

Profesor Patrocinante

Dr. Alex Schwarz



Universidad de Concepción
Dirección de Posgrado
Facultad de Ingeniería-Programa de Magíster en Ciencias de la Ingeniería con mención en
Ingeniería Civil

**Optimización de Sistema de MBfR en Serie para Tratamiento de Agua de Proceso
Minero y Recuperación de Azufre Elemental**

Tesis para optar al grado de Magíster en Ciencias de la Ingeniería con mención en
Ingeniería Civil

MARÍA ALEJANDRA GAETE CASTILLO
CONCEPCIÓN-CHILE
OCTUBRE 2021

RESUMEN

Se implementaron dos reactores de biopelícula sobre membranas (MBfR por sus siglas en inglés) en serie. y su objetivo principal es optimizar los procesos de remoción de sulfato y producción de azufre elemental.

La primera etapa fue un reactor alimentado por hidrógeno (H_2 -MBfR) y la segunda etapa un reactor alimentado con oxígeno (O_2 -MBfR). El sistema está diseñado para remover sulfato (SO_4^{2-}) mediante su reducción por parte de bacterias reductoras de sulfato (SRB por sus siglas en inglés) a H_2S . Estas SRB están asentadas en las membranas del H_2 -MBfR. El propósito del O_2 -MBfR, es obtener S^0 , gracias a la acción de bacterias oxidantes de sulfuro (SOB por sus siglas en inglés). La fuente de sulfato es agua de proceso minero, que posee baja salinidad, baja alcalinidad y un contenido alto de sulfato (1.4 g/l promedio).

Para lograr esto se implementó un sistema de control de pH mediante inyección de HCl en ambos reactores y se controló el flujo de gases para hacer más eficiente su uso. Junto con esto, se ajustó la tasa de carga del sustrato de sulfato (SO_4^{2-} -SLR), disminuyendo el tiempo de residencia hidráulico (TRH) por etapas. Se alcanzó una remoción de sulfato del 73% (con una SLR de 10.6 g S/m³-día) y una producción de S^0 del 44% del sulfato afluente en la última etapa operacional. El control de pH demostró ser clave para lograr estabilizar la remoción de sulfato en el H_2 -MBfR y evitar la inhibición por los efectos tóxicos del H_2S , pues se mantuvo un pH donde el sulfuro se presenta en forma HS^- . También se evita la precipitación de $CaCO_3$ sobre las membranas, pues impide la subida exagerada del pH.

Los análisis microbiológicos de una muestra de efluente mostraron una abundancia relativa de 22.3% de microorganismos del género *Desulfovibrio*, que son SRB, en H_2 -MBfR. También hubo un 41.0% de presencia del género *Desulfomicrobium*. En el efluente del O_2 -MBfR prevalecieron grupos de organismos heterótrofos. Mostró una abundancia relativa de 14.02% de *desulfovibrio* y 26.97% de *desulfomicrobium*. También una importante presencia del género *Sulfurospirillum* con 14.03%. Se analizaron también muestras de membranas de ambos reactores. En el H_2 MBfR los resultados mostraron que hubo un asentamiento mayoritario de *Desulfomicrobium* y *Desulfovibrio*, mientras que en el O_2 MBfR se observó una presencia mayoritaria de los géneros *Hydrogenophaga* y *Brevundimonas*.

Los resultados son prometedores y abren la posibilidad de experimentar a escalas mayores para lograr un manejo más fino de los gases y del sistema de control de pH, además de incluir un sistema de remoción de metales pesados.

Este proyecto se basó en trabajos previos con MBfRs hechos en los laboratorios de Hidráulica y Calidad del Agua del Departamento de Ingeniería de la Universidad de Concepción.



AGRADECIMIENTOS

A CODELCO por su inestimable ayuda, brindándome la beca CODELCOTECH para estudiantes de magister

A mi profesor Alex Schwarz por su continuo apoyo.

A mi padre por animarme a seguir adelante.



INDICE

Contenido

CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Motivación	1
1.2 Hipótesis de trabajo	2
1.3 Objetivos	2
1.3.1 Objetivo general	2
1.3.2 Objetivos específicos	2
1.3.3 Metodología de trabajo	2
1.3.4 Principales resultados y conclusiones	3
1.3.5 Organización de la tesis	4
CAPITULO 2 ESTADO DEL ARTE	5
2.1 Introducción	5
2.2 Estado del arte	5
2.2.1 El sulfato en la naturaleza y en procesos de origen humano	5
2.1.3 El ciclo del azufre	6
2.1.4 Efectos adversos de la presencia de sulfato	7
2.1.5 Alternativas de tratamiento	8
2.1.6 El Reactor de membrana o Membrane Biofilm Reactor (MBfR)	11
2.2 Conclusión	15
CAPITULO 3 MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1 Introducción	16
3.2 Configuración experimental	16
3.2 Caracterización del afluente	18
3.3 Inóculo y puesta en marcha	19
3.4 Condiciones operacionales	20
3.5 Sistema de control de pH	21
3.6 Análisis químicos	23
3.7 Estimación de la carga de sulfato (SLR), cálculo de flujos (J) y producción de S₀	23
3.8 Modelo algebraico de pH	24
3.9 Análisis microbiológico	25
3.9 Conclusiones	26

CAPITULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1 Introducción	27
4.2 Desempeño del H₂-MBfR	27
4.3 Desempeño del O₂-MBfR	31
4.4 Desempeño del sistema en modo secuencial	36
4.5 Estrategia de control de pH y desempeño	36
4.6 Comunidades microbianas y estudio microscópico Error! Bookmark not defined.	
4.7 Comentarios pertinentes al desempeño del sistema MBfR ..Error! Bookmark not defined.	
4.8 Conclusiones	45
CAPITULO 5 CONCLUSIONES Y COMENTARIOS	47
REFERENCIAS	49
ANEXOS	57
Estequiometria, energía y crecimiento bacteriano	57



CAPITULO 1 INTRODUCCIÓN

1.1 Motivación

Alrededor del mundo la actividad minera ha crecido de manera acelerada en la última década, con yacimientos de diversos metales siendo puestos a producir continuamente. La minería es importante para países como Estados Unidos, España, Australia, y para Chile es parte importante de su sustento. Por esto nuestro país carga con una tarea importante, que es tratar con las consecuencias que deja la actividad minera para el ambiente y para la comunidad. La actividad minera produce directamente desechos de sus procesos, como el agua de proceso minero, que es alta en sulfatos. También produce indirectamente aguas ricas en metales pesados, sulfatos y pH ácido, como el Drenaje Ácido de Minas (DAM), que se encuentran en yacimientos tanto activos como abandonados. Remediar y en lo posible evitar que se formen estos flujos contaminantes es una prioridad, y además lograr reciclar estas aguas y volver a usarlas en los procesos es también deseable.

Existen diversas alternativas para poder remover sulfato como tratamientos químicos de precipitación como sulfuros metálicos, o aquellos basados en la acción de microorganismos conocidos como SRB (Sulfate Reducing bacteria), por ejemplo, SULFATEQ y THIOTEQ (Hao et. al., 2014), o reactores como los MBfR (Membrane Biofilm Reactor), que es un tratamiento que usa reactores con membranas implementadas para albergar biopelículas (Neremberg, 2016), de los que hay ya algunas aplicaciones, como las investigaciones anteriores de la Universidad de Concepción (Schwarz et. al. 2020). La elección de un MBfR se debe a sus diversas cualidades, uso eficiente de sustratos, bajo costo de mantención y operación, bajo uso de reactivos y no produce desechos que sean nocivos. Muchas cualidades mencionadas son comunes a los tratamientos biológicos en general, pero este método destaca por el uso de sustratos que son según demanda dentro del reactor (eficiencia superior). Los tratamientos químicos en cambio, pueden traer problemas de generación de desechos nocivos, demanda el uso de sustancias que elevan los costos. Y no son recomendables de implementar en sitios aislados, por estas mismas razones. Los MBfRs tiene una alta retención de materia orgánica y es una de las mejores opciones de tratamiento en cuanto a mantención de los microorganismos y control de procesos. Ya se tiene experiencia en este tipo de reactores y

se espera que se logre una optimización de los procesos, pues ya se ha demostrado su factibilidad en la remoción de altas concentraciones de sulfato.

1.2 Hipótesis de trabajo

El sistema de H₂-MBfR y O₂-MBfR en serie demostrará ser una configuración más eficiente que las de recirculación de investigaciones pasadas, para lograr una optimización de la transformación de SO₄²⁻ a azufre elemental S⁰, de forma que se satisfaga el estándar vigente de sulfato (NCh1333.Of78-mod87; D.S.90) y se logre su conversión en azufre elemental S⁰.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Optimizar el proceso de remoción de sulfato y producción de azufre elemental para un sistema de MBfR a escala de laboratorio, para tratamiento de agua de proceso minero, en términos de tasa de carga superficial SLR (Surface Loading Rate) de sulfato efectivamente tratada y conversión a azufre elemental.

1.3.2 Objetivos específicos

- Desarrollar un sistema de H₂-MBfR y O₂-MBfR en serie a escala de laboratorio.
- Obtener condiciones operacionales para un funcionamiento óptimo, en cuanto a eficiencia, en ambos reactores.
- Implementar un sistema eficaz para control de pH de modo de estabilizar las condiciones operacionales y evitar efectos nocivos del H₂S.

1.3.3 Metodología de trabajo

Se instaló un sistema en serie de un H₂-MBfR y un O₂-MBfR con distintos tipos de membrana, y con alimentación de una mezcla de 95% H₂ 5% CO₂ para el H₂-MBfR y de aire y posteriormente O₂ para el O₂-MBfR. La primera etapa de operación fue de estabilización de las condiciones dentro de los reactores. Se tuvo especial cuidado con el H₂-MBfR pues al estar primero en la serie, controlaba gran parte de lo que pasaba en la siguiente etapa. Se implementó el control de pH en este reactor primero, pues el O₂-MBfR dependía de que el H₂S producido por el H₂-MBfR fuera alcanzara una concentración estable y alcanzara valores de entre 400 a 500 mg/L (que es lo que corresponde por estequiometría, desde la conversión del sulfato afluente). Se trabajó con las presiones de gases en etapas, junto con la tasa de carga superficial (Surface Loading Rate, SLR) de sulfato mediante el ajuste del caudal afluente, de modo que esta SLR fuera cada vez mayor. A un aumento de la SLR le seguía un ajuste de la presión de gases, que generalmente aumentó junto con la concentración afluente de sulfato, hasta que se alcanzaba un estado estacionario para esas condiciones operacionales. Se quería lograr un aprovechamiento máximo del gas que se suministraba en ambos reactores, con la condición para el O₂-MBfR de lograr una razón O₂/H₂S que creara una escasez relativa de oxígeno, necesaria para lograr la producción de S⁰. (un proceso inducido por esta misma escasez, de otro modo ocurre la oxidación completa a sulfato). El control de pH en el O₂-MBfR se implementó luego de observar precipitados claros en las membranas (muy posiblemente carbonato de calcio), lo que incide en la eficiencia del reactor.

Se monitorearon regularmente el pH, ORP (mV), sulfato (mg/l) y sulfuro (mg/l). El azufre elemental S⁰ no se midió directamente. Se calculó su concentración a partir de un balance de masa hecho para el azufre en el sistema completo.

Al finalizar los experimentos se extrajeron muestras de fibras y agua para hacer estudios de biología molecular y microscopía electrónica.

1.3.4 Principales resultados y conclusiones

El sistema en serie de MBfR demostró ser eficaz en remoción de sulfato y producción de azufre elemental. Se logró una remoción de 1.61 g S/m²-día de sulfato, y de éste, un 58% fue convertido en azufre elemental, o sea 0.93 g S/m²-día de azufre. En cada etapa se logró

mantener el rendimiento gracias al control que se tenía del pH y de las presiones de gases. Se logró disminuir el TRH teórico hasta 3 horas.

El control automático de pH evitó la mayoría de los problemas que habían surgido en anteriores experimentos (efecto nocivo del H_2S , alcalinización de ambos reactores, acidificación del O_2 -MBfR, y precipitación de carbonato de calcio).

1.3.5 Organización de la tesis

En el capítulo 2 de esta tesis se repasa el papel que juega el sulfato en los sistemas naturales y para los procesos de origen humano. Se dedicará una sección para explicar el origen del sulfato en la naturaleza, el ciclo del azufre, las actividades industriales y mineras y el problema de la contaminación y su relación con las SRB. También se introducirá el tema de los tratamientos para remover sulfato de las aguas, qué opciones de tratamientos químicos y biológicos existen, y los MBfR como alternativa junto con sus ventajas.

En el capítulo 3 se describe la metodología para realizar los experimentos. Ésta se refiere a la configuración de los reactores, los materiales que se usaron para construir y armar el sistema, la configuración del control de pH, las variables monitoreadas y los equipos usados para esto último, las etapas del experimento principal y análisis posteriores al término del experimento.

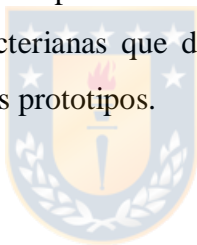
En el capítulo 4 se exponen los resultados principales y los hitos que hubo durante el experimento, junto con una breve explicación de cada uno. Se discutirán y se compararán con otros estudios para determinar el aporte que tuvo al nicho de investigación.

El capítulo 5 es dedicado a las conclusiones del experimento, junto con los temas que se dejaron fuera en esta tesis y su posible investigación en futuros experimentos.

CAPITULO 2 ESTADO DEL ARTE

2.1 Introducción

En este capítulo se abordará el tema del sulfato como elemento natural y como contaminante, su rol en la naturaleza, el ciclo del azufre y cómo la actividad humana influye en este. Se revisarán opciones de tratamiento para la remediación de aguas contaminadas con sulfatos y se describirá el sistema de reactores de biomembrana o MBfR (*Membrane Biofilm Reactor*) como una alternativa de tratamiento conveniente, y sus ventajas. Este sistema es un tratamiento pasivo basado en la acción de microorganismos y se pondrá a prueba una configuración donde se aplica esta tecnología, para encontrar un tratamiento biológico eficiente para la remoción de sulfato, usando una versión de los MBfR desarrollada en los laboratorios, encontrando la mejor configuración, la mezcla de gases más eficiente e implementando un control automático experimental de pH. Se realizará un análisis de la composición de las comunidades bacterianas que dará pistas para desarrollar estrategias adecuadas para el desarrollo de nuevos prototipos.



2.2 Estado del arte

2.2.1 El sulfato en la naturaleza y en procesos de origen humano

El sulfato (SO_4^{2-}) es la forma más oxidada que el azufre tiene en la naturaleza. Se encuentra en rocas y minerales en el suelo, generalmente en forma de CaSO_4 (Chen et al., 2017, Qian et al., 2019). También se le encuentra en cuerpos de agua salinos y salobres.

El sulfato es un subproducto de las industrias papeleras, refinerías de petróleo, industria alimentaria y farmacéutica y procesos mineros (DAM y aguas de proceso minero) (Kefeni et al., 2017; Nancuqueo et al., 2017; Schwarz et al., 2020). Los límites para sulfato en aguas para descarga son de 200 a 600 mg/l en ríos y mares, y para aguas de consumo humano de 250 mg/l, según la *World Health Organisation*, mientras que las aguas derivadas de las actividades mineras e industriales superan este límite (Cai et al., 2017; Marais et al., 2020).

En la minería se producen aguas de proceso minero, directamente relacionadas con la actividad minera. En Chile, la mayoría del agua de proceso se usa en concentración e hidrometalurgia, fundición y refinación. Se logra una mayor eficiencia en el uso del agua mediante su reutilización y recirculación. En minería se utiliza masivamente el ácido sulfúrico (H_2SO_4), lo que da al agua de proceso su concentración de sulfato y acidez. (COCHILCO, 2019). También posee cantidades variables de calcio por la utilización de CaO (Wills y Finch, 2015), que serán o no relevantes dependiendo del peligro de precipitación.

2.2.3 El ciclo del azufre

El azufre es esencial para la vida, y en general conforma el 1% del peso seco de los microorganismos. El ciclo del azufre describe cómo circula el azufre a través de los procesos naturales y artificiales, en sus diversas formas, y tiene un aspecto biológico y otro químico. Su complejidad radica en que el azufre tiene estados de oxidación de 2^- a 6^+ (Luo et al., 2018). Por esto es que puede aportar demanda de oxígeno, ser aceptor o donador de electrones y produce precipitados inertes (incrementa la producción de lodos en tratamientos de aguas)(Hauduc et al., 2019). La forma oxidada, el sulfato (SO_4^{2-}) es utilizado como aceptor de electrones terminal por ciertas bacterias, las *Sulfate Reducing Bacteria* (SRB), que reducen el sulfato a otras formas, como el sulfuro (H_2S). Pueden hacer esto también con el tiosulfato, los sulfitos y azufre elemental (Lin et al., 2018). Esto ocurre durante la descomposición anaeróbica de la materia orgánica, presente en fondos de lagos, pantanos, sedimentos marinos y también actuando en superficies expuestas, cuando actúan las SRB en conjunto con bacterias consumidoras de oxígeno que protegen a las SRB de la acción de este elemento. Estos procesos forman parte de la fijación de carbono, habiendo un subgrupo que oxida los compuestos orgánicos a acetato y otro que puede oxidarlos completamente a dióxido de carbono. El sulfuro producido por SRB será oxidado en presencia de oxígeno por bacterias quimiolitótrofas, y bajo condiciones anóxicas por bacterias fotótrofas. Otro destino para el sulfato es ser asimilado por las plantas desde el suelo y consecuentemente por los animales, pues es un elemento necesario para la vida. Se sabe que la actividad de muchas enzimas en seres vivos está condicionada por la presencia de azufre en forma de grupos sulfhidrilo (SH). La presencia de una cantidad suficiente de azufre es necesario para la

incorporación de nitrógeno en las plantas, existiendo un ratio S/N orgánico, relativo a cada tipo de planta (0.025 para leguminosas, 0.032 en pastos)(Fuentes-lara et al., 2019). El ciclo biológico se cierra con la descomposición de estos organismos (Muyzer and Stams, 2008)

El azufre está presente en las rocas como sulfatos (por ejemplo, CaSO_4^{2-}) y como sulfuros metálicos, donde el sulfuro puede tener origen biológico. Si el azufre se oxida por acción química del ambiente, puede convertirse en una forma oxidada (SO_2) y llegar a la atmósfera. Ejemplos de esto son las llamaradas volcánicas y la combustión de combustibles fósiles. Estos compuestos de azufre precipitan al suelo en forma de lluvia ácida.

2.2.4 Efectos adversos de la presencia de sulfato

Concentraciones más allá de lo que establece la *World Health Organisation* son consideradas peligrosas si se encuentran en agua consumida por animales y seres humanos, ya que pueden causar alteraciones en el sistema digestivo.

Un amplio espectro de industrias interviene en el ciclo del azufre, por ejemplo, la minería a través de la oxidación de sulfuros metálicos y descarga al ambiente de efluentes sulfatados y las centrales termoeléctricas mediante liberación de dióxido de azufre, el gas responsable de la lluvia ácida. El sulfato producido por estas acciones entra en contacto con comunidades de SRB en contextos donde se producirá un exceso de H_2S , un gas corrosivo y tóxico, que produce biocorrosión en los metales, como tuberías, equipos y máquinas (Camiloti et al., 2016; Marais et al., 2020; Sun et al., 2017) . Este gas es dañino para la salud humana a 100 ppm_v y su concentración en biogas debe ser de menos de 1000 ppm_v para su combustión (Khanongnuch et al., 2019), pues de otra forma, el biogas contaminado con H_2S puede liberar SO_2 , dañino para la salud (Haosagul et al., 2020). Según la *US Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) en el intervalo 0.01-1.5 ppm de concentración de H_2S se perciben olores molestos, de 2 a 5 ppm puede provocar náuseas y dolores de cabeza, de 1000 a 2000 ppm puede causar la muerte.(Huertas et al., 2020) Se han llegado a medir hasta 1000 ppm de concentración de sulfuro en aguas tratadas, pues el sulfato es usado como aditivo en estos tratamientos (50-500 mg/l de sulfato).

El sulfuro gaseoso puede oxidarse a ácido sulfúrico, un compuesto muy corrosivo que dañará las superficies expuestas en presencia de aire, como tuberías y desagües de concreto (Hauduc et al., 2019).

El problema de la biocorrosión es especialmente serio en ambientes costeros. Un exceso de iones de sulfuro disueltos en el agua que ingresa a plantas de tratamiento de lodos activados puede inhibir la nitrificación, causar el crecimiento de bacterias filamentosas, dificultar la floculación y reducir la eficiencia de la deshidratación (Vannini et al., 2008). En las actividades mineras un desecho directo común es el agua de proceso minero, usada para el tratamiento y lavado del material rico en minerales. Los procesos de flotación mineral agregan a esta agua altas cantidades de CaO , H_2SO_4 y NaHS (Wills y Finch, 2015). Un desecho indirecto sería el drenaje ácido de minas (DAM), producto del material expuesto por las actividades mineras, cuyo contenido de sulfuro es expuesto y oxidado por las SOB. No es considerado un desecho minero directo pues es necesario un proceso independiente de la minera para su formación, que se puede dar de forma natural.. Su aparición es un fenómeno que se da en mineras abandonadas y roca expuesta gracias a esta actividad. Además de sulfato, poseen altas concentraciones de metales pesados y bajo pH (Shahsavari et al., 2019).

2.2.5 Alternativas de tratamiento

Los tratamientos tradicionales para remover sulfatos incluyen su precipitación como sulfuros metálicos (Hao et al., 2014), y tratamientos basados en SRB como THIOTEQ y SULFATEQ. En cuanto a remoción de sulfuro, está THIOPAQ de Paques, basado en procesos biológicos, y SULFOTHANE, de Veolia (Lin et al., 2018) y procesos electroquímicos ligados con el desarrollo de MFC's (*Microbial Fuel Cells*) (Braga Rodrigues et al., 2020; Cai et al., 2017). También existe la precipitación de metales pesados mediante el sulfuro generado por SRB, (Costa et al., 2020; Sun et al., 2020). Los procesos electroquímicos incluyen la oxidación y reducción electroquímica, electrocoagulación, electroflotación y electrodiálisis. En específico la electrocoagulación es una técnica promisoriosa ya usada para tratar aguas residuales de industrias de textiles, papel, aceites, alimentos, minería y aguas municipales (Mamelkina et al., 2019). Los procesos químicos tienen como desventaja que son más

costosos, pues requieren aditivos adicionales, por ejemplo la adición de nitrato, H_2O_2 , NaOCl , hierro, $\text{Mg}(\text{OH})_2$, NaOH , CaO , $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y CaCO_3 para precipitación de metales pesados (Habe et al., 2020; Hauduc et al., 2019), y la adición de sales de hierro para desulfurización en plantas de tratamiento de aguas (Wastewater Treatent Plants, WWTP), e incluso microaireación controlada para oxidar sulfuro sin inhibir la reducción de sulfato (Donoso-bravo et al., 2018). Los tratamientos basados en procesos biológicos no requieren mayor intervención que los necesarios para asegurar los requisitos que los microorganismos demandan (Costa et al., 2020), mientras que la desventaja de estos últimos es que las condiciones para la sobrevivencia de estos microorganismos deben ser estables. Además, los tratamientos biológicos pueden tardar en tratar grandes cantidades de aguas contaminadas producidas en condiciones reales. En algunos tratamientos, faltan estudios que pasen de la escala de laboratorio o piloto a la escala real para sacar conclusiones de su aplicabilidad (Maiti et al., 2019). El costo de alternativas pasivas subirá a medida que el problema de la contaminación se extienda en el tiempo. Los tratamientos biológicos anaeróbicos tienen una mayor tasa de conversión volumétrica que los aeróbicos utilizando diversos sustratos donantes de electrones, como compuestos orgánicos fácilmente biodegradables (ácidos grasos volátiles, lactato, azúcares, alcoholes), compuestos orgánicos complejos y sustratos gaseosos (Janssen et al., 2008). El material orgánico es más eficiente por la energía que se produce en su degradación, sobre todo los fácilmente biodegradables, si bien estos tienden a ser más costosos. Los compuestos orgánicos complejos, que generalmente provienen de los desechos de la industria agropecuaria, ganadera y alimentaria, son menos costosos y son fáciles de obtener, aunque es más difícil para los microorganismos acceder a los electrones, y pueden contener material inerte, además de causar acumulación de ácidos grasos volátiles (inhibición). Los sustratos gaseosos no dejan residuos, ni son reactivos con los cambios de pH. La combinación H_2 - CO_2 es la que ha logrado mejores tasas de reducción de sulfato, como queda demostrado en experimentos pasados (Schwarz et. Al.,, 2020). La mayoría de los tratamientos biológicos pueden operar a temperaturas moderadas, eliminando los costos que trae implementar un sistema de calefacción (Oztemur et al., 2020). En configuraciones de reactores para tratamiento biológico están el *Completely Stirred Tank Reactor* (CSTR), el *Up Flow Anaerobic Packed Bed Reactor* (UAPBR), *Gas Lift Reactor* (GLR), *Up Flow Anaerobic Sludge Bed Reactor* (UASB), *Up Flow Fluidized Bed Reactor* (UFBR), *Down*

Flow Fluidized Bed Reactor (DFBR), Anaerobic Blafled Reactor (ABR) y Membrane Biofilm Reactor (MBfR)

Dadas las ventajas de los métodos biológicos para remoción de contaminantes, se ha puesto especial esfuerzo en su desarrollo y mejoramiento, al mismo tiempo que se buscan sustratos que en lo posible no aporten a la DBO (*Demanda Biológica de Oxígeno*) del agua a tratar, trabajando con géneros de microorganismos que no necesiten fuentes de carbono orgánicas (Costa et al., 2020). La materia orgánica puede promover caminos metabólicos que dificultan otros procesos, como la metanogénesis, que afecta a las SBR (Braga Rodrigues et al., 2020; Chen et al., 2019; Habe et al., 2020; Hauduc et al., 2019). Sobre todo, en reactores que pueden desarrollar *fouling* o donde el espacio para que los microorganismos se asienten sea limitado. Hay otros tipos de reactores donde estos problemas no son relevantes y se utilizan fuentes de carbono orgánicas (Chen et al., 2019; Fernandez-palacios et al., 2019), si bien la competencia entre SRB y metanogénicas se trata de resolver con otras estrategias. También se estudian métodos híbridos (tratamientos biológicos combinados con los convencionales) dada la tendencia de los biológicos a producir exceso de lodos en tratamientos a escala real, para reducir la utilización de químicos, y aumentar la eficiencia, para compararla con los costos (Maiti et al., 2019).

El sistema UASB se ha usado recientemente en remoción de sulfuro (Valdés et al., 2020). El sistema BISURE (*Biological Sulfide Removal*) describe un reactor donde existen SOB en suspensión para remoción de sulfuro, generado a su vez por reactores anaerobios o de biogas (Huertas et al., 2020). El sistema DSR (*Dissimilatory Sulfate Reduction*) es otro ejemplo de tratamiento biológico, que usa SRB para remover sulfato (Qian et al., 2019). Los reactores reductores de sulfato han llamado la atención como tratamiento para metales pesados (Oztemur et al., 2020), específicamente para agua influenciada por la minería (*Mining Influenced Water, MIW*) (Habe et al., 2020).

Las investigaciones en biopelículas se centran en aumentar su eficiencia en procesos como desnitrificación (Xia et al., 2020), remoción de sulfuro de las aguas (Camiloti et al., 2019; Jiang et al., 2019), remoción de sulfato (Suarez et al., 2020), remoción de otros oxi-aniones como cloratos, selenatos, cromatos (Zhou et al., 2019a). Las biopelículas se han implementado en MBfR, en células electroquímicas microbianas (*Microbial Electrochemical*

Cell, MxC) o en procesos de fotobiocatálisis (*Intimately Coupled Photobiocatalysis*, ICPB), esto último para pretratar contaminantes orgánicos complejos de degradar (pesticidas, halógenos, compuestos aromáticos, solventes, tinturas), (Rittmann, 2018). Se siguen estudiando nuevas formas de usar MBfR para reducir compuestos oxidados contaminantes, como perclorato, selenato, bromato y cromato. Específicamente con MBfR basados en metano como donante de electrones. También se ha reportado la relación entre la oxidación de metano y la reducción de sulfato (Luo et al., 2019).

2.2.6 El reactor de biopelícula sobre membrana o *Membrane Biofilm Reactor* (MBfR)

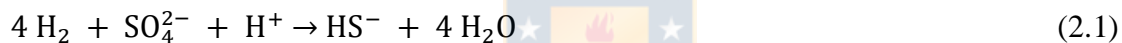
El *Membrane Biofilm Reactor* (MBfR) usa la tecnología de membranas y tratamiento biológico, entregando un aceptor o donador de electrones gaseoso a microorganismos viviendo en una película (*biofilm*) formada sobre la membrana, en la pared externa de fibras huecas (Neremberg, 2016, Tang et al., 2012). Un *biofilm* es definido como una acumulación de microorganismos adheridos a una superficie sólida, y tiene algunas características útiles. Rittman lista tres; 1) Es un excelente medio para retener microorganismos de interés para su aplicación en biotecnología, pues la mayoría son de crecimiento lento y su cinética también lo es; 2) Dentro del biofilm hay gradientes estables de concentración de los sustratos suministrados desde la superficie externa, a través de un proceso de difusión. De acuerdo con esto se distribuyen los microorganismos. Los heterótrofos se adhieren a las zonas más externas de la película (crecimiento rápido, mayor disponibilidad de nutrientes) y las autótrofas estarán en zonas más profundas (crecimiento lento, menor disponibilidad de nutrientes) 3) El biofilm es capaz de proteger a los microorganismos de sustancias inhibitoras (que pueden ser el mismo sustrato), de la depredación o desprendimiento, sobre todo si se encuentran al interior de éste (Rittmann, 2018). Se puede entender el biofilm como distintos estratos, cada uno con distintas especies de microorganismos, ordenados según la disponibilidad de nutrientes, nivel de oxígeno y resistencia al roce, que se adhieren a la membrana y entre sí, con especies cooperando o aprovechando los procesos de otras para su propio beneficio.

Entre algunos de los contaminantes que han sido removidos usando estos reactores se encuentran percloratos, nitratos y sulfato, y la tecnología de MBfR ha demostrado su potencial para los contaminantes oxidados en general (Rittmann, 2006; Zhou et al., 2019). Para el control de los procesos, los factores más importantes son la Surface Loading Rate y la presión de gases, los que difunden a través de la membrana hacia el biofilm por contradifusión, un proceso donde un sustrato es suministrado por el lado de la membrana directamente a la superficie interna del biofilm y otro sustrato a través del líquido del reactor (que es el contaminante a tratar)(Martin and Nerenberg, 2012) . La eficiencia de utilización de gases de este proceso puede alcanzar el 100% si la presión de gas en el lumen de la fibra está bien controlada (Tang et al., 2013). El tiempo de retención celular (*Sludge Retention Time*, SRT) y pH son las otras variables que son importantes en la diversidad de microorganismos que tenga un reactor (Rene and Lewis, 2017).

Los MBfR presentan la ventaja frente a los sistemas de aireación tradicionales, de lograr una mayor eficiencia en la transferencia de gases y mayor concentración de biomasa (Martin and Nerenberg, 2012). Se logra una estratificación del biofilm, lo que crea un ambiente propicio para una comunidad de microorganismos con distintos requerimientos, con una diversidad metabólica que crea resistencia a fluctuaciones en las condiciones ambientales. La membrana permite que el biofilm reciba un sustrato en cada superficie. (Lin et al., 2018). Estos factores ayudan a lograr altas eficiencias en reducción u oxidación (Sun et al., 2017). Por ejemplo el 89% del sulfato oxidado fue recuperado como azufre elemental S^0 , con un manejo fino del oxígeno disponible (Jiang et al., 2019), mientras que hasta un 90% de sulfuro fue recuperado como azufre elemental (Cai et al., 2017) con una carga de sulfuro de 4 kg/m³día. En (Nerenberg and Rittmann, 2018) se mencionan los rendimientos en cuanto a eliminación de distintos contaminantes, desde un 29% para el clorato hasta el 95% para el bromato.

En un MBfR reductor de sulfato con H₂ como donante de electrones suministrado por la membrana las SRB como los géneros *Desulfobacter*, *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus* y *Desulfomicrobium* (Ontiveros Valencia et al., 2018) necesitan además una fuente de carbono, suministrada como CO₂ también a través de la membrana y una fuente de nitrógeno a partir de un sustrato (Maiti et al., 2019). Se sabe que las SRB toleran un pH de entre 6 y 9, y su crecimiento óptimo se da entre pH de 6.2 y 7.5 (Shahsavari et al., 2019) así que un sistema

que permita ajustar el pH es recomendable, el ORP debe mantenerse entre -100 mV y -500mV. El H₂ se elige en vez de un sustrato orgánico por tener las ventajas de no producir residuos tóxicos, que requerirán un tratamiento posterior (Xia et al., 2015), se suministra de acuerdo a la demanda gracias a la membrana, el gas es uno de los más baratos sustratos donantes de electrones y es fácil de conseguir o fabricar (por electrólisis o con gas natural)(Suarez et al., 2020). Si bien el H₂ es poco soluble en agua (algo que enlentece la cinética en los procesos microbianos), se suministra por difusión desde el lumen de la membrana no porosa (Rittmann, 2018). Las SRB tienen una baja razón de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}=0.29/\text{día}$) y son metabólicamente diversas, pueden estar presentes aún sin haber reducción de SO₄²⁻ por poder usar otros aceptores de electrones y generalmente en biotecnología su presencia es indeseada por producir H₂S(Ontiveros-valencia et al., 2016). Existen consorcios de bacterias acetogénicas dentro de los reactores en cooperación con las SRB. La reducción de sulfato agota las fuentes de electrones externas y aumentan el pH (Tang et al., 2013). El proceso se explica mediante la siguiente ecuación:



$$\Delta G^{o'} = -151.90 \text{ kJ/mol SO}_4^{2-} \quad (-19.0 \text{ kJ/e- eq})$$

Se debe remarcar que para reducir un mol de sulfato se necesitan 4 moles de hidrógeno. El HS⁻ es una forma de sulfuro dada por la especiación del sulfuro al pH que trabajaron los reactores, y es una forma menos nociva que evita la inhibición de las SRB y no se volatiliza como la forma H₂S (Rene and Lewis, 2017; Schwarz et al., 2020).

Existe una limitación en este tipo de reactores. Shahsavari et al. (2019) detalla en su investigación que las SBR son comúnmente utilizadas también para eliminar metales pesados mediante su precipitación como sulfuros metálicos, con este sulfuro proviniendo de la reducción biológica del sulfato. Los sulfuros metálicos tienen muy poca solubilidad y formarán precipitados dentro de los reactores. Al adherirse a las membranas, limitaran el acceso a los sustratos de los microorganismos. El fenómeno es progresivo. Las SBR limitadas en sustrato disminuirán su actividad y esto puede causar que el sulfuro producido sea insuficiente para precipitar todos los metales presentes (en el caso de la presente investigación, se trabajó con cobre). Aumentarán las concentraciones de metales disueltos en el efluente. Está comprobado que esto afecta directamente a los microorganismos, inhibiendo

su metabolismo. Para ayudar a resolver el problema, se plantea que se separe lo más posible la zona de precipitación de sulfuros metálicos de las zona donde los microorganismos se asienten (Shahsavari et al., 2019).

El O₂-MBfR es un reactor oxidante, donde las SOB van a oxidar el sulfuro. Algunas SOB (*Sulfur Oxidizing Bacteria*) son quimiolitótrofas y usan el oxígeno como aceptor de electrones que se liberan durante la oxidación de sulfuros. Algunos géneros como *Thiobacillus*, *Thiothrix*, *Sulfolobus*, *Beggiatoa* y *Thermotrix* son preferidos para la oxidación biológica de sulfuro por tener pocos requerimientos nutricionales, buen rendimiento y afinidad por el sulfuro y oxígeno muy alto. Se sabe que acumulan S⁰ en forma de gránulos dentro de sus células (Celis-García et al., 2008; Haosagul et al., 2020; Pokorna et al., 2015). Sin embargo, también se puede encontrar actividad de heterótrofas como *Desulfobacter* y *Desulfuromonas*, que usan SO₄²⁻ y S⁰ como aceptores de electrones (Jiang et al., 2019). El género *Sulfurospirillum*, asociado a la oxidación de sulfuro a S⁰ también se ha encontrado en varios reactores (Wang et al., 2015). Los procesos se explican mediante las ecuaciones:



$$\Delta G^{\circ} = -209.4 \text{ kJ/reaction} \quad (-104.7 \text{ kJ/e- eq})$$



$$\Delta G^{\circ} = -587.1 \text{ kJ/reaction} \quad (-97.9 \text{ kJ/e- eq})$$



$$\Delta G^{\circ} = -798.2 \text{ kJ/reaction} \quad (-99.8 \text{ kJ/e- eq})$$

Los niveles energéticos de cada ecuación comparados indican que la oxidación completa a sulfato es la más conveniente para los microorganismos. Cabe mencionar que la oxidación química del sulfuro puede ser beneficiosa para los microorganismos al bajar las concentraciones de éste compuesto a niveles tolerables para el metabolismo (Pokorna and Zabranska, 2015). Será inevitable que parte del sulfuro se oxide completamente a sulfato, esto pasa a alrededor del 5%-10% del sulfuro y puede deberse a la competencia de la oxidación abiótica, con cinéticas mucha más rápidas (Janssen et al., 2008). Si interesa obtener azufre elemental mediante (2) se necesita mantener un estado de escasez constante de

oxígeno (Sahinkaya et al., 2011; Sun et al., 2017), lo que se conoce como microaireación, para lo cual las membranas son un modo ideal (Valdés et al., 2020). Los trabajos de (Jiang et al., 2019) indican que existe una razón molar de 0.6-1.0 entre oxígeno y sulfuro para que sea posible la oxidación incompleta. El S^0 producido biológicamente por SOB forma partículas adheridas al exterior de las células, de propiedades hidrofílicas. Se ha observado este azufre elemental en forma de gránulos en la superficie celular de algunas SOB (Vannini et al., 2008). Otro destino de este azufre es que quede retenido al interior de las SOB, haciendo su extracción más difícil (Li et al., 2020). Se puede acumular también adhiriéndose a superficies, lo que puede representar un riesgo por el peso y espacio que ocupa (Donoso-bravo et al., 2018). Se ha planteado también la formación de polisulfuros. En el caso de un O_2 -MBfR se formarían por una reacción entre sulfuro y azufre elemental. Se ha investigado la capacidad del polisulfuro de aumentar la disponibilidad del azufre (que tiene muy baja solubilidad en agua, $5\mu\text{g/l}$ a 25°C) para microorganismos productores de sulfuro. Esto aumentaría el sulfuro producido y se usaría para precipitar metales (Zhang et al., 2018). El azufre elemental tiene valor como fertilizante, en procesos de biolixiviación y producción de ácido sulfúrico (Cai et al., 2017; Costa et al., 2020; Fuentes-lara et al., 2019; Marais et al., 2020).

2.3 Conclusión

La configuración en serie de un H_2 -MBfR y un O_2 -MBfR es la óptima para lograr tanto una remoción de sulfato eficaz y eficiente, como la oxidación de H_2S y producción de S^0 . Se tiene experiencia previa con los MBfR y se ha demostrado su aplicabilidad en tratamiento de aguas de proceso minero. La inclusión de dos etapas separadas para su remediación es aún objeto de investigación y se puede considerar novedosa.

CAPITULO 3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Introducción

En este capítulo se describe la metodología seguida para la realización de esta tesis. Se explica la configuración de los reactores, las etapas del experimento, las características del afluente de alimentación (agua de proceso minero) y los parámetros medidos para determinar el desempeño del sistema. Se describen también los análisis hechos al terminar el experimento.

3.2 Configuración experimental

El H₂-MBfR y el O₂-MBfR tenían un cuerpo de vidrio de 40 cm de largo y 9 mm de diámetro, con un volumen de lecho vacío de 25 ml. Las conexiones entre los dos reactores, de las recirculaciones de ambos reactores (implementadas para asegurar mezcla completa), del afluente y el efluente se hicieron con tuberías de vitón Masterflex Cole Parmer N° 16, pues este material es relativamente impermeable a los gases. Las conexiones entre tuberías se hicieron con fittings Cole Parmer de plástico. Se ilustra la configuración del experimento en la figura 3.1.

Para el H₂-MBfR las membranas implementadas fueron polydimetilsiloxano OXYMEM no porosas de 460 μm de diámetro exterior, siendo 17 unidades instaladas, con un total de área instalada de $9.83 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ y un área específica del módulo (área de membrana/volumen de lecho vacío) de 393 m⁻¹. Para el O₂-MBfR se implementaron membranas G.E. de polymethylpentene no poroso, de 80 μm de diámetro exterior. Se instalaron 4 hebras de 48 fibras cada una, con un total de $1.93 \times 10^{-2} \text{ m}^2$ de membrana y un área específica de 772 m⁻¹. La cantidad de hebras de membranas en cada reactor fueron las máximas que pudieron ser físicamente instaladas dentro de cada apertura de éstos. Las membranas fueron elegidas por su alta permeabilidad a los gases que cada una provee, y porque ya se ha probado su idoneidad en usos comerciales.

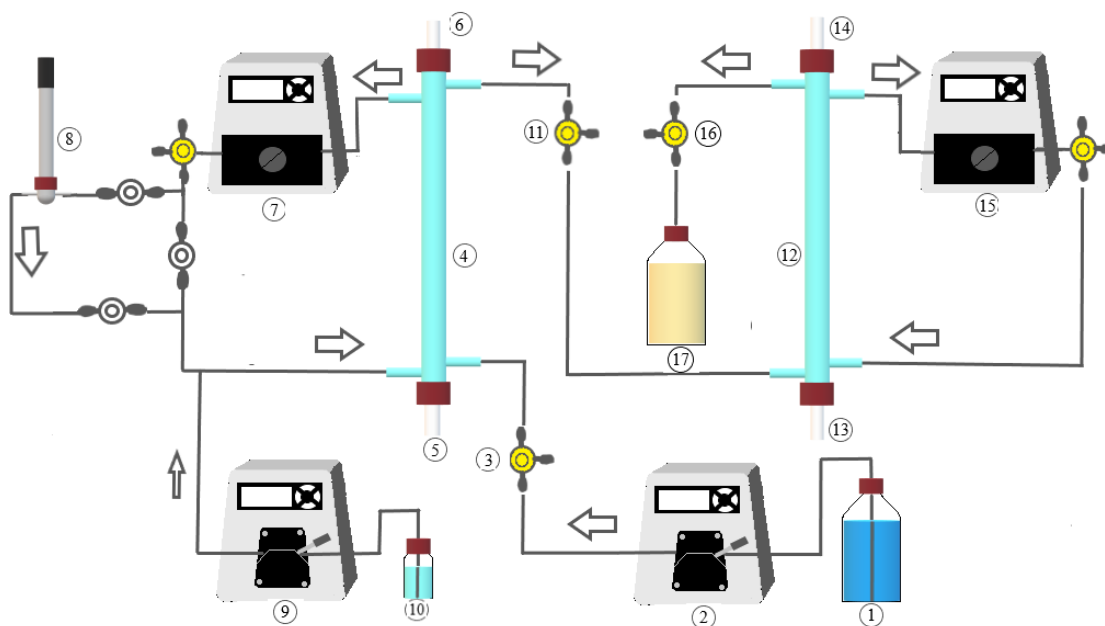


Figura 3.1 Configuración MBfR implementada para el experimento. 1 :Botella de afluente; 2 :Bomba de alimentación; 3 :Punto de muestreo alimentación; 4 :H₂-MBfR; 5 :Punto de suministro de H₂/CO₂; 6 : Punto de venteo de H₂/CO₂; 7 :Bomba de recirculación; 8 :Electrodo y celda de flujo; 9 :Bomba de inyección de ácido; 10 :Botella de solución de HCL; 11 :Punto de muestreo efluente del H₂-MBfR; 12 : O₂-MBfR; 13 :Punto de suministro de oxígeno; 14 :Punto de venteo de oxígeno; 15 :Bomba de recirculación; 16 :Punto de muestreo efluente del O₂-MBfR; 17 :Botella de efluente.

Para el afluente y las recirculaciones se usaron bombas peristálticas Cole Parmer Masterflex L/S. En cuanto a los cabezales de bomba, se usó un modelo Masterflex L/S Easy Load II con tubos de vitón Masterflex Cole Parmer N° 13 para el afluente.

Se utilizaron dos tipos de válvula, una de tres vías (en amarillo en la Fig. 3.1), dos de las cuales permiten el paso del flujo dentro del sistema, conectando dos tuberías. La tercera vía abre el sistema a la atmósfera y permite operaciones como el muestreo y la extracción del aire que entre al sistema. La otra válvula es de dos vías, que se limita a bloquear el flujo (en blanco en la Fig. 3.1). La configuración de tres válvulas de dos vías en la recirculación, en conjunto con el sistema de control de pH, permite cortar completamente la recirculación.

La mezcla de gases suministrada al H₂-MBfR es de 95% H₂ y 5% CO₂. Para el O₂-MBfR se usó aire comprimido hasta el día 136, cuando se cambia por oxígeno. Se habilitó la recirculación en ambos reactores para asegurar mezcla completa. El extremo de las fibras contrario a la alimentación fue cerrado en ambos reactores, en el caso del H₂-MBfR, para evitar la pérdida de H₂ y la volatilización del H₂S, y en el caso del O₂-MBfR, para evitar la pérdida de O₂ y la volatilización de H₂S.

Se implementó un sistema de control de pH para ambos reactores. Primero se implementó en el H₂-MBfR. El sistema consistió en una celda de flujo de vidrio de 800 µL para electrodo de pH, de Cole Parmer, específico para esa celda de flujo, modelo sellado, double junction de Cole Parmer, y el BNC de Cole Parmer para conectar el electrodo al controlador de pH modelo Cole Parmer 300 pH/ORP/Temperature 1-8 DIN. Se conectó el controlador a una bomba peristáltica Cole Parmer Masterflex L/S Digital de 100 RPM, que suministra una solución de HCL al 3% p/p. Usar una solución más diluida significaría administrar un caudal extra al sistema que representaría un porcentaje importante del caudal de entrada, mientras que suministrar una solución más concentrada significaría un riesgo de inhibición bacteriana hasta que se produce la mezcla. Un sistema análogo de control de pH se implementó en el O₂-MBfR el día 203 de operación.

El O₂-MBfR se conecta al efluente del H₂-MBfR y se deja que se colonice naturalmente. Se deja con 3 psi de presión de aire. Después de 10 días monitoreando pH, ORP y niveles de sulfato, se empieza con las mediciones.

3.3 Caracterización del afluente

La alimentación consistió en agua de proceso minero de una mina de cobre de la zona central de Chile, extraída desde un relave de un circuito de flotación de sulfuros de cobre. Se caracteriza por altas concentraciones de sulfato, pues la flotación de sulfuro de cobre utiliza ácido sulfúrico y cal como reactantes. Este agua de proceso contiene trazas de otros metales (Al, Co, Cu, Fe, Zn). Antes de ser utilizada se aireó por dos días para permitir el equilibrio con el CO₂ atmosférico, lo que bajó el pH de 11 a 7.8. El calcio contenido en este afluente puede precipitar dentro de los reactores si el pH no se controla. Para prevenir esto se

implementa el control automático de pH. De otro modo el calcio será irrelevante puesto que no es especialmente nocivo para los microorganismos. La precipitación de minerales sólidos dentro del *biofilm* y en la interfase puede impedir la difusión de H_2 y otros sustratos, y la calcificación de fibras las hace inflexibles y frágiles (Xia et al., 2015).

Para proveer nutrientes y componentes esenciales el agua de proceso fue enriquecida con macronutrientes (23 mg NH_4Cl y 11 mg de $KH_2 PO_4$ por litro) con 2 ml de solución de micronutrientes y con 2 ml de solución de selenio-tungsteno. La solución de micronutrientes contenía (por litro) 1.5 g $FeCl_2 \cdot 4H_2O$, 70 mg $ZnCl_2$, 100 mg $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 6 mg H_3BO_3 , 190 mg $CoCl_2 \cdot 6H_2O$, 2 mg $CuCl_2 \cdot 2H_2O$, 24 mg $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, 36 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ y 10 ml de una solución al 25% de HCL. La solución de selenio-tungsteno contenía por litro 500 mg NaOH, 4 mg $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$ y 3 mg Na_2SeO_3 . Antes de inyectar cada preparado se burbujeó con gas de N_2 para evitar cualquier entrada de O_2 al reactor.

Tabla 3.1 Caracterización del agua de proceso minero.

Parámetro	Unidad	Valor	Parámetro	Unidad	Valor
Alcalinidad	meq/l	0.59	Magnesio	μM	19
Aluminio total	μM	13	Nitrato	μM	0.13
Boro	μM	9.9	Potasio	μM	2
Calcio	μM	16	Silicio	μM	0.17
Cloruro	μM	1.7	Sodio	μM	2.9
Cobalto	μM	26	Sulfato	μM	16
Cobre	μM	2	Zinc	μM	0.28
Fluoruro	μM	51	Conductividad	mS/cm	2.2
Fosfato	μM	<0.42	pH (equilibrio atmosférico)	-	7.8
Hierro	μM	0.72			

3.4 Inóculo y puesta en marcha

El inóculo para el H_2 -MBfR consistió en 0.125 ml de glicerol, 68 mg de sulfato de sodio, 12.5 ml de cultivo reductor (medio DSMZ 63) y 12.5 ml de líquido extraído de un reactor reductor de sulfato MBfR en operación. Se ajustó pH a 8,08 con 140 μl de soda cáustica 1M.

El H₂-MBfR quedó sólo con recirculación y 1.5 psi de presión de gases hasta el cuarto día, cuando empezó el sistema en serie.

3.5 Condiciones operacionales

Las condiciones de operación están en la Tabla 4.1. Las fases del experimento se fijaron según los valores crecientes de la carga de sulfato superficial (*Surface Loading Rate*, SLR) de SO₄²⁻. Con un caudal efluente dado (en relación directa con la SLR calculada) se buscaba llegar a un estado estacionario en el sistema. Se ajustaban las presiones de gases de ambos reactores hasta que se detectaba un estancamiento en los valores de reducción de sulfato en el caso del H₂-MBfR y una disminución de las concentraciones de sulfato en el caso del O₂-MBfR. Cuando se alcanzaba un estado estacionario, evaluando a partir de las concentraciones de sulfato efluentes, se disminuían las presiones hasta que la remoción se veía afectada.

La explicación es que el sulfato afluente debe ser el limitante para cambiar de fase a un mayor caudal. Para esto hay que encontrar la menor presión de hidrógeno donde la reducción se mantenga estable, esto también es para evitar lo más posible que el H₂ que sobre pase al O₂-MBfR y provoque la proliferación de microorganismos no deseados, como el género *Sulfurospirillum*.

Para el O₂-MBfR, el mismo método se sigue para el oxígeno. Se busca la menor presión para que el H₂S sea el factor limitante. Aquí el balance de masa no se puede completar con mediciones, pues el azufre correspondiente al azufre elemental no se mide. Para saber que hay exceso de oxígeno se mide el sulfato, pues en el caso mencionado hay producción de sulfato. En teoría si el sulfato efluente es mayor que el afluente existe un exceso, En la práctica siempre habrá formación de sulfato por que los procesos químicos tienen una velocidad mayor que los biológicos así que si este sulfato en exceso se mantiene estable, es cuando se ha alcanzado la presión mínima de oxígeno buscada. Se debe observar también del sulfato efluente que esté por debajo de la norma.

Luego de alcanzado un nuevo estado estacionario, se aumentará el caudal afluente, y con esto la carga de sulfato, disminuyendo el tiempo de residencia hidráulico. Cada disminución exitosa de este periodo de tiempo significa un aumento en la eficiencia del proceso.

3.6 Sistema de control de pH

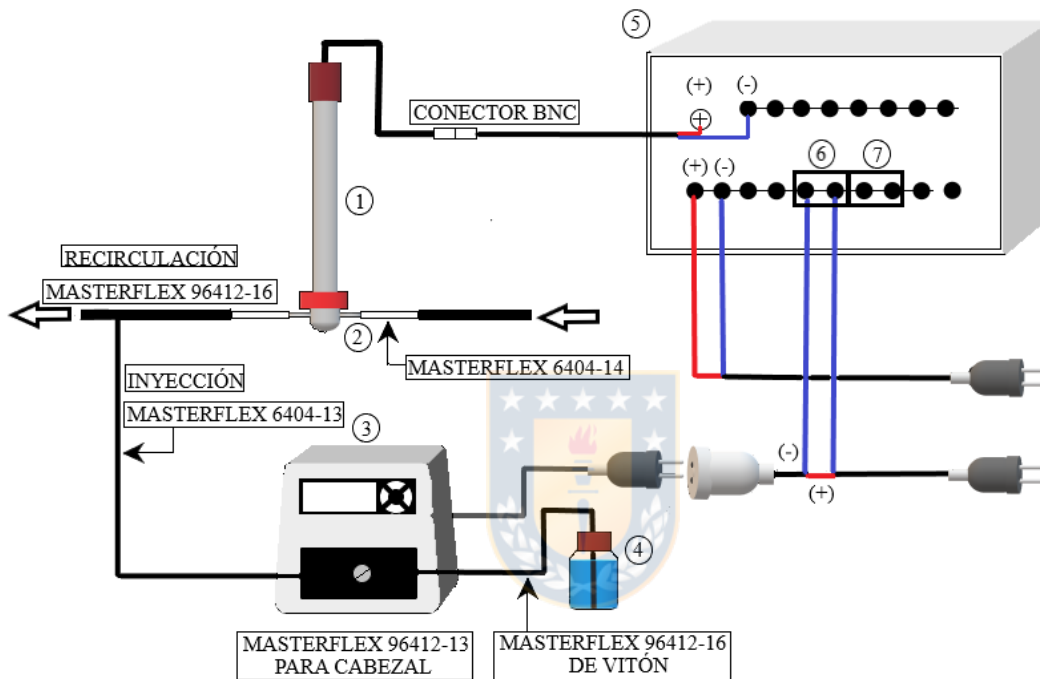


Figura 3.2 Configuración del sistema de control de pH: 1: Electrodo; 2: Celda de flujo de vidrio; 3: Bomba de inyección de ácido; 4: Botella de solución de HCL; 5: controlador de pH, vista posterior; 6: Relé utilizado en H₂-MBfR; 7: Relé utilizado en O₂-MBfR. Nótese la dirección especificada de la recirculación. Los tipos de tubería utilizados se especifican en la figura.

Consistió en cuatro elementos principales, el controlador Cole Parmer pH/ORP 300 pH/ORP Controller, la celda de flujo de vidrio de 800 ul de Cole Parmer junto con su electrodo, la bomba peristáltica Cole Parmer Masterflex L/S digital de 100 RPM, y la solución de HCL, que tuvo varias concentraciones a medida que se ajustaba a las necesidades del experimento, quedando al final en 1% p/p. El método de agregar una solución de HCL se basó en el trabajo de Wolthoorn (Schröder-wolthoorn et al., 2008), donde usó una solución de HCL al 3% p/p.

El pH se mantuvo en un valor de 8.2. Si bien este no es el pH óptimo de crecimiento de las SBR, es un pH tolerable y se eligió para que el sulfuro adoptara una forma menos nociva (según la especiación del sulfuro).

La Figura 3.2 es un esquema de la instalación del controlador. Se destaca la importancia de que la dirección de la recirculación debe ser tal que la inyección quede aguas abajo de la celda con su electrodo. La dirección de la recirculación debería, además, permitir detectar la presencia de burbujas dentro del sistema, sin afectar demasiado las condiciones internas. Esto significa que las burbujas no deben acumularse dentro del reactor y vaciarlo de líquido. Esto se logra haciendo que las burbujas viajen por el sistema en vez de estancarse, con una recirculación en dirección en contra de las agujas del reloj, según la Fig. 3.1. O sea, la recirculación sale por la parte superior del reactor y entra por la parte inferior. Si se detectan burbujas dentro del reactor, se deben sacar del sistema. Esto se logra dejando que las burbujas se acumulen en la parte superior del reactor, invirtiendo el sentido de la recirculación (esto normalmente se evita, pero para efectos del caso, se deben dejar en un solo lugar, esto es sólo momentáneo) y luego parando la alimentación y la recirculación. Luego la válvula de tres vías que va hacia la recirculación se cierra y se deja abierta hacia la atmósfera (debe ubicarse de modo que al hacer esto no se vacíe el reactor por gravedad, o sea, sobre el nivel del agua), la bomba de alimentación se activa con aceleración de modo que empuje las burbujas hacia la salida de la válvula. Una vez que salgan se para la bomba de alimentación, la válvula se abre hacia la recirculación y se restaura el sistema como funciona normalmente.

Un punto importante es que la celda de flujo es un sitio crítico donde es más probable que haya una filtración de oxígeno hacia dentro del sistema. La bomba de recirculación debe ubicarse aguas arriba de la celda y de la inyección de ácido, tal como muestra el esquema de la Fig. 3.1. En caso contrario, se crea un vacío dentro de la celda de flujo que puede provocar una filtración de oxígeno por la presión negativa con respecto a la atmósfera que se genera por la succión.

3.7 Análisis químicos

Las muestras para análisis fueron extraídas tres veces por semana. Cada muestreo consistía en extraer afluente, efluente del H₂-MBfR, y efluente del O₂-MBfR. Se midió SO₄²⁻, S²⁻ total, pH, ORP y alcalinidad. Como el S²⁻ es extremadamente volátil, es lo primero que se medía, y por eso el método de toma de muestras se diseñó para evitar lo más posible las pérdidas. Se extraía muestra con una jeringa de 10 ml. Inmediatamente 5 ml se traspasaban a medir por electrodos pH y ORP. Los otros 5 mL se traspasaban a un tubo eppendorf tapado, desde donde se extraían las muestras para medir H₂S. Posteriormente se extraía muestra para SO₄²⁻ desde el mismo tubo eppendorf.

Para medir pH, además del control de pH, se usa un medidor de pH en las muestras, modelo HQ40d (HACH). El ORP se midió con un electrodo Orion 370m de Thermo Scientific. El S²⁻ total se midió con el método de azul de metileno (rango de detección 5-800 ug/L equivalente a SM4500-S2-D (APHA) 2005) de HACH. El SO₄²⁻ fue medido con el método Sulfaver 4500 E de HACH (rango de detección 2-70 mg/L equivalente a SM4500-E APHA, (2005)).

3.8 Estimación de la tasa de carga superficial, cálculo de flujos (J) y producción de S⁰

La tasa de carga superficial (*Sulfate Loading Rate*, SLR) es la carga de SO₄²⁻ o S²⁻ total en peso que se suministra por unidad de área de membrana y por unidad de tiempo (g S/m²-d) y se calcula de la siguiente manera:

$$SLR = Q * C^{in} / A_{BF} \quad (3.1)$$

Siendo Q el caudal de entrada al reactor (L/d), Cⁱⁿ es la concentración afluente de SO₄²⁻ o S²⁻ total (g S/m³) y A_{BF} es el área de membrana instalada en cada reactor (m²). Los respectivos flujos máxicos de remoción/producción superficial (J, g S/m²-d) fueron calculados como:

$$J = Q * (C^{in} - C^{out}) / A_{BF} \quad (3.2)$$

Donde C^{out} es la concentración efluente de SO_4^{2-} o S^{2-} total (g S/m^3). En el sistema en serie se calculaba una SLR para el SO_4^{2-} afluente, y una SLR para el S^{2-} afluente hacia el O_2 -MBfR, que dependía directamente del S^{2-} producido en el H_2 -MBfR.

Una parte del sulfuro que entre al O_2 -MBfR se oxida a sulfato, generando un flujo negativo de sulfato en este reactor.

La formación de azufre elemental es difícil de monitorear mediante una medición directa en los reactores, aunque se sabe que es producido por microorganismos, en forma de gránulos que tienen propiedades hidrofílicas. Para aproximarse a la cantidad de azufre elemental se hace un balance de masa, similar al método usado en (Camiloti et al., 2019), se puede considerar como la porción de S^{2-} que entra al O_2 -MBfR y que no es oxidado de vuelta a SO_4^{2-} , y se puede calcular como:

$$J_{\text{S}_0} = \left(Q / A_{\text{BF}} \right) \cdot \left[\left(C_{\text{S}^{2-}}^{\text{in}} - C_{\text{S}^{2-}}^{\text{out}} \right) + \left(\left(C_{\text{SO}_4^{2-}}^{\text{in}} - C_{\text{SO}_4^{2-}}^{\text{out}} \right) \right) \right] \quad (3.3)$$

Donde A_{BF} es el área (m^2) de membrana implementada en el O_2 -MBfR.

Para los flujos de H_2 y O_2 se usó el flujo de SO_4^{2-} (J_{sulfato}) y el flujo de azufre elemental (J_{S_0}) calculados con la estequiometría de 2.1 para el H_2 y de las ecuaciones 2.2 y 2.4 para el O_2 .

$$J_{\text{H}_2} = 4 * J_{\text{SO}_4^{2-}} * \frac{2}{32} \quad (3.4)$$

$$J_{\text{O}_2} = 0.5 * J_{\text{S}_0} - 2 * J_{\text{SO}_4^{2-}} \quad (3.5)$$

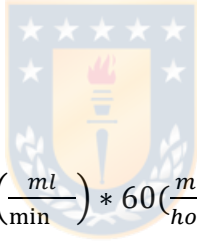
3.9 Alcalinidad y modelo algebraico de pH

Se midió alcalinidad total con el kit HACH AL-DT con un titulador digital y un cartucho de ácido sulfúrico de baja concentración (0.16N). Los resultados están expresados en mg/l como CaCO_3 . También se calculó una alcalinidad teórica asociada a las concentraciones de sulfuro del H_2 -MBfR y del O_2 -MBfR. La diferencia entre la alcalinidad total medida y la teórica calculada correspondería a la alcalinidad derivada del carbonato.

La forma de calcular la alcalinidad como mg/l de CaCO₃ a partir de la concentración de sulfuro como mg S/l fue:

$$ALK_S \left(\frac{mg \text{ CaCO}_3}{l} \right) = Conc. S^{2-} \left(\frac{mgS}{l} \right) * \frac{33}{32} \left(\frac{\frac{mgHS^-}{mol}}{\frac{mgS}{mol}} \right) * 0.9 * \frac{50}{33} \left(\frac{\frac{mgCaCO_3}{mol}}{\frac{mgHS^-}{mol}} \right) \quad (3.6)$$

Teniendo las concentraciones p/p de la solución ácida y los caudales aproximados de inyección de la solución de control de pH se pueden hacer varios cálculos. Al comienzo el caudal se medía a partir de los plazos en los que se debía renovar una cantidad determinada de solución. Pero esto resultó ser inexacto para la escala del experimento. Otro método utilizado fue pesar cada cierto tiempo las botellas de solución. Se obtenía un peso aproximado de la solución que se utilizó en un intervalo de tiempo. Se pueden obtener caudales en unidades de volumen por unidad de tiempo a partir del peso. Teniendo los caudales y las concentraciones p/p, y sabiendo las densidades del agua y del HCl (1.49 g/ml) se puede obtener la concentración de la solución en g HCl/ml. Luego podemos calcular el consumo de HCl por día:



$$HCL \left(\frac{g}{día} \right) = \frac{Conc.solucion \left(\frac{g}{ml} \right)}{100} * Q \text{ sol} \left(\frac{ml}{min} \right) * 60 \left(\frac{min}{hora} \right) * 24 \left(\frac{hora}{día} \right) \quad (3.7)$$

Aunque es necesario advertir que este método tiene el fallo de que el peso de las botellas usadas es demasiado grande comparado con el peso de la solución que se debe medir. Al igual que el anterior método descrito, no es el más adecuado para la escala del experimento, sobre todo si se usan recipientes de vidrio pesados.

3.10 Análisis microbiológico

Muestras de la biopelícula y del efluente de cada reactor fueron tomadas al final de los experimentos para el estudio de las comunidades microbianas. Las membranas conectadas a cada reactor fueron removidas y divididas en tres partes de igual longitud para extraer ADN, como fue descrito en Suarez et al. (2020). En adición, biomasa suspendida de los efluentes fue procesada para extraer ADN al final del experimento. La caracterización de la comunidad

microbiana fue llevada a cabo usando Illumina MiSeq platform (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) y realizada en Genoma Mayor, Santiago Chile. La región V4 del gen 16S rRNA fue amplificado usando los primers 515F/806R. Para el procesamiento de la data, fue realizado un DADA2 v.1.10.0, incluyendo filtro de calidad y estimación de errores.

3.11 Conclusiones

Se han explicado los métodos para medir los parámetros importantes dentro del estudio. Si bien falta por refinarse el método para medir y calcular la demanda de HCl, estas mediciones pueden ser muy útiles para tener un modelo de pH teórico que se desarrollará paralelamente en otro estudio.



CAPITULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Introducción

En esta sección se exponen los resultados de cada etapa del experimento, las eficiencias, algunos detalles de interés, los fenómenos observados y la comparación de estos resultados con los de otros estudios pertinentes.

4.2 Desempeño del H₂-MBfR

Los resultados más relevantes son de la fase I,V donde la SLR fue la máxima durante el experimento. El 95% de la SLR fue reducida (9.975 g S/m²-d) y un 82% de ésta última se transformó en sulfuro (8.18 g S/m²-d). En (Schwarz et al., 2020) se logra un 98% y 97% (SLR de 2.1 g S/m²-d) y 65% y 61% (SLR de 4.2 g S/m²-d) respectivamente. En (Suarez et al., 2020) se logra una remoción del 95% de sulfato a una SLR de 1.9 g S/m²-d.

. Los primeros 80 días del experimento se consideran preliminares, con resultados que no se graficarán, pues no permiten sacar conclusiones por la inestabilidad de las condiciones internas de los reactores. Se trata de una etapa de calibración de los aparatos y definición de métodos de control y muestreo. Se le llamará la etapa 0.

Durante la etapa 0 el resultado promedio en la remoción de sulfato fue de 29 % y durante el tiempo que duró, la remoción fue aumentando hasta llegar a 61% al final de la fase (736.73 g S/m³-d). La Fig. 4.1 muestra las concentraciones de sulfato (SO₄²⁻) y de sulfuro (S²⁻) del H₂-MBfR. La carga de sulfato afluyente (2.3 g S/m²-d) se mantuvo constante y la presión de gases H₂-CO₂ no varió de su valor inicial (3 psi) hasta el día 52, donde se aumenta a 4 psi. Esto para aumentar la remoción de sulfato que se había estancado. La Fig. 4.1 muestra la variación de presiones durante el experimento. Durante la etapa 0 se varió la presión de la mezcla H₂-CO₂ para llegar a un estado estacionario donde la remoción de sulfato fuera la óptima para esa carga. En esta primera etapa se empezó a experimentar con el sistema de control de pH que se usaría por el resto del experimento. Al final se decidió por el sistema automático explicado en la sección anterior.

Durante la fase I (días 0-26 del experimento como tal) se aumentó la carga de sulfato a 4 g S/m²-d, quedando constante durante toda la fase (observar Fig. 4.1). La remoción promedio de la fase fue de 64%. Las presiones de gases debieron ajustarse de acuerdo con la eficiencia que mostraba el reactor, buscando lograr un estado estacionario y finalmente una remoción de sulfato del 86% al final de la fase (1535.23 g S/m³-d), alcanzando el óptimo para la carga de sulfato impuesta. Se observa en esta etapa que los flujos de sulfato no aumentan en la misma medida que el aumento que se dio en la SLR, sino hasta ya casi al final de la etapa (comparando los 2.3 g S/m²-d de la etapa 0 con los 4 g S/m²-d de ésta). Esto se puede observar en la Fig. 4.3, en la primera porción (FI). Se observa una partida lenta del reactor, aunque logra adaptarse ya avanzada la etapa. Esto también se puede apreciar en los niveles de SO₄²⁻ y S²⁻ en la Fig. 4.1.

Sólo avanzada la etapa I se empezó a observar una mayor eficiencia calculada. Esto coincide con la subida de presión de gases desde 8 psi a 10 psi. Este fenómeno se da cuando el factor limitante es el gas suministrado por la membrana, pues la remoción de sulfato no llega al 100%. Se observa también una bajada de pH (observar Fig. 4.2) al comienzo de la etapa, atribuida al sistema de control de pH y su calibración. El H₂-MBfR es muy sensible a los cambios de pH, La bajada de pH si bien no es letal para las SRB, provoca que el sulfuro esté en su mayoría como H₂S, que tiene un efecto tóxico para los microorganismos. Por lo tanto, los periodos en que la eficiencia y flujos de sulfato no subían consistentes con la carga de sulfato afluente SLR, también podrían explicarse por la inhibición del reactor por bajo pH.

Durante la etapa II (días 27 a 59) la carga afluente de sulfato se aumenta a 4.4 g S/m²-d. Se alcanza un estado estacionario y una producción estable de sulfuro por primera vez, con una remoción de sulfato de 100%, con una eficiencia estable y acorde al aumento de la SLR. Esto es importante para el funcionamiento de la parte oxidante del sistema. El pH y ORP se mantuvieron en niveles aceptables. Observar porción FII en las Fig 4.2 y 4.3 para el H₂-MBfR.

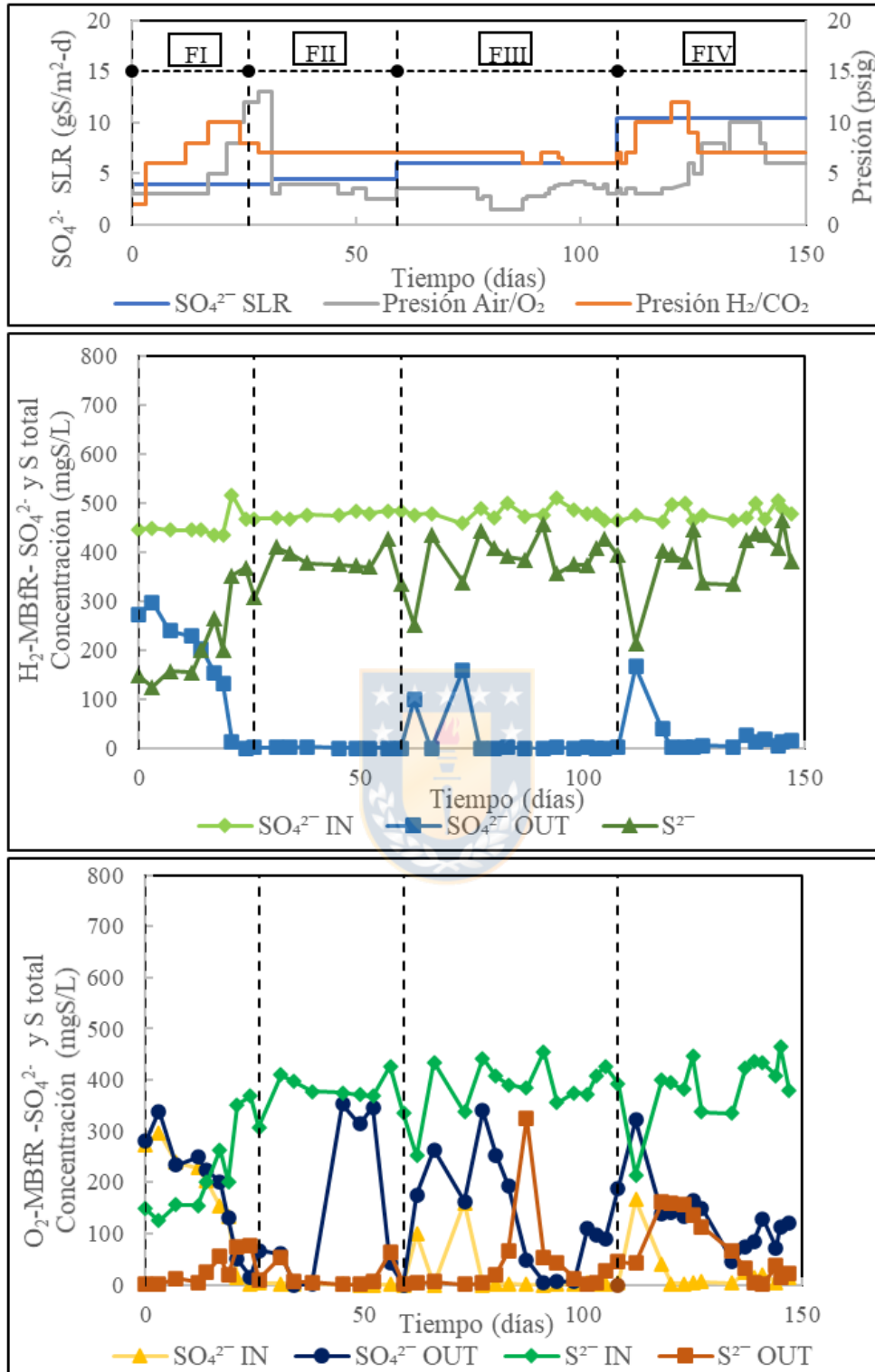


Fig. 4.1 (Arriba) Condiciones operacionales del H₂-MBfR y el O₂-MBfR; (Centro) Evolución de las concentraciones de SO_4^{2-} y S²⁻ de la etapa reductora (H₂-MBfR); y (Abajo) Evolución de las concentraciones de SO_4^{2-} y S²⁻ de la etapa oxidante (O₂-MBfR).

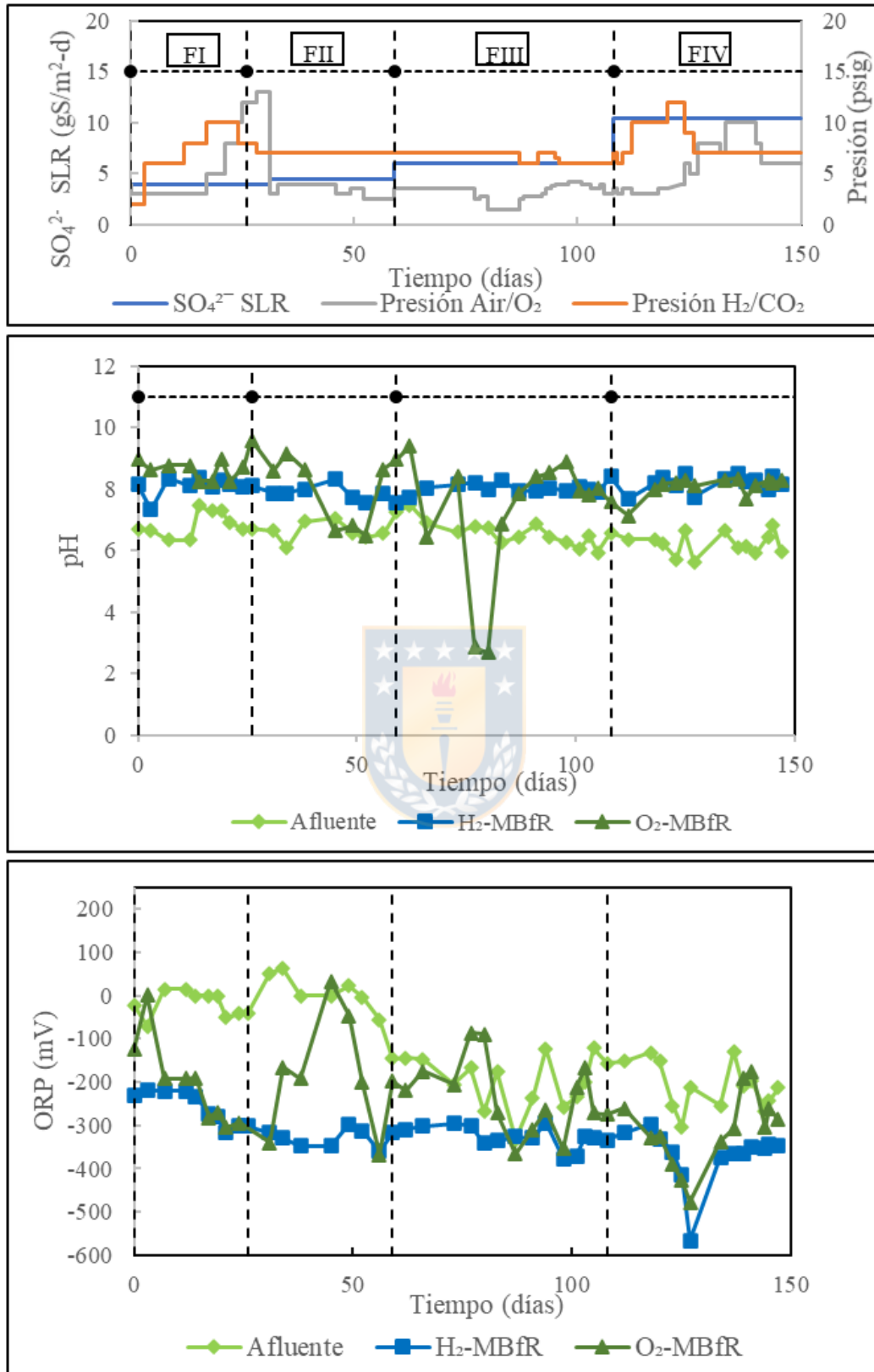


Fig. 4.2 Evolución del (centro) pH y (abajo) ORP del H₂-MBfR y O₂-MBfR.

Durante la fase III (días 60 a 108) se aumentó la SLR a $6.0 \text{ g S/m}^2\text{-d}$, con las presiones de gases relativamente constantes. El sulfato efluente aumentó su concentración levemente, hasta 160 mg/L , que está dentro de la norma. Se observó una pérdida de eficiencia, pues los flujos de sulfato no aumentan en la misma proporción que el aumento en la SLR. En la Fig. 4.3 se pueden comparar los flujos de SO_4^{2-} y S^{2-} y la etapa termina con una diferencia apreciable entre ellos, siendo los de S^{2-} menores. Los flujos de sulfato se mantienen constantes y se pasa a la siguiente etapa.

Durante la fase IV (días 109-147) se aumentó la SLR a $10.5 \text{ g S/m}^2\text{-d}$ calculada para lograr un HRT de 3 horas. En un inicio los flujos de la fase IV permanecen estables, por lo que la eficiencia se ve afectada. El día 112 se decide aumentar las presiones de $\text{H}_2\text{-CO}_2$ y desde ese punto los flujos de sulfato aumentan y la eficiencia se recupera.

Durante la fase final del experimento se alcanzaron flujos de sulfato de hasta $9.93 \text{ g S/m}^2\text{-d}$, lo que representa un avance muy importante, en relación a anteriores resultados de investigaciones ($2.74 \text{ g S/m}^2\text{-d}$ (Schwarz et al., 2020)). La remoción de sulfato (el 95% de la carga de $10.5 \text{ g S/m}^2\text{-día}$) fue de $9.98 \text{ g S/m}^2\text{-día}$. (Suarez et al., 2020) reporta una remoción de su $\text{H}_2\text{-MBfR}$ de hasta $0.57 \text{ g S/m}^2\text{-día}$ ($1.72 \text{ g SO}_4^{2-}/\text{m}^2\text{-día}$) y los trabajos de Ontiveros Valencia reportan remociones de 1.70 y $1.1 \text{ g S/m}^2\text{-día}$ ($5.1\text{-}3.3 \text{ g SO}_4^{2-}/\text{m}^2\text{-día}$) en (Ontiveros-valencia et al., 2012) y (Ontiveros Valencia et al., 2018) respectivamente. El experimento de Oztemur (Oztemur et al., 2020) reporta que consiguió un promedio de 97% de remoción de sulfato con una concentración afluente de 2000 mg/L , y un flujo de $9.1 \text{ l/m}^2\text{-h}$, y una concentración de sulfuro de $601.4 \pm 32 \text{ mg/L}$, con 6 horas de TRH, con un *Fluidized Bed Membrane Reactor* (FBMR).

4.3 Desempeño del $\text{O}_2\text{-MBfR}$

Los resultados más relevantes fueron de la etapa IV (SLR de $10.5 \text{ g S/m}^2\text{-d}$), con el módulo logrando sus mejores resultados en cuanto a rendimiento por día, con un 81% del sulfuro afluente oxidado ($6.63 \text{ g S/m}^2\text{-d}$ de $8.18 \text{ g S/m}^2\text{-d}$ de sulfuro afluente, calculado como el 82% de la SLR reducida, que a su vez es del 95% de la SLR de $10.5 \text{ g S/m}^2\text{-d}$). De este sulfuro oxidado, el 61% se transformó en S^0 ($4.04 \text{ g S/m}^2\text{-d}$).

Durante la fase 0 se consiguió una remoción de S^{2-} del 84% en promedio. Se sabe que la eficacia de los procesos de este reactor depende de los niveles de sulfuro suministrados, que no fueron constantes durante esta fase debido a que el H_2 -MBfR no lo producía de manera estable. Así, los flujos de S^{2-} y la S^{2-} SLR dependen de la capacidad del H_2 -MBfR de convertir SO_4^{2-} a S^{2-} , como se aprecia en la Fig.4.1. Debido al delicado equilibrio existente entre la concentración de S_2 y la de O_2 , el control de los procesos del reactor no se logró en los primeros días, habiendo producción de sulfato a partir del sulfuro, lo que pasa en una situación de exceso de oxígeno. Un aumento de la presión de oxígeno del día 52 de esta etapa fue debido a que se observó pérdida en la capacidad de oxidación de sulfuro, observable en el aumento de concentraciones de sulfuro en los días anteriores al 52. Este mismo día en el H_2 -MfR se decidió aumentar la presión de la mezcla de gases.

Durante la fase I, el sulfuro afluente aumenta, lo que se relaciona con el cambio de SLR en el H_2 -MBfR. Se observa por primera vez un descenso en la cantidad de sulfato producido dentro del reactor, y la aparición de S^0 como producto de la oxidación de S^{2-} , derivado de los cálculos de balance de masa, y que se puedan relacionar con la oxidación de sulfuro. El día 3 se detectó un aumento en las concentraciones de sulfato, y se decidió bajar las presiones de oxígeno (por la producción de sulfato a partir del sulfuro) A partir de allí estas presiones aumentarían a medida que las concentraciones afluentes de sulfuro aumentaban avanzando en la fase. Así, los niveles efluentes de sulfato que aún mostraba el reactor se atribuyeron al sulfato afluente que venía del H_2 -MBfR. Durante la fase la eficiencia no aumentó significativamente los primeros días, pero hacia el final de la fase, la eficiencia para la oxidación de sulfuro fue de 90%. Esto significa que la producción de sulfato a partir de la oxidación completa de sulfuro no afecta demasiado, pero la conversión a azufre elemental S^0 debe aumentar aún.

El H_2 -MBfR logra una producción estable de S^{2-} durante la fase II y esto permite controlar los procesos de oxidación por primera vez usando las razones teóricas entre concentraciones de sulfuro y oxígeno dentro del reactor, durante la fase entera. Por esto, los cambios en la eficiencia de este reactor ahora pueden atribuirse al manejo que se tiene de la presión de oxígeno. Ya que hasta este momento se había suministrado aire como fuente de oxígeno, y

siendo insuficiente, se cambió a suministro de oxígeno puro, y la presión se baja a la mínima posible para empezar el ajuste. Cuando los niveles de sulfuro aumentan, producto de la falta de oxígeno para la oxidación incompleta, se sube la presión de O_2 . Los niveles de sulfato observados el día 45 hicieron reducir la presión, por un supuesto exceso de oxígeno. Así se ajusta el oxígeno en la fase. Se alcanzó un 90% de oxidación de sulfuro, y un 88% de este sulfuro convertido en azufre elemental. Este es el mejor resultado promedio obtenido en el experimento. Sin embargo, los flujos de S^0 no demostraron un aumento de la eficiencia, comparados con los flujos de sulfuro, pues este último se mantiene relativamente estable, mientras el primero tiende a descender, como se ve en la Fig. 4.3.

La fase III se caracterizó por una leve disminución en la eficiencia de oxidación del sulfuro, y aparece sulfato derivado de la oxidación. En teoría siempre habrá una porción del sulfuro que se convertirá en sulfato, pues los procesos químicos son mucho más rápidos.

La fase IV tuvo un SLR de $10.5 \text{ g S/m}^2\text{-d}$ en el H_2 -MBfR, y la HRT fue de 3 horas para ambos reactores, lo que significaba un importante cambio para el sistema. Sin embargo, también el manejo de la presión de gases del H_2 - MBfR influyó negativamente en el desempeño del O_2 -MBfR. Un exceso de H_2 pudo provocar una disminución de la eficiencia del reactor oxidante, que ya se ha asociado con la proliferación de organismos del género *Sulfurospirillum*. En la Fig. 4.2 esto se puede ver en torno al día 120. Estos organismos utilizan el H_2 disponible para sus procesos, como donante de electrones, convirtiendo el S^0 en S^{2-} , por lo que se tuvo que disminuir la presión del gas H_2 . En esta fase se logra un 81% de oxidación de sulfuro y 61% de conversión de este a azufre elemental. En comparación (Suarez et al., 2020) logra un 48% de oxidación del sulfuro y 83% de conversión a azufre, con una SLR de $4.2 \text{ g S/m}^2\text{-día}$. Para esta etapa se logra un flujo de S^0 de $2.2 \text{ g/m}^2\text{-día}$. Se puede comparar con el rendimiento en los trabajos de Valdés (Valdés et al., 2020) donde logra una conversión de sulfuro de $2.4 \text{ g/m}^2\text{-día}$, esto abarca todas las especies de azufre, pero se puede suponer que un 10%-15% es sulfato. También se usaron membranas de silicona en este experimento.

También hubo algunos ajustes en el modo para controlar el pH en este reactor, pues se instala el sistema automático de control. Una vez que se tuvo un método definitivo, se pasó a la

siguiente etapa. En la Fig.4.2 se puede observar que el pH del reactor O₂-MBfR se volvió más estable desde la instalación el día 123.

Hasta el día 120 aproximadamente se había observado una subida en los niveles de sulfuro efluente, con el sulfato subiendo sus niveles, y una disminución de la eficiencia, según los flujos de S⁰ de la Fig. 4.3. La baja de las presiones de H₂ (día 124) en el sistema podía recuperar la eficiencia en el O₂-MBfR, lo que fue evidente en los resultados del día 134, observando los flujos de azufre elemental de la Fig. 4.3. La eficiencia en la conversión de S²⁻ a S⁰ empezó a aumentar, alcanzando valores de 71% para esta etapa. Esta eficiencia puede compararse con los reactores de biomembrana en (Vannini et al., 2008), donde bajo condiciones de baja concentración de materia orgánica, y de concentraciones altas de sulfuro (entre 780 y 860 mg S/L) llegó a obtener hasta 79.1% de eficiencia, después de una etapa inicial donde hubo oxidación completa a sulfato. Esto último puede deberse tanto a la cinética propia de la oxidación química, como a una estrategia de las comunidades bacterianas para sobrevivir a bajo suministro de sulfuro, dado que la oxidación completa es más eficiente energéticamente (Li et al., 2020). Las condiciones listadas fueron también las mismas del O₂-MBfR, habiendo un alto pH, condiciones microaeróbicas, presencia de sulfuro y baja materia orgánica.

El día 132 se hizo un lavado de ácido al reactor. Se había detectado el fenómeno de “fouling”, donde hay presencia de un exceso de materia orgánica, producida por la comunidad microbiana, Esto produce una pérdida de eficiencia al interferir con el traspaso difusivo, pues bloquean las membranas, como se ha reportado también en (Valdés et al., 2020). Se llena el reactor y se recircula con una solución de HCL al 2%. Se deja aislado del H₂-MBfR, y en recirculación por 1 hora. Se hacen dos enjuagues con agua destilada de 10 minutos cada uno, del mismo modo que se hizo el lavado con ácido. Un tercer lavado con agua destilada se mantiene dentro del reactor y se conecta al sistema en serie, dejándolo, funcionando normalmente.

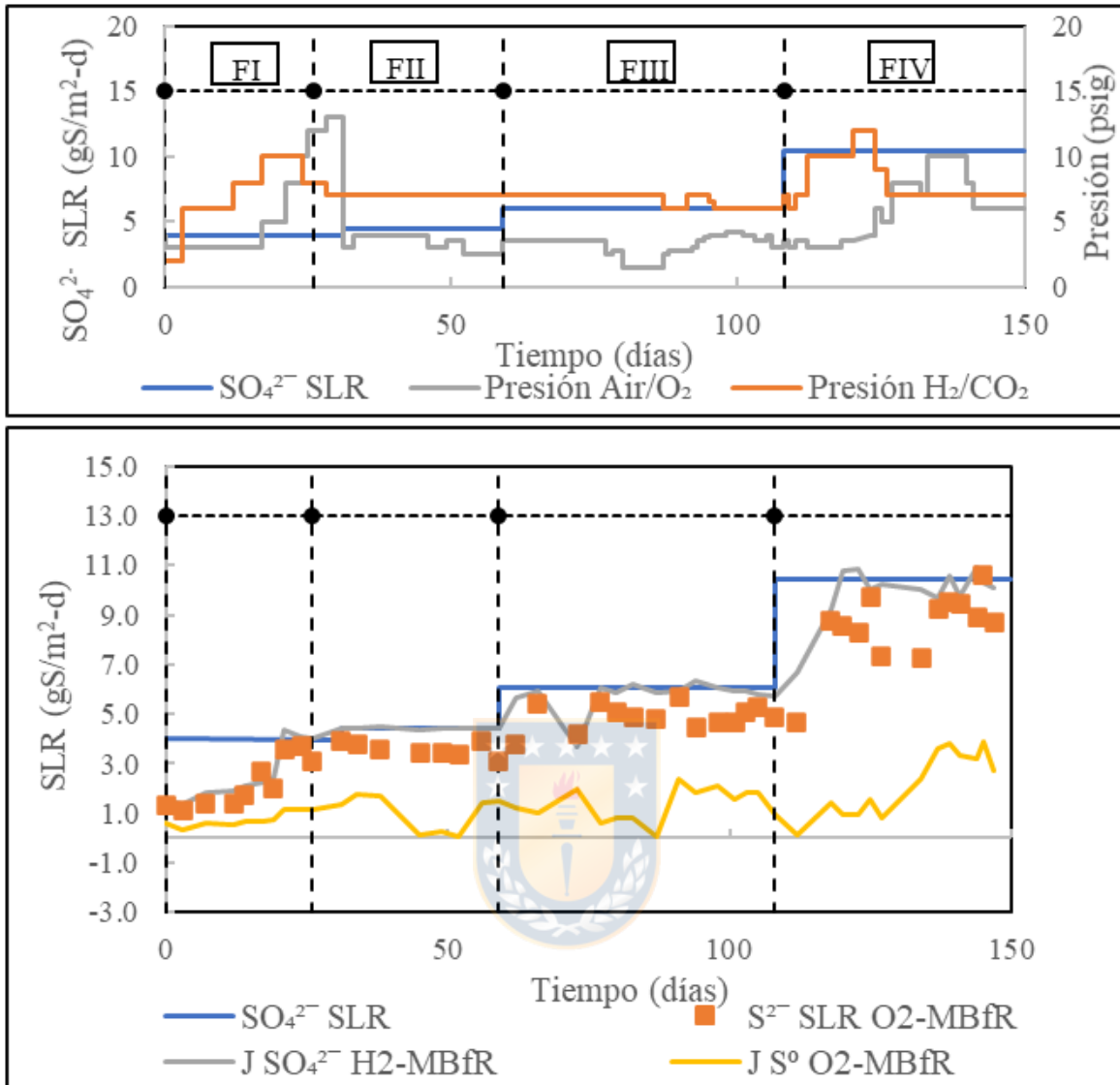


Fig. 4.3 Flujos de SO_4^{2-} SLR, S^{2-} and S^0 de los reactores $\text{H}_2\text{-MBfR}$ y $\text{O}_2\text{-MBfR}$.

Tabla 4.1 Etapas o fases operacionales del experimento

Parameter / Operating Phase	0	I	II	III	IV
Operating conditions					
Days	0-80	0-26	27-59	60-108	214-252
SO ₄ ²⁻ Loading (gS/m ² -d)	2.3	4.0	4.4	6.0	10.5
H ₂ /CO ₂ Gas pressure (psig)	3.0-5.5	2.0-10.0	7.0-8.0	6.0-7.0	6.5-10.0
Air pressure (psig)	2.0-4.0	2.0-12.0	2.5-13.0	1.5-4.15	3.5-10.0
Average performances (%)					
H ₂ -MBfR SO ₄ ²⁻ reduction ¹	29%	64%	100%	96%	95%
H ₂ -MBfR S ²⁻ formation ¹	27%	55%	80%	81%	82%
O ₂ -MBfR S ²⁻ oxidation ²	84%	90%	96%	89%	81%
O ₂ -MBfR S ⁰ production ³	19%	88%	62%	64%	61%
Overall SO ₄ ²⁻ removal ¹	20%	60%	71%	71%	73%
Overall S ⁰ production ¹	36%	54%	67%	62%	58%
Average fluxes (g/m²-d)					
SO ₄ ²⁻ -S	0.76/-0.06 ⁴	2.58/-0.1 ⁴	4.31/-0.57 ⁴	5.78/-0.72 ⁴	9.93/-1.10 ⁴
S ²⁻ -S	-0.72/ 0.25 ⁴	-2.57/0.98 ⁴	-4.01/1.82 ⁴	-5.7/2.35 ⁴	-9.99/4.02 ⁴
S ⁰ -S	-0.11	-0.77	-1.02	-1.36	-2.20
H ₂	0.17	0.65	1.11	1.45	2.48
O ₂	0.39	0.66	2.03	2.48	3.91

¹% de azufre efluente.

²% de sulfuro formado.

³% de sulfuro oxidado.

⁴Flujos en H₂-MBfR y O₂-MBfR, respectivamente.

4.4 Desempeño del sistema global en modo secuencial

El mayor flujo J en la transformación de sulfato afluente en azufre elemental se logró en la fase IV, y fue de 2.2 g S/m²-d (4,4 g S/m²-d normalizando para la superficie del H₂-MBfR, que es la mitad). En ese momento la eficiencia para la oxidación de S²⁻ a S⁰ era de 81% y la eficiencia de transformación de SO₄²⁻ a S⁰ era de 58%. El 73% del sulfato afluente se removía (Tabla 4.1), o sea eran removidos 7.66 g S/m²-d por lo que se define como la fase de mayor rendimiento. En (Schwarz et al., 2020) el mejor resultado de remoción fue del 62% además de un 54% de producción de S⁰, para una carga de 2.1 g S/m²-d. En este mismo trabajo, para una SLR de 4.2 g S/m²-d la remoción global de sulfato fue de un 56% y la formación de

azufre de 25%, mientras que aquí, con una SLR de 4.4 g S/m²-d estos valores fueron de 71% y 67% respectivamente. La diferencia entre los rendimientos da cuenta de la importancia de tener un control de pH efectivo, y del efecto que puede tener en el rendimiento de los gases la presencia de *Sulfurospirillum*. En el mismo experimento hubo fases donde en lugar de trabajar con los módulos en serie, se implementó un sistema de recirculación entre ellos. Con esta configuración sus mejores resultados, para una SLR de 2.1 g S/m²-d fueron una remoción global de sulfato de 99% y 61% de conversión global a azufre elemental. Sin embargo, esta configuración demuestra ser poco eficiente debido a que demanda altas presiones de gases, una muestra de que *Sulfurospirillum* es un problema constante y la relación entre presiones de H₂, de oxígeno, y rendimiento global se vuelve poco clara.

Dentro de la fase IV también hubo variaciones en las condiciones operacionales. El día 112 se subió la presión de gases H₂/CO₂ y esto pareció influir en el rendimiento del O₂-MBfR, de modo que un incremento en el sulfuro afluente aumentó el rendimiento en la oxidación de sulfuro de un 25% a un 65%. El día 127 se aumentó la presión de O₂ y el rendimiento subió desde un 49% a un 87%. El aumento se debió a que las presiones de H₂-CO₂ y las presiones de O₂ se fueron ajustando, conservando la SLR de sulfato. La producción de S⁰ es sensible a las presiones de oxígeno, pero indirectamente también a las presiones de H₂/CO₂, y esta relación depende del sulfuro que el H₂-MBfR produzca, por lo que la optimización de este reactor reductor fue un hito dentro del experimento.

El mayor rendimiento del proceso de transformación de sulfato a azufre elemental en un momento fue de 98%, logrado en la fase II. Para la oxidación del sulfuro a S⁰ el mayor rendimiento fue de 88%, durante la fase II. En (Camiloti et al., 2019) se logra una conversión de sulfuro a S⁰ inferior a 60%, si bien a concentraciones de sulfuro mucho menores.

4.5 Estrategia de control de pH y desempeño

Se probaron varias estrategias de control de pH y variaciones de la estrategia elegida (control automático por medio de controlador y electrodo con celda de flujo) por lo que el desempeño varió durante el experimento. Experiencias previas demostraron que la adición de CO₂ para evitar la subida de pH en el H₂-MBfR, debido al consumo de protones implicado en la

reducción de sulfato, hacía que los parámetros fueran inestables, con episodios de acidificación. Otras pruebas preliminares fueron la de caudales de la bomba peristáltica para suministrar la solución de ácido y la concentración de ésta, pero antes de la prueba práctica no se llegaría a conclusiones definitivas.

El día tres se instaló el sistema entero de control de ácido en el H₂-MBfR. El relé quedó ajustado para manejar el pH entre 7.8 y 8.2 con una solución de HCl de 1% p/p. Durante los primeros 20 días se sacan las primeras conclusiones; el controlador es muy sensible a la velocidad del flujo, que altera los valores de pH haciendo una diferencia de dos puntos decimales aproximadamente con mediciones de pH hechas por otro electrodo de mesa. Los resultados no fueron demasiado dañinos para el H₂-MBfR pues el pH no bajó de 7.6 (a menos que hubiera un evento fuera de lo común, como una falla en el sistema hidráulico) ni subió de 8.2. Sin embargo, se detectó que debido a la cantidad de solución que se inyectaba, los caudales internos del reactor se vieron afectados significativamente. Así, los cálculos de caudal afluente para el reactor alcanzaron hasta un 16% más que el original. Además, los ciclos de inyección eran demasiado largos, entre 10 y 16 minutos. El tiempo de reacción del aparato controlador es muy lento como para trabajar con un intervalo muy ajustado en el relé. O sea, entre que detecta e inyecta solución ácida, y detecta el pH ideal pasa un periodo en que sigue inyectando ácido, por lo que el pH siempre bajará más de lo que se indicó en el relé. El día 29 del experimento la recirculación se ajustó disminuyendo las RPM. Se observó que las mediciones del electrodo de la celda se estabilizaban. Y el día 31 la solución de HCL se cambia desde un 1% a un 3% de concentración p/p. El día 35 se detectó una entrada de oxígeno en la celda de flujo. Esta tiene un sello de goma, pero es un punto susceptible de tener problemas de fugas. Para evitar que esto pase se decide retirar la celda, que hasta ahora estaba ubicada directamente en la recirculación, y dividir la recirculación en un baipás, donde fue ubicada la celda. Con la mitad del flujo se disminuye la velocidad y la presión generada dentro de esta. El día 37 la recirculación se cambia de sentido para evitar que las burbujas que pudieran formarse llenen el reactor. La recirculación queda en sentido antihorario (observar Fig. 3.1). El día 49 se cambia la concentración de la solución a 6% p/p pues aún no se solucionaba el problema del exceso de inyección. Los primeros 80 días fueron considerados como preliminares al experimento, pues los resultados debido a las condiciones inestables, consecuencia de los ajustes en el control de pH, diseño del sistema hidráulico,

recambio de piezas (como el cambio de tuberías de HDPE a vitón para evitar la entrada de oxígeno, y que tienen propiedades distintas) no permiten sacar conclusiones respecto a la eficacia o eficiencia de éste.

El día 0 de la fase I los cambios operacionales hacen necesario más ajustes. El pH ideal es 8.1, para que el sulfuro tenga la forma HS⁻ en vez de H₂S, para evitar la precipitación de calcio y es adecuada para las SRB (aunque no sea su pH óptimo). El relé se ajusta como 8.1+/- 0.4. Se disminuye la concentración de la solución a 3% p/p pues el pH baja muy rápido y el electrodo no alcanza a detectar la bajada.

El día 40 se detectó una falla en la inyección, pues el pH subía más de lo permitido por el relé. Se cambió la tubería de vitón que conducía la solución hacia el reactor. Esto soluciona el problema. El vitón se desgasta rápido y hay que cambiar las tuberías de este material cuando demuestren desgaste. El día 161 se diluye la solución ácida y queda en 1% p/p.

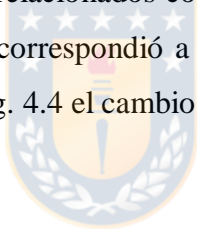
El día 98 se instala controlador de pH en el oxidante pues aparecieron precipitados blancos en las membranas. Como este reactor no tiene la alcalinidad para actuar de buffer, el pH baja muy rápidamente. Esto a pesar de que el controlador tiene las mismas condiciones que el H₂-MBfR (pH fijo de 8.1 y 0.4 de histéresis, concentración de la solución ácida de 1% p/p).

El desempeño del control de pH en el H₂-MBfR evitó la precipitación de calcio, permitió tener condiciones buenas para el asentamiento de las SRB y el consorcio de microorganismos que las acompañan. Se cumplieron los objetivos, pero solo después de entender cómo los cambios operacionales se relacionan con la demanda de ácido que tiene el reactor. A cada estado estacionario asociado a crecientes cargas de sulfato le corresponde una demanda de ácido cada vez mayor. Si se aumenta la carga de sulfato la inyección de ácido aumentará también, y el sistema puede requerir ajustes, como el cambio en la concentración de la solución, o del intervalo del relé. Hay que entender también que el electrodo es muy sensible a la velocidad del flujo, y que la velocidad de reacción del controlador se debe considerar pues es un factor difícil de modificar. Una configuración correcta, considerando estos factores, y otros expuestos en la sección 3, en cuanto al manejo de las presiones internas, es clave para que el control de pH cumpla su función. También, el control de pH demostró ser eficaz en prevenir problemas de precipitación, no así resolverlos una vez aparecen, como en el caso del reactor O₂-MBfR.

4.6 Alcalinidad y cálculos del modelo algebraico de pH

La alcalinidad se puede usar como un indicador más de los procesos que se están dando dentro de los módulos. En el caso del H₂-MBfR en una etapa preliminar de puesta en marcha (primeros 150 días) que no fueron considerados en el experimento oficial, la alcalinidad se mantenía por debajo de 550 mg/l de CaCO₃ generalmente. Además, era inestable. Sin embargo, a medida que, en esta etapa preliminar, la comunidad microbiana se afianzaba y se refinaba el control de las condiciones internas, la alcalinidad se mantenía relativamente estable y no bajaba de 470 mg/l de CaCO₃ a menos que hubiera un evento que afectara el desempeño del módulo. Estos altos valores de alcalinidad indican la presencia de sulfuro, producido por la reducción de sulfato. En los siguientes 150 días (la etapa considerada en el experimento) la alcalinidad se mantuvo en un intervalo de 470-640 mg/l de CaCO₃.

Para el O₂-MBfR los valores generalmente se mantuvieron bajos, no superando los 227 mg/l de CaCO₃. Estos bajos valores están relacionados con la oxidación del sulfuro proveniente del H₂-MBfR y su aumento puntual correspondió a un evento que afectó a la comunidad bacteriana. Se puede apreciar en la Fig. 4.4 el cambio en los valores de las alcalinidades.



4.7 Comunidades microbianas y estudio microscópico

El análisis microbiano del módulo anaeróbico (H₂-MBfR) indicó que las bacterias dominantes pertenecían a dos géneros reconocidos de SRB, *Desulfomicrobium* y *Desulfovibrio*, ambas del orden *Desulfovibrionales*, caracterizado por ser anaeróbico y oxidar compuestos orgánicos a acetato (Kuever, 2014a) con un máximo de 77.6% de abundancia relativa al final de la operación (muestra Red 2, de membrana), donde la remoción completa del sulfato fue alcanzada. El género *Desulfovibrio* pertenece a la familia *Desulfovibrionaceae*, caracterizada por usar sulfato como aceptor de electrones y reducir a sulfuro, con sus distintas especies teniendo pH óptimos entre 6.9 y 7.4 (y otras variedades adaptadas a pH alcalinos), ser relativamente resistentes al oxígeno y ser adaptables a variedad de ambientes (en cuanto a temperatura, salinidad, pH y presencia de otras sustancias) (Kuever, 2014a).

El género *Desulfomicrobium* tiene como características relevantes el ser estrictamente anaerobio, poder usar moléculas orgánicas simples y H_2 como donantes de electrones con algunas especies (*Desulfomicrobium masestii*, *Desulfomicrobium thermophilum*) siendo capaces de crecimiento autótrofo con H_2 y CO_2 . El sulfato y tiosulfato son aprovechados como aceptores de electrones. La mayoría de las especies tienen un pH óptimo cercano a 7.2. (Kuever 2014b). Se reporta también que *Desulfomicrobium* es un reductor de azufre elemental, en un reactor reductor alimentado con DAM (Guo et al., 2019).

La dominancia de estos dos géneros se mantiene para la muestra de efluente y para las tres muestras de membrana extraídas al desmantelar el módulo. En el caso del *Desulfomicrobium*, (considerado sulfidogénico y además SRB) se ha documentado que en presencia de sulfato, se convierte en la sulfidogénica predominante al competir con *Sulfurospirillum* (Sun et al., 2018). El efluente recolectado del H_2 -MBfR demostró que las bacterias dominantes eran del mismo género de SRB (63.2% de abundancia relativa conjunta), a pesar de que esta abundancia disminuyó mientras que la de *Sulfurospirillum* fue la que más aumentó (con respecto a las muestras de membrana, 8.83% de abundancia relativa). Este género consiste en organismos versátiles, generalmente *microaerofilicos*, capaces de crecer con varios sustratos donde el donante de electrones puede ser hidrógeno, sulfuro y ácidos orgánicos, mientras que los aceptores de electrones bajo condiciones anaeróbicas pueden ser nitratos, fumarato, y especies de azufre aparte del sulfato (tiosulfato, azufre elemental, polisulfuros) (Goris 2016). El pH óptimo para este género va desde 7.0 a 7.5 y se ha documentado que pueden usar oxígeno como aceptor de electrones (Lastovica et al., 2014). El oxígeno disuelto en el afluente o que difundió a través de los tubos flexibles pudo provocar la oxidación parcial del azufre (Suarez et al., 2020; Lin et al., 2018, Oremland et al., 2015). Esta sobreabundancia del género *Sulfurospirillum* en el efluente comparada con las membranas puede ser por la presencia de biopelículas en los tubos flexibles y una ubicación preferente en la zona exterior de la biopelícula de las membranas con mayor exposición a pérdidas por corte. La utilización del CO_2 no es una característica fisiológica que se encuentre en *Sulfurospirillum sp.*, aunque su crecimiento puede ser promovido por los productos microbianos solubles (Soluble Microbial Products, SMP) liberados por SRB. (Schwarz, et al., 2020; Zhao et al., 2014; Zhou et al., 2019b; . En (Schwarz et al., 2020) fue el género más abundante, en un sistema MBfR compuesto por módulos de H_2 -MBfR y O_2 -MBfR en recirculación. Se reporta que

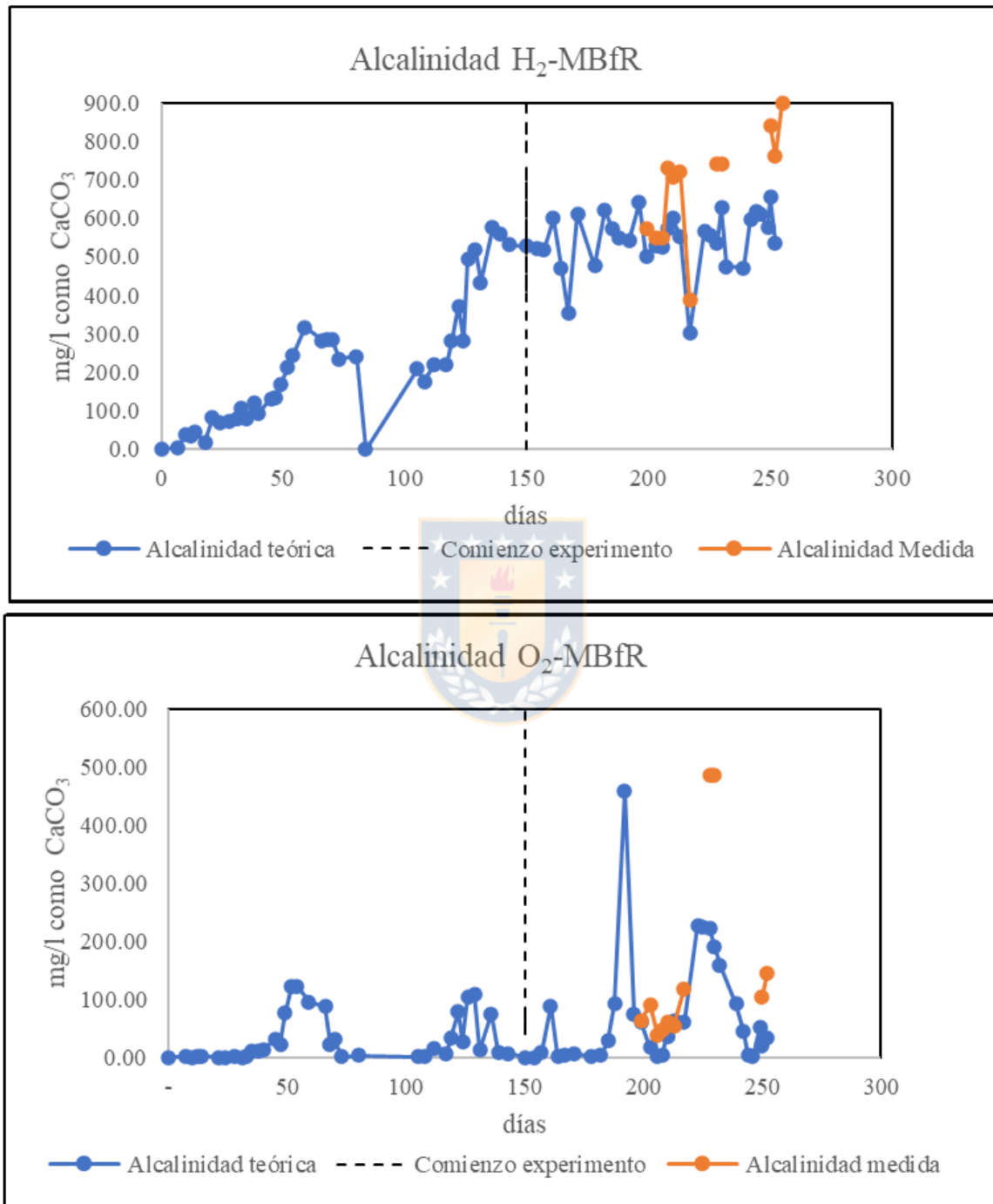


Fig. 4.4 Alcalinidad teórica y medida de los módulos del experimento.

Sulfurospirillum puede oxidar S^0 a formas de sulfuro y se le atribuye la gran demanda de H_2 que requirió el experimento y su proliferación puede deberse a las grandes cantidades de SMP producidos por las SRB y las SOB.

En la etapa de oxidación de sulfuro, la composición de la población bacteriana sufrió cambios significativos, especialmente en las secciones 1 y 2 de las membranas que estuvieron expuestas a una mayor presión de O_2 , donde los biotipos más representados pertenecieron al género *Hydrogenophaga*, con una abundancia relativa de 38-46% respectivamente. Los miembros de este género son quimioorganotótrofos o quimiolitioautótrofos, creciendo por la oxidación de H_2 como fuente de energía y CO_2 como fuente de carbono, por lo tanto, su crecimiento en la etapa de oxidación de sulfuro puede ser debido al H_2/CO_2 traspasado desde el H_2 -MBfR a la biopelícula del O_2 -MBfR. Se describe su metabolismo como aeróbico (Willems, 2014). Es una desnitrificante facultativa conocida por su asociación con SRB, compitiendo con éstas por recursos y espacio (Hao et al., 2014; Xia et al., 2020), sobre todo cuando hay buena disponibilidad de H_2 . Algunas DB (Denitrificant Bacteria) pueden oxidar sulfuro a sulfato y hacer menos evidente la acción de las SRB disminuyendo los niveles de sulfuro medidos (Ontiveros-valencia et al., 2012). Por otra parte, las especies del género *Hydrogenophaga* están asociadas con el tratamiento de aguas residuales y se han detectado en biorreactores oxidantes de sulfuro (Cytryn et al., 2005; Haosagul et al., 2020; Li et al., 2020) y en el sedimento de un río donde existe contaminación por compuestos de azufre (Luo et al., 2018). Este género podría jugar un rol en la oxidación de compuestos reducidos de azufre y ha sido incluido dentro de las SOB (Haosagul et al. 2020). Se estudió una faceta alternativa usando el gen funcional (soxB), un componente del sistema enzimático SOX que codifica la Sulfate thiohidrolase para caracterizar a las SOB, mostrando que la mayoría de las secuencias estaban afiliadas con el género *Hydrogenophaga*. También se asocia este género con el complejo SQR, que se asocia con la producción de azufre elemental a partir de compuestos oxidados de azufre.

El género *Brevundimonas*, capaz de crecer usando carbono orgánico liberado por bacterias autótrofas y detectadas previamente en la remoción de H_2S en un digestor industrial (Huertas et al., 2020), fue detectado en una abundancia menor en la etapa de oxidación. En (Khanongnuch et al., 2019) aparece este género bajo condiciones anóxicas y con acetato como fuente de carbono, en un reactor que oxida H_2S . Esto puede ser evidencia de que un género heterótrofo puede sustentarse con material orgánico derivado de autótrofos (como

podrían ser los SMP y restos de microorganismos ya muertos). El género *Brevundimonas* tiene un pH de crecimiento óptimo cercano al neutro, es capaz de formar biofilms como forma de adaptarse a condiciones adversas, y crecer en ambientes oligotróficos (Abraham et al., 2014). Es notable la ausencia predominancia de géneros típicos de reactores oxidantes de sulfuro, como *Sulfuricurvum* y *Sulfurovum* (Haosagul et al., 2020), siendo la primera encontrada en un anterior trabajo con un reactor del mismo tipo. (Schwarz et al., 2020), aunque están presentes SOB del género *Acidithiobacillus*, también típicas (Camiloti et al., 2016). Es interesante notar que en la sección 3 de las fibras (la más alejada del suministro de oxígeno), y en el efluente del O₂-MBfR, SRB pertenecientes al género *Desulfomicrobium* y *Desulfovibrio* derivadas de la etapa reductora fueron dominantes, lo que podría deberse al traspaso del H₂-MBfR y al agotamiento del oxígeno en zonas del O₂-MBfR, promoviendo condiciones reductoras. Cabe destacar que el extremo de escape de gases del O₂-MBfR se mantuvo cerrado la mayoría del tiempo, y lo que puede causar acumulación de gases como el nitrógeno dentro del extremo cerrado, privando a los microorganismos de oxígeno También esta falta de oxígeno se ha asociado con mayor acumulación de biomasa y azufre elemental en las membranas (Camiloti et al., 2016).

4.8 Comentarios pertinentes al desempeño del sistema MBfR

Esta es la primera vez que se implementa en un MBfR un sistema de control de pH con un componente automático en la serie de experimentos con estos sistemas. Es importante considerar la ubicación del electrodo del sistema para que el tiempo de reacción sea el adecuado, sobre todo al administrar las dosis de la solución de ácido. La concentración de esta solución también debe decidirse en función del experimento (escala del experimento, tiempo de reacción del electrodo, velocidad del fluido dentro del sistema). El sistema debería ser de mezcla completa. Esto evita la sobredosis de ácido que baja el pH a niveles donde aparece el indeseado H₂S como especie del azufre.

Otro aspecto para considerar dentro de este mismo control es el sistema eléctrico. La instalación debería hacerse con buena aislación de todas las conexiones y cables para evitar la interferencia con otros aparatos eléctricos.

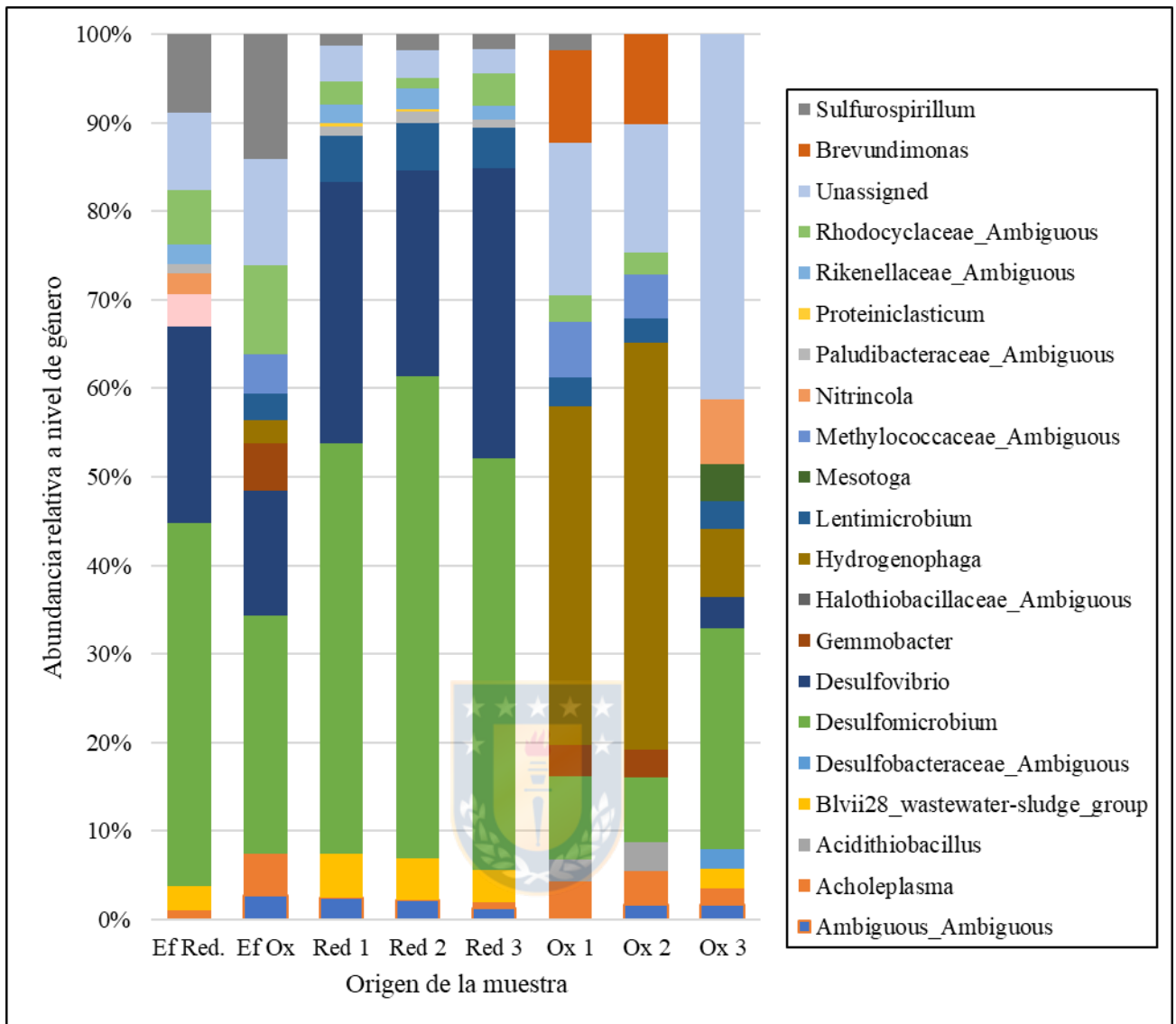


Fig. 4.4 Resultados de la secuenciación masiva de las muestras de efluentes y fibras.

Para la escala reducida de laboratorio a la que se hizo este experimento hay una oferta muy limitada de sistemas de control y ésta provocó además algunos problemas técnicos que impidieron un control más fino de las dosis de ácido y las presiones de gases sobre las membranas, tanto del H₂-MBfR como del O₂-MBfR.

4.9 Conclusiones

En este capítulo se presentaron los resultados de los experimentos y los análisis que se hicieron posteriormente. El sistema tuvo un buen desempeño tal como fue diseñado. Ya habiendo logrado anteriormente la remoción de sulfato y conversión a azufre elemental quedaba pendiente aumentar la eficiencia del sistema. Es importante automatizar tareas repetitivas y que dependen de las condiciones internas de los reactores, sobre todo porque significa una respuesta rápida a eventos que influyan negativamente en el desempeño. Se ha observado que el exceso de H_2 que pasaba al O_2 -MBfR está relacionado con la aparición de bacterias del género *Sulfurospirillum*.

A partir de los resultados obtenidos aquí se sacarán las conclusiones y los comentarios del siguiente capítulo.



CAPITULO 5 CONCLUSIONES Y COMENTARIOS

Se experimentó con un sistema de dos MBfR en serie, un H₂-MBfR y un O₂-MBfR en ese orden. La tarea del sistema es la reducción de sulfato a sulfuro en la primera etapa y la conversión de sulfuro en azufre elemental en la segunda. El afluente del sistema era agua de relave minero caracterizado por unas altas concentraciones de sulfato (~1500 mg/L). El objetivo de este trabajo fue optimizar el funcionamiento del sistema de reactores, con los cuales ya se había experimentado previamente. En específico se buscaba disminuir las pérdidas de gases o su utilización por especies microbianas poco deseables (como *Sulfurospirillum*), lo que se puede apreciar en la relación más clara entre presiones de gases y desempeño. Así, comparando con anteriores trabajos, con menores presiones de H₂ y O₂ se conseguían desempeños mejores, lo que evidencia un mejor aprovechamiento de estos gases. Otro objetivo fue conseguir una mayor carga de sulfato (g S/m²-día) tratada por el sistema, consiguiendo un efluente que cumpla con la norma de concentración de sulfatos. La mayor carga de sulfato registrada fue de 10.5 g S/m²-día con una remoción del 73% del sulfato promedio. La etapa de oxidación del S²⁻ del primer módulo a S⁰ tuvo una eficiencia del 81% promedio, y al final la eficiencia de transformación de sulfato hacia S⁰ fue de 58%. promedio. Estos valores corresponden a la etapa IV.

En el estudio microbiológico, en el módulo reductor predominaron los géneros *Desulfomicrobium* y *Desulfovibrio*. Ambos géneros son SRB y comunes en ambientes anaeróbicos con reducción de sulfato. Algunas especies de *Desulfomicrobium* pueden utilizar H₂ y CO₂ como donante de electrones y fuente de carbono, pero otras necesitan compuestos de carbono simples. Ante la abundancia de este género, es posible la presencia de especies que aprovechan el acetato y los SMP (*Soluble Microbial Products*) de otros microorganismos, lo que evidencia la colonización de una comunidad bacteriana más variada y sobre todo de heterótrofos, con abundancia de materia orgánica y organismos acetogénicos. En el módulo oxidante predominó el género *Hydrogenophaga* y el género *Brevundimonas*. Son géneros poco comunes en reactores oxidantes de sulfuro. Dan cuenta de la presencia de gas H₂ en el caso de *Hydrogenophaga*, y de fuentes de carbono simples, en el caso de *Brevundimonas*, lo que puede derivarse de los SMP en parte. Esto disminuye la eficiencia en el uso de los gases como sustrato y evidencia la presencia de materia orgánica, que probablemente se

derive del módulo reductor. En ambos módulos apareció el género *Sulfurospirillum*, en abundancia relativa importante, lo que también representa una pérdida de eficiencia en el uso de los gases (H_2) y alta concentración de materia orgánica. Esto último se reafirma por el fenómeno de fouling observado en el módulo oxidante en la etapa final del experimento.

El flujo superficial máximo promedio de SO_4^{2-} del reductor fue de $9.93 \text{ g S/m}^2\text{-d}$. El flujo superficial máximo promedio de S^0 del oxidante fue de $2.20 \text{ g S/m}^2\text{-d}$, pero normalizado de acuerdo con la superficie de membrana del reductor, este último flujo sería de $4.40 \text{ g S/m}^2\text{-d}$. Los valores de estos flujos se obtuvieron en la etapa IV.

El sistema de control de pH cumplió con el objetivo de minimizar la toxicidad del H_2S para las bacterias evitando su volatilización. También permitió minimizar la acumulación de $CaCO_3$ en las fibras, aportando de forma decisiva al objetivo principal de mejorar la eficiencia y optimizar procesos.

Los resultados prometedores de este experimento permiten concebir otros ajustes para mejorar el desempeño de un eventual próximo reactor. Se puede proponer trabajar a una escala mayor, aun manteniendo la escala laboratorio, para que se pueda tener un control más fino de las variables importantes. Permitirá un diseño más complejo. Por ejemplo, los resultados del estudio microbiológico hacen pensar en que se debería tener un método para estudiar las comunidades microbianas durante todo el experimento y no sólo al final de este. Esto supone el diseño de un módulo que se pueda manipular y que permita extraer muestras sin perturbar demasiado las condiciones internas. También se debería tener un método para medir los flujos de gases que se suministran, además del control de las presiones.

REFERENCIAS

- Abraham, W., Manfred, R., and Antonio, B. (2014) “7 The Family Caulobacteraceae” in *The Prokaryotes – Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria.*, 179–200.
- Braga Rodrigues, I. C. and Leao, V. A. (2020) Producing electrical energy in microbial fuel cells based on sulphate reduction : a review. *Environmental Science and Pollution Research.*
- Cai, J., Zheng, P., Qaisar, M., and Zhang, J. (2017) Technology Elemental sulfur recovery of biological sulfide removal process from wastewater : A review. , **3389**, 2079–2099.
- Camiloti, P. R., Rodriguez, R. P., Delforno, T. P., Valde, F., Zaiat, M., and Jeison, D. (2016) Sulfide-oxidizing bacteria establishment in an innovative microaerobic reactor with an internal silicone membrane for sulfur recovery from wastewater.
- Camiloti, P. R., Valdés, F., Delforno, T. P., Zaiat, M., and Jeison, D. (2019) A membrane aerated biofilm reactor for sulfide control from anaerobically treated wastewater. *Environmental Technology*, **40:18**, 2354–2363.
- Celis-García, L. B., Gonzalez-Blanco, G., and Meraz, M. (2008) Removal of sulfur inorganic compounds by a biofilm of sulfate reducing and sulfide oxidizing bacteria in a down-flow fluidized bed reactor. , **268**(July 2007), 260–268.
- Chen, H., Wu, J., Liu, B., Li, Y., and Yasui, H. (2019) Competitive dynamics of anaerobes during long-term biological sulfate reduction process in a UASB reactor. *Bioresource Technology*, **280**(February), 173–182. [online] <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.023>.
- Chen, X., Liu, Y., Peng, L., and Ni, B. (2017) Perchlorate , nitrate , and sulfate reduction in hydrogen-based membrane biofilm reactor : Model-based evaluation. *Chemical Engineering Journal*, **316**(316), 82–90. [online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.01.084>.
- Costa, J. M., De Castro, K. C., Piacentini Rodriguez, R., and Sancinetti, G. P. (2020) Anaerobic reactors for the treatment of sulphate and metal-rich wastewater : a review.

International Journal of Environmental Analytical Chemistry. [online]
<https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1728261>.

Cytryn, E., Rijn, J. Van, Schramm, A., Beer, D. De, Minz, D., Cytryn, E., Rijn, J. Van, Schramm, A., Gieseke, A., and Beer, D. De (2005) Identification of Bacteria Potentially Responsible for Oxic and Anoxic Sulfide Oxidation in Biofilters of a Recirculating Mariculture System Identification of Bacteria Potentially Responsible for Oxic and Anoxic Sulfide Oxidation in Biofilters of a Recirc. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**(10), 6134–6141.

Donoso-bravo, A., Sadino-riquelme, M. C., Díaz, I., and Muñoz, R. (2018) Mathematical modelling of in-situ microaerobic desulfurization of biogas from sewage sludge digestion. *Biotechnology Reports*, **20**. [online]
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00293>.

Fernandez-palacios, E., Lafuente, J., Mora, M., and Gabriel, D. (2019) Exploring the performance limits of a sulfi dogenic UASB during the long-term use of crude glycerol as electron donor. *Science of the Total Environment*, **688**(2019), 1184–1192. [online] <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.371>.

Fuentes-lara, L. O., Medrano-mac, J., Nohem, E., Laura, E., and Gonz, S. (2019) From Elemental Sulfur to Hydrogen Sulfide in Agricultural Soils and Plants. *molecules*, **24**(2282).

Goris, T. and Diekert, G. “The Genus *Sulfurospirillum*” in *Organohalide-Respiring Bacteria.*, 209–234.

Guo, J., Wang, J., Qiu, Y., Sun, J., and Jiang, F. (2019) Realizing a high-rate sulfi dogenic reactor driven by sulfur-reducing bacteria with organic substrate dosage minimization and cost- effectiveness maximization. *Chemosphere*, **236**(2019). [online]
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124381>.

Habe, H., Sato, Y., Aoyagi, T., Inaba, T., Hori, T., and Hamai, T. (2020) Design , application , and microbiome of sulfate-reducing bioreactors for treatment of mining-influenced water. *Applied Microbiology and Biotechnology*.

- Hao, T. wei, Xiang, P. yu, Mackey, H. R., Chi, K., Lu, H., Chui, H. kwong, van Loosdrecht, M. C. M., and Chen, G. H. (2014) A review of biological sulfate conversions in wastewater treatment. *Water Research*, **65**, 1–21.
- Haosagul, S., Prommeenate, P., Hobbs, G., and Pisutpaisal, N. (2020) Sulfide-oxidizing bacteria community in full scale bioscrubber treating H₂S in biogas from swine anaerobic digester. *Renewable Energy*, **150**(Part of special issue: SI: Renewable Energy and Thermal Energy Storage System), 973–980. [online] <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.11.139>.
- Hauduc, H., Wadhawan, T., Johnson, B., Bott, C., Ward, M., and Takács, I. (2019) Incorporating sulfur reactions and interactions with iron and phosphorus into a general plant-wide model. *Water Science and Technology*, **79**(1), 26–34.
- Huertas, J. K., Quipuzco, L., Hassanein, A., and Lansing, S. (2020) Comparing Hydrogen Sulfide Removal Efficiency in a Field-Scale Digester Using Microaeration and Iron Filters. *Energies*, **13**(4793).
- Janssen, A. J. H., Lens, P. N. L., Stams, A. J. M., Plugge, C. M., Sorokin, D. Y., Muyzer, G., Dijkman, H., Zessen, E. Van, Luimes, P., and Buisman, C. J. N. (2008) Application of bacteria involved in the biological sulfur cycle for paper mill effluent purification. *Science of the Total Environment*, **407**(4), 1333–1343. [online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.09.054>.
- Jiang, X., Xu, B., and Wu, J. (2019) Sulfur recovery in the sulfide-oxidizing membrane aerated biofilm reactor : experimental investigation and model simulation. *Environmental Technology*, **40**(12), 1557–1567.
- Kefeni, K. K., Msagati, T. A. M., and Mamba, B. B. (2017) Acid mine drainage: Prevention, treatment options, and resource recovery: A review. *Journal of Cleaner Production*, **151**, 475–493. [online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.03.082>.
- Khanongnuch, R., Di, F., Lakaniemi, A., Rene, E. R., and Lens, P. N. L. (2019) H₂S removal and microbial community composition in an anoxic biotrickling filter under autotrophic and mixotrophic conditions. *Journal of Hazardous Materials*, **367**(August 2018), 397–406.

- Kuever, J. (2014) “The Family Desulfovibrionaceae” in *The Prokaryotes – Deltaproteobacteria and Epsilonproteobacteria.*, 107–133.
- Kuever, J. and Galushko, A. (2014) “The Family Desulfomicrobiaceae” in *The Prokaryotes – Deltaproteobacteria and Epsilonproteobacteria.*, 97–102.
- Lastovica, A. J., Cape, W., and Zhang, L. (2014) “The Family Campylobacteraceae” in *The Prokaryotes – Deltaproteobacteria and Epsilonproteobacteria.*, 307–335.
- Li, W., Zhang, M., Kang, D., Chen, W., Yu, T., Xu, D., Zeng, Z., Li, Y., and Zheng, P. (2020) Mechanisms of sulfur selection and sulfur secretion in a biological sulfur removal (BISURE) system. *Environment International*, **137**(November 2019). [online] <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105549>.
- Lin, S., Mackey, H. R., Hao, T., Guo, G., Loosdrecht, M. C. M. Van, and Chen, G. (2018) Biological sulfur oxidation in wastewater treatment : A review of emerging opportunities. *Water Research*, **143**, 399–415. [online] <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.06.051>.
- Luo, J., Tan, X., Liu, K., and Lin, W. (2018) Survey of sulfur - oxidizing bacterial community in the Pearl River water using soxB , sqr , and dsrA as molecular biomarkers. *3 Biotech*, **8**(73). [online] <https://doi.org/10.1007/s13205-017-1077-y>.
- Luo, J., Wu, M., Liu, J., Qian, G., and Yuan, Z. (2019) Microbial chromate reduction coupled with anaerobic oxidation of methane in a membrane biofilm reactor. *Environment International*, **130**(April). [online] <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104926>.
- Maiti, D., Ansari, I., Rather, M. A., and Deepa, A. (2019) Comprehensive review on wastewater discharged from the coal-related industries – characteristics and treatment strategies Deblina Maiti , Iqbal Ansari , Mohd Ashraf Rather and Arukula Deepa. *Water Science and Technology*, **79**(11), 2023–2035.
- Mamelkina, M. A., Vasilyev, F., Tuunila, R., Sillanpää, M., and Häkkinen, A. (2019) Investigation of the parameters affecting the treatment of mining waters by electrocoagulation. *Journal of Water Process Engineering*, **32**(August), 100929.

[online] <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100929>.

Marais, T. S., Huddy, R. J., Harrison, S. T. L., and van Hille, R. P. (2020) Effect of hydraulic residence time on biological sulphate reduction and elemental sulphur recovery in a single-stage hybrid linear flow channel reactor. *Biochemical Engineering Journal*, **162**(octubre 2020).

Martin, K. J. and Nerenberg, R. (2012) *Bioresource Technology* The membrane biofilm reactor (MBfR) for water and wastewater treatment : Principles , applications , and recent developments. *Bioresource Technology*, **122**, 83–94. [online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.110>.

Muyzer, G. and Stams, A. J. M. (2008) The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. , **6**(june).

Nancucheo, I., Bitencourt, J. A. P., Sahoo, P. K., Alves, J. O., Siqueira, J. O., and Oliveira, G. (2017) Recent Developments for Remediating Acidic Mine Waters Using Sulfidogenic Bacteria. *BioMed Research International*, **2017**.

Nerenberg, R. and Rittmann, B. E. (2018) Hydrogen-based , hollow-fiber membrane biofilm reactor for reduction of perchlorate and other oxidized contaminants. *Water Science and Technology*, **49**, 223–230.

Ontiveros-valencia, A., Penton, C. R., Krajmalnik-brown, R., and Rittmann, B. E. (2016) Hydrogen-Fed Biofilm Reactors Reducing Selenate and Sulfate : Community Structure and Capture of Elemental Selenium Within the Biofilm. *Biotechnology and Bioengineering*, **9999**(3), 1–9.

Ontiveros-valencia, A., Ziv-el, M., Zhao, H., Feng, L., Rittmann, B. E., and Krajmalnik-brown, R. (2012) Interactions between Nitrate-Reducing and Sulfate-Reducing Bacteria Coexisting in a Hydrogen-Fed Bio fi lm. *Environmental Science and Technology*, **46**(20), 11289–11298.

Ontiveros Valencia, A., Zhou, C., Zhao, H., Tang, Y., and Rittmann, B. E. (2018) Managing microbial communities in membrane biofilm reactors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **103**, 9003–9014.

Oztemur, G., Teksoy, S., Tayran, Z., and Sahinkaya, E. (2020) Chemosphere Fluidized bed

membrane bioreactor achieves high sulfate reduction and filtration performances at moderate temperatures. *Chemosphere*, **252**. [online]
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126587>.

Pokorna, D. and Zabranska, J. (2015) Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances*, **33**(6), 1246–1259. [online]
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.007>.

Qian, Z., Tianwei, H., Robert, H., Loosdrecht, M. C. M. Van, and Guanghao, C. (2019) Recent advances in dissimilatory sulfate reduction : From metabolic study to application. *Water Research*, **150**, 162–181. [online]
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.018>.

Rene, E. R. and Lewis, A. (2017) “Sustainable Heavy Metal Remediation”

Rittmann, B. E. (2018) Biofilms, active substrata, and me. *Water Research*, **132**, 135–145. [online] <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.043>.

Rittmann, B. E. (2006) The membrane biofilm reactor : the natural partnership of membranes and biofilm. *Water Science and Technology*, **53**(3), 219–225.

Sahinkaya, E., Hasar, H., Kaksonen, A. H., and Rittmann, B. E. (2011) Performance of a Sulfide-Oxidizing, Sulfur-Producing Membrane Biofilm Reactor Treating Sulfide-Containing Bioreactor Effluent. *Environmental Science and Technology*, **45**, 4080–4087.

Schröder-wolthoorn, A., Kuitert, S., Dijkman, H., and Huisman, J. L. (2008) Hydrometallurgy Application of sulfate reduction for the biological conversion of anglesite ($PbSO_4$) to galena (PbS). *Hydrometallurgy*, **94**, 105–109.

Schwarz, A., Suarez, J. I., Aybar, M., Nancucheo, I., Martínez, P., and Rittmann, B. E. (2020) Science of the Total Environment A membrane-biofilm system for sulfate conversion to elemental sulfur in mining-influenced waters. *Science of the Total Environment*, **740**.

Shahsavari, S., Seth, R., Rao, S., and Biswas, N. (2019) Inhibition of anaerobic biological sulfate reduction process by copper precipitates. *Chemosphere*, **236**(2019). [online]

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.216>.

- Stolz, J. F., Oremland, R. S., Paster, B. J., Dewhirst, F. E., and Vandamme, P. (2016) “Sulfurospirillum” in Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria.
- Suarez, J. I., Aybar, M., Martínez, P., Rittmann, B. E., and Schwarz, A. (2020) Influence of operating conditions on sulfate reduction from real mining process water by membrane biofilm reactors. *Chemosphere*, **244**.
- Sun, J., Dai, X., Liu, Y., Peng, L., and Ni, B. (2017) Sulfide removal and sulfur production in a membrane aerated biofilm reactor : Model evaluation. *Chemical Engineering Journal*, **309**, 454–462. [online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.146>.
- Sun, R., Li, Y., Lin, N., Ou, C., Wang, X., Zhang, L., and Jiang, F. (2020) Removal of heavy metals using a novel sulfidogenic AMD treatment system with sulfur reduction : Configuration , performance , critical parameters and economic analysis. *Environment International*, **136**.
- Sun, R., Zhang, L., Zhang, Z., Chen, G., and Jiang, F. (2018) Realizing high-rate sulfur reduction under sulfate-rich conditions in a biological sulfide production system to treat metal-laden wastewater deficient in organic matter. *Water Research*, **131**, 239–245. [online] <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.039>.
- Tang, Y., Ontiveros-valencia, A., Feng, L., Zhou, C., Krajmalnik-brown, R., and Rittmann, B. E. (2013) A Biofilm Model to Understand the Onset of Sulfate Reduction in Denitrifying Membrane Biofilm Reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, **110**(3), 763–772.
- Tang, Y., Zhou, C., Van Ginkel, S. W., Ontiveros-Valencia, A., Shin, J., and Rittmann, B. E. (2012) Hydrogen permeability of the hollow fibers used in H₂-based membrane biofilm reactors. *Journal of Membrane Science*, **407–408**, 176–183.
- Valdés, F., Camiloti, P. R., Bartacek, J., Torres Aravena, Á., Toledo-Alarcón, J., Zaiat, M., and Jeison, D. (2020) Micro-Oxygenation in Upflow Anaerobic Sludge Bed (UASB) Reactors Using a Silicon Membrane for Sulfide Oxidation. *Polymers*, **12**(1990).
- Vannini, C., Munz, G., Mori, G., Lubello, C., Verni, F., and Petroni, G. (2008) Sulphide

oxidation to elemental sulphur in a membrane bioreactor : Performance and characterization of the selected microbial sulphur-oxidizing community. *Systematic and Applied Microbiology*, **31**, 461–473.

Wang, X., Zhang, Y., Zhou, J., Zhang, T., and Chen, M. (2015) Bioresource Technology Regeneration of elemental sulfur in a simultaneous sulfide and nitrate removal reactor under different dissolved oxygen conditions. *Bioresource Technology*, **182**, 75–81. [online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.01.123>.

Willems, A. (2014) “The Family Comamonadaceae” in *The Prokaryotes – Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria.*, 777–845.

Xia, S., Wang, C., Xu, X., Tang, Y., Wang, Z., Gu, Z., and Zhou, Y. (2015) Bioreduction of nitrate in a hydrogen-based membrane biofilm reactor using CO₂ for pH control and as carbon source. *Chemical Engineering Journal*, **276**, 59–64. [online] <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2015.04.061>.

Xia, S., Wu, C., Yang, X., Zhou, Y., Zhou, L., and Ran, Y. (2020) Bioreduction of nitrate in high-sulfate water using a hydrogen-based membrane biofilm reactor equipped with a separate carbon dioxide module. *Chemical Engineering Journal*, **385**(October 2019),. [online] <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123831>.

Zhang, L., Zhang, Z., Sun, R., Liang, S., and Chen, G. (2018) Self-accelerating sulfur reduction via polysulfide to realize a high-rate sulfidogenic reactor for wastewater treatment. *Water Research*, **130**, 161–167. [online] <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.11.062>.

Zhao, H., Ontiveros-valencia, A., Tang, Y., Kim, B., Vanginkel, S., Friese, D., Overstreet, R., Smith, J., Evans, P., Krajmalnik-brown, R., and Rittmann, B. (2014) Removal of multiple electron acceptors by pilot-scale , two-stage membrane biofilm reactors. *Water Research*, **4**(54), 115–122.

Zhou, C., Ontiveros-valencia, A., Nerenberg, R., Tang, Y., and Zhou, C. (2019a) Hydrogenotrophic Microbial Reduction of Oxyanions With the Membrane Biofilm Reactor. , **9**(January), 1–14.

ANEXOS

Estequiometría, energía y crecimiento bacteriano

Al trabajar con microorganismos se sabe que sus necesidades incluyen energía para mantener su metabolismo y para generar nueva materia orgánica. Para generar la energía necesaria se requiere de un donante de electrones y un aceptor de electrones. También se necesita una fuente de carbono y una de nitrógeno para síntesis celular.

En cada uno de los reactores, el donante y aceptor de electrones para generar la energía serán distintos. Para plantear las ecuaciones de energía primero se deben conocer las semireacciones de reducción y oxidación de cada medio (o reactor). El H₂-MBfR tiene como donante de electrones hidrógeno de la forma:

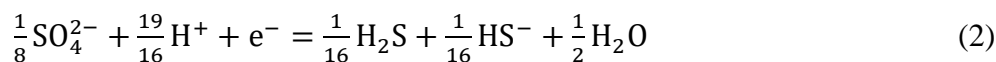


$$\Delta G^0 = 39.87 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \text{eq}}$$



Esta es una semireacción de reducción y es llamada la R_d o la semireacción del donante.

Luego tenemos que la reacción del aceptor de electrones tiene como aceptor al sulfato:

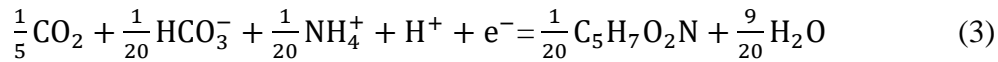


$$\Delta G^0 = 20.85 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \text{eq}}$$

Esta es una semireacción de reducción y es llamada la R_a o la semireacción del aceptor.

El tipo de bacterias que realizan los procesos en ambos reactores son autótrofas, por lo que se requiere una fuente de carbono inorgánica. En estos casos lo más común es considerar el

dióxido de carbono (CO₂), un compuesto de carbono oxidado, como la fuente de carbono inorgánico. Para la fuente de nitrógeno se debe considerar el pH. Para valores menores a 9.3 el amonio (NH₄⁺) es la fuente de nitrógeno aceptada como más probable. La semireacción de formación de nuevas células que cumple con las condiciones es:



Cabe decir que el bicarbonato (HCO₃⁻) estará presente al trabajar con semireacciones donde aparece una fuente de nitrógeno orgánica, para equilibrar las cargas entre ambos lados de la semireacción. Esto pasa en los procesos de oxidación orgánica, y para apreciar su efecto, la ecuación debe expresarse como una de oxidación, cambiando reactantes por productos (los e⁻ quedan al lado derecho de la semireacción). Esta semireacción es llamada la R_c de formación de células.

La expresión ΔG⁰ expresa la energía libre de Gibbs como una diferencia entre estados energéticos. Será positiva cuando la reacción libere energía, y de signo negativo cuando requiera energía. Si se escriben las semireacciones en su forma oxidante, la energía libre de Gibbs tendrá signo negativo. La energía libre de la reacción de formación de nuevas células es un poco más complicada para calcular, pues aún no se definen las especies oxidadas y reducidas. Para calcular esta ΔG⁰ se ocupará:

$$\Delta G_s = \frac{\Delta G_p}{\varepsilon^n} + \frac{\Delta G_{pc}}{\varepsilon} \quad (4)$$

Donde:

ΔG_s es la energía libre para sintetizar un e⁻ eq de células a partir de una fuente dada de carbono.

ΔG_p es la energía libre para transformar un e⁻ eq de fuente de carbono a acetato activado, una forma intermedia de carbono (según Rittman) Puede asumirse como 109.6 kJ/e⁻eq.

Para bacterias autótrofas.

ε es la porción de energía capturada (eficiencia energética de las bacterias).

n es +1 si ΔG_p es positivo y -1 si es negativo.

ΔG_{pc} es la energía libre para transformar un e⁻ eq de piruvato a material celular. Se asumirá como 18.8 kJ/e-eq.

Desarrollando (4) se tiene que:

$$\Delta G_s = \frac{109.6 \frac{kJ}{e^{-eq}}}{0.6} + \frac{18.8 \frac{kJ}{e^{-eq}}}{0.6} = 214 \frac{kJ}{e^{-eq}}$$

Ya que se tiene un estimado de la cantidad de energía necesaria para sintetizar un equivalente de células, se puede definir a los equivalentes necesarios de donante de electrones que deben ser oxidados como A. En la transferencia de energía desde el donante al aceptor también existe una eficiencia, que se admitirá la misma que para síntesis. Si la energía producida por la oxidación de A se define como $A\varepsilon\Delta G_r$ con ΔG_r la energía liberada por equivalente de donante oxidado, se tiene un balance de la energía en estado estacionario:

$$A\varepsilon\Delta G_r + \Delta G_s = 0$$

Resolviendo para A:

$$A: -\frac{\frac{\Delta G_p}{\varepsilon^n} + \frac{\Delta G_c}{\varepsilon}}{\varepsilon\Delta G_r} \quad (5)$$

Además, se tiene:

$$\Delta G_r = 20.85 \frac{kJ}{e^{-eq}} - 39.87 \frac{kJ}{e^{-eq}} = -19.02 \frac{kJ}{e^{-eq}}$$

$$A = -\frac{214 \frac{kJ}{e^{-eq}}}{0.6 * -19.02 \frac{kJ}{e^{-eq}}} = 18.197 \frac{kJ}{e^{-eq}}$$

Se necesita definir lo que es una reacción de energía R_e y una de síntesis R_s . La reacción de energía es:

$$R_e = R_a - R_d \quad (6)$$

La semireacción del donante se expresará como oxidante y de allí el signo negativo. Se deben invertir los lados de la ecuación, y los e^- deben pasar al lado derecho de la semireacción. Luego se sumará normalmente.

La reacción de síntesis se expresará como:

$$R_s = R_c - R_d \quad (7)$$

Sin embargo, se debe conocer cómo la energía total generada es usada en los distintos procesos y los porcentajes que cada uno de estos requiere del total.

Una parte de la energía se destina a síntesis de materia orgánica. Este porcentaje es llamado f_s^0 y el resto, que es destinado a mantener el metabolismo de los microorganismos, se llama f_e^0 , además $f_s^0 + f_e^0 = 1$. La reacción R , la total balanceada, reflejará estos coeficientes de la forma:

$$R = f_e^0(R_e) - f_s^0(R_s) \quad (8)$$

Que al final queda:

$$R = f_e^0(R_a) + f_s^0(R_c) - R_d \quad (9)$$

Además, se tiene que

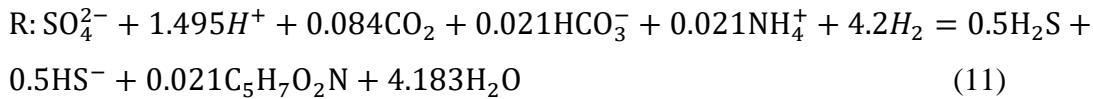
$$f_s^0 = \frac{1}{1+A} \quad (10)$$

Sabiendo los conceptos de f_e^0 y de f_s^0 se puede reemplazar en (4), (5) y (10), y obtener que

$$f_e^0 = 0.95$$

$$f_s^0 = 0.05$$

Se desarrolla la ecuación (7) y se escribe en función de los moles de SO_4^{2-} , queda:



Otro concepto importante es el de Y (yield) o coeficiente de rendimiento bacteriano, que expresa el rendimiento del sustrato donante de electrones para la formación de nuevas células, de la forma:

$$Y = \frac{dX_a}{dt} + bX_a \quad (12)$$

Este coeficiente se puede calcular dividiendo los moles de materia orgánica que resultaron de (8) por los moles de hidrógeno (el donante de electrones en este caso, si se busca la fórmula de Rittman, está expresado como oxígeno) y todo esto se multiplica por los pesos moleculares respectivos. Se tiene:

$$Y_1^0 = \frac{0.0210 \text{ mol SSV}}{4.202 \text{ mol H}_2} * \frac{113 \text{ gmol SSV}}{2 \text{ g mol H}_2} = 0.282 \text{ g SSV/ g H}_2 \quad (13)$$

Siendo SSV los sólidos suspendidos volátiles en los que se expresa la materia orgánica. Este concepto se puede aplicar para el rendimiento del H_2 en cuanto a la reducción de sulfato:

$$Y_s = \frac{4.202 \text{ mol H}_2}{1 \text{ mol SO}_4^{2-}} * \frac{\frac{2 \text{ g}}{\text{mol}} \text{H}_2}{96.06 \text{ g/mol SO}_4^{2-}} = 0.0875 \text{ g H}_2/\text{ g SO}_4^{2-} \quad (14)$$

Existen coeficientes f_c y, relacionados con el Y_n ("net yield") o coeficiente de rendimiento real bacteriano, que considera el decaimiento de la materia orgánica (paso de materia orgánica activa a inactiva) debido a respiración autoendógena y depredación. Esto expresa

que, de la energía que irá a síntesis de materia orgánica, una parte de ésta en realidad va a mantenimiento celular, y puesto que el Y original utiliza una tasa de utilización de sustrato sin distinguir cómo se reparte esta energía, tenemos que $f_s < f_s^0$, además de que $f_e > f_e^0$ pues expresa la energía que va a mantención. Se tiene que:

$$Y_n = Y - b \frac{X_a}{-\frac{dS}{dt}} \quad (15)$$

Siendo

b o coeficiente de decaimiento celular endógeno en T^{-1}

X_a es concentración (M/L^3) de materia activa del organismo vivo (M/L^3)

dS/dt es la tasa de utilización del sustrato (M/L^3)

Además, cuando la tasa de utilización del sustrato dS/dt baja mucho hasta considerarla 0, surge un nuevo concepto de energía sólo para mantención. En este caso $Y_n=0$ y queda:

$$\frac{-\frac{dS}{dt}}{X_a} = \frac{b}{Y} = m \quad (16)$$

Siendo m la energía de mantención de la población bacteriana, sin crecimiento. Si se considera un coeficiente b adecuado para el tipo de microorganismo que se considera, se puede calcular una m. Consideremos $b=0.02 \text{ d}^{-1}$, como es sugerido para SRB que usan H_2 como donante de electrones. Quedaría:

$$m_1^0 = 0.0709 \frac{\text{gH}_2}{\text{d} * \text{g SSV}}$$

Esta medida de los requerimientos de energía de mantenimiento puede ser evaluada dándose un tiempo de retención de materia orgánica. Si conocemos el Y y además la tasa a la que el H_2 está disponible, podremos saber si es suficiente sustrato suministrado.

Otro término asociado a b es la tasa de crecimiento específico por decaimiento, que indica que la materia “muerta” es consumida para generar energía:

$$\mu_{\text{dec}} = -b = -0.02 /d \quad (17)$$

Pero esta ecuación no toma en cuenta que no toda la biomasa inactiva se oxida para producir energía de mantenimiento. Una porción de ésta se mantiene como masa inactiva. El término f_d es la fracción de materia orgánica biodegradable que puede oxidarse. Para un buen rango de microorganismos, se puede asumir como 0.8.

También se puede calcular la tasa de utilización máxima del sustrato (donante de electrones), bajo el supuesto de que el flujo máximo de e^- hacia el aceptor es de $1 e^-/\text{eq g SSV} \cdot d$, como:

$$q_{\text{max}} = \frac{1 \frac{e^-}{\text{eq}} \text{g SSV} \cdot d}{f_e^0 \frac{e^-}{\text{eq}} \text{gH}_2} = 1.053 \frac{\text{gH}_2}{\text{g SSV} \cdot d} \quad (18)$$

La relación entre f_s^0 y f_s :

$$f_s = f_s^0 \frac{1+(1-f_d)b\theta_x}{1+b\theta_x} \quad (19)$$



Dándose un valor de θ_x de 15 días queda:

$$f_s = 0.0408$$

$$f_e = 0.959$$

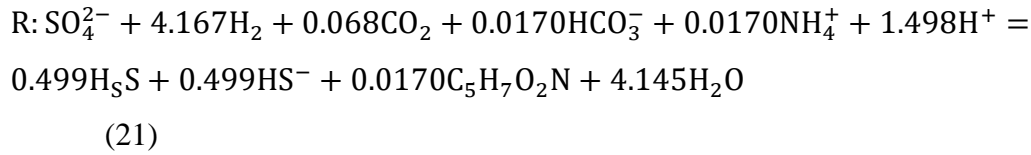
Luego se puede calcular un f_m , la fracción de la energía para oxidación de materia orgánica:

$$f_m = f_s^0 - f_s \quad (20)$$

Reemplazando:

$$f_m = 0.05 - 0.0408 = 0.0092$$

La ecuación R se escribe en función de los moles de SO_4^{2-} :



Con esta nueva ecuación general se puede calcular un Y y un m:

$$Y_1: \frac{0.0017 \text{ mol SSV}}{0.5 \text{ mol H}_2} * \frac{133 \frac{\text{g}}{\text{mol SSV}}}{\frac{2\text{g}}{\text{mol H}_2}} = 0.226 \text{g SSV/gH}_2 \quad (22)$$

$$m_1 = 0.0885 \frac{\text{gH}_2}{\text{g SSV}} \quad (23)$$

El valor de m se calculó con el $\theta_x=15$ días, sirve para un estado estacionario con una concentración de materia orgánica determinada para ese θ_x . Sabiendo la concentración de materia orgánica activa se puede calcular cuánto H_2 en masa se necesitará en ese periodo.

Para el reactor oxidante, R_d queda como:



$$\Delta G^0 = 25.95 \text{ kJ/e}^- \text{ eq}$$

La R_a queda como:



$$\Delta G^0 = -78.72 \text{ kJ/e}^- \text{ eq}$$

Y la ecuación (3) queda como la de generación de nuevas células, al considerar a los microorganismos como autótrofos. La ecuación (4) quedará con un valor de 214 kJ/e⁻ eq. La ecuación (5) para este caso usará el mismo coeficiente \mathcal{E} de eficiencia energética (0.6) y queda como:

$$\Delta G_r = -25.95 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \text{eq}} - 78.72 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \text{eq}} = -104.67 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \text{eq}}$$

$$A = - \frac{214 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \text{eq}}}{0.6 * -104.67 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \text{eq}}} = 3.407 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \text{eq}}$$

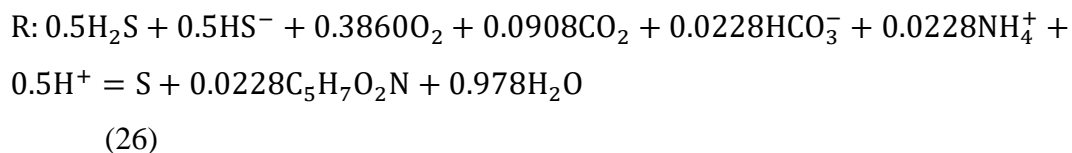
Reemplazando queda:

$$f_e^0 = 0.773$$

$$f_s^0 = 0.227$$



Con el mismo método que para el H₂-MBfR, la ecuación (7) se escribe en función de los moles de S:



Para este caso se puede comparar este cálculo con los resultados de Jiang et.al. (2019) que postuló su ecuación general para este caso. Se compararán los moles de azufre y con los moles de O₂, considerando síntesis de biomasa y sin considerarla. En el caso de la ecuación (35) por cada mol de O₂ hay 2.59 mol S, y sin la biomasa, sólo equilibrando (33) y (34), habrá 2 mol S por cada mol de O₂. La razón (2.5-2) /2.5 da 0.2. El $f_s^0 = 0.227$ puede

considerarse cercano. Para Jiang, son 2.38 mol S por cada mol de O₂, y la razón (2.38-2)/2.38 da 0.16.

Luego queda calcular Y con la ecuación (12), que queda:

$$Y_2^0 = \frac{0.0228 \text{ mol SSV}}{1 \text{ mol S}} * \frac{113 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \text{SSV}}{32 \text{ g/mol S}} = 0.0805 \frac{\text{g SSV}}{\text{g S}} \quad ** \quad (27)$$

Expresado como función de los g de azufre por practicidad. Podremos calcular otros rendimientos útiles para experimentos con MBfR, como por ejemplo el del oxígeno:

$$Y_{O_2-1} = \frac{0.386 \text{ mol O}_2}{1 \text{ mol S}} * \frac{32 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \text{O}_2}{32 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \text{S}} = 0.386 \frac{\text{g O}_2}{\text{g S}} \quad (28)$$

La ecuación (15) para m y con el valor de b=0.08/día (valor para bacterias oxidantes de sulfuro, para sulfato como producto, Rittmann 2020):

$$m_2^0 = 0.004 \frac{\text{g S}}{\text{g SSV} * \text{d}} \quad (29)$$



La q_{max} queda como:

$$q_{\max} = \frac{1 \frac{\text{e}^- \text{eq}}{\text{g SSV}} * \text{d}}{\int_0^{\text{e}^- \text{eq}} \frac{\text{e}^- \text{eq}}{\text{g S}}} = 1.294 \frac{\text{g S}}{\text{g SSV} * \text{d}} \quad (30)$$

Y reemplazando en (19):

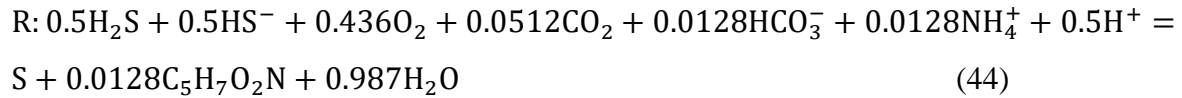
$$f_s = 0.227 * \frac{1 + (1 - 0.8) * 0.08 * 15}{1 + 0.08 * 15} = 0.128$$

$$f_s = 0.128$$

$$f_e = 0.872$$

$$f_m = 0.227 - 0.128 = 0.099$$

La ecuación R queda:



En este caso hay 2.3 mol S por cada mol de O₂, y $(2.3-2) / 2.3 = 0.13$.

El nuevo Y queda:

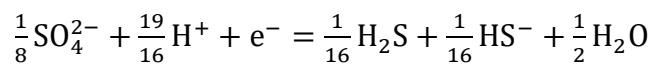
$$Y_2 = \frac{0.0145 \text{ mol SSV}}{1 \text{ mol S}} * \frac{113 \frac{\text{g}}{\text{mol SSV}}}{32 \frac{\text{g}}{\text{mol S}}} = 0.0512 \frac{\text{g SSV}}{\text{g S}} \quad (45)$$

$$m_2 = 0.976 \frac{\text{g S}}{\text{g SSV} \cdot d}$$



(46)

En el reactor oxidante se dio que, debido a las bajas eficiencias de los procesos de conversión de sulfuro a azufre elemental, parte del primero se oxidó completamente a sulfato, siguiendo las siguientes ecuaciones:



$$\Delta G^0 = 20.85 \frac{\text{kJ}}{\text{e}^- \cdot \text{eq}}$$



$$\Delta G^0 = -78.72 \text{ kJ}/e^- \text{ eq}$$

Siguiendo el mismo método, reemplazando en (4), (5) y (10), se usará $\mathcal{E} = 0.6$ para autótrofas.

$$\Delta G_s = \frac{109.6}{0.6} + \frac{18.8}{0.6} = 214 \frac{\text{kJ}}{e^- \text{ eq}}$$

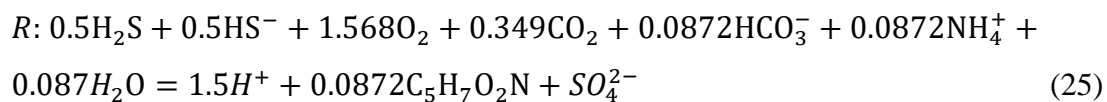
$$\Delta G_r = -20.85 \frac{\text{kJ}}{e^- \text{ eq}} - 78.72 \frac{\text{kJ}}{e^- \text{ eq}} = -99.57 \frac{\text{kJ}}{e^- \text{ eq}}$$

$$A = -\frac{214 \frac{\text{kJ}}{e^- \text{ eq}}}{0.6 * -99.57 \frac{\text{kJ}}{e^- \text{ eq}}} = 3.582 \frac{\text{kJ}}{e^- \text{ eq}}$$



$$f_e^0 = 0.782$$

$$f_s^0 = 0.218$$



$$Y_3^0 = \frac{0.0872 \text{ SSV mol}}{1 \text{ mol S}} * \frac{113 \text{ g mol SSV}}{32 \text{ g mol s}} = 0.308 \frac{\text{g SSV}}{\text{g S}}$$

$$Y_{O_3-1} = \frac{1.568 \text{ mol O}_2}{1 \text{ mol S}} * \frac{32 \text{ g mol O}_2}{32 \text{ g mol S}} = 1.568 \frac{\text{g O}_2}{\text{g S}}$$

$$Q_{\max} = \frac{1 \frac{e^{-eq}}{g SSV} * d}{\int_e^0 \frac{e^{-eq}}{g S}} = 1.279 \frac{g S}{g SSV * d}$$

Y reemplazando en (19):

$$f_s = 0.218 * \frac{1 + (1 - 0.8) * 0.08 * 15}{1 + 0.08 * 15} = 0.$$

$$f_s = 0.123$$

$$f_e = 0.877$$

$$f_m = 0.218 - 0.123 = 0.095$$



Y la reacción R queda:

