos azufrados excretan el azufre en vez de acumularlo intracelularmente.

Las bacterias quimiótrofas (que obtienen su energía de la oxidación química en presencia de oxígeno de compuestos reducidos de azufre) tienden a producir azufre en anillo S^8 , mientras que las fotótrofas (utilizadoras de luz solar) producen cadenas de azufre con terminaciones de grupos orgánicos. Se ha encontrado además que el azufre elemental producido microbiológicamente se agrega muy bien formando partículas que sedimentan rápido, en contraste con el azufre producido químicamente que tiende a ser hidrofóbico (Janssen *et al.*, 1998). Se ha demostrado que para diversas especies de bacterias oxidantes de compuestos azufrados, el citocromo c participa como catalizador del paso inicial de

oxidación de sulfuro y que, aparentemente, la posición de tal catalizador dentro o fuera del citoplasma determina la formación de azufre intra o extracelular (Kleinjan *et al.*, 2003).

Normalmente las bacterias sulfoxidantes oxidan completamente el sulfuro a sulfato generando más energía metabólicamente útil comparada con la oxidación parcial a azufre elemental. La formación de azufre elemental puede ser controlada por la adición estequiométrica de oxígeno, así como, con un control más rígido del sistema mediante el monitoreo del potencial redox (Janssen *et al.*, 1998). Stefess *et al.* (1996) encontraron que la obtención de azufre elemental como producto de la oxidación parcial del sulfuro puede ser mediante altas cargas de sulfuro o bajas concentraciones de oxígeno.

La estabilidad del azufre elemental producido es muy importante en los procesos de remoción biológica de azufre. Bajo las condiciones que son óptimas para el crecimiento y actividad de las bacterias sulfoxidantes (30-47 °C, pH 7-10), el azufre elemental producido microbiológicamente es estable; a temperatura y pH más altos el azufre dismuta para producir sulfito y sulfuro, bajo condiciones aerobias la mezcla reacciona para formar tiosulfato (Lomans *et al.*, 2002).

Cuando se suministra externamente azufre elemental como donador de electrones, el organismo debe crecer unido a partículas de azufre debido a la gran insolubilidad del azufre elemental. Adhiriéndose a la partícula el organismo puede obtener eficazmente los átomos de azufre que necesita. Se cree que este proceso tiene lugar gracias a la acción de proteínas de membrana o del periplasma que solubilizan el azufre, probablemente por reducción de S^0 a SH^- , que es transportado a la célula y entra en el metabolismo quimiolitotrófo.

Uno de los productos de las reacciones de oxidación de azufre es el H^+ . La producción de protones da lugar a un descenso del pH, por lo que un resultado de la oxidación de compuestos reducidos de azufre es la acidificación del medio. El ácido formado por las bacterias del azufre en medio acuoso es el ácido sulfúrico, H_2SO_4 , que origina una notable disminución del pH del medio (Madigan *et al.*, 2006).

1.4. Biorreactores

El tratamiento de aguas residuales involucra operaciones unitarias físicas y químicas. Las operaciones unitarias biológicas se llevan a cabo en recipientes o tanques comúnmente llamados reactores. Los reactores donde se llevan a cabo las transformaciones biológicas son de diversos tipos dependiendo del tipo de crecimiento de los microorganismos: biomasa suspendida -se requiere agitación para que continúe suspendida- o biomasa fija (Figura 1.5).

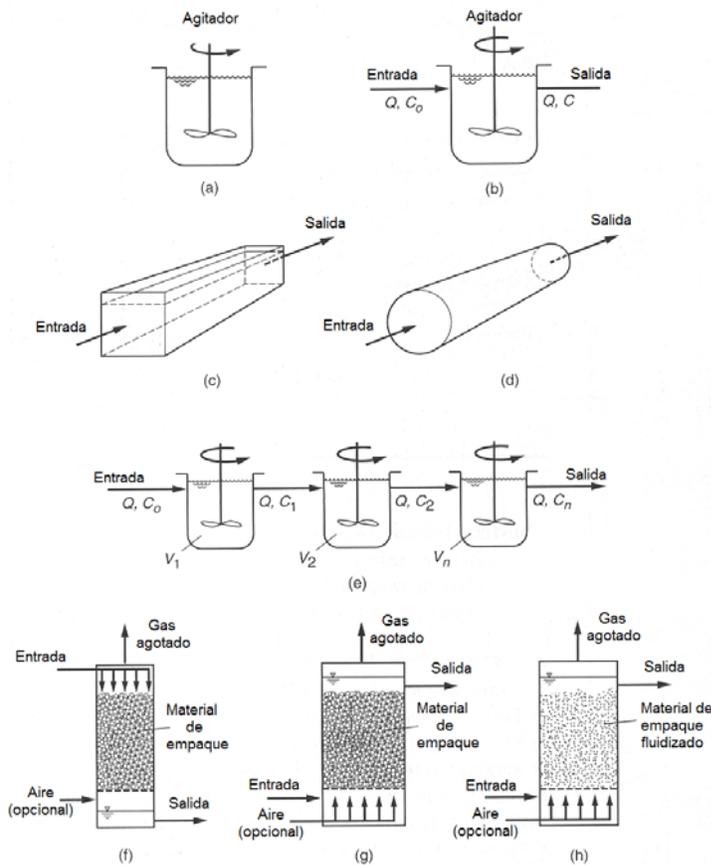


Figura 1.5. Diferentes tipos de reactores usados en el tratamiento de aguas residuales; a) Reactor discontinuo secuencial (SBR, Sequencing Batch Reactor), b) Reactor completamente agitado, c) Reactor abierto flujo pistón, d) Reactor cerrado flujo pistón, también conocido como reactor tubular, e) Reactores completamente mezclados en serie, f) Reactor de lecho empacado, g) Reactor empacado de flujo ascendente, h) Reactor de lecho expandido

Fuente: Metcalf & Eddy, 2003

1.4.1. Reactor Discontinuo Secuencial (Sequencing Batch Reactor, SBR)

La Agencia de protección al Medio Ambiente de los Estados Unidos emite un reporte en 1999 donde resume que los SBR son sistemas de lodos activados para el tratamiento del agua residual que utiliza ciclos de llenado y descarga. En este sistema el agua residual entra en un lote a un reactor único, recibe tratamiento para remover componentes indeseables y luego se descarga. La homogenización de caudales, la aireación y la sedimentación se logran en ese reactor único. Además, de que estos sistemas operan en el tiempo en lugar del espacio (EPA, 1999).

Los sistemas SBR son utilizados típicamente para caudales iguales o menores de 19 m³/d. Debido a que esos sistemas tienen una superficie relativamente pequeña, son muy útiles en áreas en donde se tienen limitaciones de terreno. Además, los ciclos del sistema pueden ser fácilmente modificados para remoción de nutrientes si esto fuera requerido. Algunas de las ventajas y desventajas de los sistemas SBR se enumeran a continuación:

Ventajas:

- ✓ La homogenización de caudales, la sedimentación primaria, el tratamiento biológico y la sedimentación secundaria pueden lograrse en un tanque reactor único.
- ✓ Flexibilidad de operación y control.
- ✓ Área superficial mínima.

Desventajas:

- ✓ Se requiere un nivel mayor de sofisticación de las unidades de programación temporal y controles, especialmente en sistemas de mayor tamaño.
- ✓ Un nivel más alto de mantenimiento asociado con el tipo más sofisticado de controles, interruptores automáticos y válvulas automáticas.
- ✓ Necesita potencial de homogenización de caudales dependiendo de los procesos utilizados aguas abajo.

La operación de un reactor SBR se basa en el principio de llenado-descarga, el cual consiste de los siguientes 5 pasos básicos: Tiempo muerto, Llenado, Reacción, Sedimentación y descarga. Para aplicaciones de aguas residuales industriales normalmente se requieren estudios de tratabilidad para determinar la secuencia óptima de operación, que para la

mayoría de las plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas no se requieren dichos estudios porque el flujo de agua residual doméstica y sus variaciones características son generalmente predecibles.

1.5. Tratamiento de compuestos azufrados

Para el tratamiento de aguas residuales con compuestos de azufre se utilizan diferentes procesos tanto fisicoquímicos como biológicos. Algunos de los procesos fisicoquímicos requieren de altos flujos de energía, sin embargo, no es este elemento el único factor que se considera para su aplicación o sustitución por un proceso biológico. Entre los factores que se pueden considerar pueden citarse: el costo, la concentración de contaminante y la factibilidad biológica.

Si se cuenta con los organismos vivos que puedan oxidar los compuestos de azufre de interés, entonces queda a consideración el costo de su aplicación. En este sentido, se ha observado que en bajas concentraciones de contaminantes los procesos biológicos presentan ventaja económica y de eficiencia de eliminación (Groenestijn y Hesselink, 1993). Buisman (1998) comparó los costos del tratamiento de SO_x con tres técnicas, 2 fisicoquímicas y una tecnología biológica denominada Thiopaq, la cual utiliza microorganismos del género Thiobacillus en el proceso. El biotratamiento presenta ventajas económicas en concentraciones menores de 3500 ppm sobre los tratamientos fisicoquímicos.

1.5.1. Tratamientos físicoquímicos

Varios procesos químicos y físico-químicos son aplicados para la remoción de sulfatos de aguas naturales (agua de mar, aguas subterráneas), agua de proceso (agua de enfriamiento), y aguas residuales (lixiviados de minas). Ellos incluyen ósmosis inversa, electrodiálisis, o nanofiltración, los cuales son caros, pueden ser envenenados a través de impurezas, la salmuera requiere de un post-tratamiento. Dado que la solubilidad de BaSO₄ es sumamente baja, permite la remoción del sulfato por precipitación cuando el agua entra en contacto con

la solución de sales de bario ($BaCO_3$ o BaS). Una remoción más eficiente se obtiene con la presencia de iones Ca^{2+} , por ejemplo, por la adición de cal (Lens *et al.*, 1998):



El $CaCO_3$ puede ser removido por un tratamiento térmico del lodo químico, así se reducen los costos del proceso y puede eliminarse la necesidad de disposición de los lodos contaminados. Sin embargo, el Ba^{2+} es tóxico para los humanos, por lo que el riesgo asociado con el Ba^{2+} a concentraciones altas requiere de un adecuado monitoreo y post-tratamiento del efluente. La precipitación de sulfato con Ca^{2+} no tiene ningún riesgo tóxico y produce yeso que puede ser un reemplazo del yeso natural. El yeso cristaliza en lechadas súper saturadas de $CaSO_4$ de la cual los cristales se pueden retirar por sedimentación por gravedad, usualmente después de la adición de un polímero (Lens *et al.*, 1998). La cristalización puede ser mejorada por la exposición de la solución saturada de $CaSO_4$ a un campo magnético de 4.75 T por 2 min.

1.5.2. Tratamientos biotecnológicos

Los tratamientos de aguas residuales urbanas han sufrido importantes avances tecnológicos en el último tiempo. Investigaciones referidas al efecto de ciertos contaminantes, normas ambientales cada vez más estrictas y factores económicos han impulsado al desarrollo de nuevas tecnologías. La estrategia aplicada para lograr un tratamiento exitoso de las aguas residuales conteniendo sulfatos está relacionada al objetivo del tratamiento, el cual puede ser para remover materia orgánica o sulfatos, o para remover ambos.

Los procesos de remoción de nutrientes aplican condiciones secuenciales anaerobias-aerobias para eliminación de nitrógeno y fósforo. Además de remover nutrientes, este método combinado anaerobio-aerobio tiene la ventaja de producir pocos lodos residuales a comparación de sistemas aerobios completos. En los ambientes las rutas del ciclo están interconectadas y los ecosistemas en los que las transformaciones de azufre (reducción de sulfato y oxidación de sulfuro) se llevan a cabo de forma cíclica se llaman *Sulfureta*. En la

naturaleza los *Sulfureta* se encuentran en diferentes ambientes, como en la fuentes hidrotermales, sedimentos marinos y mantos microbianos. Estos ecosistemas son importantes desde los puntos de vista científico y ambiental, por la presencia de microorganismos muy especiales y por el ciclaje del azufre elemental (Lens *et al.*, 2001).

Los procesos tecnológicos ambientales basados en el ciclo del azufre se fundamentan en la formación de intermediarios insolubles que pueden ser físicamente separados de la fase líquida. Los intermediarios sólidos que se acumulan en la naturaleza (CaSO_4 , sulfuros metálicos y azufre elemental) son usados en las tecnologías ambientales. La conversión a productos finales gaseosos (H_2S y mercaptanos) no pueden usarse como un método de eliminación de sulfato puesto que son tóxicos, corrosivos y de olor ofensivo (Lens *et al.*, 2001; Celis, 2004).

Para aguas residuales ricas en sulfatos, la remoción biológica de sulfatos es una alternativa efectiva de bajo costo. La remoción biológica de sulfatos consiste en dos pasos con una reducción no asimilativa de sulfato a sulfuro como primer paso. El sulfuro producido en el primer paso es oxidado biológicamente a azufre elemental (S^0). Estos procesos combinados han sido aplicados para la desulfuración de desechos de ácido sulfúrico, aguas residuales de minas y otras aguas residuales industriales ricas en sulfato. Puede también ser integrada con remoción de metales pesados, bio lixiviación de suelos contaminados y desulfuración de gases de desecho (Lens *et al.*, 1998).

Así, el uso del sulfuro para formar precipitados insolubles de sulfuros metálico es un éxito real para el tratamiento de aguas residuales con metales pesados. El sulfuro puede ser adicionado como un químico o puede ser producido en un reactor sulfato reductor. Para las aguas residuales que no contienen o contienen insuficientes donadores de electrones y fuente de carbono para la reducción completa de sulfato será necesario adicionarlos.

Algunos aspectos importantes en la sulfato reducción a tener en cuenta son: la capacidad de las BSR de competir con otras bacterias anaerobias por el sustrato orgánico disponible y la sensibilidad de las bacterias por el sulfuro.

La selección del donador de electrones depende de: 1) el costo del donador de electrones adicionado por unidad de sulfato reducido y 2) del residuo que se genera en la corriente de desecho, la cual debe ser fácilmente removible. Basados en el criterio anterior, compuestos orgánicos simples como etanol, metanol o gas de síntesis (una mezcla de H₂, CO, CO₂) podrían ser utilizados.

Otra forma de aprovechar las capacidades de degradación de las BSR, es utilizar reactores bajo condiciones combinadas anaerobias y aerobias. Estos sistemas permiten la mineralización completa de ciertos compuestos xenobióticos. Las condiciones microaerofílicas se pueden crear en reactores de lecho de lodo anaerobio de flujo ascendente (UASB) mediante la dosificación de cantidades controladas de oxígeno al influente rico en sulfato.

Los reactores híbridos permiten separar el lodo granular anaerobio de la matriz aireada (biopelícula). También pueden utilizarse reactores de flujo inverso en una sola etapa o multietapa. Dentro de estos reactores se desarrolla un tipo especial de lodo granular, compuesto por BSR en la capa interior anaerobia y de bacterias sulfuro oxidantes como *Beggiatoa* sp. (Lens et al., 1998) en la capa periférica de los gránulos; de esta forma la degradación de la materia orgánica tiene lugar por reducción de sulfato y oxidación de sulfuro (Celis, 2004).

1.5.2.1 Potencial redox

Muchas reacciones enzimáticas son reacciones de óxido reducción en las cuales un compuesto es oxidado y otro es reducido. La habilidad de un organismo para llevar a cabo reacciones de óxido reducción depende del estado de óxido reducción del ambiente. En una solución, la proporción de componentes oxidados y reducidos constituyen el potencial de óxido reducción o potencial redox (E_h) (Janssen et al., 1998). Algunos microorganismos pueden estar activos sólo en ambientes oxidativos, mientras que otros pueden existir sólo en ambientes reductivos (Figura 1.6).

El potencial redox es un valor relativo medido contra el punto arbitrario 0 del electrodo normal de hidrógeno. Cualquier sistema o ambiente que acepta electrones de un electrodo normal de hidrógeno es una media pila que es definida como un potencial redox positivo; cualquier ambiente que dona electrones a esta media celda es definida como un potencial redox negativo. El potencial redox es medido en milivolts (mV). Un alto valor positivo E_h indica un ambiente que favorece reacciones oxidativas; un bajo valor negativo E_h indica un ambiente altamente reductor.

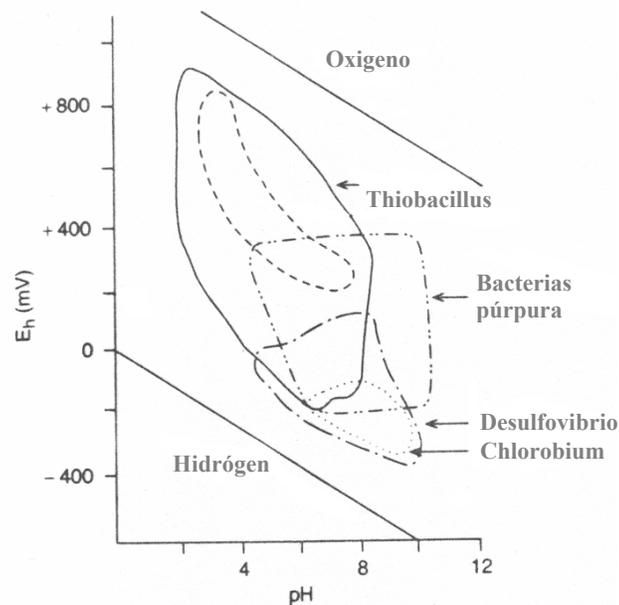


Figura 1.6. Regiones de tolerancia de pH y potencial oxido reducción (E_h) de varias bacterias implicadas en distintos procesos

Fuente: Atlas y Bartha, 1993

Los microorganismos estrictamente aerobios pueden estar metabólicamente activos solo en potenciales redox positivos, mientras que anaerobios estrictos están activos sólo en potenciales redox negativos. Anaerobios facultativos pueden operar bajo un amplio rango de valores de E_h usando oxígeno como un sumidero de electrones a altos potenciales redox y fermentan o usan aceptores de electrones alternos, como iones nitrato, a potenciales redox bajos. La solubilidad de ciertos nutrientes es fuertemente influenciada por el potencial redox predominante. A potenciales redox altos, el hierro y manganeso existen en su forma

trivalente y tetravalente respectivamente. Estos son insolubles y generalmente no disponibles para el consumo de los microorganismos.

El potencial redox es altamente influenciado por la presencia o ausencia de oxígeno molecular. Ambientes en equilibrio con el oxígeno molecular tienen E_h alrededor de +800 mV; ambientes a tensiones reducidas de oxígeno tienen bajos potenciales redox. En los sedimentos acuáticos los valores de E_h son usualmente negativos.

La actividad heterótrofa mantiene el potencial redox de aguas naturales aerobias en 400-500 mV, valores muy bajos a los esperados para aguas completamente equilibradas con la atmósfera. Debajo de la superficie de suelos anegados y sedimentos, valores de E_h son usualmente negativos (Figura 1.7).

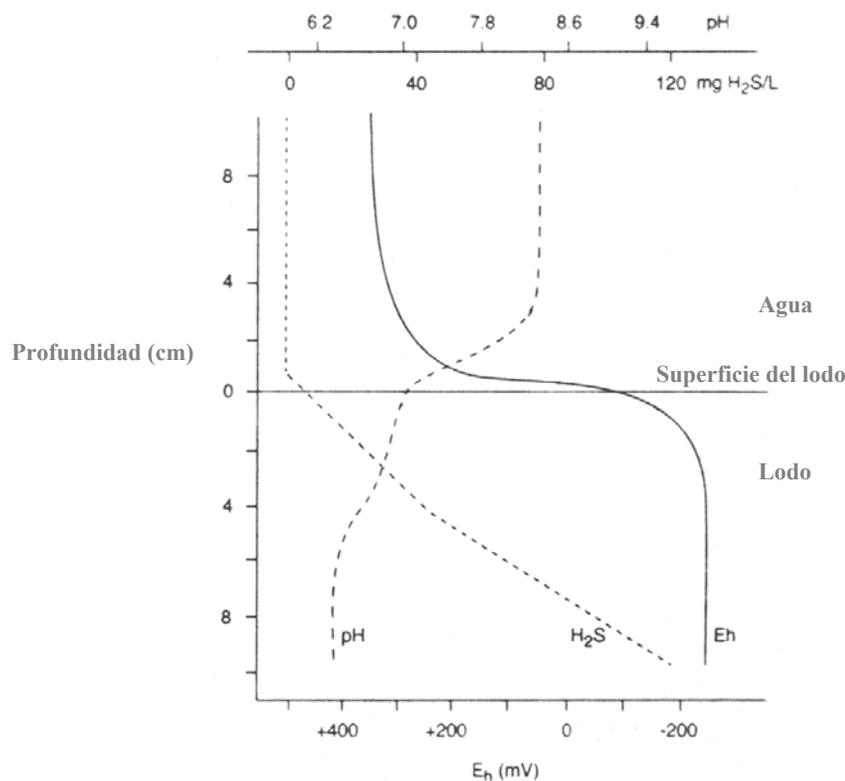


Figura 1.7. Variación de la concentración de H₂S y pH a diferentes profundidades de un lago

Fuente: Atlas y Bartha, 1993

Bajos potenciales redox pueden ser causados por el crecimiento extensivo de microorganismos heterótrofos que remueven todo el oxígeno disponible. Tal es el caso en

ecosistemas altamente contaminados donde los microorganismos utilizan el oxígeno disponible para el proceso de descomposición. Sedimentos ricos en materia orgánica pueden tener valores de E_h tan bajos como -450 mV. A estos valores bajos de E_h , la sulfato reducción produce H_2S (Atlas y Bartha, 1993). Se debe señalar que es difícil medir el E_h en habitats naturales; el desarrollo y uso de micro electrodos ahora hace posible medir el potencial redox en una escala relevante a micro ambientes microbianos.

La oxidación de sulfuro a azufre y sulfato, respectivamente, y la reducción de oxígeno en agua son los cambios redox más importantes y el valor del potencial redox será determinado por esas reacciones. Algunas investigaciones han mostrado que existe una relación lineal entre el potencial redox y el logaritmo de la concentración de sulfuro (Janssen *et al.*, 1998).

Janssen *et al.*, (1998) encontraron que la formación de azufre elemental, de la oxidación biológica de sulfuro puede ser optimizada y controlada por el estado redox de la solución. El azufre insoluble puede ser removido, ya que sedimenta. Además, encontraron que si se administran cantidades de oxígeno cercanas a la estequiométrica, la formación de sulfato es mínima. El potencial redox está principalmente determinado por la concentración de sulfuro.

Janssen *et al.*, (1998) reportan que el potencial redox óptimo para la formación de azufre está entre -147 y -137 mV. Una herramienta útil son los diagramas de zonas de predominancia de especies azufradas en función del pH y el ORP (Figura 1.8), sin embargo, esta herramienta solamente presenta la oxidación química.

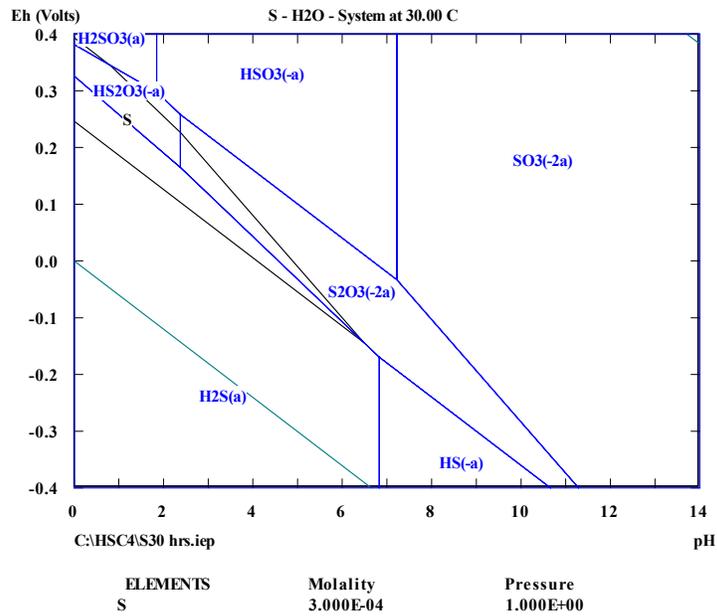


Figura 1.8. Diagrama de zonas de predominancia de especies azufradas.
 Fuente: Elaboración propia con software HSC Chemistry ® Version 4.1

1.6. Modelos matemáticos

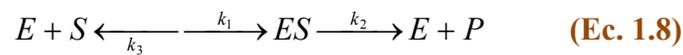
La estimación de utilización de sustrato o formación de producto por microorganismos puede ser modelado usando numerosas expresiones matemáticas. Sin embargo, la base conceptual de la modelación del crecimiento microbiano en sistemas biológicos fue propuesta en 1942 por el científico francés Jacques Monod. El modelo de Monod representa satisfactoriamente el crecimiento de los microorganismos en numerosos casos. No obstante, en situaciones en las que no es aplicable el modelo, se han propuesto relaciones funcionales similares (Bailey y Ollis, 1986). El postulado experimental de Monod considera que la velocidad de crecimiento específico celular, μ , es una función hiperbólica de la concentración del sustrato limitante de la forma:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{[S]}{K_s + [S]} \quad \text{(Ec. 1.7)}$$

Donde μ_{\max} : Velocidad específica máxima de crecimiento

K_s : Constante de afinidad al sustrato o constante de saturación.

El desarrollo microbiano es producto de una serie de reacciones enzimáticas, normalmente acopladas entre sí. Esto podría indicar que pretender explicar el metabolismo microbiano podría ser una tarea difícil. Sin embargo, alguna o algunas de estas etapas podrían determinar la cinética microbiana. Al respecto Michaelis-Menten estudiaron la cinética enzimática, postulando que debía existir una combinación real entre una enzima y un sustrato específico. Donde la enzima (E) se combina reversiblemente con su sustrato (S) para formar el complejo enzima-sustrato (ES) que posteriormente se descompone irreversiblemente para dar el producto P, liberando la enzima que vuelve a reaccionar, tal como se muestra en la siguiente ecuación.



Donde k_1 , k_2 y k_3 son las constantes de velocidades asociadas a cada reacción. Suponiendo que con posterioridad a los primeros instantes de contacto, la concentración del complejo es aproximadamente constante y que la concentración de la enzima generalmente es muy pequeña con respecto a la del sustrato y tomando en cuenta la velocidad de la reacción como la velocidad inicial ejercida por la enzima inmediatamente después de que ésta se ha puesto en contacto con el sustrato, la ecuación de Michaelis-Menten queda de la siguiente forma.

$$v = v_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (\text{Ec. 1.9})$$

Donde v es la velocidad inicial de reacción para una determinada concentración de sustrato, v_{\max} es la velocidad máxima de consumo de sustrato, $[S]$ es la concentración del sustrato y K_m es la constante de Michaelis-Menten que es igual a $(k_1+k_2)/k_3$ y representa la afinidad de la enzima por el sustrato.

Comparando las **ecuaciones 1.7 y 1.9** se infiere que el modelo de Monod para la cinética de crecimiento celular se puede asociar a una serie de reacciones enzimáticas donde alguna de ellas resulta limitante y, por lo tanto, controla la velocidad de crecimiento celular global. El

modelo de Monod puede modificarse para considerar que la velocidad de crecimiento específico celular puede ser afectada simultáneamente por más de un sustrato limitante. El modelo de “Monod Doble” se expresa de acuerdo a la **ecuación 1.10**, donde S_1 y S_2 representan dos sustratos limitantes diferentes que pueden o no interactuar de alguna forma.

$$\mu = \mu_{\max} \times \frac{[S_1]}{K_{s1} + [S_1]} \times \frac{[S_2]}{K_{s2} + [S_2]} \quad \text{(Ec. 1.10)}$$

En el caso de la sulfato reducción, donde ambos sulfato y un donador de electrones son usados como sustratos, un término Monod Doble es útil (Knobel *et al.*, 2001).

$$\mu = \mu_{\max} \times \frac{[S_1]}{K_{s1} + [S_1]} \times \frac{[S_2]}{K_{s2} + [S_2]} \quad \text{(Ec. 1.11)}$$

No obstante, la complejidad y limitaciones de los procesos de degradación biológica ha llevado a la generación y uso de otros modelos que describen mejor los procesos. El modelo de Haldane bajo la siguiente forma:

$$\mu = \mu_{\max} \times \frac{[S]}{K_{s1} + [S] + \frac{[S]^2}{K_I}} \quad \text{(Ec. 1.12)}$$

Donde K_I es la constante de inhibición producida por el sustrato, si el valor es alto la parte de inhibición es despreciable y la ecuación de Haldane se reduce a la forma de Monod (Ec. 1.7).

Mientras que modelos matemáticos generales anaerobios han sido desarrollados por varias décadas, solo en recientes años se han propuesto modelos que incorporan la sulfato reducción. Sin embargo, alguno de estos modelos no son maduros aún, ya que omiten algunos aspectos avanzados de modelos anteriores en donde no se considera la sulfato reducción (Knobel *et al.*, 2001).

Gupta *et al.* (1994) desarrollaron el modelo de un reactor anaerobio alimentado con sulfato. El principal logro de este modelo es la descripción del subsistema químico implicado (Figura 1.9) el cual fue modelado por la incorporación de varios sistemas buffer, ácido-base y equilibrio gas-líquido, interacción iónica y precipitación metálica. Contrariamente, el subsistema biológico fue representado en una forma simple, usando la ecuación de Monod para dos grupos de bacterias sin la modulación de pH y sin tomar en cuenta la inhibición por sulfuro.

$$\mu = \mu_{\max} \times \frac{[S]}{K_s + [S]} \quad (\text{Ec. 1.13})$$

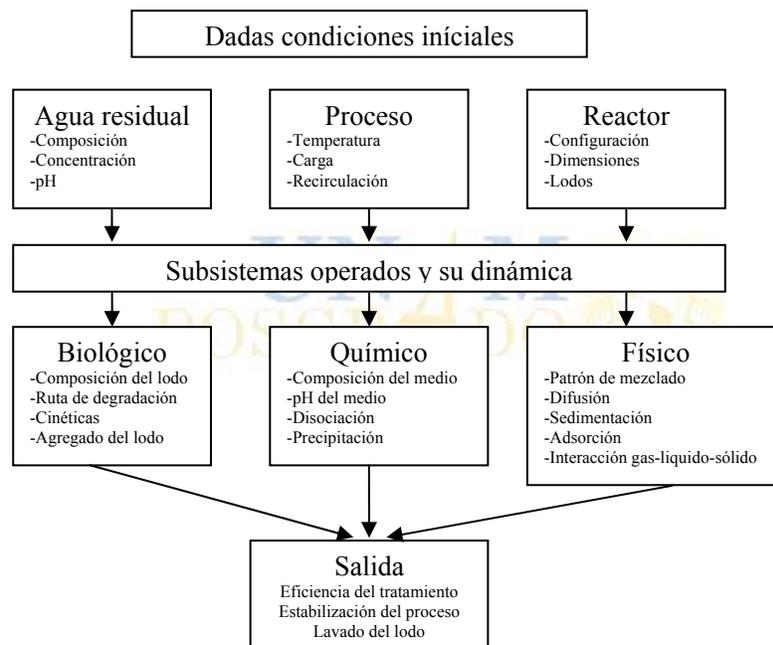


Figura 1.9. Dinámica compleja de reactores anaerobios: Subsistemas presentes y sus interacciones

Fuente: Kalyuzhnyi *et al.*, 1998

Un modelo más complejo de un reactor completamente agitado alimentado con sulfato fue propuesto por Vavilin *et al.* (1994). El modelo del subsistema químico fue similar a Gupta *et al.* (1994). La representación del subsistema biológico incluyó la relación de Monod (Ec. 1.7) para dos grupos de bacterias (acetotróficas BM y BSR) incluyendo dos funciones de inhibición por pH y por concentración de sulfuro de tal forma que la ecuación queda de la siguiente forma:

$$\mu = \mu_{\max} \times \left[\frac{[S]}{k_s + [S]} \right] * F(pH) * F(H_2S) \quad (\text{Ec. 1.14})$$

El término de inhibición se introdujo en una ecuación que considera dos constantes (Vavilin *et al.* (1994).

$$F(I, k_2, k_{100}) = \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{I}{k_2} \right)^{\frac{\ln 99}{\ln(k_{100}/k_2)}} \right)} \quad (\text{Ec. 1.15})$$

Donde I puede ser pH o H₂S

k_2 = Concentración de I a la que la tasa de crecimiento decrece dos veces

k_{100} = Concentración de I a la que la tasa de crecimiento decrece cien veces

Knobel *et al.*, (2001) desarrollaron un modelo matemático comprensible para describir el tratamiento anaerobio de aguas residuales ricas en sulfatos. Los requerimientos particulares son que el modelo deba ser aplicado a un número de fuentes de carbono (simples y complejas), se deba tomar en cuenta la inhibición por pH, sulfuro, hidrógeno y ácidos grasos; y debe ser válido por un gran número de tipos de reactores.

Otro modelo (Pawlowski *et al.*, 1984) resultado de un largo número de análisis de regresiones en donde se relaciona la tasa de producción de H₂S con la concentración de ácido láctico y la concentración de sulfato, se describe enseguida:

$$\frac{1}{X} \frac{d(G_{H_2S})}{dt} = 0.0218 [SO_4^{2-}]^{0.44} [LAC]^{0.65} \quad (\text{Ec. 1.16})$$

Donde X: concentración de SSV, g/L

G_{H_2S} : Sulfuro producido, mg

$[SO_4^{2-}]$: Concentración de sulfato, mg/L

$[LAC]$: concentración de lactato, mg/L

La **ecuación 1.16** puede ser comparada con la siguiente ecuación que la forma:

$$G_s = 32.3E^{-6}V_s[DBO_5]^{0.8}[SO_4^{2-}]^{0.4}1.139^{(t^{\circ}C-20)} \quad (\text{Ec. 1.17})$$

Donde V_s : Velocidad promedio específica, *pies/s*

DBO_5 : Demanda Bioquímica de Oxígeno, *mg/L*

La ecuación anterior fue el resultado de un detallado estudio emprendido por las autoridades de aguas residuales de Australia. Siendo una relación de las **ecuaciones 1.16 y 1.17** en la cercana conformidad en poder de la concentración de $[SO_4^{2-}]$ y fuentes de carbono [DBO o Lactato] ([Pawlowski et al., 1984](#))





Capítulo 2. Objetivos y Justificación

2.1 Objetivo General

Evaluar la cinética de la sulfato reducción y la sulfuro oxidación biológica en un proceso en lote a través de la variación de la composición del influente, relación DQO/SO₄²⁻, variación de las condiciones operacionales, pH y concentración de sulfuro para la sulfato reducción, así como de la variación de las condiciones operacionales, flujo de aire, para la sulfuro oxidación.

2.2 Objetivos particulares

- ✓ Obtener biomasa sulfato reductora enriqueciendo un cultivo mixto anaerobio
- ✓ Evaluar el efecto de la concentración de lactato, sulfuro y pH en la reducción del sulfato
- ✓ Obtener biomasa sulfuro oxidante enriqueciendo un cultivo mixto anaerobio
- ✓ Validar un modelo matemático que describa las tasas de remoción de sulfato del sistema sulfato reductor considerando los parámetros cinéticos obtenidos en la experimentación

2.3 Justificación

En la actualidad una gran cantidad de efluentes industriales, los cuales contienen altas concentraciones de compuestos azufrados y materia orgánica, son descargados en el ambiente acuático por industrias que usan sulfatos y ácido sulfúrico en sus procesos. Los procesos biológicos basados en el ciclo del azufre se llevan a cabo en dos etapas. Siendo la primera la reducción completa no asimilativa del sulfato a sulfuro por bacterias sulfatorreductoras (*Desulfovibrio desulficans*, *Clostridia*), y en la segunda la oxidación biológica del sulfuro producido en azufre elemental por bacterias incoloras del azufre, el cual al ser insoluble, puede separarse de la fase líquida y ser reutilizado para la producción de fertilizantes y de ácido sulfúrico. Celis (2004) estudió la reducción de sulfato a sulfuro en un reactor anaerobio y la oxidación de sulfuro a azufre elemental en un reactor aerobio, y concluye que la integración de condiciones anaerobias y aerobias podría ser factible en un solo reactor y utilizarse como una estrategia adecuada para la completa transformación de sulfato en azufre elemental. Por lo que de ésta manera el estudio y manejo del ciclo del azufre resulta de gran importancia como una estrategia adecuada para la completa transformación de sulfato en azufre elemental en el tratamiento de afluentes azufrados.



Capítulo 3. Metodología

En este capítulo se desarrollarán los aspectos relacionados con el sistema experimental estudiado, se explican aspectos de diseño experimental y métodos de análisis utilizados. Además, una descripción del montaje y los componentes del sistema, su operación y el registro de resultados de interés necesarios.

3.1. Materiales

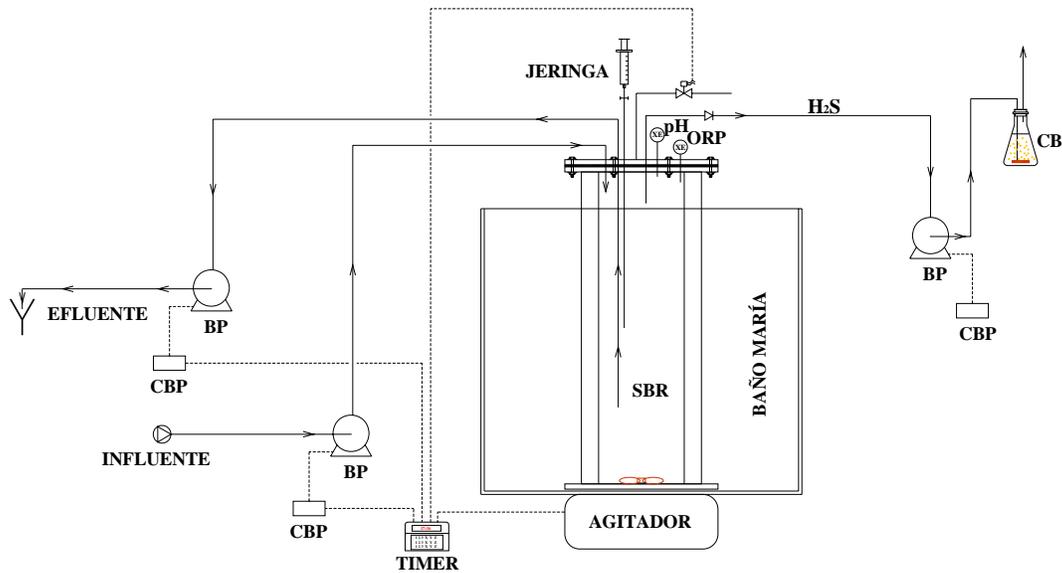
3.1.1. Inóculo

De acuerdo con el propósito del siguiente trabajo; reducir en una primera etapa anaerobia el sulfato a sulfuro y oxidar el sulfuro a azufre elemental en una segunda etapa, para la remoción de sulfatos del agua residual, se utilizaron lodos anaerobios y lodos aerobios capaces de reducir y oxidar los compuestos del azufre. Para lo cual se aclimataron y enriquecieron a partir de un cultivo mixto metanogénico y lodos anaerobios las correspondientes biomasas para que realizaran la sulfato reducción y la sulfuro oxidación.

Dicho lo anterior, se aclimató y enriqueció un lodo granular proveniente de un reactor UASB de una planta de tratamiento de aguas residuales de una industria cervecera y lodos granulares de un reactor UASB de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales de la UAM-I con medios minerales utilizados en estudios previos (Celis, 2004; El Bayoumy *et. al.*, 1998).

3.1.2. Reactor SBR anaerobio

La experimentación se llevó a cabo en un reactor discontinuo secuencial piloto de laboratorio con un volumen de trabajo de 2 L. La alimentación y purga del agua tratada se llevaron a cabo a través de bombas peristálticas cuyo funcionamiento fue controlado por temporizadores. El mezclado se realizó mediante barra magnética a 300 rpm. La temperatura se controló mediante un baño maría a 35 °C. La distribución detallada de los componentes del sistema, instrumentación y control se ilustra en la [figura 3.1](#).



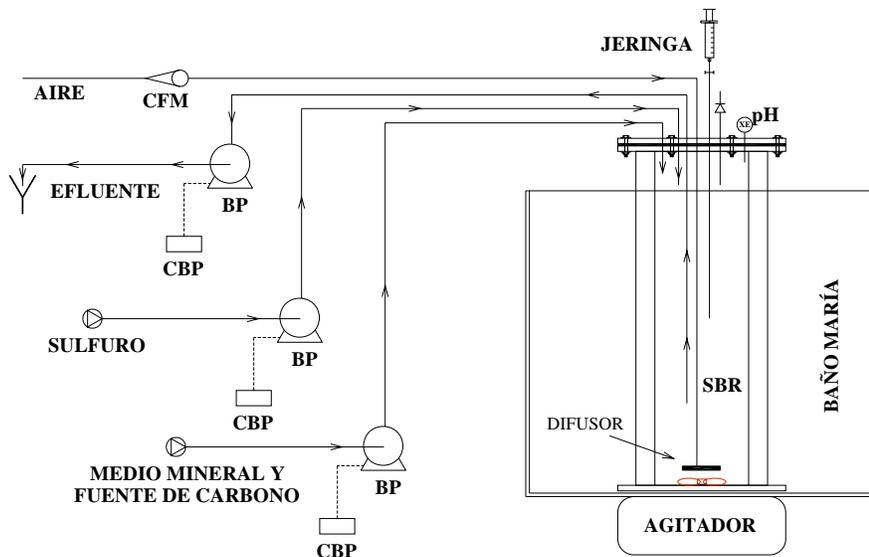
SBR, Reactor piloto; BP, Bomba peristáltica influente y efluente; CBP, Controlador bomba peristáltica; CB, Trampa con SOSA para retener H₂S

Figura 3.1. Distribución detallada del sistema experimental sulfato reductor

Fuente: Elaboración propia

3.1.3. Reactor SBR aerobio

Al igual que el anaerobio, el reactor aerobio fue un reactor SBR con un volumen de trabajo de 2 L. La alimentación y purga del agua tratada se llevaron a cabo a través de bombas peristálticas cuyo funcionamiento fue controlado manualmente. El suministro de aire al reactor fue controlado y medido con un controlador de flujo masico Cole-Parmer, SN:CP7364 y difundido a través de un difusor de gases. El mezclado se realizó mediante agitación magnética a 300 rpm. La temperatura se controló mediante un baño maría a 30 °C. La distribución detallada de los componentes del sistema, instrumentación y control se ilustra en la figura 3.2.



SBR, Reactor piloto; BP, Bomba peristáltica influente y efluente; CBP, Controlador bomba peristáltica; CFM, Controlador de Flujo Masico

Figura 3.2. Distribución detallada del sistema experimental sulfuro oxidante

Fuente: Elaboración propia

3.1.4. Software matemático

Dado que uno de los objetivos del siguiente trabajo es obtener información para reproducir un modelo matemático que describa la remoción de sulfatos en un proceso sulfato reductor, así como para la reproducir un proceso sulfuro oxidante se utilizó un software matemático para poder desarrollar y resolver los cálculos correspondientes. Así como para en un futuro el poder automatizar el sistema. El paquete matemático utilizado fue MatLab 7.4.

3.2. Métodos

3.2.1. Técnicas analíticas

Además del seguimiento en línea del ORP, oxígeno disuelto y del pH, se determinaron la concentración de sulfatos, sulfito, sulfuro, materia orgánica y de ácidos grasos volátiles (AGV). Se determinaron los sólidos suspendidos de acuerdo con los métodos estándar (APHA, 1992). El azufre elemental se determinó por medio de un método colorimétrico, así como el sulfuro disuelto (Cord-Rwish).

La concentración de sulfato y sulfuro se determinaron usando el método HACH, SulfaVer® Sulfate reagent (Hach, USA) y SulfaVer® Sulfide reagent (Hach, USA), respectivamente. Donde la determinación de sulfato se determina por espectrofotometría utilizando cloruro de bario. El sulfato de bario formado es insoluble en medio acuoso, encontrándose como partículas sólidas muy finas en la muestra. La turbiedad producida es proporcional a la cantidad de sulfato presente. La determinación de sulfuro se determina por espectrofotometría y se basó en la relación entre el ácido sulfhídrico e iones de sulfuros metálicos solubles en medio ácido, con N,N-dimetil-p-fenilenediamina para formar azul de metileno en presencia de dicromato de potasio (agente oxidante).

Un método alternativo para la cuantificación de sulfato, tiosulfato y sulfito fue un cromatógrafo de líquidos de alta presión (HP 1100); equipado con un detector de arreglo de diodos y una columna de 200 mm x 3 mm IonoSpher-A de intercambio iónico empacada con sílica. La fase móvil fue biftalato de potasio 0.04 M, pH 4 a un flujo de 0.8 mL/min. La detección se llevó a cabo a 308 nm de longitud de onda. La temperatura de la columna y del detector fue de 40 °C. Para la cuantificación de sulfuro de forma alternativa, y con la cual al final se determinó sulfuro por método colorimétrico, Cord-Rwish (Citado por Reis *et al.*, 1992).

Para la medición del sulfuro en la fase gaseosa se determinó por la captación de éste en una solución alcalina de sosa con una concentración cinco veces más de la concentración para captar todo el sulfuro considerando que todo el sulfato se redujera a sulfuro, y por titulación con ácido clorhídrico con una concentración de acuerdo a la concentración esperada de sulfuro en la trampa de sosa. La fase gaseosa se burbujeó en la solución de SOSA utilizando una piedra porosa y con agitación magnética durante todo el tiempo. La cuantificación de sulfuro determinado por titulación se comparó por medio de la medición del pH inicial y final de la trampa de sosa y mediante el uso de una hoja de cálculo que considera; pH inicial y final y los *pKas* del sulfuro, y sin considerar la contribución del CO₂ y AGVs en el pH de la trampa.

Los ácidos grasos volátiles se determinaron por cromatografía de gases usando un cromatógrafo Agilent 6890N equipado con una columna Zebron ZB-FFPA (15m x 0.53mm x 1 µm) y detector de ionización de flama (FDI). El flujo de nitrógeno como gas acarreador fue de 30 ml/min. Las temperaturas del inyector y detector fueron 230 y 250°C respectivamente, la temperatura del horno fue de 65°C por 20 min., incrementándose a una velocidad de 50°C/min hasta 135°C, misma que se mantuvo por 4.5 min.

El lactato se determinó por cromatografía de líquidos de alta presión equipado con un detector de arreglo de diodos (HP series 1100) y una columna Phenomenex Luna 5u C8(2). La fase móvil fue fosfato dibásico de amonio 0.1 M a pH 7 a un flujo de 0.5 mL/min. La detección se realizó a 210 nm de longitud de onda. La temperatura de la columna y del detector fue de 40 °C.

Los sólidos suspendidos volátiles, sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos fijos en el lodo se determinaron por el método gravimétrico descrito en los Métodos Estándar (APHA, 1992). Los sólidos suspendidos totales se determinan después de filtrar a través de un filtro de fibra de vidrio a peso constante una alícuota y dejándolo secar en la estufa a 105 °C por una hora. Los sólidos suspendidos fijos se determinan después de 15 min a 550 °C. El contenido de SSV de la muestra se calcula por la diferencia de los sólidos totales y los sólidos fijos.

La biomasa aerobia se determinó indirectamente por el contenido de proteína, que fue determinada por un método colorimétrico (Lowry, 1951) que consiste en la reacción de la proteína con el tartato de cobre en medio alcalino y la subsiguiente reducción del reactivo de Folin por el complejo tartato de cobre-proteína, produciéndose el característico color azul, que posee un máximo de absorbancia a 750 nm. Para la curva patrón se utilizó albumina sérica bovina a diferentes concentraciones entre 0 y 60 mg/L. Antes de hacer la digestión alcalina, a las muestras se les realizó una extracción con acetona durante veinticuatro horas para retirarles el azufre (Velasco *et al.*, 2004).

El azufre elemental se determinó por medio de cromatografía de líquidos de alta presión; el cromatógrafo fue equipado con un detector de arreglo de diodos (HP 1100) y una columna de 150 mm x 4.6 mm Econospher de intercambio iónico. La fase móvil fue metanol:agua a una relación 95:5, a un flujo de 1 mL/min. La detección se llevó a cabo a 254 nm de longitud de onda. La temperatura de la columna y del detector fue de 40 °C (McGuire *et. al.*, 2000).

Un método alternativo para la cuantificación de azufre fue por el método colorimétrico descrito por Celis (2004), que consiste en la reacción de cianuro de sodio con azufre elemental para formar tiocianato de sodio. En una solución de acetona, el azufre elemental reacciona rápida y cuantitativamente con cianuro dando tiocianato. El tiocianato se determina por la adición de acetona con cloruro férrico a 590 nm. El método es sensible para concentraciones de 2 ppm de azufre elemental. Los peróxidos, sulfuros, bisulfuros y mercaptanos no interfieren cuando están presentes en grandes cantidades.

El carbono orgánico e inorgánico se midió con un analizador de carbono total. El equipo utilizado fue un analizador modelo TOC-5000 Shimadzu TM y como gas de arrastre utiliza aire de alta pureza. La muestra de carbono orgánico se acidifica con ácido fosfórico 1:1

3.2.2. Actividad sulfato reductora

La actividad global sulfato reductora se determinó en un reactor de dos litros de volumen de trabajo, la operación se realizó de acuerdo a como se explicó en líneas anteriores, mediante el seguimiento a diferentes tiempos la reducción de la concentración de sulfato, el sustrato orgánico (lactato), y los productos de la reducción del sulfato, así como, AGVs, carbono orgánico e inorgánico, durante el tiempo de reacción de 48 horas para el enriquecimiento y aclimatación de la biomasa, y 6 horas de reacción para las cinéticas. Se determinó la biomasa como SSV, inicial y final. La actividad específica se calculó al dividir la velocidad volumétrica de sulfato reducido entre la diferencia de la biomasa final e inicial.

3.2.2.1. Efecto de la concentración de lactato en la sulfato reducción

Las actividades específicas sulfato reductoras se determinaron en un reactor de dos litros de volumen de trabajo, la operación del reactor se realizó de acuerdo a como se explicó en líneas anteriores y se evaluaron bajo esta condición operacional con la finalidad de observar el efecto de la concentración del lactato en la sulfato reducción.

Tomando en cuenta las observaciones de acumulación de los compuestos carbonados, especialmente el acetato, durante la aclimatación de la biomasa sulfato reductora se consideró que se lleva a cabo primordialmente la reducción de acuerdo a la siguiente reacción (**Ec. 3.1**) realizada por *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, observando que se necesitan una relación DQO/SO₄²⁻ de 2 para reducir completamente el sulfato y la fuente de carbono se oxide incompletamente a acetato.



Y dado que la concentración del donador de electrones, lactato, juega un papel importante en la activación de la reducción del sulfato, se planteó iniciar con la relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75, menor a la relación estequiométrica para reducir todo el sulfato pensando que sólo existe aporte de reducción de acuerdo a la estequiometría anterior. Se operó con una relación DQO/SO₄²⁻ de 2 para asegurar que el donador de electrones, lactato, está en la relación necesaria para reducir el sulfato. Además, se probó una relación en donde la fuente de carbono se encuentra en exceso, DQO/SO₄²⁻ de 5.6, y de esta forma simplificar una parte del modelo y hacer la identificación de parámetros cinéticos del modelo.

3.2.2.2. Efecto de la concentración de sulfuro y pH en la sulfato reducción

Para evaluar el efecto de la concentración de sulfuro disuelto, las actividades específicas sulfato reductoras fueron evaluadas en un reactor de dos litros de volumen de trabajo y operando de acuerdo a como se explicó en líneas anteriores. El sulfuro fue eliminado del medio por burbujeo de nitrógeno. Los experimentos realizados fueron:

- ✓ Relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75, 2 y 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo de N₂

Al arrastrar el sulfuro con burbujeo de nitrógeno se logró tener una concentración cero o mucho menor a la concentración a la cual la biomasa estaba sometida durante la operación del reactor sin burbujeo de nitrógeno.

3.2.3. Actividad sulfuro oxidante

La actividad sulfuro oxidante se determinó por medio de respirometría. Esta prueba se basó en la medición del consumo de oxígeno utilizado para oxidar química y biológicamente el sulfuro a sulfato o alguna especie intermedia del azufre. Para la actividad abiótica-oxidación química, la prueba se realizó en ausencia de microorganismos. Para la actividad total-oxidación biológica más química, se utilizaron bacterias del reactor después de haber sido lavadas en la solución mineral, centrifugadas y resuspendidas en medio mineral.

Estas pruebas se realizaron mediante el uso de un oxímetro YSI Modelo 5300 Biological Oxygen Monitor equipado con sensor de oxígeno YSI Modelo 5331. Las pruebas se realizaron con diferentes concentraciones de sulfuro: 0.3, 1, 2, 3, 5 y 7 mM de una solución de sulfuro de sodio preparada con agua reducida y embotellada en una atmósfera de nitrógeno para evitar oxidación, así como presurizado a una presión ligeramente superior a la atmosférica. El medio utilizado para estas pruebas fue el mismo descrito en el apartado 3.2.1.2. Las velocidades específicas de utilización de oxígeno u oxidación de sulfuro se determinaron a partir de la pendiente máxima que se obtuvo por linealización para cada experimento y estas se dividieron entre la biomasa utilizada, y de la diferencia de la tasa de respiración endógena, así como la actividad abiótica.

3.2.4. Estrategia de aclimatación de la biomasa

La estrategia de aclimatación de la biomasa fue mediante el suministro de cantidades iguales en concentración de sulfato y sulfuro al reactor sulfato reductor y sulfuro oxidante, respectivamente, durante varios ciclos de operación. Una vez que el sulfato o sulfuro suministrado fue reducido u oxidado, según el caso, o transcurrido el tiempo de reacción, se

le adicionó nuevamente la misma concentración, hasta obtener tiempos de degradación muy similares, la variación del tiempo de degradación entre los ciclos fue la variable a considerar para determinar que la biomasa está aclimatada al sulfato o al sulfuro. Es decir, se consideró aclimatada la biomasa cuando el tiempo de degradación de los ciclos ya no varió significativamente.

3.2.4.1. Sulfato reducción

Con la metodología descrita se aclimataron y enriquecieron a partir de un cultivo mixto proveniente de un reactor UASB de una planta de tratamiento de aguas residuales de una industria cervecera con medios utilizados en estudios previos (Celis, 2004), modificados en la cantidad de nitrógeno total y fósforo total (El Bayoumy *et. al.*, 1998).

Con el propósito de conocer las condiciones bajo las cuales se favorecía el desarrollo de biomasa sulfato reductora más rápidamente, así como mejorar la actividad bacteriana (Moosa *et. al.*, 2002) se comparó la aclimatación variando: la composición del influente, relación DQO/SO₄²⁻, y la condición operacional, descarga alta de concentración de sulfuro (Omil *et. al.*, 1996). Se utilizaron tres reactores para la experimentación. En el primero (A) se utilizó la relación estequiométrica DQO/SO₄²⁻ de 0.66, en donde existe la suficiente materia orgánica (DQO) disponible para reducir completamente el sulfato presente, además, se liberó continuamente el sulfuro de la fase gaseosa del reactor. En el segundo reactor (B) se utilizó la misma relación estequiométrica y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro a través de la acumulación de sulfuro en el reactor por dos semanas, después de este periodo el sulfuro de la fase gaseosa del reactor se liberó continuamente. En el tercer reactor (C) se utilizó una relación mayor a la estequiométrica, de 1, en donde existe un poco más de la relación estequiométrica, además, se liberó continuamente el sulfuro de la fase gaseosa del reactor. Se utilizó lactato como fuente de carbono orgánico (3.5 y 2 g/L), y sulfato de sodio como fuente de sulfato (5.3 y 2 g/L).

El lodo se lavó con una solución de medio mineral y a continuación se disgregó haciéndolo pasar varias veces por una malla de uso doméstico. Los reactores se inocularon con el cultivo mixto después de haber sido lavados en con medio mineral. La alimentación del reactor (A) se compuso de 3.5 g de DQO como lactato y sulfato de sodio como fuente de sulfatos en una relación DQO/SO₄²⁻ de 0.66 (5.3 g de SO₄²⁻), en el medio de cultivo que se muestra en las [Tabla 3.1, 3.2](#) a un pH de 6.7 ([Reis et. al., 1992](#)). La alimentación del reactor (B) se compuso de igual forma que la del reactor (A) y la alimentación del reactor (C) se compuso de 2 g de DQO como lactato y sulfato de sodio como fuente de sulfatos en una relación DQO/SO₄²⁻ de 1 (2 g de SO₄²⁻).

Tabla 3.1. Medio de cultivo para la sulfato reducción

Compuesto	Cantidad (mg/L)
NH ₄ Cl	954.45
KH ₂ PO ₄	219.5
MgCl ₂ -6H ₂ O	150
KCl	500
CaCl ₂	10
Extracto de levadura	18
Solución de oligoelementos	1 (mL/L)
Sulfato como Na ₂ SO ₄	5300
DQO como lactato	3500

Fuente: [Celis, 2004](#) modificada [El Bayoumy et. al., 1998](#)

Tabla 3.2. Solución de oligoelementos

Compuesto	Cantidad (mg/L)
FeCl ₂ -4H ₂ O	2000
MnCl-4H ₂ O	785
ZnCl ₂	150
H ₃ BO ₃	50
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ -4H ₂ O	50
AlCl ₃	50
NiCl ₂ -6H ₂ O	50
Na ₂ SeO ₃	50
CoCl ₂ -6H ₂ O	72
CuCl ₂ -2H ₂ O	50
EDTA	500
HCl 37%	1 (mL/L)

Fuente: [Celis, 2004](#)

3.2.4.2. Sulfuro oxidación

Con el propósito de aclimatar la biomasa y favorecer el desarrollo de biomasa sulfuro oxidante se inoculó el reactor con un cultivo mixto de un reactor UASB metanogénico y mezclado con biomasa del reactor sulfato reductor. El lodo se lavó con una solución de medio mineral y se alimentó con 100 mg/L (3.125 mM) de sulfuro (0.75 g de $\text{Na}_2\text{-9H}_2\text{O}$), ya que se ha observado inhibición de las bacterias sulfuro oxidante a concentraciones mayores de 6 mM (Boltyanskaya *et. al.*, 2004). La aclimatación y enriquecimiento de biomasa sulfuro oxidativa se comenzó a una concentración de 100 mg/L (3.125 mM) de sulfuro. La Tabla 3.3 muestra las condiciones de cultivo utilizadas a pH de 8.0 (Celis, 2004), agitación de 500 rpm y flujo de aire de 20, 100 y 500 ml/min (3.05, 15.26, 76.31 mMO_2/min). Con este flujo de aire se asegura que la oxidación de sulfuro se lleve hasta sulfato y así las bacterias obtengan mayor energía para síntesis celular.

El medio se alimentó en dos partes, en un recipiente se mezclaron las sales excepto el sulfuro de sodio y el bicarbonato de sodio pues estos dos se mezclaron por separado. De esta manera se evitó la precipitación del hierro.

Tabla 3.3. Medio de cultivo sulfuro oxidación.

Compuesto	Cantidad (g/L)
Na_2HPO_4	1.2
KH_2PO_4	1.8
$\text{MgCl}_2\text{-6H}_2\text{O}$	0.1
NH_4Cl	0.5
CaCl_2	0.03
$\text{MnCl}_2\text{-4H}_2\text{O}$	0.03
$\text{FeCl}_3\text{-6H}_2\text{O}$	0.02
NaHCO_3	1.0
$\text{Na}_2\text{S}\text{-9H}_2\text{O}$	0.75

Fuente: Celis, 2004

3.2.5. Parametrización de un modelo matemático para describir el proceso sulfato reductor

Para la parametrización se utilizó un modelo doble de Monod (Ec. 1.10) con un término de inhibición de sulfuro. La obtención de los parámetros cinéticos ($K_{SO4^{2-}}$, K_{Lac} , q ($\mu_{max}/Y_{SO4^{2-}}$), q (μ_{max}/Y_{Lac})) necesarios para reproducir el modelo matemático (Ec. 3.11) se obtuvieron de los resultados experimentales de las actividades globales sulfato reducción con métodos de identificación por métodos de mínimos cuadrados no lineales. La estimación de los parámetros se realizó en MatLab utilizando los resultados experimentales de las cinéticas efecto de la concentración de lactato y efecto de la concentración de sulfuro y pH.

Dado que el reactor operado no es un reactor en continuo, sino un reactor en lotes, se plantean las ecuaciones de balance de cada especie involucrada en función del tiempo. De esta forma se tiene que de manera general para una especie de concentración volumétrica S se puede expresar de la siguiente forma:

$$-V \frac{dS}{dt} = Q_{in} S_{in} - Q_{out} S_{out} + rV \quad (\text{Ec. 3.2})$$

Donde Q_{in} , S_{in} : Flujos y concentraciones de entradas, respectivamente

Q_{out} , S_{out} : Flujos y concentraciones de salidas, respectivamente

V : Volumen reaccionante del reactor

r : Tasa de producción de la especie S

Teniendo en cuenta que se trata de un reactor discontinuo y que el volumen es constante el balance queda:

$$-\frac{dS}{dt} = r \quad (\text{Ec. 3.3})$$

Y desarrollando las ecuaciones de balance para las especies descritas, queda:

$$\frac{d[SO_4^{2-}]}{dt} = -\frac{\mu_1 X_1}{Y_1} - \frac{\mu_2 X_2}{Y_2} - \frac{\mu_3 X_3}{Y_3} \quad (\text{Ec. 3.4})$$

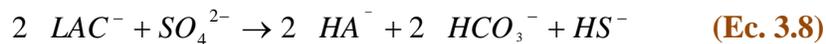
$$\frac{d[LAC^-]}{dt} = -2\frac{\mu_1 X_1}{Y_1} - \frac{2}{3}\frac{\mu_3 X_3}{Y_3} \quad (\text{Ec. 3.5})$$

$$\frac{d[HA^-]}{dt} = 2\frac{\mu_1 X_1}{Y_1} - \frac{\mu_2 X_2}{Y_2} \quad (\text{Ec. 3.6})$$

Donde LAC^- = lactato, HA^- =acetato y las tasas de crecimiento específico (μ_i) corresponden a las ecuaciones (Ec. 3.8), (Ec. 3.9) y (Ec. 3.10). Se pueden utilizar los mismos coeficientes de producción Y_i mediante el uso de los coeficientes estequiométricos tal como se hizo en estas ecuaciones siempre y cuando el coeficiente de producción esté dado por mol de sustrato, de tal forma que las ecuaciones de especies químicas se manejen en moles y únicamente la biomasa en gramos. Para cada tipo de biomasa X_i se puede escribir:

$$\frac{d[X]}{dt} = \mu_i[X_i] - K_{d,i}[X_i] \quad (\text{Ec. 3.7})$$

Donde $K_{d,i}$ es el coeficiente de decaimiento del grupo bacteriano. Partiendo de la consideración de que tres biorreacciones se llevan a cabo por bacterias sulfato reductoras (BSR's):



Las reacciones (Ec. 3.8) y (Ec. 3.10) son reacciones referentes a la sulfato reducción considerando el lactato como fuente de carbono (fuente de carbono orgánico que se ha venido utilizado en los sistemas de prueba hasta ahora montados); la reacción (Ec. 3.9) es

la sulfato reducción llevada a cabo por las bacterias utilizadoras de acetato). Bajo la presencia de sustrato específico, las tres biorreacciones se pueden llevar a cabo independientemente, es decir, por grupos diferentes de bacterias, por lo que cada una deberá tener su propia tasa de crecimiento.

Esto se ha observado en un reactor sulfato reductor del grupo de trabajo del Dr. Germán Buitrón del Instituto de Ingeniería, donde se ha comprobado que la reacción **(Ec. 3.8)** tiene lugar preferentemente sobre la reacción **(Ec. 3.10)** llevando a la producción de acetato, el cual no se consume, sino que se acumula, lo que lleva a la conclusión de que el grupo bacteriano consumidor de acetato no existe o se encuentra inhibido: se ha demostrado que las BSR utilizadoras de acetato (ABSR) son más propensas a la inhibición por sulfuro que aquellas que utilizan otros sustratos orgánicos (Yamaguchi *et al.*, 1999; Kaksone *et al.*, 2004).

Considerando lo anterior se plantean las siguientes tasas de crecimiento específicas:

$$\mu_1 = \mu_{\max,1} \frac{[SO_4^{2-}]}{K_{SO_4,1} + [SO_4^{2-}]} \frac{[LAC^-]}{K_{S,1} + [LAC^-]} \frac{(K_{I,1} - [H_2S])}{K_{I,1}} \quad \text{(Ec. 3.11)}$$

$$\mu_2 = \mu_{\max,2} \frac{[SO_4^{2-}]}{K_{SO_4,2} + [SO_4^{2-}]} \frac{[HA^-]}{K_{S,2} + [HA^-]} \frac{(K_{I,2} - [H_2S])}{K_{I,2}} \quad \text{(Ec. 3.12)}$$

$$\mu_3 = \mu_{\max,3} \frac{[SO_4^{2-}]}{K_{SO_4,3} + [SO_4^{2-}]} \frac{[LAC^-]}{K_{S,3} + [LAC^-]} \frac{(K_{I,3} - [H_2S])}{K_{I,3}} \quad \text{(Ec. 3.13)}$$

Siendo las reacciones **(Ec. 3.11)**, **(Ec. 3.12)**, **(Ec. 3.13)** las correspondientes a las tasas de crecimiento específicas de las biorreacciones **(Ec. 3.8)**, **(Ec. 3.9)**, **(Ec. 3.10)** respectivamente, cada una con una tasa de crecimiento máxima específica, sus respectivas constantes de inhibición por sulfuro K_{Ij} y su respectiva constante de afinidad por el sustrato orgánico K_{Sj} que, para las ecuaciones **(Ec. 3.8)** y **(Ec. 3.10)**, corresponde al lactato $[LAC^-]$, y para la ecuación **(Ec. 3.9)** al acetato $[HA^-]$. Así pues se tienen dos términos tipo Monod para sulfato y fuente de carbono y un término inhibitorio; sulfuro.

La inhibición por sulfuro está tomada como función únicamente de la concentración de sulfuro no disociado ya que se ha publicado que es la especie predominante causante de la inhibición (Kaksone *et al.*, 2004). Este término inhibitorio se ha planteado bajo un esquema de primer orden con una sola constante de inhibición (con posibilidad de considerar otra opción) para evitar un aumento en el número de parámetros del modelo (basado en el planteamiento de inhibición de Kalyunzhnyi *et al.*, 1998). En la parte de resultados se hablará sobre las observaciones experimentales hechas en cuanto a los dos efectos de inhibición mencionados.

3.2.6. Validación del modelo matemático

Dado que un aspecto importante de la simulación matemática es la validación de los resultados obtenidos con los datos experimentales. La experimentación realizada para esto se planteó tomando en cuenta una serie de experimentos distintos a los ya realizados para obtener los parámetros cinéticos del modelo.

La serie de experimentos para la validación se realizó bajo la operación del reactor de acuerdo a como se explicó anteriormente pero bajo una relación DQO/SO₄²⁻ de 8, así como la misma relación DQO/SO₄²⁻ de 8 con extracción de sulfuro con arrastre de nitrógeno.



Capítulo 4. Resultados y Discusión

En este capítulo se presentan los resultados del proceso sulfato reductor y sulfuro oxidante en forma de cuadros, diagramas, figuras y graficas para poder tener una mejor visión y entendimiento de los resultados de este trabajo.

4.1. Reactores; Sulfato reductor y Sulfuro oxidante

En las siguientes figuras 4.1, 4.2 y 4.3 se muestran los reactores piloto que se implementaron para la aclimatación y enriquecimiento del cultivo mixto, y que se utilizaron, para el desarrollo de la experimentación.



Figura 4.1. Reactor sulfato reductor para la aclimatación



Figura 4.2. Reactor sulfato reductor para el desarrollo experimental

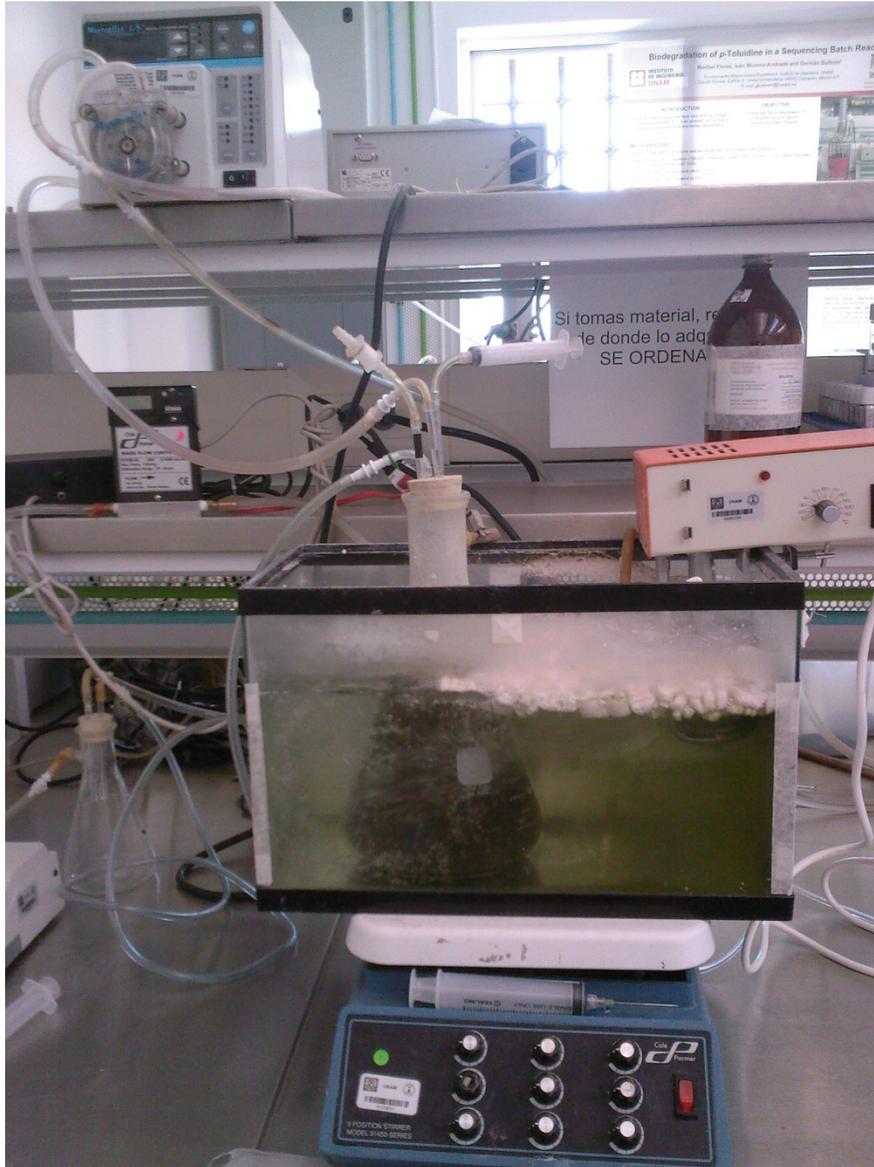


Figura 4.3. Reactor sulfuro oxidante para aclimatación y desarrollo experimental

4.2. Actividad sulfato reductora

La actividad sulfato reductora se consideró como la reducción total de sulfato independientemente del grupo de bacterias participantes en dicho proceso. Esto implica que se considera tanto la reducción aportada por las bacterias sulfato reductoras utilizadoras de lactato como la de otras bacterias presentes en la biomasa, por ejemplo las bacterias sulfato reductoras utilizadoras de acetato. Esta consideración se basa en el hecho que

algunas cinéticas sulfato reductoras presentaban la existencia de dos velocidades, como se puede ver en la **figura 4.4**.

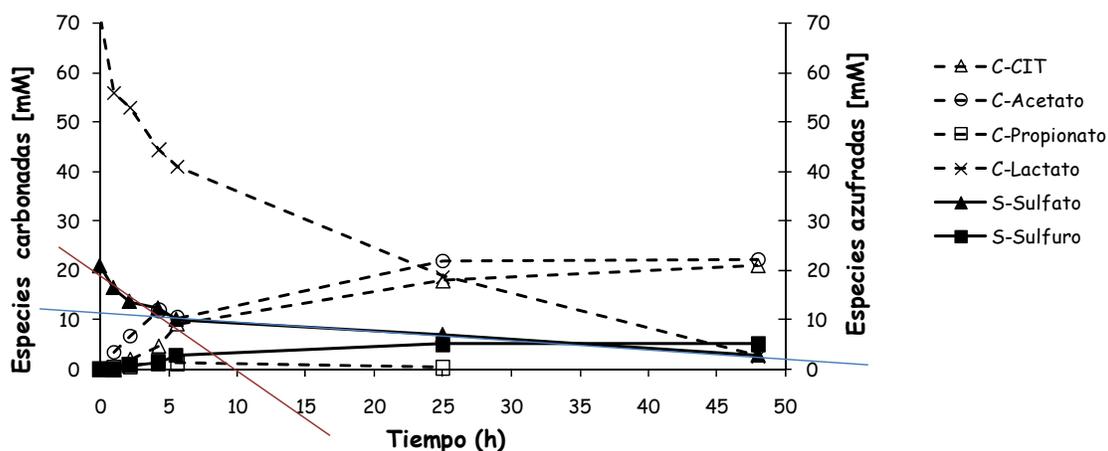


Figura 4.4. Ejemplo de cinética de sulfato reducción con dos velocidades de reducción

Aunado a lo anterior, las actividades sulfato reductoras se determinaron durante las primeras seis horas de reacción debido a que durante estas primeras horas se presenta una considerable reducción (**Figura 4.5**) del sulfato por las bacterias sulfato reductoras utilizadoras de lactato, así como una acumulación del acetato y el carbono inorgánico.

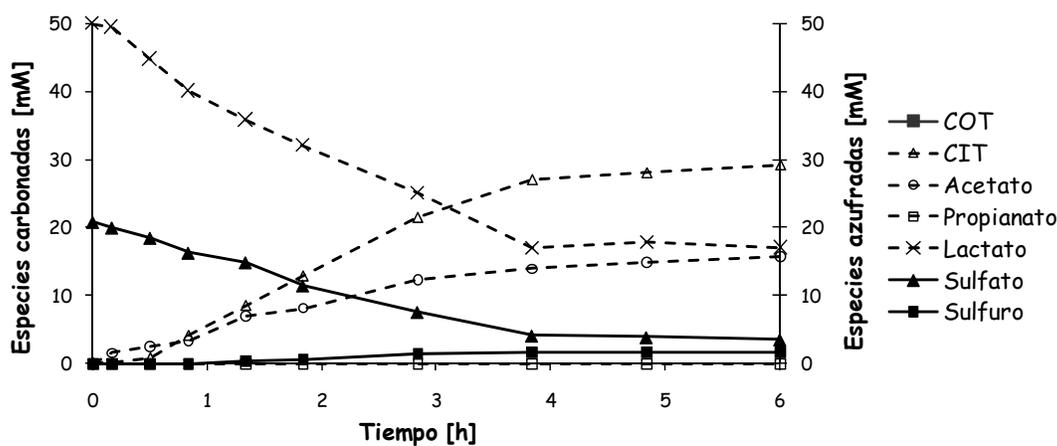


Figura 4.5. Cinética sulfato reductora exploratoria para determinar el tiempo de reacción de las cinéticas posteriores

4.3. Aclimatación de la biomasa sulfato reductora

4.3.1. Reactor A: Relación $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$

Interesantemente, en las primeras cuatro cinéticas de aclimatación después de iniciada la sulfato reducción se observó una reducción del 9% de la concentración inicial de sulfato en las primeras cuarenta y ocho horas de reacción, mostrando actividades específicas de reducción de $0.0027 \text{ mgSO}_4^{2-}/\text{mgSSV}\cdot\text{d}$. Después de este tiempo se notan incrementos y reducciones en la concentración de sulfato. Atribuyendo estos aumentos y reducciones del porcentaje de sulfato reducción simplemente a la adaptación del consorcio mixto. Al término de estas primeras cinéticas se alcanzan reducciones del 9% (Figura 4.6). A partir de la cinética cuatro las reducciones en la concentración de sulfato aumentan hasta el 15% en un tiempo de cuarenta y ocho horas de reacción, y una eficiencia de reducción del 66% en tiempos de 216 horas de reacción después de 135 días de operación del reactor. Además, se puede apreciar un aumento del 6% en la eficiencia de reducción de sulfato a partir de la cinética 4. Al cabo de las primeras cuarenta y ocho horas de reacción se alcanza una velocidad específica de utilización de sulfato de $0.0087 \text{ mgSO}_4^{2-}/\text{mgSSV}\cdot\text{d}$, considerablemente inferior a la velocidad encontrada de $0.07 \text{ mgSO}_4^{2-}/\text{mgSSV}\cdot\text{d}$ (Figura 4.7) al cabo de 218 horas de reacción.

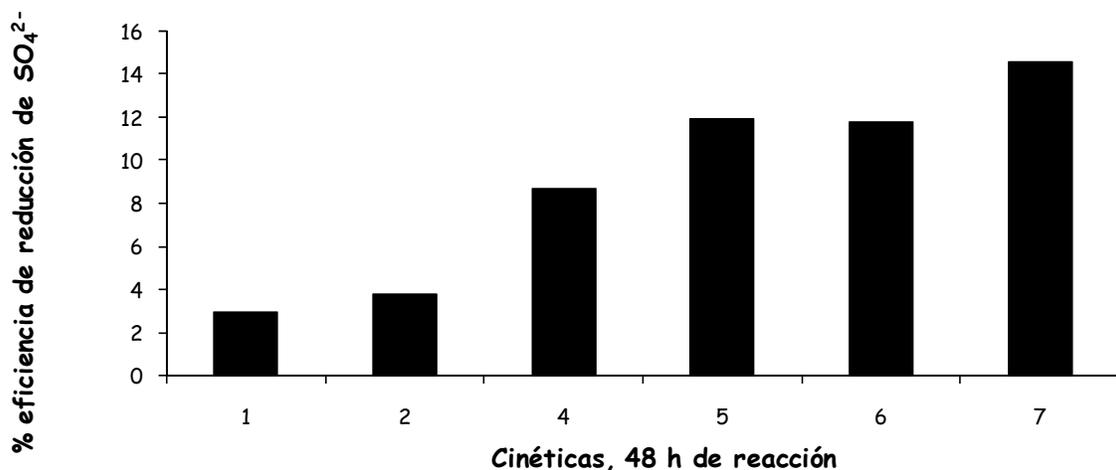


Figura 4.6. Evolución de las actividades de utilización con $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ en reactor (A), tiempo de reacción 48 h

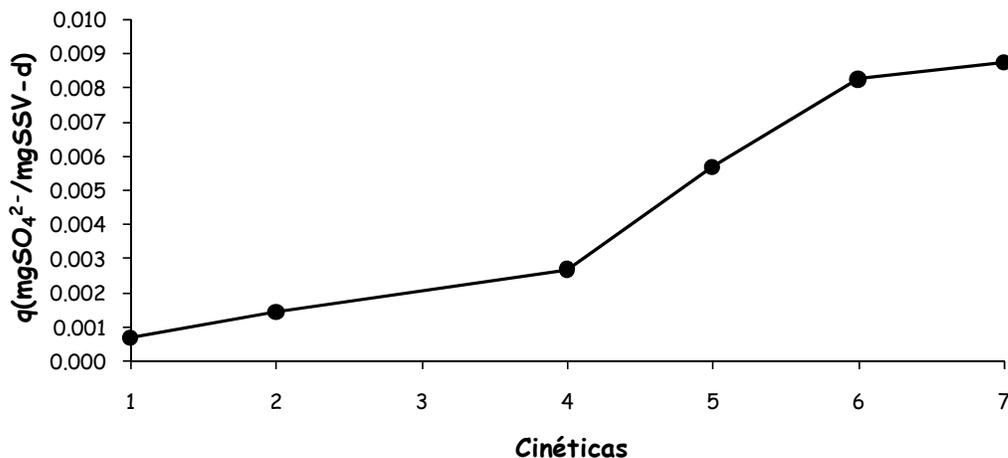


Figura 4.7. Incremento en velocidad específica de utilización de sulfato con $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ en reactor (A)

4.3.2. Reactor B: Relación $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro por la acumulación de sulfuro en el reactor por dos semanas

La figura 4.8 muestra la evolución de la actividad de utilización de las cinéticas. Se puede observar que durante las primeras cinéticas se obtienen bajas eficiencias de reducción de hasta el 6% en la concentración de sulfato en comparación con las subsiguientes cinéticas. Cabe hacer notar que este valor de reducción es inferior al obtenido bajo las condiciones del reactor (A), y lo cual se puede atribuir a que la exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro, de acuerdo a valores inhibitorios de sulfuro reportados (Yamaguchi *et al.*, 1999; Kaksone *et al.*, 2004), y que simplemente esta exposición eliminó a algún grupo de bacterias sulfato reductoras presente en el consorcio inoculador, como pudieron ser las bacterias sulfato reductoras utilizadoras de acetato. Lo anterior se puede explicar por la baja concentración de BSR presentes en el cultivo mixto.

De la cinética cuatro hasta la siete se observa un aumento del 6 al 42 % de eficiencia de reducción de sulfato en un mismo tiempo de reacción de cuarenta y ocho horas (Figura 4.8), con un respectivo aumento de la velocidad específica de reducción de 0.0187

a $0.1764 \text{ mgSO}_4^{2-}/\text{mgSSV}\cdot\text{d}$. Al cabo de la adaptación y enriquecimiento de las BSR en la cinética 7 se obtiene un 42 % de eficiencia de reducción de la concentración de sulfato, así como una velocidad específica de utilización de sulfato de $0.1764 \text{ mgSO}_4^{2-}/\text{mgSSV}\cdot\text{d}$ (Figura 4.9).

Para este caso, a diferencia del reactor (A) no se observaron los aumentos y reducciones en la concentración de sulfato en las primeras cinéticas. Lo anterior indicaría que la exposición de la biomasa a altas concentraciones de sulfuro durante un corto tiempo favoreció la selección y desarrollo de bacterias sulfato reductoras al eliminar las bacterias sensibles a esta concentración de HS^- (320 ppm) y permitió que las BSR que son más resistentes a HS^- prevalecieran. Esto se justifica con la observación de la pérdida de un 44 % de la biomasa inicial medida como SSV durante el periodo de exposición de la biomasa a altas concentraciones de sulfuro.



Figura 4.8. Evolución de las actividades de utilización con $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro (320 ppm) por la acumulación de sulfuro en el reactor por 2 semanas, en reactor (B), tiempo de reacción 48 h

La exposición de la biomasa a altas concentraciones de sulfuro por la acumulación de sulfuro en el reactor por dos semanas incrementó considerablemente la velocidad específica de utilización de sulfato de 0.0087 a $0.1764 \text{ mgSO}_4^{2-}/\text{mgSSV}\cdot\text{d}$ (Figura 4.9). La mayor desventaja del sistema sulfato reductor alimentado con lactato como fuente de carbono es la

ineficiencia de remoción de acetato, ya que este ácido graso, así como el HS^- generalmente contribuye en la DQO del efluente (Lens *et. al.*, 1998b).

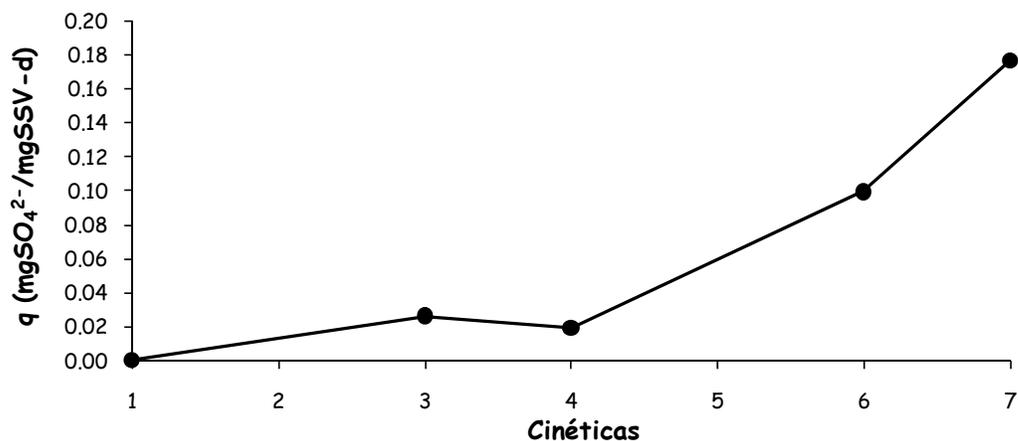


Figura 4.9. Incremento en velocidad específica de utilización de sulfato con $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro (320 ppm) por la acumulación de sulfuro en el reactor por 2 semanas, en reactor (B)

La figura 4.10 muestra la última cinética, cinética 15, de la operación del reactor (B), en la cual la concentración de sulfato es reducida en casi un 50% de la concentración inicial en un tiempo de 6 horas. También se observa la acumulación de acetato, llegando a un máximo de 16 mM y una acumulación y un máximo de propionato de 2.7 mM en las primeras 6 horas de reacción (Figura 4.10). La reducción del sulfato restante (50%) se alcanzó en un tiempo de 42 horas de reacción. De igual forma el propionato presentó una disminución hasta 0 mM, caso contrario con lo sucedido con el acetato que presentó una acumulación casi constante en el punto máximo alcanzado a las seis primeras horas de reacción, lo cual hace pensar que el grupo de bacterias sulfato reductoras utilizadoras de acetato se encuentran a baja concentración o se encuentran inhibidas por sulfuro: se ha demostrado que las BSRs utilizadoras de acetato son más sensibles a la inhibición por HS^- que aquellas que utilizan otros sustratos orgánicos (Yamaguchi *et al.*, 1999; Kaksone *et al.*, 2004).

Es decir prevalecieron las bacterias consumidoras de lactato que lo transformaron a acetato. Las BSR capaces de consumir acetato probablemente se encontraron en baja concentración en el lodo, ya que estas bacterias son de lento crecimiento y por ende consumen lentamente el acetato.

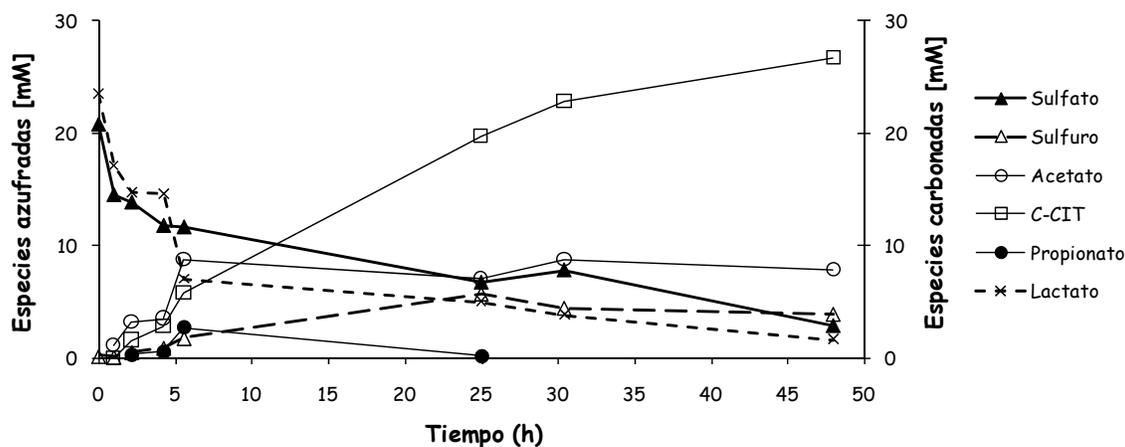


Figura 4.10. Cinética 15 de sulfato reducción con $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro (320 ppm) por la acumulación de sulfuro en el reactor por dos semanas, en reactor

(B)

La estequiometría de reacción entre lactato y el sulfato corresponde principalmente a las reacciones metabólicas correspondientes a las reacciones (Ec. 3.8) y (Ec. 3.9) dado que se puede observar una acumulación de acetato y bicarbonato. Con una reducción de lactato y sulfato de 21.95 mM y 18.01, respectivamente, y una producción de acetato y bicarbonato de 15.65 mM y 26.75 mM, respectivamente.

4.3.3. Reactor C: Relación $DQO/SO_4^{2-} = 1$

En la figura 4.11 se muestra la evolución de la eficiencia de reducción de SO_4^{2-} observada en las cinéticas relajadas. Se puede observar que después de varias cinéticas se alcanzó un 51% de reducción de la concentración inicial de sulfato en tiempos de reacción de 48 horas con una velocidad específica de reducción de sulfato de $0.2267 \text{ mgSO}_4^{2-}/\text{mgSSV}\cdot\text{d}$ (Figuras 4.11 y 4.12). Este porcentaje de reducción es comparable con el porcentaje obtenido bajo la relación $DQO/SO_4^{2-} = 0.66$ y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración

de sulfuro (320 ppm). En el reactor (B) esta reducción fue de 42 %, así como una actividad específica de reducción de sulfato de 0.0187 $\text{mgSO}_4^{2-}/\text{mgSSV}\cdot\text{d}$ (Figura 4.9). La estequiometría de la reacción que mejor describió los resultados del reactor (B) fue la biorreacción de la ecuación (Ec. 3.8). Misma estequiometría y biorreacción mostrada bajo estas condiciones.

Además, es preciso mencionar que desde la cinética número uno se presentó una eficiencia de reducción del sulfato del 33 %, la cual es mucho mayor a las eficiencias presentadas en las primeras cinéticas bajo las condiciones en el reactor (A) y reactor (B) (Figuras 4.6 y 4.8).

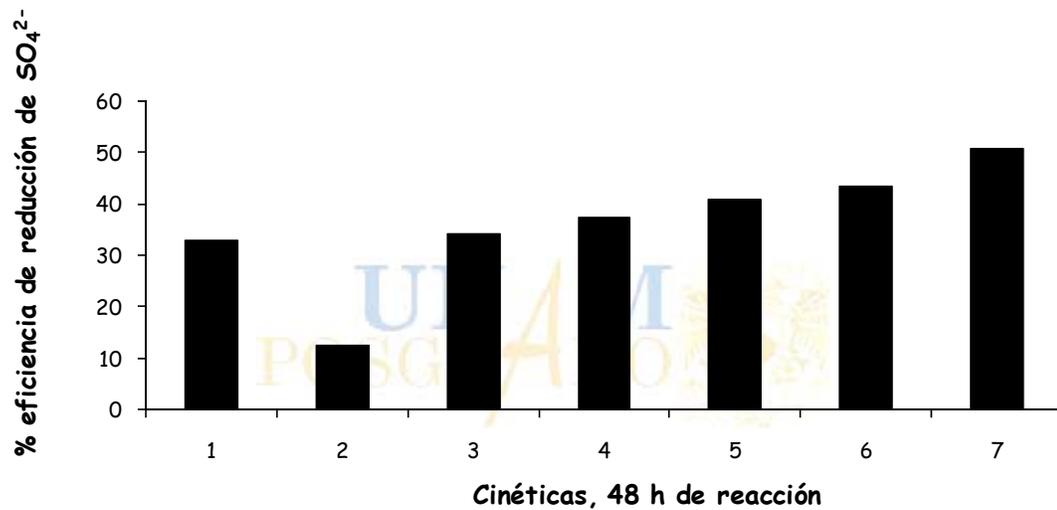


Figura 4.11. Evolución de las actividades de utilización con $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-} = 1$ en reactor (C), tiempo de reacción 48 h

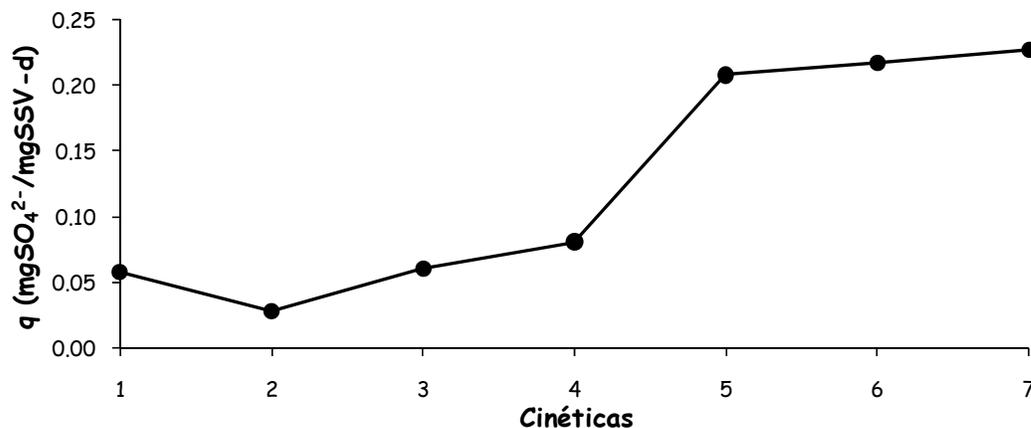


Figura 4.12. Incremento en velocidad específica de utilización de sulfato con $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-} = 1$ en reactor (C)

La concentración de sulfuro en el medio siempre permaneció por debajo del valor reportado como tóxico para las bacterias sulfato reductoras, 3 mM HS⁻ (Oyekola *et al.*, 2006). En cuanto a la tendencia del pH, éste no presentó un aumento más allá de una unidad de pH del valor inicial 6.8.

En la figura 4.13 se muestra la última cinética, cinética 15, del periodo de operación del reactor (C), en la cual la concentración de sulfato es reducida en casi un 50% de la concentración inicial en un tiempo de 6 horas, similar al tiempo mostrado en la última cinética del reactor (B) (Figura 4.10). El valor de la velocidad específica de utilización de sustrato fue de 0.39 mgSO₄²⁻/mgSSV·d similar al obtenido con una relación DQO/SO₄²⁻ = 0.66 y una corta exposición de la biomasa a una alta concentración de sulfuro por la acumulación de sulfuro en el reactor por dos semanas, reactor (B) (0.38 mgSO₄²⁻/mgSSV·d).

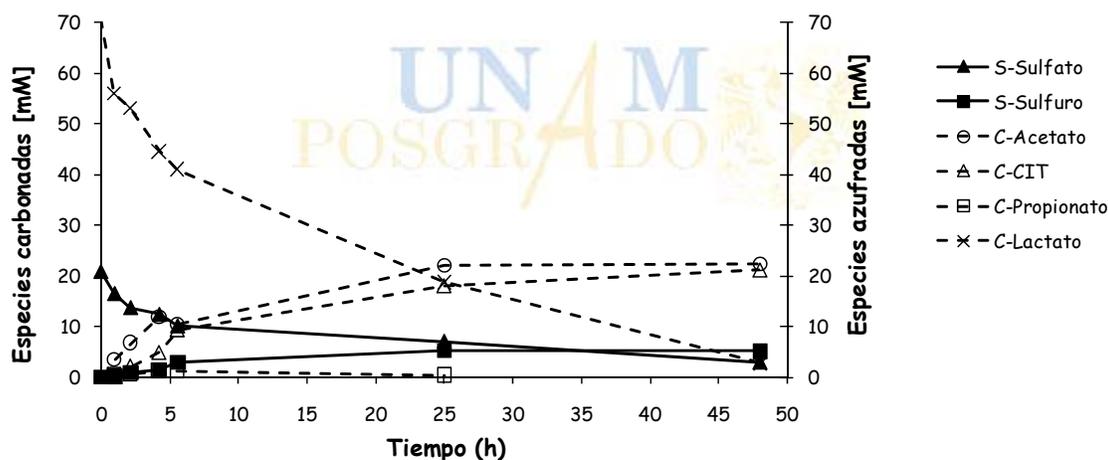


Figura 4.13. Cinética 15 de sulfato reducción con DQO/SO₄²⁻ = 1, en reactor (C)

Al igual que en el reactor (B) se observó una acumulación del acetato y del carbono inorgánico, 11.13 mM y 21.10 mM, respectivamente. Por lo cual, hace pensar que las bacterias sulfato reductoras utilizadoras de acetato se encontraron en baja concentración o inhibidas por el HS⁻ a diferencia de aquellas que utilizan otros sustratos orgánicos. Por lo anterior se puede decir que la biorreacción (Ec. 3.8) es la que prevalece sobre las biorreacciones (Ec. 3.9) y (Ec. 3.10) en la sulfato reducción.

En la [figura 4.14](#) se puede apreciar el resumen comparativo de las estrategias de aclimatación y enriquecimiento del consorcio mixto. Es claro observar que bajo las condiciones en las que se trabajó el reactor (C) se favoreció el enriquecimiento y aclimatación de las bacterias sulfato reductoras más que alguna fermentativa no sulfato reductora. El iniciar la aclimatación con una relación estequiométrica DQO/SO_4^{2-} no favoreció el enriquecimiento y aclimatación del consorcio por la falta de electrones para reducir el sulfato a sulfuro, ya que la oxidación parcial de lactato a acetato sólo proporciona cuatro electrones de los ocho que se necesitan para la reducción. Al no observarse o estar inhibidas las bacterias sulfato reductoras utilizadoras de acetato, la sulfato reducción se quedó con una deficiencia de electrones. Se puede observar que la presencia de bacterias sulfato reductoras se encontró desde un inicio en el cultivo mixto y que bajo las condiciones con las cuales se operó el reactor (C) favorecieron a este grupo dentro del consorcio. Por lo que, en cultivos en lote y enriquecidos con donadores de electrones que puedan ser usados por las bacterias sulfato reductoras que oxidan incompletamente y completamente los sustratos, se obtiene un cultivo rico en BSR que oxidan incompletamente la fuente de carbono. Lo anterior se sustenta porque las especies de *Desulfovibrio* que utilizan hidrógeno, lactato o piruvato alcanzan tiempos de duplicación de 3 a 4 horas ([Widdel, 1988](#)).

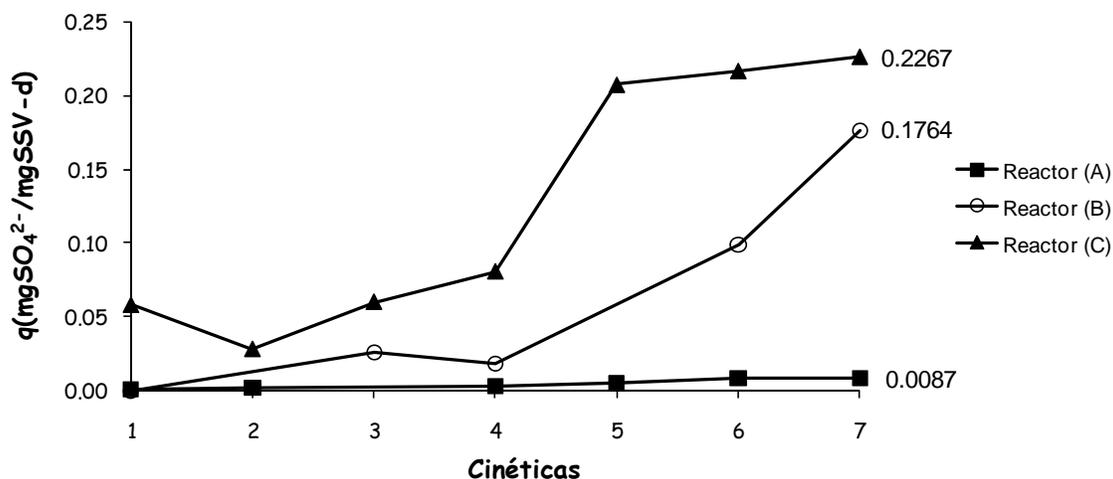
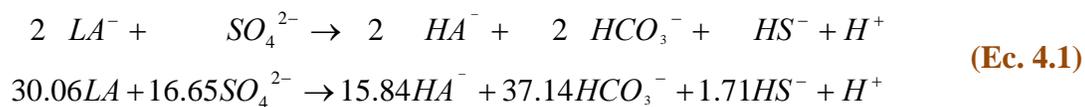


Figura 4.14. Comparación de velocidad específica de reducción de sulfato bajo diferentes estrategias de enriquecimiento y aclimatación.

4.4. Efecto de la concentración de lactato en la sulfato reducción

4.4.1. Relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75

Los resultados obtenidos al modificar las condiciones del influente en cuanto a concentración de lactato se observa en la [Figura 4.15](#). Al poner una concentración de lactato de 3.5 g/l para obtener una relación DQO/SO₄²⁻ = 1.75 la reducción de la concentración inicial de sulfatos es de 80%. Si se acopla la reducción de sulfato con la oxidación de lactato el resultado indicaría que bajo estas condiciones y lapso de tiempo, la estequiometría de reacción entre el lactato y el sulfato corresponde, principalmente, a la reacción metabólica de las bacterias sulfato reductoras; *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* (Widdel y Hansen, 1992) (Ec. 4.1)



En esta cinética se obtiene una reducción de Sulfato de 16.65 mM, Lactato de 30.06 mM y una producción de 15.84 mM de Acetato, Carbonatos de 37.14 mM y Sulfuro disuelto residual de 1.71 mM. Haciendo el balance de carbono y azufre bajo esta condición el porcentaje de recuperación de carbono fue del 77 % y un porcentaje de recuperación de azufre del 84 %, estimando que el faltante de azufre se encontró en alguna especie no determinada, como tetracionatos, politionatos o polisulfuros. El 33 % de carbono es atribuido a que fue utilizado para síntesis y mantenimiento celular, ya que se observó un ligero incremento de la biomasa de 2033 a 2386 mgSSV/L, así como a la falta de medición de las especies carbonadas escapadas a la fase gaseosa del reactor.

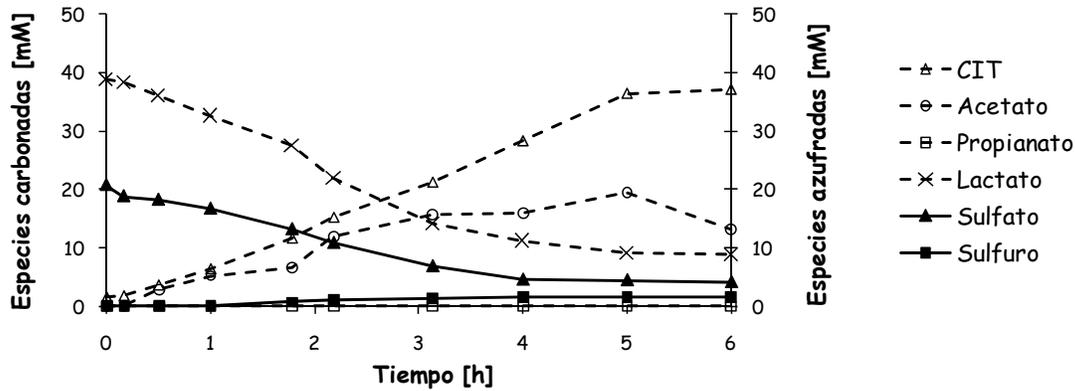


Figura 4.15. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75.

El comportamiento del pH presentó una disminución de 7.14 a 6.78 a medida que transcurrió la cinética (Figura 4.16). Lo cual puede explicarse por la acumulación de acetato y por la liberación de H⁺ al medio a medida que la cinética se desarrolló, así como la baja capacidad amortiguadora de los carbonatos. A medida que la cinética se desarrolló la tendencia del ORP fue a tener valores más negativos, partiendo de -100mV y terminando en valores de -215mV (Figura 4.17). Este valor de ORP se encuentra en la zona de ORP, pH de bacterias como *Desulfovibrio* (Figura 1.6) (Atlas y Bartha, 1993).

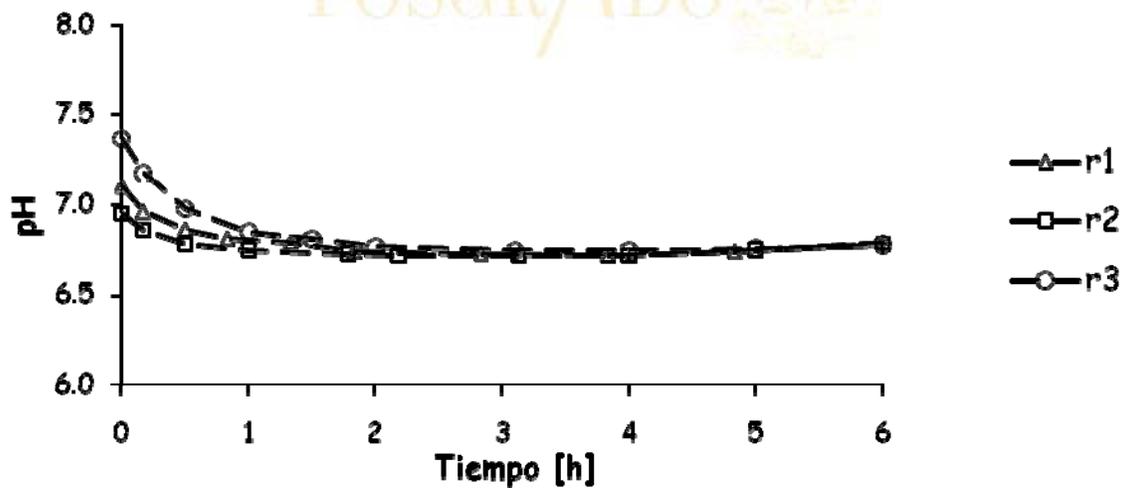


Figura 4.16. Seguimiento de pH en cinéticas con una relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75

A pesar de que la concentración de sulfuro disuelto en el medio no pasó más allá de 1.71 mM (54.72 mg/L), siendo esta concentración menor a la reportada como inhibitoria para las BSR utilizadoras de acetato, 100 mg/L, se observó la presencia de este tipo de bacterias al

observar que el carbono inorgánico es mayor al esperado por la biorreacción (Ec. 3.8), así como una cantidad menor de acetato. Sin embargo, es notorio que la biorreacción (Ec. 3.8) tiene lugar preferente sobre la reacción (Ec. 3.9) al acumularse el acetato, así como el carbono inorgánico.

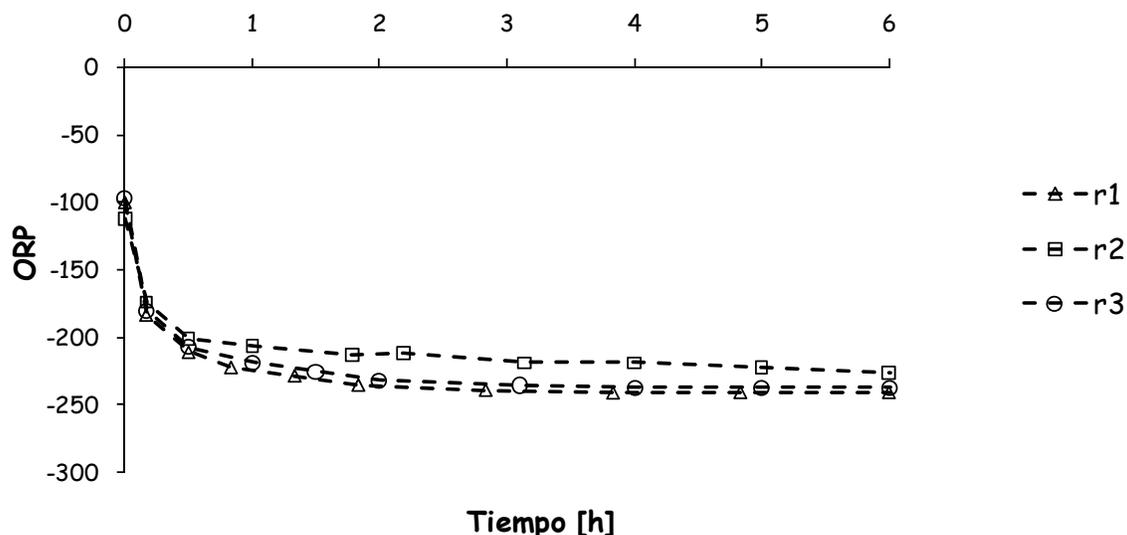


Figura 4.17. Seguimiento de ORP en cinéticas con una relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75.

4.4.2. Relación DQO/SO₄²⁻ de 2

Al estudiar un relación DQO/SO₄²⁻ de 2, con una concentración de 4.0 g/L de lactato como DQO, se puede ver que se obtiene una eficiencia de sulfato reducción del 80% (Figura 4.18), misma eficiencia obtenida bajo la relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75. Lo cual hace pensar que aunque se trabajó bajo una relación en donde existe una cantidad suficiente de donador de electrones, lactato, existe un factor limitante para obtener una mejor eficiencia de reducción. El acetato, así como el carbono inorgánico presentan una acumulación al igual como fue observado en cinéticas anteriores.

Bajo esta relación la concentración de carbono inorgánico presentó una menor acumulación comparada con la relación anterior DQO/SO₄²⁻ de 1.75, llegando a un máximo de 27.28 mM a las cuatro horas de reacción y permaneciendo constante. El acetato presentó una ligera disminución en la última hora de reacción después de haber logrado un máximo a las cinco horas de reacción en un valor de 19.91 mM, no así por el carbono inorgánico el

cual se mantuvo constante después de la cuarta hora de reacción. La presencia de algún AGV, como el propianato, en el medio fue nula.

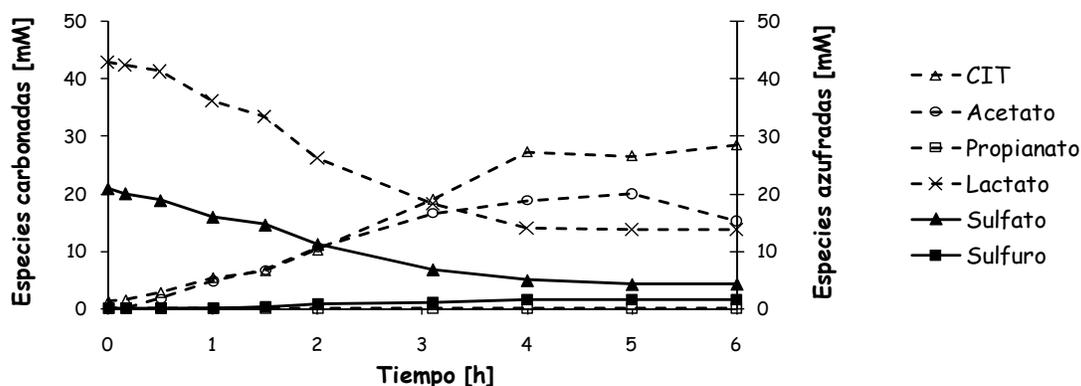
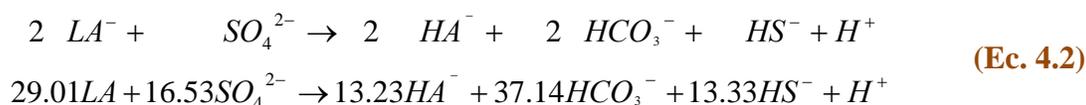


Figura 4.18. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO₄²⁻ de 2

La concentración de sulfuro en el medio llegó a 1.43 mM (45.76 mg/L). Esta concentración fue menor a la alcanzada bajo la relación de 1.75, 1.71 mM (54.72 mg/L). Haciendo el balance de azufre y carbono se obtienen porcentajes de recuperación del mismo orden a los obtenidos bajo la relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75, 84% y 78%, respectivamente. La biomasa medida como SSV mostró un aumento de 2030 a 2446 mgSSV/L, misma tendencia de aumentar mostrada bajo la relación anterior. Los porcentajes de recuperación, tanto de azufre como de carbono, son del mismo orden a los obtenidos bajo la relación de 1.75. A pesar de que en las primeras dos horas de reacción el pH del medio alcanza su valor mínimo y permaneciendo hasta el final de la reacción en un valor de 6.79 (Figura 4.19), la concentración de acetato en el medio sólo es aproximadamente la tercera parte de la concentración final (Figura 4.18). Realizando el planteamiento de la relación estequiométrica realizada por la biorreacción (Ec. 3.8) que realiza *Desulfovibrio* se obtiene la siguiente ecuación:



De la ecuación (Ec. 4.2) se puede ver que existe una acumulación de acetato y de carbono inorgánico. Asimismo, se puede observar que existe un consumo de acetato para poder

reducir de forma estequiométrica las moles de sulfato finales, así como para poder explicar las moles de carbono inorgánico resultantes.

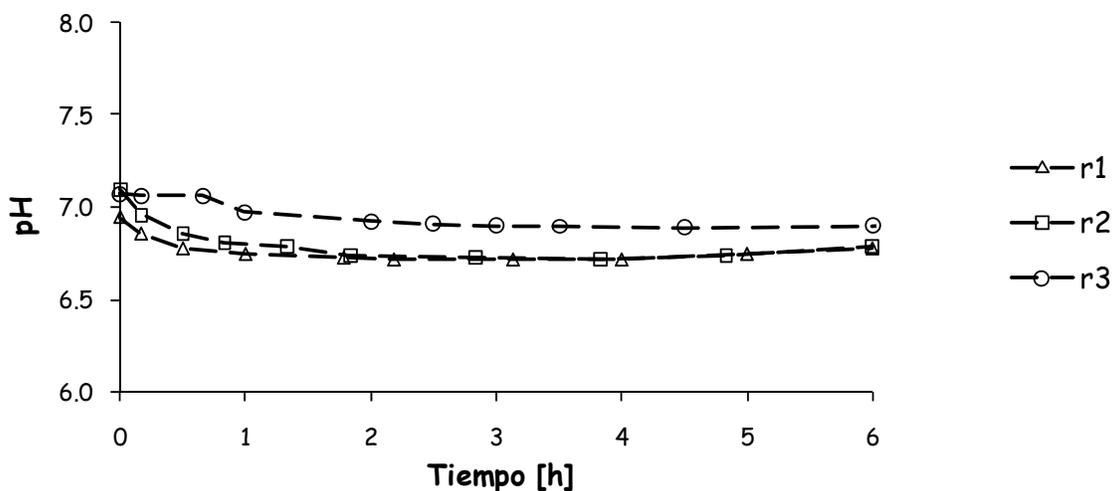


Figura 4.19. Seguimiento de pH en cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 2

El ORP del medio llegó a un valor de -241.37 mV (Figura 4.20), valor más negativo que el obtenido con la relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75, -415 mV. Sin embargo, el que el medio se haya encontrado más reducido no se puede atribuir a la concentración de sulfuro, ya que la concentración de éste fue menor a la relación anterior.

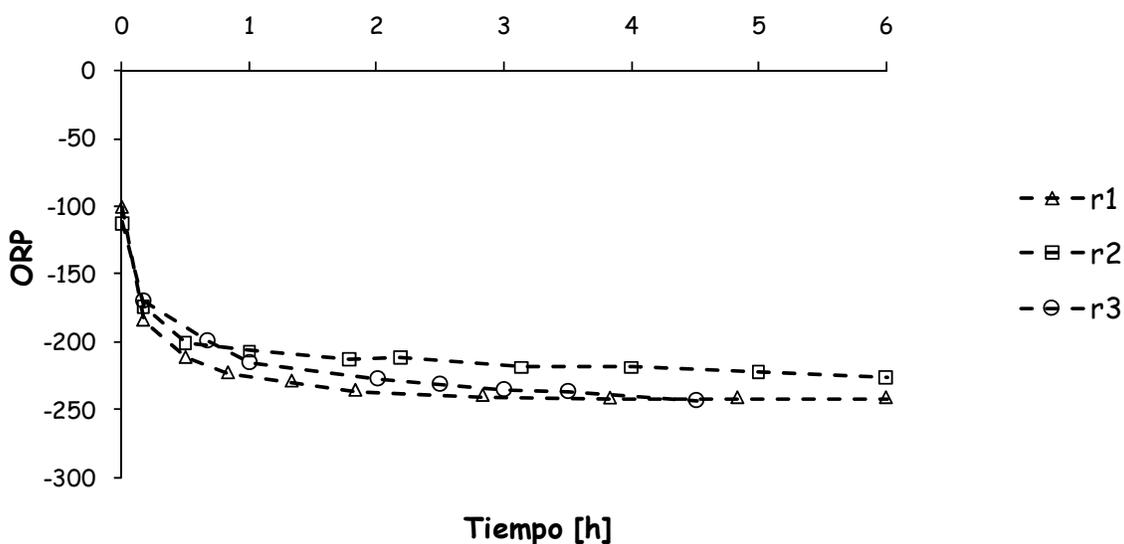


Figura 4.20. Seguimiento de ORP en cinéticas con una relación DQO/SO₄²⁻ de 2

4.4.3. Relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6

Al probar una relación de exceso de lactato, relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6 con 11.2 g/L de lactato como DQO, se puede ver que se obtiene una eficiencia de reducción de sulfato del 100% en las primeras cinco horas de reacción, siendo este tiempo de una hora menor para alcanzar la máxima eficiencia de reducción alcanzada en seis horas de reacción bajo las relaciones antes probadas (Figura 4.21). A pesar de que la concentración de sulfuro en este caso alcanzó un máximo de 13.31 mM (425.92 mg/L), la biomasa no se vio afectada al no mostrar pérdida de biomasa ni pérdida de actividad. Lo antes mencionado indica que la biomasa con la cual se realizaron las cinéticas no se vio afectada por sulfuro, y que las eficiencias de sulfato reducción obtenidas bajo las relaciones DQO/SO₄²⁻ de 1.75 y 2 se vieron afectadas por otro factor diferente al sulfuro.

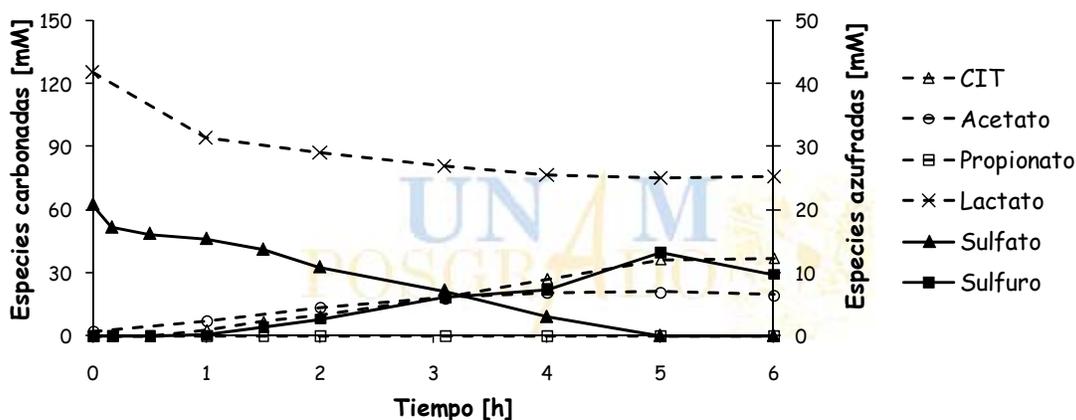


Figura 4.21. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6

Haciendo el balance de azufre y carbono se obtiene una recuperación del 94.51% y 93.55% respectivamente. Estos porcentajes de recuperación son mucho mayores a los obtenidos bajo las relaciones anteriores. Con lo anterior se puede concluir que al existir un exceso de lactato no se presentan especies intermedias de la sulfato reducción como el sulfito. Siendo este el principal factor para que se pudiera tener una mejor recuperación de azufre. En el caso del porcentaje de recuperación de carbono sólo se podría mencionar que el faltante de carbono se podría asociar a la síntesis y al mantenimiento celular, ya que se observó un aumento considerable de la biomasa de 2020 a 2760 mgSSV/L.

Bajo estas condiciones se puede ver que al igual que las pruebas anteriores, el acetato, así como, el carbono inorgánico se acumulan en el medio. A pesar de esta acumulación, el pH no descendió más allá de un valor de 6.7 (Figura 4.22), valor ligeramente menor a los obtenidos con las relaciones antes probadas. No obstante este valor de pH es casi igual al valor de pH óptimo reportado para obtener la máxima tasa crecimiento específico, μ_{max} , para *Desulfovibrio*, 6.6, bajo condiciones de ausencia de acetato y sulfuro (Reis *et al.*, 1992). Dentro de las repeticiones realizadas para esta relación DQO/SO₄²⁻ una de las repeticiones se inició con un pH menor a las repeticiones anteriores (6.79) y se finalizó con un pH menor a los anteriores obtenidos, 6.34, pero reportando la misma eficiencia de sulfato reducción del 100 %.

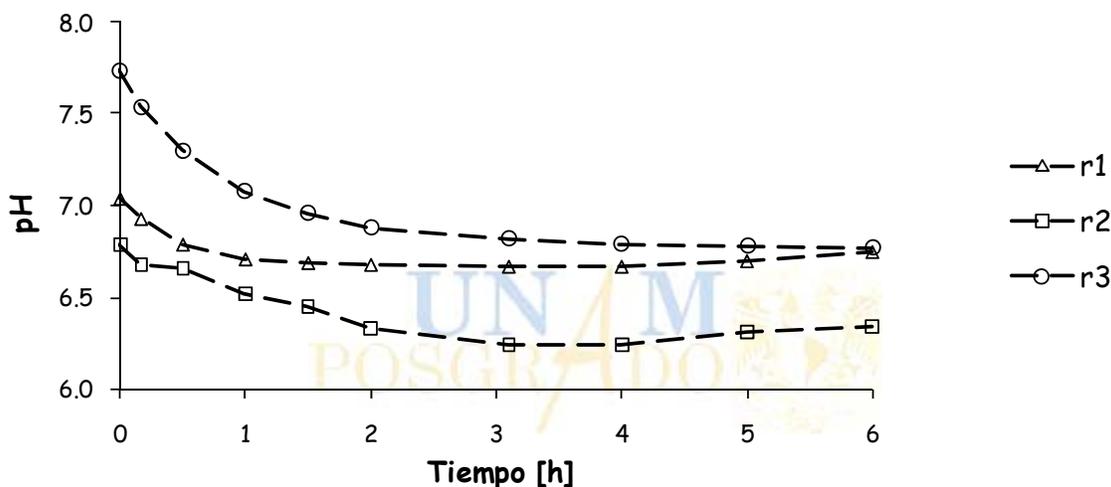


Figura 4.22. Seguimiento de pH en cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6

El ORP del medio llegó hasta un valor de -244.4 mV, siendo este valor más negativo a los obtenidos con las relaciones antes probadas (Figura 4.23). Lo cual se asocia a la concentración mayor de sulfuro en el medio (Figura 4.21). En la última hora de reacción de las réplicas uno y dos se puede apreciar un incremento del ORP, y esto se justifica por el desequilibrio de las especies azufradas, sulfato-sulfuro. Al no haber sulfato el sistema se desplazó a valores menos negativos. Sin embargo, esto se observa en dos de las tres replicas.

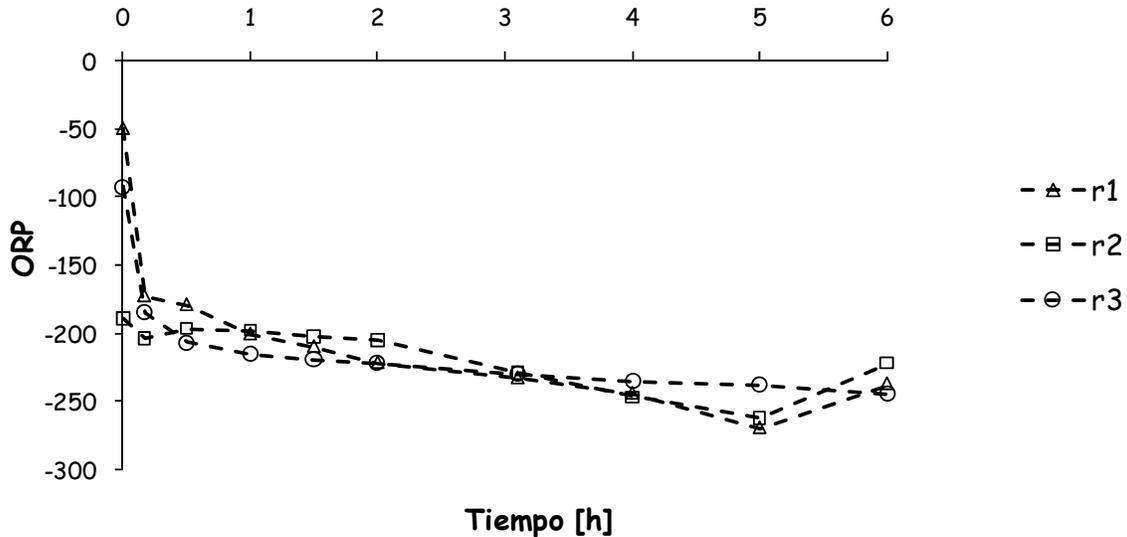


Figura 4.23. Seguimiento de ORP en cinéticas con una relación DQO/SO₄²⁻ de 2

4.5. Efecto de la concentración de sulfuro y pH en la sulfato reducción

Al hacer las mismas pruebas bajo el mismo esquema de probar una relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75, 2 y 5.6 pero con arrastre de sulfuro por burbujeo de nitrógeno y ver el efecto que este tiene en la reducción, se observó en general una disminución en la eficiencia de sulfato reducción, así como un aumento en el pH del medio.

4.5.1. Relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno

Bajo una relación de 1.75 se puede ver que la eficiencia de reducción de sulfato es del 41%, valor menor al compararlo con el 80% obtenido con la misma relación pero sin arrastre de sulfuro con Nitrógeno (Figura 4.24). En esta relación la concentración de sulfuro en el medio fue de 0.01mM (0.32mg/L), concentración mucho menor a la concentración bajo las mismas condiciones pero sin arrastre de sulfuro. Con estas condiciones se observa que el medio se alcalinizó a lo largo de la cinética, iniciando a un pH de 6.96 y finalizando este con un valor de 8.2 (Figura 4.25), valor mayor al reportado para obtener una mayor μ_{max} en ausencia de sulfuro y acetato para *Desulfovibrio*. Esta tendencia del medio a alcalinizarse no fue observada bajos los experimentos sin arrastre de sulfuro con burbujeo de nitrógeno.

Reis *et al.*, 1992 reportan que las BSR son muy sensibles a bajas concentraciones de acetato, mientras que a bajas concentraciones de sulfuro sólo una insignificante inhibición es observada.

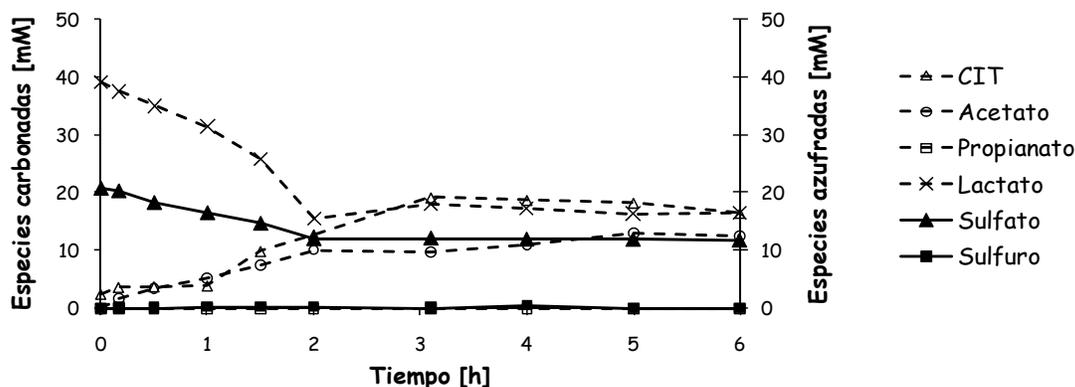


Figura 4.24. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.

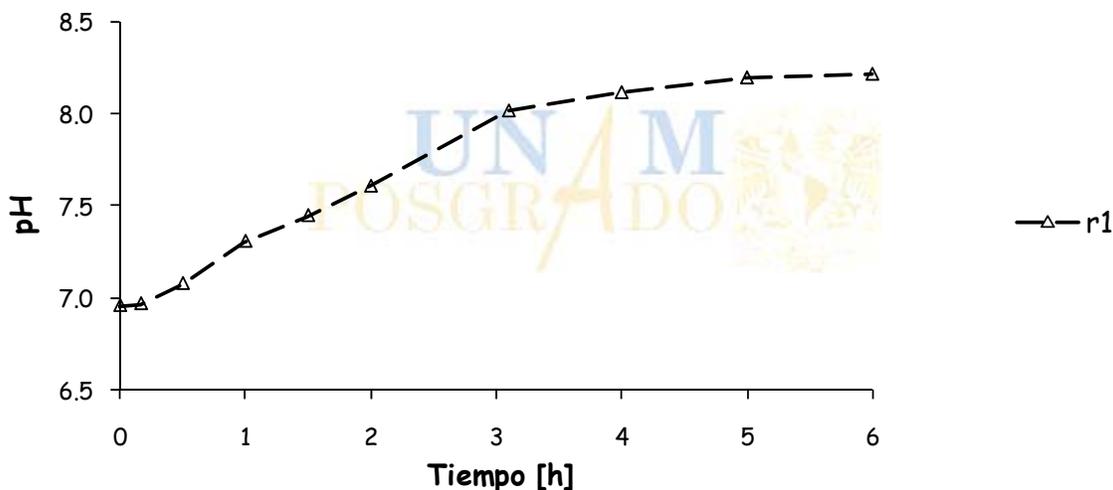


Figura 4.25. Seguimiento de pH en cinéticas con una relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75

De tal forma que al descartar el efecto que el sulfuro pudiera tener en la eficiencia de sulfato reducción por retirarlo del medio, se atribuye el efecto inhibitorio más que por sulfuro por pH. Dado que la concentración de acetato en el medio con arrastre de sulfuro por burbujeo de nitrógeno permaneció más bajo (12.55mM) que en las pruebas sin arrastre de sulfuro (19.56mM) se podría descartar como factor que afectó la eficiencia de reducción del sistema, factor de inhibición. Y por lo cual se puede atribuir esta baja eficiencia de

sulfato reducción al factor de pH, ya que éste presentó un incremento considerable al transcurrir la cinética.

En cuanto al ORP del medio éste llegó a un valor de -294.9 mV (Figura 4.26), mucho más reducido que la prueba sin arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno (Figura 4.17). Bajo estos valores de ORP y pH finales de las cinéticas se puede ver que se encuentra en el límite inferior de la región tolerada por la bacteria *Desulfovibrio* (Figura 1.6), y por lo cual se podría estar presentando un efecto combinado de pH y ORP.

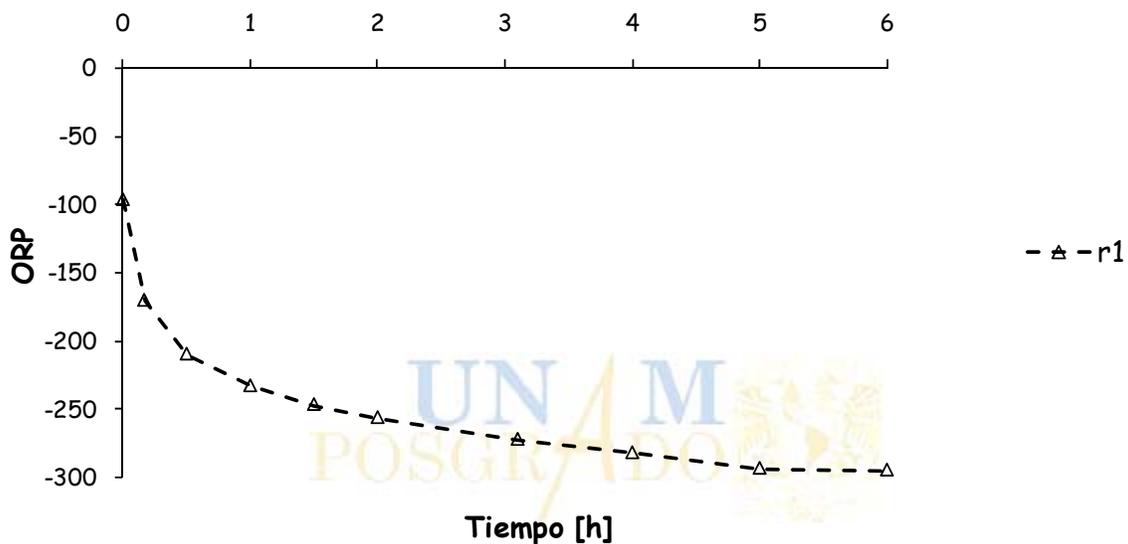


Figura 4.26. Seguimiento de ORP en cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.

Bajo esta condición la biomasa presentó una pérdida del 34% al descender de 2180 a 1434 mgSSV/L y la cual se justifica por el hecho de que la biomasa, *Desulfovibrio*, no se encontró en el pH, al cual en ausencia de sulfuro y acetato alcanza su máxima tasa específica de crecimiento, y por ende la biomasa se perdió más rápido de lo que podía crecer.

La concentración de lactato presenta una disminución considerable de más del 50% en las primeras dos horas de reacción, correspondiendo ésta a un descenso en la concentración de sulfato, pero al hacer el balance de carbono necesario para reducir en las primeras dos horas

de reacción esta concentración de sulfato, se están utilizando 2.68 moles de lactato por mol de sulfato reducido. Después de ese marcado descenso de lactato y sulfato se observa una reducción del 4.7% en las restantes 3 horas de reacción. Haciendo el balance de azufre y carbono se recuperan 58.38 y 75.76%, respectivamente. Siendo un 26% menor al obtenido bajo la misma relación sin arrastre de sulfuro para azufre, y siendo del orden el porcentaje de recuperación al obtenido bajo la misma relación sin arrastre de sulfuro para carbono.

4.5.2. Relación DQO/SO_4^{2-} de 2 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno

Probando la misma relación DQO/SO_4^{2-} de 2 pero con arrastre de sulfuro por burbujeo de nitrógeno en la [figura 4.27](#) se puede ver que durante las primeras tres horas de reacción se realiza la mayor reducción de sulfato, 40%. En el tiempo restante de reacción sólo se puede ver una reducción del 3%. En estas primeras horas de reacción al igual de observar una mayor reducción de sulfato se puede ver la máxima concentración de acetato y carbono inorgánico. Al final de la cinética se puede ver una eficiencia de reducción de sulfato del 43%. Haciendo una comparación de eficiencias de sulfato reducción bajo la misma relación DQO/SO_4^{2-} con y sin arrastre de sulfuro se nota una considerable diferencia. 41% menor bajo las condiciones de arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno. Lo cual muestra la misma tendencia de disminuir la eficiencia de reducción de sulfato mostrada con la relación anterior.

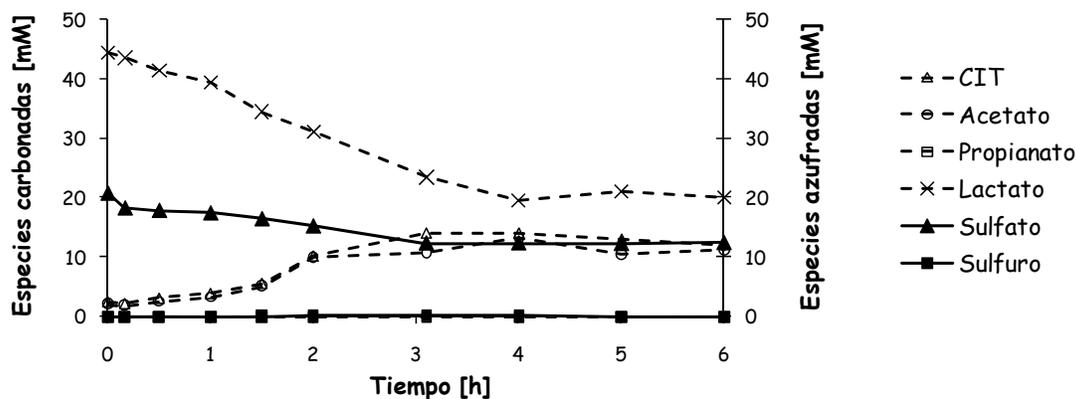


Figura 4.27. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO_4^{2-} de 2 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.

Esta baja eficiencia de reducción al igual que la relación anterior se atribuye al factor de pH más que al factor sulfuro e incluso al acetato, ya que al arrastrar el sulfuro del medio con nitrógeno se asegura que éste se encuentre en una concentración casi de cero, y el acetato se encontró en una concentración menor (11.22mM) bajo la misma relación pero sin arrastre de sulfuro (19.91mM). La concentración de sulfuro en el medio fue de un máximo de 0.02 mM (0.64 mg/L). En la primera hora de reacción el pH muestra un ligero descenso, después de ello se aprecia cómo se alcaliniza el medio, finalizando en pH 7.98 (Figura 4.28).

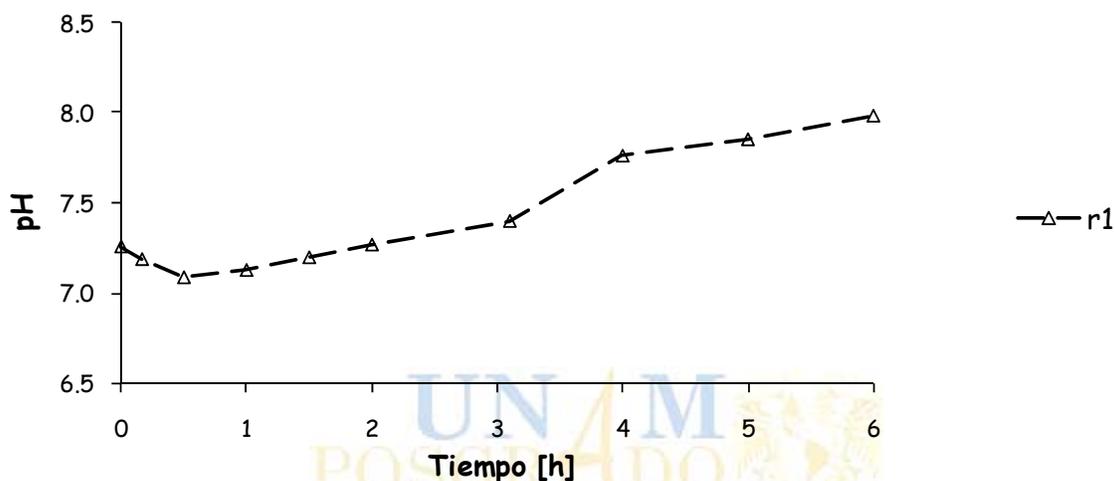


Figura 4.28. Seguimiento de pH en cinéticas con una relación DQO/SO₄²⁻ de 2 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.

Un factor de inhibición a considerar además del pH es el ORP del medio, ya que éste se encuentra en valores más negativos, -310 mV, (Figura 4.29) que las pruebas sin arrastre de sulfuro (-241.37 mV), y lo cual está dado por la reducción del medio con el nitrógeno burbujeado. Y siendo un factor inhibitorio el efecto combinado del pH y ORP al estar en una zona límite de la tolerancia de las bacterias (Figura 1.6).

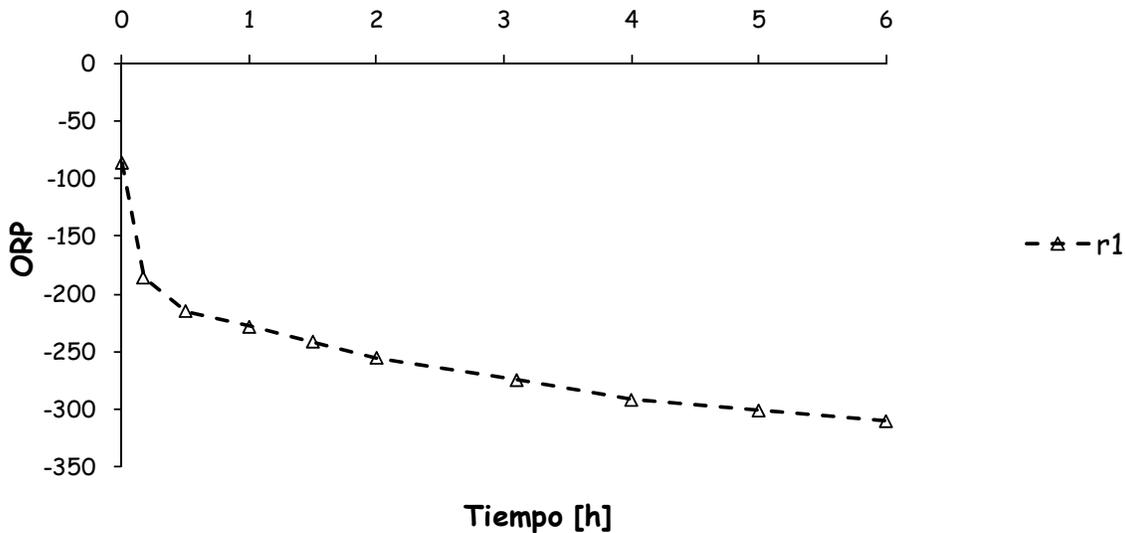


Figura 4.29. Seguimiento de ORP en cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 2 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.

Sin embargo, dado que durante la conversión de lactato a acetato a través de piruvato se produce hidrógeno y éste atraviesa la membrana citoplasmática para ser posteriormente oxidado por la enzima hidrogenasa, se podría haber escapado el hidrógeno por el burbujeo con nitrógeno y por ende dicha enzima no pudo haber realizado su función, limitando al *citocromo c₃* de electrones provenientes de ésta (Figura 1.4) y dando una limitación de electrones para activar la sulfato reducción.

Haciendo el balance azufre y carbono se recuperan porcentajes entre 60 y 70, respectivamente, siendo estos valores muy bajos a la misma relación pero sin arrastre de nitrógeno, 84 y 78% de recuperación respectivamente. Al igual que como ya se mencionó antes, la diferencia de azufre se atribuye a las especies azufradas no medidas, como lo pudieron ser, tetracionatos, politionatos o polisulfuros. En cuanto al carbono faltante, 30.37%, se asocia a especies carbonadas que se fueron a la fase gaseosa y las cuales no se midieron.

4.5.3. Relación DQO/SO_4^{2-} de 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno

El fin de esta relación, exceso de lactato y arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno, cero sulfuros, fue para eliminar términos del modelo como el término de inhibición por sulfuro y hacer unitario el término de lactato. Además, con esta relación se garantizaría la completa reducción del sulfato presente. En la [figura 4.30](#) se puede observar que sólo se alcanzó una reducción de sulfato del 85% al final de las seis horas de reacción. Esta eficiencia es 15% menor a la obtenida bajo la misma relación pero sin arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno. Al igual que todas las experimentaciones el acetato como el carbono inorgánico presentó una acumulación. El acetato alcanzó su máxima concentración a las cinco horas de reacción, 17.35 mM. Por lo que respecta a carbono inorgánico presentó una máxima acumulación al final de la cinética, 16.54 mM.

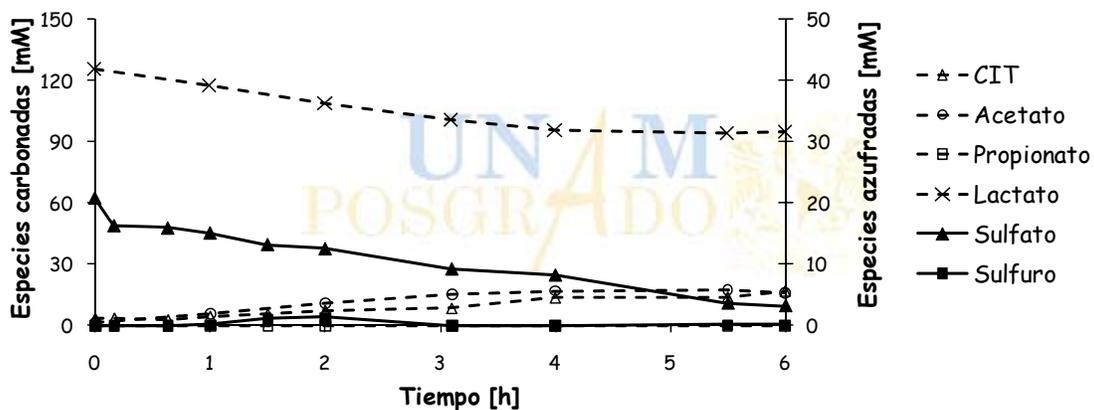
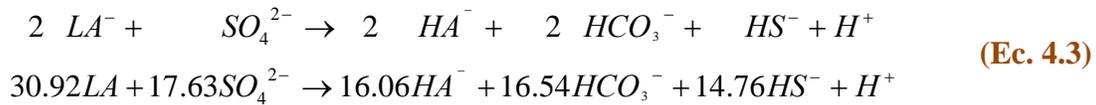


Figura 4.30. Cinética sulfato reducción relación DQO/SO_4^{2-} de 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno

Dado que los resultados muestran que la biorreacción **(Ec. 3.8)** tiene lugar preferente sobre las biorreacciones **(Ec. 3.9)** y **(Ec. 3.10)** se plantea la relación estequiométrica de dicha biorreacción. De la ecuación **(Ec. 4.3)** se puede ver que el consumo de lactato por mol de sulfato fue de 1.75 moles. Asimismo, se puede ver que el acetato es menor al esperado por la reducción, y lo cual podría estar asociado al consumo de éste por BSR utilizadoras de acetato.



Al hacer el balance de azufre y carbono se obtienen porcentajes de recuperación de 86.22% y 98.09%, respectivamente. Estos porcentajes de recuperación son mayores a los obtenidos bajo las relaciones probadas con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno. La biomasa solamente presentó un ligero aumento, de 1900 a 1986 mgSSV/L. A pesar de que no se observó una pérdida de la biomasa se vio una disminución en la eficiencia de sulfato reducción. Al igual como ya se ha mencionado, la baja eficiencia se atribuye al efecto combinado de pH y OPR, así como al burbujeo con nitrógeno por el hecho de reducir el medio a valores límite de la zona de tolerancia de las bacterias y por la situación de limitar a la enzima hidrogenasa de hidrógeno al liberar éste del medio por el burbujeo. El pH mostró una tendencia igual a las cinéticas anteriores, a alcalinizarse y terminar en un valor de 8.31, siendo este valor más alcalino que los obtenidos con todas las relaciones antes probadas (Figura 4.31).

La concentración de sulfuro en el medio solamente alcanzó un máximo de 1.32 mM (42.24 mg/L) en la segunda hora, lo cual fue debido a que se averió la manguera del distribuidor principal, después de esto la concentración permaneció en cero.

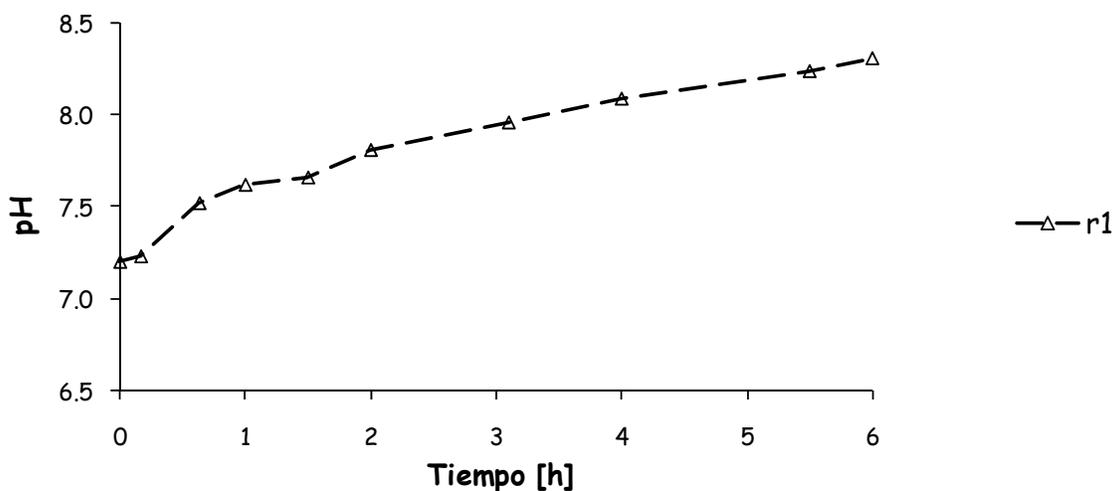


Figura 4.31. Seguimiento de pH en cinéticas con una relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.

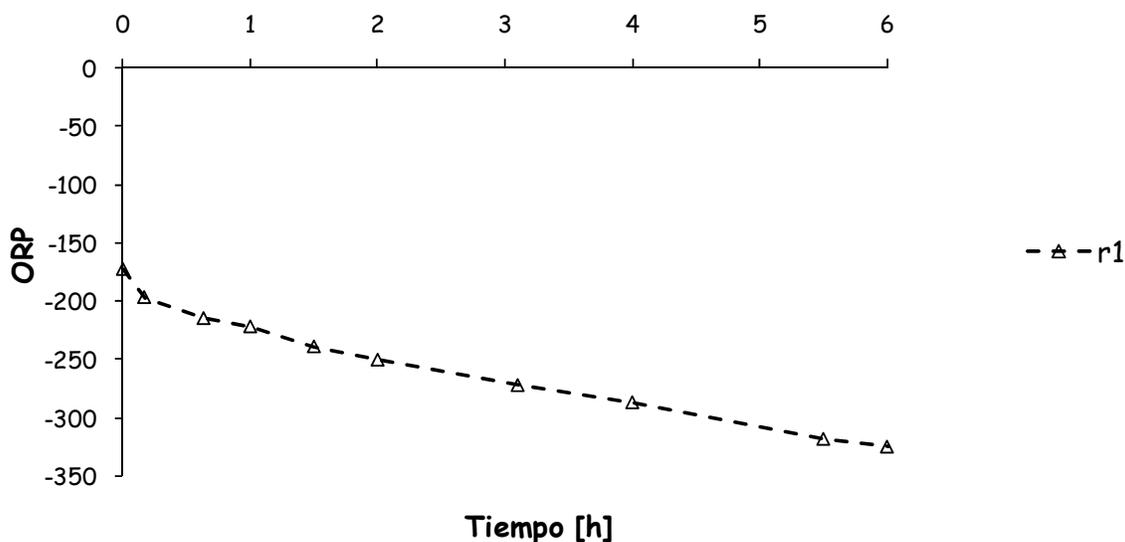


Figura 4.32. Seguimiento de ORP en cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 5.6 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.

4.6. Aclimatación de biomasa sulfuro oxidante

La aclimatación y enriquecimiento del cultivo sulfuro oxidante se siguió por la medición de la actividad específica de oxidación de sulfuro y por el seguimiento del pH del medio en cada ciclo de alimentación. La estrategia de enriquecimiento del cultivo fue trabajar bajo condiciones de exceso de oxígeno para así asegurar que las bacterias obtuvieran mayor energía para síntesis celular por el hecho de realizar la oxidación completa de sulfuro a sulfato. El seguimiento de la oxidación de sulfuro se fue dando de forma indirecta por el seguimiento del pH y confirmando por la medición de sulfuro y sulfato.

De acuerdo con la ecuación (Ec. 4.4) al oxidar completamente el sulfuro a sulfato se liberan protones al medio, y por ende el pH del medio disminuye (Figura 4.33). Dado que al observar que con un flujo de aire de 20 mL/min (3.05 mMO₂/min), flujo con el cual se oxidaría el sulfuro en un par de minutos bajo la consideración de una buena transferencia de masa, la disminución del pH en 0.8 unidades se realizó en un tiempo de 168 horas, este periodo fue establecido como tiempo para volver a alimentar el reactor durante los primeros 28 días.



En la [figura 4.33](#) se puede observar que a medida que pasó el tiempo de enriquecimiento, el tiempo entre cada alimentación disminuyó hasta operar con tiempos de 48 horas entre cada alimentación. Sin embargo, de la misma forma en que los tiempos de alimentación se redujeron los flujos de aire aumentaron hasta llegar a flujos de 500 mL/min (76.31 mMO₂/min). No obstante, es preciso marcar que a pesar de operar con un mismo flujo de aire, los tiempos de alimentación se redujeron. Dicha reducción de los tiempos entre cada alimentación se realizó por el hecho de observar una disminución del pH de la misma magnitud que bajo tiempos más prolongados de alimentación.

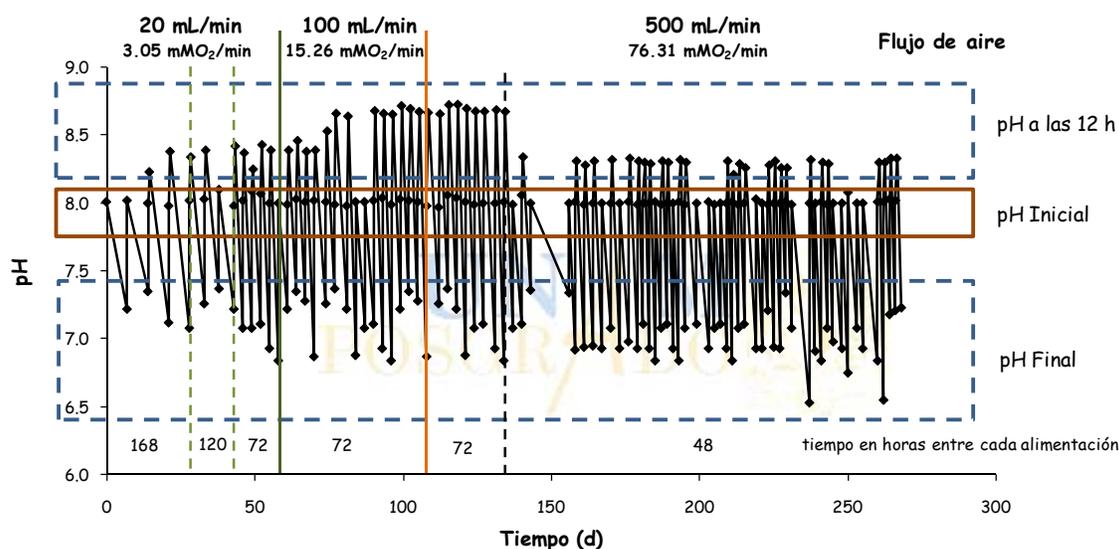
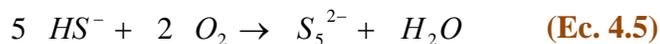


Figura 4.33. Perfil del pH durante el enriquecimiento y aclimatación de la biomasa sulfuro oxidante.

Asimismo en la [figura 4.33](#) se puede observar que después de las primeras dos alimentaciones se presenta un ligero aumento del pH después de iniciada la alimentación. Dicho aumento del pH es debido principalmente a dos cosas; primeramente, al consumo de protones del medio en la disociación del sulfuro de sodio, y segunda, a la formación de OH⁻ durante la oxidación del sulfuro de acuerdo con la siguiente reacción ([González-Sánchez et al., 2007](#))



A valores de pH superiores de 6 los productos iniciales de la oxidación del sulfuro son polisulfuros, principalmente S_4^{2-} y S_5^{2-} . Las especies predominantes del azufre son hidrosulfuro, tiosulfato, y sulfito, y son productos observados a las 24 horas de reacción y a pH entre 8.1 y 10.7. Además, es reportado que después de tres días el tiosulfato es el producto estable de la oxidación y finalmente después de varios días el sulfato es el producto final (Citado por [González-Sánchez et al., 2007](#)). Dicho lo anterior, se puede ver en la [figura 4.33](#) cómo los tiempos de alimentación se redujeron a través del tiempo de enriquecimiento y aclimatación hasta operar con tiempo un tiempo de 48 horas de reacción, y lo cual es relacionado con la selección y enriquecimiento de la biomasa sulfuro oxidante.

En la [figura 4.34](#) se puede apreciar como en los primeros 28 días de iniciada la selección y enriquecimiento se perdió 82% de la biomasa inicial. Después de este marcado descenso de la biomasa se observa que esta permanece constante hasta los 58 días. En el periodo con un flujo de aire de 20 mL/min (3.05 mMO₂/min) en la [Tabla 4.1](#) se pueden ver los porcentajes de recuperación de azufre como sulfato y sulfuro. Durante este periodo de operación se obtuvieron porcentajes de sulfato de 88, 69, 58 y 0.01, 0.01 y 0.14 % de azufre como sulfuro respectivamente con los tiempos de reacción 168 h, 120h y 72h. Asimismo la velocidad específica de oxidación de sulfuro fue de 0.505 $\mu\text{molO}_2/\text{mgProt-min}$ con una concentración de sulfuro de 1 mM ([Figura 4.35](#)).

Tabla 4.1. Porcentajes de recuperación de azufre a través del enriquecimiento de consorcio sulfuro oxidante

S- Sulfuro (mM)	Q _{air} (mL/min)	Q O ₂ (mMO ₂ /min)	Tiempo entre cada alimentación (h)	% de recuperación de azufre como SO ₄ ²⁻	% de recuperación de azufre como S ²⁻
3.125	20	3.05	168	88	0.01
3.125	20	3.05	120	69	0.01
3.125	20	3.05	72	58	0.14
3.125	100	15.26	72	63	0.18
3.125	500	76.31	48	88	0.14
3.125	500	76.31	72	76	0.05

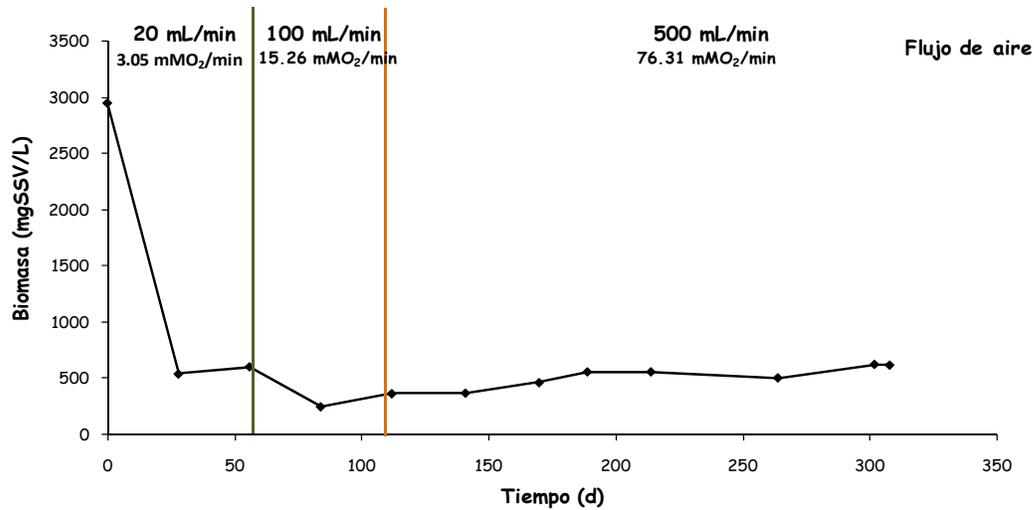


Figura 4.34. Desarrollo de la biomasa sulfuro oxidante durante el enriquecimiento y aclimatación

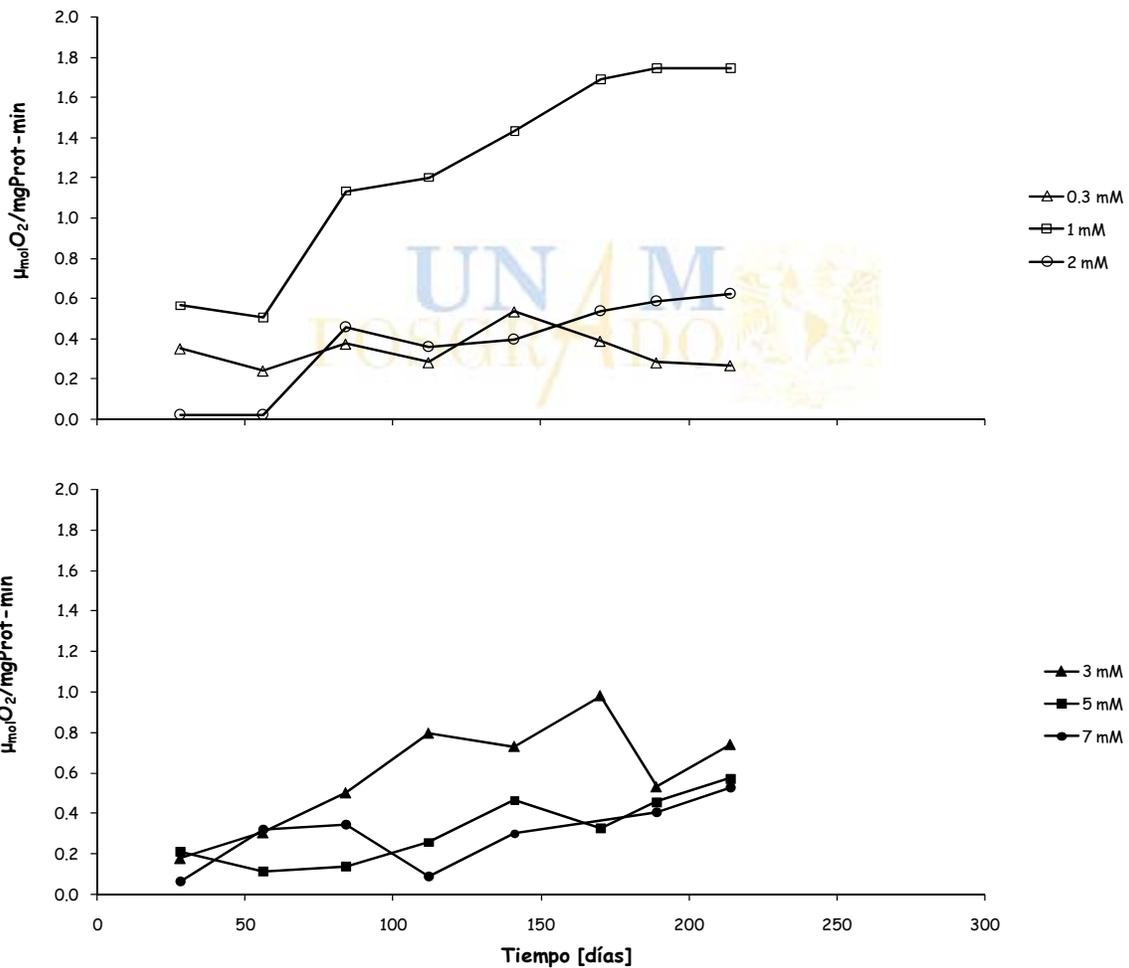


Figura 4.35. Seguimiento de las velocidades específicas de oxidación de sulfuro durante la aclimatación de la biomasa sulfuro oxidante a diferentes concentraciones de sulfuro

Después del día 58 el flujo de aire se aumentó de 20 a 100 mL/min (3.05 a 15.26 mMO₂/min) y se puede apreciar que en las primeras doce horas de reacción el pH del medio se alcaliniza llegando a valores de 8.7. Este pH es mayor en 0.4 unidades que el obtenido con el flujo de aire anterior. Este aumento se asocia a que el producto de la oxidación del sulfuro son los polisulfuros de acuerdo con la ecuación (Ec. 4.5) ya que se descarta el consumo de protones del medio por la disociación del sulfuro de sodio al ser la misma concentración de sulfuro. Sin embargo el aumento del flujo de aire no mostró una mejora en la oxidación del sulfuro al no observarse una disminución del pH en un periodo menor al cual se venía trabajando, 72 horas de reacción. Además, en este mismo periodo de enriquecimiento y aclimatación se observó una pérdida de biomasa del 40 %. Después de este descenso se muestra un ligero aumento de 359 hasta 613 mgSSV/L en un periodo de 196 días.

En la [Tabla 4.1](#) se puede apreciar los porcentajes de recuperación de azufre como sulfato y sulfuro bajo los diferentes tiempos de alimentación y los diferentes flujos de aire, y se puede ver cómo bajo un flujo de aire de 20 mL/min (3.05 mMO₂/min) y 168 horas de reacción se obtuvieron los mismos porcentajes de recuperación de azufre como sulfato que bajo un flujo de aire de 500ml/min (76.31 mMO₂/min) y 48 horas de reacción. Al pasar de un tiempo de reacción de 72 horas a 48 horas se incrementó el porcentaje de recuperación de azufre como sulfato en un 12 %. Los faltantes de azufre se atribuyen a la pérdida por arrastre con aire.

En la [figura 4.35](#) se observa el perfil de actividades específicas de oxidación de sulfuro a diferentes concentraciones durante el periodo de aclimatación y en el cual se obtiene una máxima actividad específica de 1.744 $\mu_{mol}O_2/mgProt-min$ con una concentración de 1 mM de sulfuro. La biomasa se dio por enriquecida y aclimatada a los 189 días de operación del reactor al observar que la actividad específica de oxidación del sulfuro no cambió en el tiempo. Bajo las diferentes concentraciones de sulfuro probadas en la determinación de las actividades específicas la concentración de 1mM es la que reportó una máxima actividad específica. En la [figura 4.36](#) se aprecia mejor las actividades y se puede ver que la máxima actividad específica se obtenía a través del tiempo en la concentración de 1 mM de sulfuro.

A concentraciones menores y superiores de uno se pueden apreciar actividades específicas menores, por ejemplo se obtiene una actividad de $0.738 \mu_{mol}O_2/mgProt-min$ a una concentración de 3 mM de sulfuro, siendo este valor el 42 % del valor máximo obtenido con una concentración de 1 mM de sulfuro. Al comparar la máxima capacidad específica oxidativa reportada para *Thibacillus* sp W5 capaz de oxidar sulfuro de forma estequiométrica a azufre de $1.87 \mu_{mol}O_2/mgProt-min.$, y para *Thiobacillus napolitanus* de $2.3 \mu_{mol}O_2/mgProt-min$, sin embargo, dado que este último solo convertía 50% del sulfuro suministrado a azufre (Visser *et. al.*, 1997a) es posible considerar que la capacidad obtenida para este experimento está dentro de los rangos reportados al tener una actividad de $1.744 \mu_{mol}O_2/mgProt-min$ al final de la aclimatación y enriquecimiento.

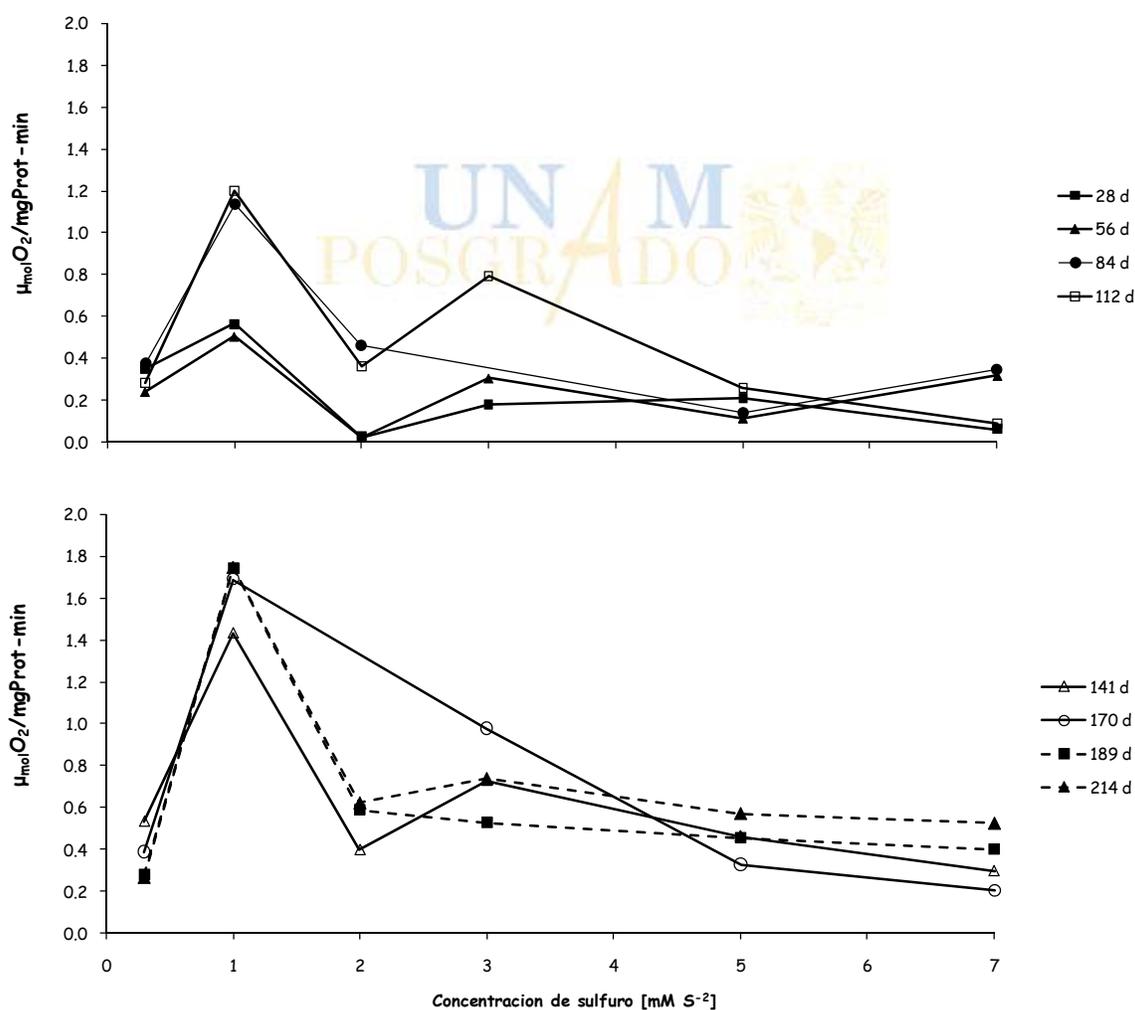


Figura 4.36. Velocidades específicas de oxidación de sulfuro a diferentes concentraciones de sulfuro

4.7. Modelado

De los datos experimentales se pudo observar que la biorreacción (Ec. 3.8) es la que tiene lugar preferente sobre las biorreacciones (Ec. 3.9) y (Ec. 3.10) y por lo cual se hace la consideración de englobar todas las biorreacciones en una, y en la cual se hace la integración del aporte de cada especie. De igual forma se hizo la consideración de utilizar solamente una tasa de crecimiento específica en la cual se consideran todas las tasas de las especies presentes en la biomasa.

Además, de los resultados obtenidos en la experimentación para determinar los parámetros del modelo se puede ver cómo el factor inhibitorio del sulfuro no sería necesario a considerar en el modelo ya que éste no presentó un efecto inhibitorio. Por lo tanto, el término inhibitorio del sulfuro se descarta de la consideración inicial. Así, el modelo planteado en un inicio queda de la siguiente forma:

$$\frac{d[SO_4^{2-}]}{dt} = -\frac{\mu X}{Y} \quad (\text{Ec. 4.6})$$

$$\frac{d[LAC^-]}{dt} = -2\frac{\mu X}{Y} \quad (\text{Ec. 4.7})$$

Así como una tasa de crecimiento específica.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{[SO_4^{2-}]}{K_{SO_4^{2-}} + [SO_4^{2-}]} \frac{[LAC^-]}{K_L + [LAC^-]} \quad (\text{Ec. 4.8})$$

Al determinar los parámetros del modelo planteando con técnicas de identificación por métodos de mínimos cuadrados no lineales y utilizando los programas de optimización descritos en Anexo 1 y programados en MatLab 7.4 se obtuvo μ/Y (q (h^{-1})) de $0.176 h^{-1}$ y $K_{Sulfato}$ de 239.34, y con los cuales se puede ver que el modelo no iguala ninguna cinética experimental. Sin embargo, solamente describe la tendencia de la sulfato reducción y en las cinéticas sin arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno el modelo predice mejor (Anexo 2).

Al realizar la validación del modelo con datos experimentales se puede ver que al modelar las condiciones de validación existe una gran diferencia entre los datos experimentales y los datos de simulación (Anexo 3).

Por lo anterior y dado que en la todas las cinéticas se observa la existencia de una limitante del proceso que el modelo no considera y que no se pudo dilucidar, los datos de las primeras horas en donde no se aprecia un efecto inhibitorio de ningún tipo en dichas cinéticas se trataron como cinéticas de orden cero y se determinaron las velocidades específicas de consumo de sulfato y lactato. Al hacer la comparación de la velocidad específica de consumo de sulfato obtenida al tratar los datos con un modelo de orden cero y al tratarlos con un doble Monod, de acuerdo a ecuación (Ec. 4.8), se puede ver que son semejantes por una diferencia de $0.003 h^{-1}$, 0.173 y $0.176 h^{-1}$ respectivamente.

Tabla 4.2. Velocidades específicas de consumo de sulfato bajo modelo de orden cero

DQO/SO ₄ ²⁻	q ($\mu_{max}/Y_{Sulfato}$) [h ⁻¹]	DVS	Promedio	DVS
1.75	0.189	0.032	0.173	0.033
2	0.195	0.044		
5.66	0.136	0.016		
1.75N	0.106	0.002	0.107	0.002
2N	0.108	0.002		
5.66N	0.105	0.002		

Tabla 4.3. Velocidades específicas de consumo de lactato bajo modelo de orden cero

DQO/SO ₄ ²⁻	q ($\mu_{max}/Y_{Lactato}$) [h ⁻¹]	DVS	Promedio	DVS
1.75	0.353	0.155	0.448	0.160
2	0.359	0.196		
5.66	0.633	0.210		
1.75N	0.253	0.042	0.248	0.043
2N	0.288	0.060		
5.66N	0.203	0.043		

En el Anexo 4 se pueden ver las gráficas de acuerdo a los parámetros encontrados bajo un modelo de cinética orden cero. Y al igual que con los parámetros obtenidos con un modelo Monod doble se puede ver que solamente las cinéticas de exceso de lactato son las que se ajustan mejor al modelo. Sin embargo, aún no es preciso y exacto este modelo para simular el proceso de sulfato reducción y por lo cual se tendrían que considerar, una vez probado, el

efecto conjunto de pH-ORP. De las [Tablas 4.2 y 4.3](#) se pueden apreciar como las velocidades específicas de los datos experimentales bajo condiciones de arrastre de sulfuro son menores a las obtenidas sin arrastre de sulfuro. Por lo cual se observa como un factor limitante se manifiesta bajo condiciones de arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno, y al igual como se planteó anteriormente se atribuye al efecto combinado pH-ORP. En la [Tabla 4.4](#) se puede apreciar que las disminuciones en las velocidades específicas de consumo de sulfato expresadas como porcentajes son ligeramente mayores a las disminuciones mostradas por los porcentajes de reducción de sulfato.

Asimismo, se puede ver como a medida que la relación DQO/SO_4^{2-} aumenta, se obtiene una mayor sulfato reducción, así como una menor velocidad específica. Bajo una relación DQO/SO_4^{2-} de 2 y sin arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno se obtiene una mayor velocidad específica de consumo de sulfato, así como presenta una mayor disminución de la velocidad específica de consumo de sulfato al realizar la cinética con arrastre de sulfuro.

Tabla 4.4. Comparativo de porcentajes de disminución de reducción de sulfato y disminución de velocidad específica de consumo de sulfato con y sin arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno

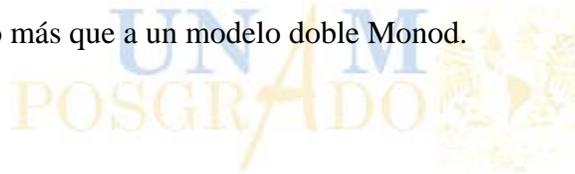
DQO/SO_4^{2-}	% de reducción de SO_4^{2-}	Disminución en el % de reducción de SO_4^{2-} (%)	q ($\mu_{max}/Y_{Sulfato}$) [h^{-1}]	Disminución de velocidad específicas de consumo de sulfato (%)
1.75	80	40	0.1889124	43.7
1.75N	40		0.1063639	
2	80	37	0.1953247	44.5
2N	43		0.1083137	
5.66	100	15	0.1359811	22.7
5.66N	85		0.1050638	



Capítulo 5. Conclusiones

- ✓ Se obtuvo una rápida aclimatación de la biomasa proveniente de un reactor UASB de una planta de tratamiento de aguas residuales de una industria cervecera para obtener lodos sulfato reductores usando una relación DQO/SO₄²⁻ de 1 que al usar una relación de 0.66. Sin embargo, cuando se operó con una relación de 0.66 y fue expuesto a una alta concentración de sulfuro (320 ppm), la actividad específica de reducción de sulfato se incrementó considerablemente de 0.07 a 0.38 mgSO₄²⁻/mgSSV·d. Bajo tales condiciones la velocidad específica de utilización de sustrato no presentó diferencias significativas comparada con una relación DQO/SO₄²⁻ de 1 (0.39 mgSO₄²⁻/mgSSV·d).
- ✓ En la evaluación del efecto de la concentración de lactato, se obtuvo una mayor reducción del sulfato en el mismo tiempo de reacción cuando la concentración de lactato es mucho mayor que la concentración de sulfato.
- ✓ Se encontró que la estequiometría para el acoplamiento de la reducción de sulfato y de la oxidación de lactato corresponde principalmente a la reacción metabólica de las bacterias sulfato reductoras *Desulfovibrio*.
- ✓ A pesar de una alta concentración de sulfuro (13.31 mM, 425.92 mg/L) y bajo la condición de exceso de lactato, la actividad de la biomasa no se vio inhibida. Por lo cual se considera que no existe un efecto inhibitorio por sulfuro en la biomasa.
- ✓ Las reducciones de sulfato bajo condiciones de arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno son menores hasta en un 40% de las reducciones obtenidas bajo las mismas condiciones pero sin arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.
- ✓ Se obtiene una mayor reducción de sulfato cuando el pH del medio se mantiene neutro o se acidifica ligeramente hasta 6.6.
- ✓ Se observa una pérdida de hasta el 34 % de la biomasa sulfato reductora cuando se alcaliniza el proceso y por el contrario un aumento de ésta con condiciones de exceso de lactato y sin que el medio se alcalinice. Por lo cual se asocia un factor inhibitorio pH-ORP.

- ✓ Se logró obtener un consorcio sulfuro oxidante con una velocidad específica de oxidación de sulfuro de $1.744 \mu\text{molO}_2/\text{mgProt-min}$. Los resultados son similares a los reportados para *Thiobacillus sp W5* y *Thiobacillus napolitanas*, $1.87 \mu\text{molO}_2/\text{mgProt-min}$. y $2.3 \mu\text{molO}_2/\text{mgProt-min}$, respectivamente.
- ✓ Se presentó un aumento de pH en las primeras doce horas de reacción en el reactor sulfuro oxidante y un descenso de éste a medida que transcurría el tiempo de reacción del ciclo SBR, y obteniendo recuperación de azufre como sulfato del 88 % y 0.01 % como sulfuro. Asimismo, se presenta un faltante de azufre y el cual es atribuido a pérdida por arrastre con aire.
- ✓ La validación del modelo doble Monod muestra que existe una gran diferencia de lo experimental con lo modelado, y no ajustando estos perfectamente por la existencia de una limitación del proceso y la cual no se está considerando al no poderla justificar.
- ✓ La modelación del proceso sulfato reducción ajusta mejor los datos experimentales a un modelo de orden cero más que a un modelo doble Monod.





Capítulo 6. Recomendaciones para trabajos futuros

- ✓ Al seleccionar y enriquecer un consorcio sulfato reductor se debe iniciar con una relación DQO/SO₄²⁻ superior a la estequiométrica de 0.66, por lo menos del doble o una relación de dos. En caso contrario, exponer el inóculo a una concentración de sulfuro de 320 ppm durante un periodo de dos semanas.
- ✓ Se requiere probar las condiciones de arrastre de sulfuro con y sin nitrógeno bajo condiciones de pH controlado para descartar el efecto inhibitorio de éste en la sulfato reducción. Asimismo evaluar la limitación de hidrógeno hacia la enzima hidrogenasa para descartar esta posible limitante del proceso.
- ✓ Se recomienda la medición de especies azufradas como polisulfuros para tener mejores balances de azufre. Así como, cuantificar especies carbonadas de la fase gaseosa.
- ✓ Se recomienda el recircular al reactor la fase gaseosa del reactor sulfuro oxidante para evitar pérdidas de azufre, carbono y oxígeno. De lo contrario usar un reactor de lecho fluidizado inverso para favorecer tiempos altos de retención y aumentar la transferencia de masa.
- ✓ En la modelación de la sulfato reducción se deben considerar otros factores que limitan la sulfato reducción, como podría ser el efecto conjunto pH-ORP, pH o ORP simplemente.



Referencias bibliográficas

- ✓ Atlas R. M and Bartha R. Microbial Ecology 1993 fundamental and application Third edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company, INC. Pp 234-235.
- ✓ APHA-AWA-WPCF, 1995, “Standard methods for the examination of water and wastewater”, 19a edition, American Public Health Association, Washington, D.C., U.S.A.
- ✓ Bailey J.E. and Ollis D.F., 1986, “Biochemical Engineering Fundamentals, 2nd edition. McGraw Hill, New York.
- ✓ Barret E.K., Clark M., 1987, “Tetrathionate reduction and production of hydrogen sulfide from thiosulfate”. *Microbiol. Rev.*, **51**(2), 192-205.
- ✓ Bruser, T., Lens, P. and Trüper, H., 2000, “The biological sulfur cycle. In: Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution-Principles and Engineering”, Lens, P. N. L. and Hulshoff Pol, L., Ed. International Water Association, London, pp.47-85.
- ✓ Celis García M. L. B., 2004, “Bioeliminación de óxidos de azufre de efluentes”, Tesis de doctorado en biotecnología, UAM-Iztapalapa.
- ✓ EPA, 1999, “Folleto informativo de tecnología de aguas residuales-Reactores secuenciales por tandas”, Office of Water Washington, D.C.
- ✓ Fernández-Polanco M. and García E.P.G., 2006, “Application of biological treatment systems for sulfate-rich wastewater. In: Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters”, F.J. Cervantes, S.G. Pavlostathis and A.C. van Haandel, London UK, pp.213-236
- ✓ Gadre R.V., 1989, “Removal of hydrogen sulfide from biogas by chemoatotropic fixed-film bioreactor”. *Biotech. Bioeng.* **34**, 410-414.

- ✓ González-Sánchez A., Revah S., 2007, “The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium”. *Enzyme and Microbial Thechnology.*, **40**, 292-298.
- ✓ Hao O. J., Chen J. M., Huang L. and Buglass R. L., 1996, “Sulfate reducing bacteria”, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **26**, 155-187.
- ✓ Janssen A.J.H, Ruitenberg and Buisman C.J.N., 2001, “Industrial applications of new sulphur biotechnology”, *Water Science and Technology* **44**, 85-90.
- ✓ Janssen A.J.H, Meijer S., Bontsema J., Lettinga G., 1998, “Application of the redox potencial for controlling a sulfide oxidizing biorreactor”, *Biotechnology and Bioengineering*, **60**(1), 147-155.
- ✓ Jensen A.B. and Webb C., 1995. “Treatment of H₂S-containing gases: a review of microbiological alternatives”. *Enzyme Microbiol. Technol.* **17**, 2-10.
- ✓ Kalyuzhnyi S., Fedorovich V., Lens P., Hulshoff Pol L. and Lettinga Gatzke, 1998, “Mathematical modeling as a tool to study population dynamics between sulfate reducing and methanogenic bacteria”, *Biodegradation.* **9**, 187-199.
- ✓ Kleinjan W.E., Arie de Keizer, Janssen A.J.H, 2005, “Kinetics of the chemical oxidation of polysulfide anions in aqueous solution”, *Water Research.* **39**, 4093-4100.
- ✓ Kleinjan W.E., de Keizer A., Janssen A.J.H., 2003, “Biologically produced sulfur”, *Top. Curr. Chem.*, **230**, 167-188.
- ✓ Knobel A.N., Lewis A.E., 2001, “A mathematical model of a high sulphate wastewater anaerobic treatment system”, *Water Research.* **36**, 257-265.

- ✓ Lens P., Visser A., Janssen A. J. H., Hulshoff Pol L. W. and Lettinga G. 1998, “Biotechnological treatment of sulfate rich wastewater ”, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **28**(1), 41-88.
- ✓ Lens P., van der Bosch M., Hulshoff Pol L.W. and Lettinga G. (1998b), “The use of staged sludge bed reactors for the treatment of sulfate rich wastewaters”, *Wat. Res.* **32**, 1178-1192.
- ✓ Lens P.N.L. and Kuenen J.G., 2001, “The biological sulfur cycle: novel opportunities for environmental biotechnology”, *Water Science and Technology* **44**(8), 57-66
- ✓ Lomans B. P., van der Drift C. A., Pol A. and Op den Camp H. J. M., 2002, “Review Microbial cycling of volatile organic sulfur compounds”, *Cell. Mol. Life Sci.* **59**, 575-588.
- ✓ Madigan M. T., Martinko J. M., Parker J., 2006, “Brock Biology of Microorganisms”, 11 Edition, Prentice Hall, New York, USA.
- ✓ Madigan M. T., Martinko J. M., Parker J., 2005, “Brock Biología de los Microorganismos”, 10ª Edición, Prentice Hall, New York, USA.
- ✓ McGuire Molly M. and Hamers Robert J., 2000, “Extraction and Quantitative Analysis of Elemental Sulfur from Sulfide Mineral Surfaces by High-Performance Liquid Chromatography”, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 4651-4655.
- ✓ Mendez, R., Lema, J. M. and Soto, M., 1995, “Treatment of seafood-processing wastewaters in mesophilic and thermophilic anaerobic filters”, *Wat. Environ. Res.*, **67**, 33-45.

- ✓ Metcalf & Eddy, 2003, “Wastewater Engineering, treatment and reuse”, McGraw-Hill, 4th edition, International Edition.
- ✓ Moosa S., Nemati M., Hrrison S.T.L., 2002, “A kinetic study on anaerobic reduction of sulphate, Part I: Effect of sulphate concentration”, *Chemical engineering Science*. **57**, 2773-2780.
- ✓ O’Flaherty V., and Colleran E., 2000, “Sulfur problems in anaerobic digestion. In: Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution-Principles and Engineering”, Lens, P. N. L. and Hulshoff Pol, L., Ed. International Water Association, London, pp.467-489.
- ✓ O’Flaherty V., Mathony T., O’Kennedy R. and Colleran E., 1998, “Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria”. *Process Biochemistry*. **5**, 55-569.
- ✓ Okabe, S., Nielsen, P. H. and Characklis, W. G., 1992, “Factors effecting microbial sulfate reduction by *Desulfovibrio desulfurican* in continuous culture: limiting nutrients and sulfide concentration”, *Biotech. Bioeng.*, **40**, 725-734.
- ✓ Okabe, S., Nielsen, P. H. and Characklis, W. G., 1995, “Sulfide product inhibition of *Desulfovibrio desulfurican* in continuous culture”, *Water Res.* **29**, 571-578.
- ✓ Omil F., Oude Elferink S.J.W.H., Lens P., Hulshoff Pol L. and Lettinga G., 1997a, “Effect of the inoculation with *Desulforhabdus amnigenus* and pH or O₂ shocks on the competition between sulfate reducing and methanogenic bacteria in acetate fed UASB reactor”. *Biores. Technol.* **60**, 113-122.
- ✓ Omil F., Lens P., Hushoff Pol L. and Lettinga G., 1997b, “Characterization of biomassa from a sulfidogenic, volatile fatty acid-degrading granular sludge reactor”. *Enzyme Microb. Technol.* **20**, 229-236.

- ✓ Omil F., Lens P., Hushoff Pol L. and Lettinga G., 1996, “Effect of upward velocity and sulfide concentration on volatile fatty acid degradation in a sulphidogenic granular sludge reactor”. **31**, 699-710.
- ✓ Oyekola O., Pletschke B., 2006, “ATP-sulphurylase: An enzymatic marker for biological sulphate reduction?”, *Soil Biology & Biochemistry*. **38**, 3511-3515.
- ✓ Pawlowski L., Verdier A. J., Lacy W.J., 1984, “Chemistry for protection of the environment”, ELSEVIER, Studies in Environmental Science **23**, 537-551.
- ✓ Reis M.A.M., Almeida J.S., Lemos P.C., and Carrondo J.T., 1992, “Effect of hydrogen sulfide on growth of sulfate reducing bacteria”, *Biotechnology and Bioengineering*. **40**, 593-600.
- ✓ Schütz M., Klughammer C., Grisbeck C., Quentmeier A., Friedrich C.G., Haska G., 1998, “Sulfide-quinone reductasa activity in membranes of the chemotrophic bacterium *Paracoccus denitrificans* GB17”, *Arch microbial*. **170**, 353-360.
- ✓ Smet E., Lens P. and Van Langenhove H., 1998, “Treatment of waste gases contaminated with odorous sulfur compounds”, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **28**(1), 89-117.
- ✓ Stefess G., Torremans A., Schrijver R., Robertson L., and Kuenen J., 1996, “ Quantitative measurement of sulphur formation by steady-state and transient state continuous cultures of autotrophic *Thiobacillus* species”. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **45**, 169-175.
- ✓ Steudel R., 1996, “Mechanism for the Formation of Elemental Sulfur from Aqueous Sulfide in Chemical and Microbiological Desulfurization Prozesse”, *Ind. Eng. Chem. Res.* **35**, 1417-1423.

- ✓ van den Ende F. P., Meier J. and van Germerden H., 1997, “Sintrophic growth of sulphate-reducing bacteria and colorless sulfur bacteria during oxygen limitation”, *FEMS Microbiol Ecol.* **23**, 65-80

- ✓ Vavilin V. A., Vasiliev V.B., Rytö S. V. and Ponomarev A. V., 1994, “Self-oscillating coexistence of methanogens and sulphate-reducers under hydrogen sulphide inhibition and the pH-regulation effect”, *Biores. Technol.* **49**, 105-119.

- ✓ Velasco A., Alcantara S., Razo-Flores E., and Revah S., 2004, “Partial thiosulfate oxidation by steady-state continuous culture in bioreactor-settler system”, *J Chem Technol Biotechnol.* **79**, 132-139.

- ✓ Visser J.M., Robertson L.A, van Verselvd H.W, and Kuenen J.G., 1997a, “Sulphur production by obligately chemolithoautotrophic *Thiobacillus* species”, *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 2300-2305.

- ✓ Widdel F., 1988, “Microbiology and ecology of sulfate-and sulfur reducing bacteria. In: *Biology of Anaerobic Microorganisms*” (ed. A.J.B. Zehnder), pp.469-458, John Wiley and Sons, New York.

- ✓ Widdel F. and Hansen T.A., 1992, “The dissimilatory sulfate-and sulfur-reducing bacteria. In: *The prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. Prokaryotes*”. (Barlows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W., Schliefer H.K., eds). 2on edition, Springer Verlag, New York. **1**, 583-624.

- ✓ Whitely C.G., Burgess J.E., Melamane X., Pletschke B., Rose P.D., 2003, “The enzymology of solubilisation utilizing sulphate reducing systems: the properties of lipases”. *Water Research.* **37**, 289-296.



Publicaciones

A continuación se enlistan publicaciones generadas resultado de este trabajo

En memorias de congresos internacionales

- ✓ **J. González-Martínez**, G. Moreno, J. A. Moreno and G. Buitrón. 2007. “Enrichment of sulfate reducing bacteria in a sequencing batch reactor with the manipulation of the COD/SO₄⁻² ratio and high sulfide concentrations”. Presentado en The 11th World Congress on Anaerobic Digestion, Australia 2007.

En memorias de congresos nacionales

- ✓ **J. González-Martínez**, Gastón M., G. Moreno, M. Meraz, y G. Buitrón, 2008, “Enriquecimiento de bacterias sulfato reductoras en un reactor secuencial discontinuo con la manipulación de la relación DQO/SO₄⁻² y alta concentración de sulfuro”. Presentado en FEMISCA 2008.
- ✓ Gastón Martínez, **Jaime González**, Gloria Moreno, Germán Buitrón. 2007. “ACLIMATACIÓN EN LOTE DE LODOS SULFATO REDUCTORES”. Presentado en Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Morelia 2007.



ANEXOS

Anexo 1. Secuencia de ejecución de programa para determinar parámetros y graficar datos experimentales y datos simulados.

```
>> diary('modelacion tesis')
>>
[tiempos,sulfatos]=leerarchivos({'cinetica101007.xls','cinetica251007.xls','cinetica131107.xls','cineticaN291007.xls','cineticaN291007t.xls','cineticaN141107.xls'});

ncineticas =

    6

>> biomasas=[1894,2002,2747,1897,2040,2350];
>> [k,rmse]=busca_Kso4(1,500,0.176,tiempos,sulfatos,biomasas)
Se hicieron 18 iteraciones.

k =

    2.393396083984864e+002

rmse =

    4.778390140727189e+003

>> validacion8=xlsread('cinetica060907.xls');
>> validacion8N=xlsread('cineticaN050607.xls');
>> tiempo8=validacion8(:,1);
>> tiempo8N=validacion8N(:,1);
>> figure(7)
>> [t,so4]=simulasr_lact(6,0.176,1690,k,2000);
>> plot(tiempo8,sulfato8,'+',t,so4)
??? Undefined function or variable 'sulfato8'.

>> sulfato8=validacion8(:,2);
>> sulfato8N=validacion8N(:,2);
>> plot(tiempo8,sulfato8,'+',t,so4)
>> [t,so4]=simulasr_lact(6,0.176,1690,k,1500);
>> figure(8)
>> plot(tiempo8N,sulfato8N,'+',t,so4)
>> diary off
>>
```

Sintaxis de modelo para encontrar $\mu/Y(q, h^{-1})$:

```
function [Kso4,mumax]=excesolactato(tiempos,sulfatos,biomasas)

% mumax es mu entre Y1
% Y es (Y1) Ysulfato entre (Y2) Ylactato
% X es la biomasa
% Kso4 es la cte de sulfato
% KL es la cte de lactato
% so40 es la concentracion de sulfato inicial
% L0 es la concnetracion de lacatato inicial

% biomasas es un escalar con la biomasa para cada cinetica
% cinetica del dia; 10-10-07, 25-10-07, 13-11-07
% biomasas=[1894,2002,2747];

ncineticas=length(tiempos);
Y=[];
Q=[];
T=[];

for i=1:ncineticas
    so4=sulfatos{i}
    t=tiempos{i}
    X=biomasas(i)
    Y=[Y;so4-so4(1)];
    Q=[Q;log(so4(1)./so4)];
    %T=[T;-X*t];
    [rengT,colT]=size(T);
    T((1:length(t))+rengT,colT+1)=-t;
end

A=[Q,T];
theta=A\Y;
Kso4=theta(1);
mumax=theta(2:end)./biomasas';

for i=1:ncineticas
    figure(i), clf
    so4=sulfatos{i}
    t=tiempos{i}
    X=biomasas(i)
    [time,sulf]=simulasr_lact(max(t),mumax(i),X,Kso4,so4(1))
    plot(t,so4,'*',time,sulf)
    so4estimado=interp1(time,sulf,t)
    error2=norm(so4-so4estimado)
    title(sprintf('El error fue %4.3f',error2))
end
```

Sintaxis de modelo para encontrar K_{SO4} :

```
function [k,rmse]=busca_Kso4(kmin,kmax,mumax,tiempos,sulfatos,biomasas)

%Dada una funcion de una variable, busca el minimo usando el método de la
%sección dorada

%La abscisa que se busca minimizar es rmse(k)
W=(3-sqrt(5))/2;
R=1-W;
%Genera el punto intermedio
kmed=kmin*R+kmax*W; %kmed=kmin + W*(kmax-kmin)
%Otienene las abscisas para cada punto
f_kmin=excesolactato_k(kmin,mumax,tiempos,sulfatos,biomasas);
f_kmax=excesolactato_k(kmax,mumax,tiempos,sulfatos,biomasas);
f_kmed=excesolactato_k(kmed,mumax,tiempos,sulfatos,biomasas);
dist=kmax-kmin;
ktest=kmin*W+kmax*R; %ktest=kmax-W*(kmax-kmin)
f_ktest=excesolactato_k(ktest,mumax,tiempos,sulfatos,biomasas);
%Se busca despues de la iteracion, que la nueva cuarteta de puntos sea
del
%tipo [kmin kmed ktest kmax], donde la distancia es menor de kmin a
kmed
tol=0.1;
iter=0;
while dist>tol
    iter=iter+1;
    if f_ktest > f_kmed, %Toma el segmento izquierdo [kmin kmed
ktest]
        %kmin=kmin,
        kmax=ktest;
        f_kmax=f_ktest;
        ktest=kmed;
        f_ktest=f_kmed;
        kmed=kmin*R+kmax*W; %new kmed=kmin + W*(kmax-kmin)
        f_kmed=excesolactato_k(kmed,mumax,tiempos,sulfatos,biomasas);
    else %Toma el segmento derecho [kmed ktest
kmax]
        %kmax=kmax
        kmin=kmed;
        f_kmin=f_kmed;
        kmed=ktest;
        f_kmed=f_ktest;
        ktest=kmin*W+kmax*R; %new ktest=kmin + W*(kmax-kmin)
        f_ktest=excesolactato_k(ktest,mumax,tiempos,sulfatos,biomasas);
    end
    dist=kmax-kmin;
end
fprintf('Se hicieron %i iteraciones.\n',iter)
k=(kmax+kmin)/2;
rmse=excesolactato_k(k,mumax,tiempos,sulfatos,biomasas,1);
```

Sintaxis de modelo para validar el modelo propuesto con datos experimentales de cinéticas para validación.

```
function [t,so4]=simulasr_lact(tmax,mumax,X,Kso4,so40)

%funcion para simular con exceso de lactato, y por lo cual se hace
unitaria la parte de lactato y no se considera en el modelo

%tmax es tiempo de duracion de la cinetica
%mumax es mu entre Y
%X es la biomasa
%Kso4 es la cte de sulfato
%Y es (Y1) Ysulfato entre (Y2) Ylactato
%so40 es la concentracion de sulfato inicial

x0=[so40];
[tsim,xsim]=ode45(@reactor,[0,tmax],x0);
t=tsim;
so4=xsim(:,1);

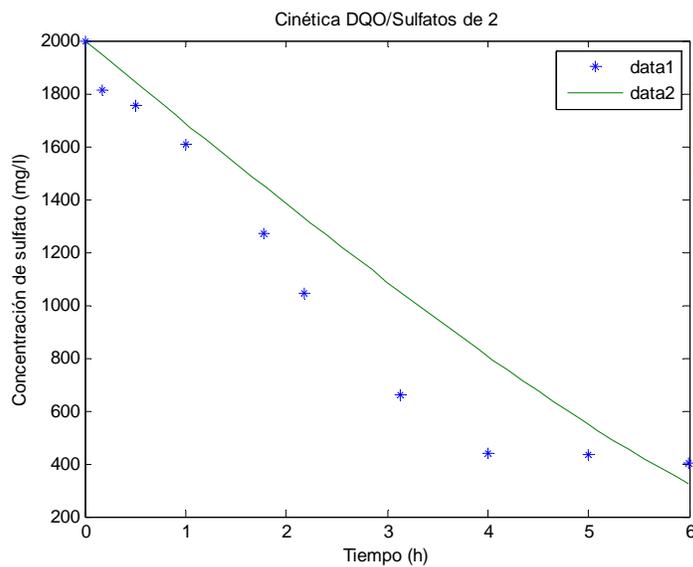
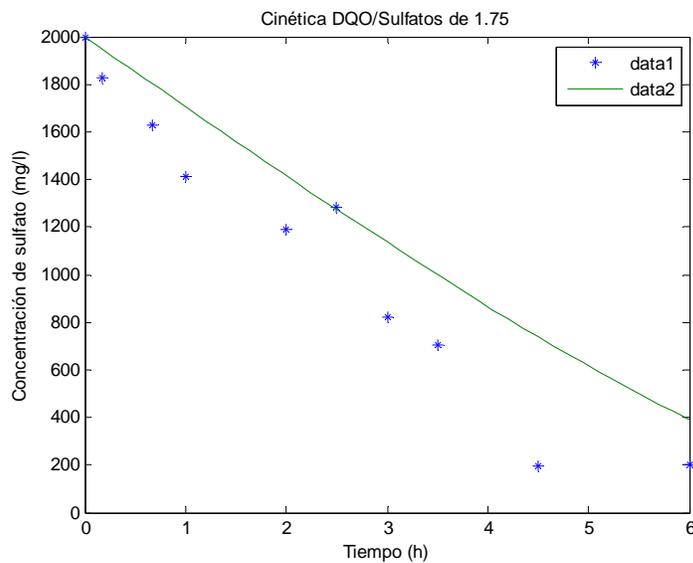
function dxdt=reactor(t,x)
S=x(1);
mu=mumax*(S/(Kso4+S));
dS=-mu*X;
dxdt=[dS];
end

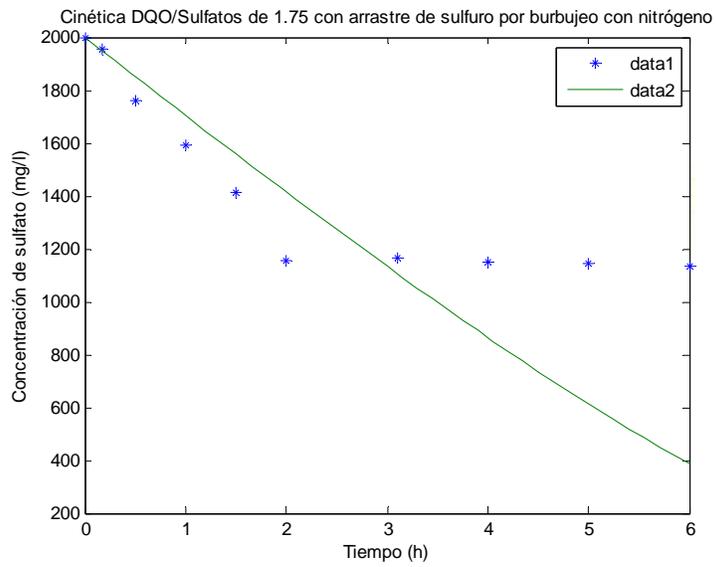
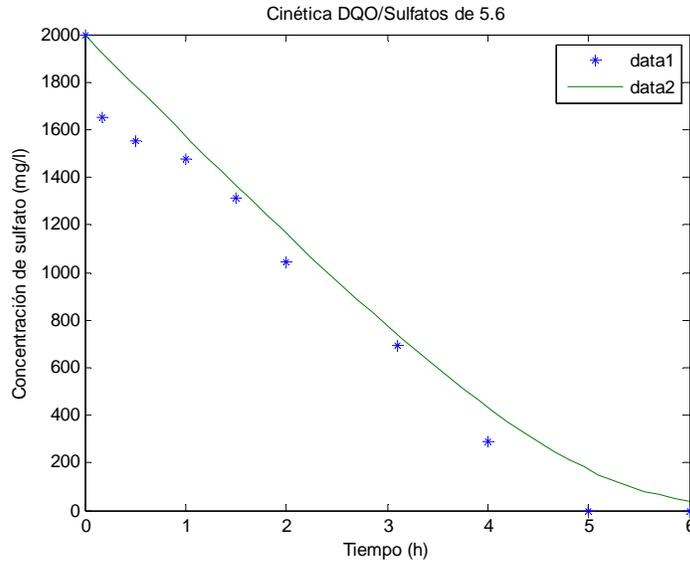
end
```

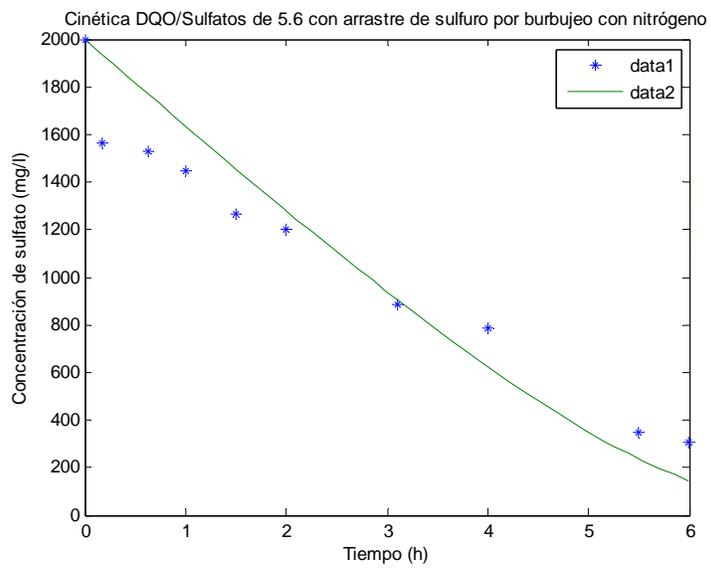
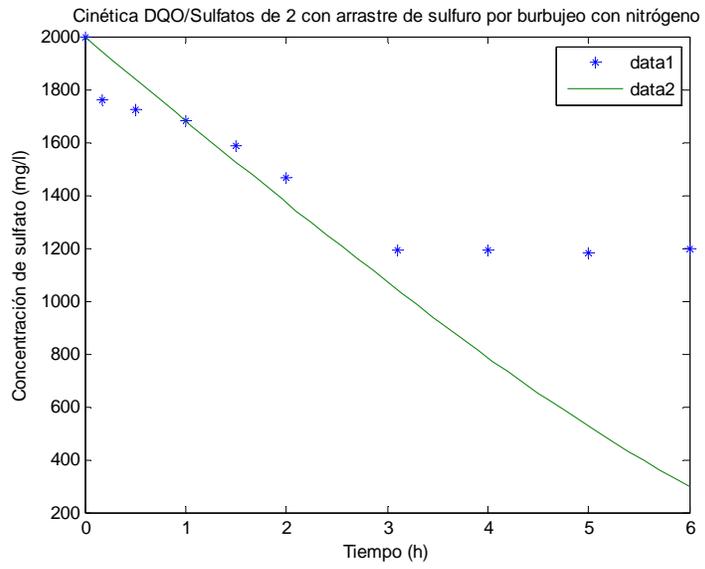


Anexo 2. Figuras; datos experimentales y simulaciones

Cinética con una relación de 1.75.

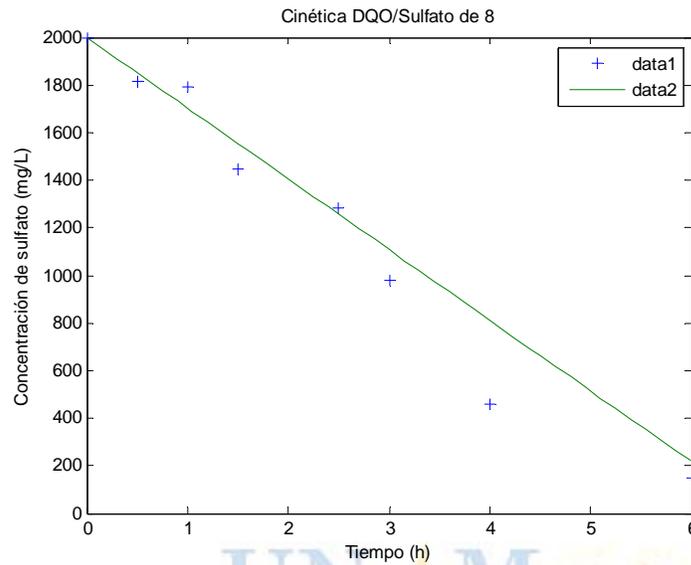




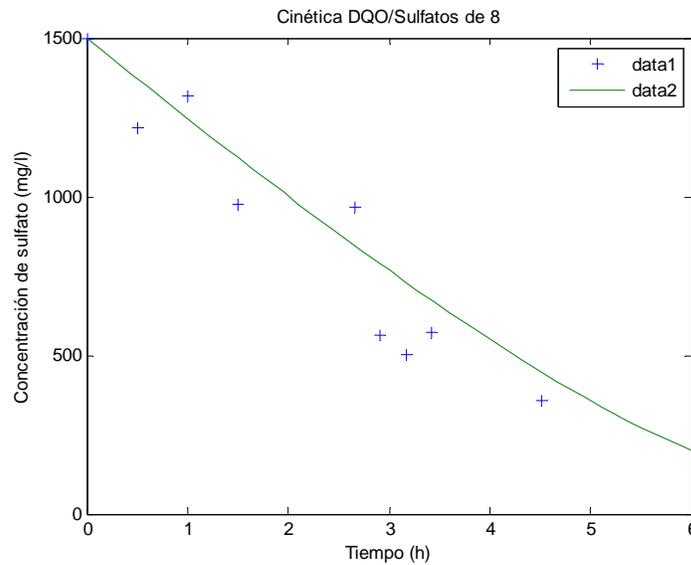


Anexo 3. Modelado para validación del modelo

Cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 8 con 2000 mg/L de sulfato y 16000 mg/L de lactato como DQO.

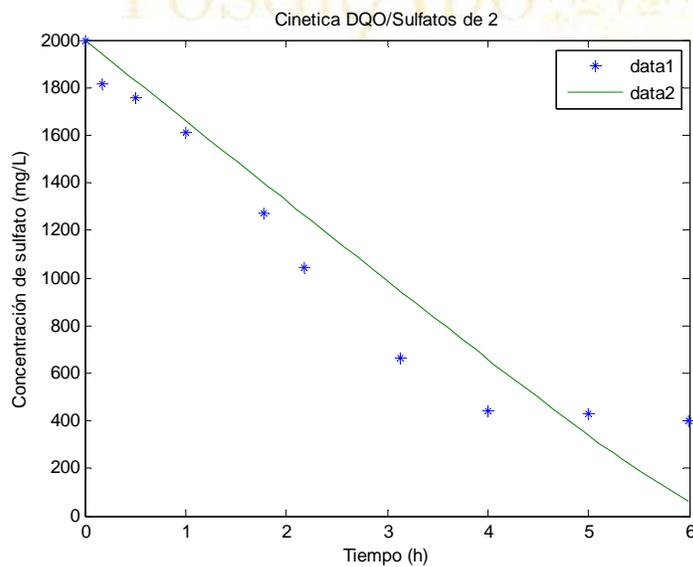
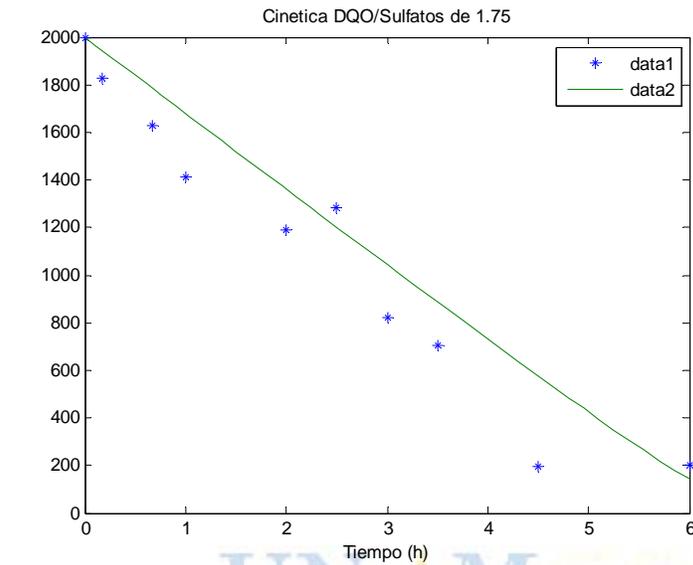


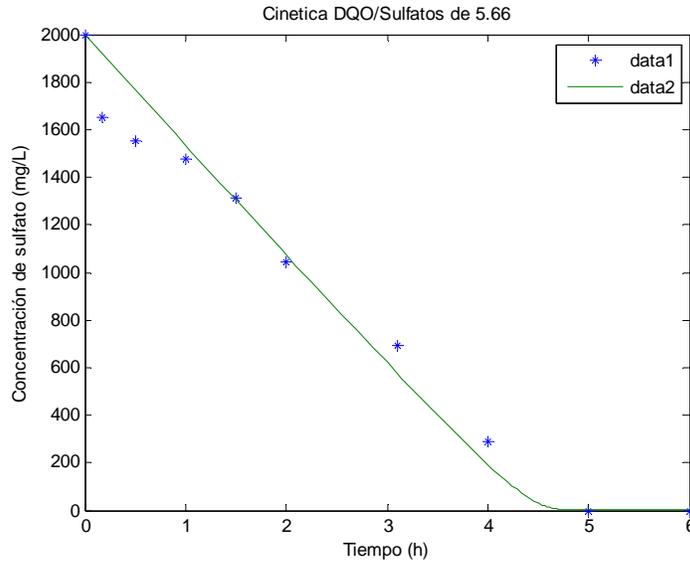
Cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 8 con 1500 mg/L de sulfato y 12000 mg/L de lactato como DQO con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno.



Anexo 4. Figuras; datos experimentales y simulaciones de acuerdo a cinética orden cero

Cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75, 2, 5.66, $K_{SO4^{2-}}$ de 40.38 y q de 0.189 h⁻¹.





Cinética con una relación DQO/SO₄²⁻ de 1.75, 2, 5.66 con arrastre de sulfuro por burbujeo con nitrógeno, K_{SO_4} de 1.0432 y q de 0.107 h⁻¹.

