



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Ingeniería
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado

**Evaluación de la capacidad de bacterias anaerobias para la
síntesis de nanopartículas de ZnS a partir de un agua
residual sintética y real**

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Maestría en Tecnología y Gestión del Agua

Presenta:

I. A. Areli Cruz Gutiérrez

Asesor:

Dra. Marisol Gallegos García





Dedicatorias

A mis padres, Genoveva Gutiérrez Castillo y a Carlos Omar Cruz Carballo por ser mi ejemplo de constancia y dedicación, y ser mi fortaleza e inspiración diaria que me ha llevado a alcanzar una gran meta.

A mis hermanos, Yessenia y Omar por todo el apoyo brindado día a día, por cuidarme y ser mi ejemplo de lucha y éxito.

A mis amigos Laura Narváez, Beatriz Sucedo, Jesica García, Andrés Martínez, José Enrique Dimas, Andrea González, Karla Zapata, Majo Montaña, Mónica Gascón, Valeria Larrondo, Alma Gabriela Muñoz, Daniela Mata, Adriana Trejo, Jaquelina Leiva, Olivia Mora, Sergio Quiroz, José Luis Rodríguez, Saraí Torres, Evelyn Bernal, Maru Gallardo, Karla Lucely, Karina López, Mario Betancourt, Fernando Torres, Carlos Gutiérrez, Héctor Ontiveros, Arturo, Nicolás y María Inés por estar siempre presentes y darme mucha alegría.

A Caro Limón y a Moni por su sabiduría.

A mi familia en general.

“Las grandes cosas no se hacen por impulso, sino por una serie de pequeñas cosas reunidas”.

-Vincent Van Gogh

Agradecimientos

A mis asesoras, la Dra. Marisol Gallegos García y la Dra. María Guadalupe Sánchez Loredo, por sus enseñanzas y confianza otorgada para la realización de este proyecto.

Al L. Q. Nicolás Miranda y a M.I. Rogelio Cruz, encargados del laboratorio de Ciencias Ambientales por su apoyo técnico durante todo mi proyecto.

A la Dra. Gladis Judith Labrada Delgado, Coordinadora Académica del Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN), IPICYT, por su apoyo técnico en los análisis de Microscopía Electrónica de Barrido.

A la M.I.M. Claudia Guadalupe Elías Alfaro, encargada del laboratorio de Microscopía Electrónica de Transmisión en el Instituto de Metalurgia, UASLP, por su apoyo en la realización de análisis de caracterización de nanopartículas.

A la L. Q. Claudia Hernández Galván, encargada del Laboratorio de Difracción de Rayos X, en el Instituto de Metalurgia, UASLP.

Al Ing. Héctor Isidro Solís Torres, profesor del laboratorio de Agua, Facultad de Ingeniería, por su apoyo en el equipo de Absorción Atómica.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico para la realización de este proyecto.

RICOH por la impresión de esta tesis.

Índice en general

	Página
Hoja de aprobación de tesis	II
Dedicatorias	III
Agradecimientos	IV
Índice general	V
Índice de figuras	X
Índice de tablas	XII
Nomenclatura	XIII
Resumen	XIV

Contenido

Introducción	1
CAPÍTULO 1. Antecedentes de las nanopartículas de ZnS y su recuperación de agua residuales a partir de procesos biológicos	3
1.1 ZINC	3
1.1.1. Toxicidad del zinc	3
1.1.2. Producción y aplicaciones del zinc	4
1.1.3. Química del zinc en soluciones acuosas.....	5
1.1.4. Concentración de zinc presente en el agua	7
1.1.5. Caso de estudio, aguas ácidas de mina	8
1.2 TÉCNICAS EMPLEADAS PARA LA REMOCIÓN DE ZINC EN EL AGUA.....	9
1.2.1. Procesos biológicos	9
1.2.2. Digestión anaerobia	9
1.2.3. Proceso de sulfato-reducción.....	11
1.2.4. Proceso metanogénico.....	13
1.3 REACTORES ANAEROBIOS	14
1.3.1. Reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB).....	14
1.3.2. Reactor de lecho fluidificado inverso (LFI)	15

1.3.3.	Eliminación de metales a partir de la reducción del potencial REDOX por bacterias anaerobias.....	16
1.4	TEORÍA DE LAS BANDAS	17
1.4.1.	Semiconductores.....	17
1.4.2.	Tipos de semiconductores.....	18
1.5	NANOTECNOLOGÍA	21
1.5.1.	Propiedades de las nanopartículas	22
1.5.2.	Técnicas para la síntesis de nanopartículas	23
1.5.3.	Síntesis química de nanopartículas.....	24
1.5.4.	Agente estabilizante polivinilpirrolidona (PVP).....	26
1.5.5.	Síntesis biológica de nanopartículas a partir de bacterias	26
1.6	TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....	26
1.6.1.	Microscopio electrónico de transmisión.....	27
1.6.2.	Microscopio electrónico de barrido (MEB)	27
1.6.3.	Difracción de rayos X (DRX).....	28
1.6.4.	Espectroscopia de UV-Vis.....	28
1.6.5.	Espectroscopia infrarroja (FT - IR).....	28
1.6.6.	Aplicaciones.....	29
1.6.7.	Nanopartículas semiconductoras de sulfuro de zinc (ZnS)	30
1.7	JUSTIFICACIÓN.....	32
1.8	OBJETIVOS	32
1.8.1.	Objetivo general.....	32
1.8.2.	Objetivos específicos.....	33
CAPÍTULO 2.	Materiales y métodos para la síntesis de nanopartículas de ZnS y eliminación de diversos metales a partir de bacterias anaerobias	34
2.1	MATERIALES	34
2.1.1.	Reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB).....	34
2.1.2.	Inóculo del reactor UASB	35
2.1.3.	Medio mineral de alimentación del reactor UASB.....	35
2.1.4.	Reactor anaerobio de lecho fluidificado inverso (LFI).....	35
2.1.5.	Inoculo del reactor LFI.....	35
2.1.6.	Medio mineral de alimentación del reactor LFI	36
2.1.7.	Solución de elementos traza	36
2.2	MÉTODOS.....	36

2.2.1.	Síntesis de nanopartículas de ZnS a partir de sulfuro biogénico	36
2.2.2.	Obtención de espectro UV-Vis	37
2.2.3.	Determinación de energía de banda prohibida	38
2.2.4.	Proceso de lavado de nanopartículas de ZnS.....	39
2.2.5.	Determinación de espectro FT-IR.....	39
2.2.6.	Obtención de micrografías	40
2.2.7.	Pruebas en lote para el desarrollo de nanopartículas de ZnS y su desaglomeración	40
2.2.8.	Técnicas (lavados) para la desaglomeración de nanopartículas de ZnS	41
2.2.9.	Caracterización de un agua de proceso real proveniente de la industria minera	41
2.2.10.	Precipitación de metales de un efluente real con medio metanogénico y la formación de nanopartículas de ZnS a partir de un medio sulfidogénico	41
2.2.11.	Eliminación de diversos metales a partir de su reducción con bacterias metanogénicas en pruebas en lote	42
2.2.12.	Preparación de nanopartículas de ZnS de un agua real a partir de lodo granular sulfatorreductor en pruebas lote	43
2.2.13.	Eliminación de diversos metales y recuperación de nanopartículas de un agua industrial real a partir de bacterias anaerobias en un sistema continuo	43
2.3	ANÁLISIS	45
2.3.1.	Seguimiento del desempeño de los reactores.....	45
2.3.2.	Determinación de sólidos suspendidos volátiles	45
2.3.3.	Determinación de pH y alcalinidad	45
2.3.4.	Determinación potencial de oxidación – reducción.....	46
2.3.5.	Determinación de DQO	46
2.3.6.	Determinación de sulfuro disuelto por el método Cord-Rewisch	46
2.3.7.	Determinación de sulfatos	47
2.3.8.	Determinación de zinc.....	47
2.3.9.	Caracterización muestra real proveniente de la industria minera	47
2.4	CÁLCULOS.....	48
2.4.1.	Actividad Sulfato Reductora.....	48
2.4.2.	Actividad metanogénica específica.....	48
2.4.3.	Eficiencia de remoción de DQO.....	48
2.4.4.	Determinación de la alcalinidad por bicarbonato.....	48
2.4.5.	Determinación de la alcalinidad total	49
2.4.6.	Eficiencia de conversión de sulfatos	49

2.4.7.	Determinación de sólidos suspendidos volátiles	49
2.4.8.	Determinación de la energía de banda prohibida (band gap)	50
2.4.9.	Eficiencia de remoción de Zinc.....	51
2.4.10.	Determinación de la cantidad de metales eliminados en un agua real proveniente de la industria minera a partir de bacterias anaerobias	51
2.4.11.	Balance de masa de los sulfuros de zinc precipitados	52
CAPÍTULO 3. Evaluación de la formación de nanopartículas de ZnS a partir de bacterias sulfatorreductoras de un agua residual sintética		
	2	53
3.1 SINTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ZnS A PARTIR DE SULFURO BIOGÉNICO PRODUCIDO POR LAS BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS.....		
	3.1.1. Caracterización de las nanopartículas de ZnS por UV-Vis.....	53
	3.1.2. Banda de energía prohibida (band gap).....	54
	3.1.3. Caracterización TEM de las nanopartículas de ZnS.....	55
CAPÍTULO 4. Evaluación de síntesis de nanopartículas de ZnS a partir de bacterias sulfatorreductoras en pruebas en lote		
	3.....	58
4.1 BACTERIAS SULFAORREDUCTORAS EXPUESTAS A PVP, ZN, ZN- PVP Y ZN-PVP-S		
	4.1.1. Desempeño del pH, ORP, DQO y SO_4^{2-} en el lodo sulfatorreductor.....	60
	4.1.2. Caracterización por UV-Vis de las nanopartículas de ZnS.....	62
	4.1.3. Técnicas de lavados para la recuperación de nanopartículas de ZnS	64
	4.1.4. Caracterización por TEM	66
CAPÍTULO 5. Eliminación de diversos metales y recuperación de nanopartículas de un agua residual real a partir de bacterias anaerobias en pruebas en lote y en un sistema continuo		
	4	67
5.1 EVALUACIÓN DE LA PRECIPITACIÓN DE METALES DE UN AGUA RESIDUAL REAL A PARTIR DE LAS BACTERIAS METANOGÉNICAS.....		
	5.1.1. Caracterización del precipitado.....	70
	5.1.2. Caracterización por UV-vis de las nanopartículas de ZnS	71
5.2 ELIMINACIÓN DE DIVERSOS METALES Y RECUPERACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE UN AGUA RESIDUAL REAL A PARTIR DE BACTERIAS ANAEROBIAS EN PRUEBAS EN LOTE		
	5.2.1. Evaluación del efecto tóxico sobre lodo granular metanogénico expuesto a diferentes diluciones de un agua residual	71
	5.2.2. Desempeño del pH, ORP, DQO y Zn en el lodo metanogénico	72

5.2.3.	Evaluación del efecto tóxico del lodo granular sulfatorreductor expuesto a una solución real con diversos metales	74
5.2.4.	Cambios en el pH, ORP, DQO y SO ₄ ²⁻ en el lodo sulfatorreductor.....	75
5.2.5.	Caracterización por UV-Vis de las nanopartículas de ZnS.....	76
5.2.6.	Caracterización por MEB de las nanopartículas.....	77
5.3	TRATAMIENTO DE UN AGUA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA MINERA A PARTIR DE BACTERIAS ANAEROBIAS EN UN REACTOR UASB Y LFI	78
5.3.1.	Desempeño del reactor UASB	78
5.3.2.	Desempeño del reactor LFI	80
5.3.3.	Resultados de la salida del agua real del reactor UASB y LFI por Espectroscopía de plasma ICP-OES	83
5.3.4.	Caracterización DRX del precipitado obtenido del reactor UASB y LFI.....	85
5.3.5.	Caracterización por espectroscopia UV-Vis del efluente del reactor LFI.....	87
5.3.6.	Caracterización por MEB del lodo sulfatorreductor del reactor LFI	88
	CONCLUSIONES	91
	REFERENCIAS.....	92

Índice de Figuras

Figura 1. 1 Usos industriales del zinc (ILZSG, 2019)	5
Figura 1.2 Diagrama de Pourbaix de zinc en solución acuosa (Eh-pH) (Outokumpu, Researcho OY, Finlandia).....	6
Figura 1. 3 Diagrama de la digestión anaerobia de la materia orgánica, modificado (Metcalf y Eddy, 1996).	10
Figura 1.4 Esquema de un reactor UASB.....	15
Figura 1.5 Representación general de las bandas de energía.....	17
Figura 1.6 Modelo de semiconductor intrínseco	18
Figura 1.7 Semiconductores intrínsecos movimiento de los electrones libres.....	19
Figura 1.8 Modelo de semiconductor extrínseco tipo N.....	20
Figura 1.9 Modelo de semiconductor extrínseco tipo P	21
Figura 1.10 Escala de tamaño de los objetos (Takeuchi N. 2009).....	22
Figura 1.11 Esquema de los métodos de síntesis de nanopartículas.....	24
Figura 1. 12. Representación esquemática de la formación de nanopartículas metálicas empleando un agente estabilizante	25
Figura 1. 13. Aplicaciones de la nanotecnología	30
Figura 1. 14. Estructuras cristalinas del ZnS: a) cúbica tipo blenda de zinc y b) hexagonal tipo wurzita.....	31
Figura 1. 15 Espectro UV-Vis para nanopartículas de: a) ZnS, b) ZnS ₂ y c) ZnS ₃ con respecto a la absorbancia (Borah et al., 2008).	32
Figura 2. 1 Esquema general de un reactor UASB.....	34
Figura 2. 2. Diagrama del reactor LFI. 1) Influyente, 2) bomba peristáltica de alimentación, 3) bomba peristáltica de recirculación, 4) Lecho fluidificado, 5) biopelícula, 6) salida de biogás, 7) separador de fases y ajustador del nivel de agua de la columna, 8) Efluente.	36
Figura 2. 3. Representación gráfica de una síntesis de nanopartícula. a) Solución uno, b) Solución dos.	37
Figura 2. 4. Sistema de reacción para la síntesis de nanopartículas de ZnS a partir de BSR	38
Figura 2. 5. Espectro UV-Vis con trazo de línea para determinar la energía de banda prohibida (Nowak et al., 2009)	38
Figura 2. 6. Proceso de lavado de nanopartículas de ZnS.....	39
Figura 2. 7. a) Medio metanogénico en contacto con muestra real y como resultante formación de un precipitado. b) Separación del medio líquido resultante para análisis de muestra por ICP-OES. c) Precipitado seco final resultante para análisis por DRX.....	42
Figura 2. 8. Esquema general de reactores en sistema continuo. 1) Reactor UASB con lodo granular metanogénico, 2) Reactor LFI con biopelícula sulfidogénica	45

Figura 3. 1 Espectro UV-Vis de la síntesis biológica de las nanopartículas de ZnS	54
Figura 3. 2. Trazo de línea imaginaria para el espectro UV-Vis de las nanopartículas de ZnS.....	55
Figura 3. 3. Micrografía por TEM de las nanopartículas de ZnS preparadas por síntesis biológica..	56
Figura 3. 4. Análisis químico EDS de las nanopartículas de ZnS a partir de una síntesis biológica ...	56
Figura 4. 1. Velocidad de producción de sulfuros en lodo granular sulfatorreductor en pruebas en lote expuestas a) PVP y a diferentes concentraciones de zinc: b) 300 mg/L (Zn, Zn-PVP, Zn-PVP-S), c) 500 mg/L (Zn, Zn-PVP, Zn-PVP-S), d) 1000 mg/L (Zn, Zn-PVP, Zn-PVP-S).....	59
Figura 4. 2 UV-Vis de las soluciones en pruebas en lote: a) 300 mg/L de Zn, b) 500 mg/L de Zn, c) 1000 mg/L de Zn.....	63
Figura 4. 3 Lavado de nanopartículas de ZnS con alcohol isopropilico y sonicador	65
Figura 4. 4 Lavado de nanopartículas de ZnS con alcohol isopropilico y vortex.....	65
Figura 4. 5 Imagen de TEM-EDS de nanopartículas de ZnS obtenidas a partir de bacterias sulfatorreductoras en pruebas en lote	66
Figura 5. 1 a) Muestra real proveniente de la industria minera; b) Muestra final con alto porcentaje de remoción de metales al estar en contacto con medio metanogénico.	69
Figura 5. 2 Síntesis de nanopartículas de ZnS con sulfuro biogénico. a) Muestra sintética; b) Muestra real.....	69
Figura 5. 3 Difractograma de rayos X obtenido del secado de la muestra real proveniente de la industria minera.....	70
Figura 5. 4 DRX del precipitado final, obtenido del resultado la muestra real en contacto con medio mineral metanogénico.	71
Figura 5. 6 Velocidad de producción de CH ₄ de las pruebas en lote.....	72
Figura 5. 7 Velocidad de producción de sulfuros de las pruebas en lote.....	75
Figura 5. 8 Caracterización por espectroscopia UV-Vis de las pruebas en lote con BSR	77
Figura 5. 9 Caracterización por MEB-EDS de nanopartículas de ZnS de las pruebas en lote.....	78
Figura 5. 10 Desempeño del reactor UASB con respecto al tiempo de operación con 10% de concentración de muestra real de industria minera. a) ORP (); b) Carga orgánica aplicada al reactor DQO (), % de remoción de DQO (), c) pH afluente (---), pH efluente (), Alcalinidad por bicarbonato ().....	79
Figura 5. 11 Desempeño de la biopelícula en el reactor LFI expuesto a diferentes concentraciones de Zn. a) ORP (); b) Carga de DQO (), Remoción de DQO (), c) pH afluente (--), pH efluente (), Alcalinidad por bicarbonato (), d) velocidad de producción de H ₂ S () y eficiencia de remoción de sulfato ().	82
Figura 5. 12 Efluente del reactor LFI	85
Figura 5. 13 Difractograma del lodo metanogenico y precipitados obtenidos del reactor UASB.....	86
Figura 5. 14 Difractograma de rayos X del sólido proveniente del fondo cónico del reactor LFI.....	87
Figura 5. 15 Espectro UV-Vis del efluente del reactor LFI.....	88

Figura 5. 16 a) Micrografía por MEB de lodo proveniente del reactor LFI, b) Espectro EDS	89
Figura 5. 17 a) Micrografía por MEB de materiales de ZnS proveniente del reactor LFI, b) Espectro EDS	90

Índice de Tablas

Tabla 1.1. Productos de solubilidad de distintos compuestos de zinc (Chang, 2016).	6
Tabla 1. 2. (D. O. F., 2003) Límites máximos permisibles de la calidad de agua en México	8
Tabla 1. 3. Reacciones de la degradación de la materia orgánica por BSR (modificado de Gallegos et al. 2010).....	12
Tabla 1. 4. Potenciales estándar de reducción a 25° C	16
Tabla 2. 1. Análisis del agua real proveniente de la industria minera por ICP-OES	41
Tabla 4. 1. Parámetros iniciales y finales de las soluciones de pruebas en lote	62
Tabla 4. 2 Resultados de las intersecciones de las tangentes (λ) y banda prohibida (eV) de las soluciones de pruebas en lote.	64
Tabla 5. 1 Porcentaje de remoción de metales de la muestra real en contacto con el medio metanogénico y sulfidogénico.	68
Tabla 5.2 Parámetros de pH, ORP entrada y salida y % de remoción de DQO de las soluciones de pruebas en lote.	73
Tabla 5. 3 Parámetros iniciales y finales de pH, ORP y % de remoción de DQO, sulfato, Cd y Zn	76
Tabla 5.4 Intersecciones de tangentes y banda prohibida de las pruebas en lote	77
Tabla 5.5 Desempeño del lodo metanogénico expuesta a muestra real de la industria minera al 10% en un reactor UASB.	80
Tabla 5.6. Desempeño de la biopelícula expuesta a el 10% de muestra real en un reactor LFI operando en continuo bajo condiciones de sulfato reducción.....	83
Tabla 5.7. Concentraciones iniciales y finales del reactor y porcentaje de remoción del reactor LFI	84

Nomenclatura

BSR	Bacterias sulfato reductoras
Band gap	Banda prohibida
BM	Bacterias metanogénicas
CH ₄	Metano
DQO	Demanda química oxígeno
DQO/SO ₄ ²⁻	Relación demanda química de oxígeno/Sulfato (g/g)
DRX	Difracción de Rayos X
EDS	Espectroscopia de energía dispersa
FT-IR	Espectrometría infrarroja
H ₂ S	Sulfuro
HCO ₃	Bicarbonato
LFI	Lecho fluidificado inverso
MEB	Microscopía electrónica de barrido
MET	Microscopía electrónica de transmisión
ORP	Potencial óxido-reducción
PVP	Polivinilpirrolidona
SO ₄ ²⁻	Sulfato
SVI	Sólidos volátiles inmovilizados
TRH	Tiempo de retención hidráulica
UASB	Lecho de lodo anaerobio de flujo ascendente
Zn	Zinc
Zn-PVP	Zinc y polivinilpirrolidona
Zn-PVP-S	Zinc, polivinilpirrolidona y sonicador
ZnS	Sulfuro de zinc

RESUMEN

La contaminación del agua por metales pesados proveniente principalmente de las industrias minero-metalúrgica y metal-mecánica, entre otras, es importante debido a su impacto en la salud pública, el medio ambiente y finalmente en la economía. Los procesos de digestión anaerobia constituyen en la actualidad una de las tecnologías de tratamiento biológico más útiles y eficientes para el tratamiento de aguas, son conocidos por sus múltiples beneficios, tales como la eliminación de materia orgánica, recuperación de metales en su forma elemental, y/o su precipitación como sulfuros metálicos. El objetivo general de este trabajo fue estudiar las condiciones óptimas para la obtención de nanopartículas de ZnS de un agua de proceso de la industria minera, mediante sistemas anaerobios. Con el fin de proponer una alternativa biológica y económicamente viable para la recuperación y reutilización del metal y el agua.

En primera instancia se estudió la síntesis biológica de nanopartículas de ZnS a partir de bacterias sulfato reductoras (BSR), en donde se estudió su capacidad para producir sulfuro biogénico (H_2S) como agente-precipitante. Para la síntesis se utilizó una solución de 850 mg de H_2S/L y se mezcló con 800 ppm de Zn(II) y polivinilpirrolidona (PVP), como agente estabilizante. La suspensión de nanopartículas se analizó cada 15 min durante 5h por espectrofotometría UV-Vis, para estudiar la variación de tamaño de partícula y su estabilidad. Los espectros de absorción de la muestra obtenidos a diferentes tiempos fueron similares y los bordes de absorción se encuentran en promedio en 340 nm, lo que indica la formación de partículas de ZnS estables. El análisis por microscopía e... (MET) muestra nanopartículas aglomeradas con un tamaño entre 15 y 25 nm.

En segunda instancia se evaluó la capacidad de las BSR de generar iones sulfuro en presencia de diferentes concentraciones de Zn, se realizaron 3 diferentes series de pruebas en lote con lodo sulfidogénico expuesto a: 1) 300, 500 y 1000 ppm de Zn; 2) 300, 500 y 1000 ppm de Zn y se les añadió PVP (Zn-PVP) y 3) 300, 500 y 1000 ppm de Zn + PVP y se mezcló con sonicador (Zn-PVP-S). Los resultados obtenidos de las tres pruebas en lote de 300 y 500 ppm Zn, Zn-PVP y Zn-PVP-S no presentaron ningún efecto adverso sobre las BSR, en cambio, durante las pruebas de 1000 ppm de Zn las BSR fueron inhibidas ya que no fueron capaces de remover la materia orgánica. Para las pruebas de 1000 ppm Zn-PVP y Zn-PVP-S, la adaptación de las BSR al medio fue más lenta, ya que iniciaron la producción de sulfuro hasta las 2000 horas con 120 y 380 mg/L de H_2S , respectivamente. Lo que nos indica que las BSR son capaces de adaptarse a concentraciones de hasta 1000 ppm de Zn. Cada una de las pruebas se analizó por UV-vis, el precipitado recuperado se lavó por diversos métodos para eliminar la materia orgánica y desaglomerar las partículas, el precipitado se caracterizó por TEM. Los resultados del análisis espectrofotométrico demuestran efectos de confinamiento cuántico característicos de semiconductores, con una distribución de tamaños de partícula en escala nanométrica en todas las muestras, excepto para las de 300 ppm ya que no se presenta el hombro a 300 nm, lo que nos indica que las partículas de ZnS son más grandes. Las curvas de absorbancia de UV-Vis indicaron que los valores de energía de banda prohibida fueron mayores en las muestras de Zn-PVP-S (3.5, 3.6 y 3.3 eV). El análisis por TEM mostró

que el lavado de las muestras con alcohol isopropílico y agitación con vórtex ayudan a la eliminación de la materia orgánica y la desaglomeración de las nanopartículas.

Posteriormente, se estudió la eliminación de metales, reducción de sulfato y precipitación de ZnS de un agua real con medio reducido por bacterias anaerobias. Se utilizó una solución con distintas concentraciones de metales pesados (Al, As, B, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Si, Sr, Ti y Zn), esta muestra de agua se mezcló con medio reducido (con un potencial óxido reducción de -250 mV), proveniente de un consorcio de bacterias metanogénicas (BM). Después de 5 minutos, se realizó una síntesis de nanopartículas de ZnS con el líquido resultante del experimento anterior, y se mezcló con una solución con sulfuro biogénico (proveniente de BSR) como agente precipitante y PVP como agente estabilizante. En ambas pruebas se analizó el líquido por ... (ICP-OES) y el precipitado se caracterizó por DRX. Los resultados del análisis por ICP-OES en la primera prueba indican la remoción de metales de entre 70 y 100%, a excepción del Zn el cual solo fue removido en un 14%. En la segunda prueba la eficiencia de remoción de Zn fue de un 99%, lo que nos indica que el metal fue precipitado como un sulfuro metálico. El espectro de adsorción por UV-vis nos corrobora la presencia de partículas de ZnS.

Como segunda parte de este experimento, se evaluó el efecto tóxico de la solución real con metales, sobre el lodo granular metanogénico, que se expuso a diferentes diluciones de agua residual (1, 2, 4, 5 y 10%) en pruebas en lote. Los resultados indicaron que no hubo inhibición de la actividad metabólica de las BM, pues estas no dejaron de producir metano, obteniéndose producciones del gas de 20, 17, 10, 6 y 5 mL, para cada una de las concentraciones de solución de metales, respectivamente. Una vez evaluada la muestra problema con las BM, el medio acuoso resultante se puso en contacto con BSR y PVP. Los resultados indicaron que las BSR no tuvieron ningún efecto adverso al estar en contacto con las diferentes concentraciones de muestras problema, pues la producción de H₂S fue de 200, 300, 350, 500 y 530 mg/L, para las concentraciones de 1, 2, 4, 5 y 10%, respectivamente. Las suspensiones obtenidas, se caracterizaron por espectrofotometría UV-Vis y microscopía e... (MEB), que mostraron la presencia de aglomerados de nanopartículas ZnS.

Finalmente, un agua de proceso conteniendo diferentes metales, diluida al 10%, fue sometida a un proceso de tratamiento en un sistema continuo de reactores anaerobios. Se utilizó un reactor ... (UASB) con BM, y un reactor ... (LFI) con biopelícula sulfatorreductora, los cuales operaron a un ... (TRH) de 1d en continuo. Los resultados obtenidos después del tratamiento del agua demostraron que el reactor UASB fue eficiente, pues se obtuvo un medio reducido (ORP negativo), un 50% de remoción de DQO, y remociones altas de metales de hasta 100% de Cu, 75% de As, 61% de Cd y 50% de Zn, entre otros. En cuanto a los resultados del reactor LFI con biopelícula sulfidogénica, mostraron que la presencia de metales no afectó a los microorganismos presentes en la biopelícula. Se obtuvieron porcentajes de remoción de DQO de un 50% en promedio, mientras que la remoción de metales alcanzó hasta un 90% de Zn y 92% de Cd. La caracterización de los precipitados recuperados de cada reactor se llevó a cabo por difracción de rayos X (DRX) y MEB, corroborando la presencia de CdS y ZnS. Estos resultados sugieren la utilización de reactores anaerobios como un tratamiento eficiente para la descontaminación de aguas residuales

con metales, permitiendo su descontaminación y reúso, para un mayor aprovechamiento del recurso.

Introducción

La contaminación del medio ambiente es un problema importante que el mundo enfrenta hoy en día. Originando así problemas en uno de los recursos naturales más importantes para la humanidad: el agua. Muchos de los avances tecnológicos logrados desde la revolución industrial sirvieron para explotar en mayor cantidad los recursos acuíferos, en donde, este último siglo ha surgido un gran crecimiento económico, y también demográfico, pero a costa de una exigencia de mayores cantidades de agua, lo que ha provocado una intensa explotación y el poco o nulo cuidado, lo que ha puesto en riesgo la disponibilidad del recurso en un horizonte cercano.

Los contaminantes del agua pueden ser residuos sólidos, líquidos o gaseosos; materia tóxica, microorganismos infecciosos, desechos radioactivos, etc., estas sustancias dan al agua propiedades como corrosividad, incrustabilidad, mal olor, toxicidad, mala apariencia y mal sabor. Los productos químicos como los plaguicidas, fertilizantes y detergentes, causan alteraciones que pueden llegar a alcanzar gran peligrosidad. Otros contaminantes dañinos son los metales pesados como el mercurio, el cadmio, el plomo, el arsénico, el cromo, etc., que provocan graves enfermedades.

Por todo esto, surge una gran necesidad para proteger el medio ambiente. Unas de las formas de evitar y resolver la problemática de contaminación son:

1. Detectar y monitorear las fuentes de contaminantes.
2. Reducir los residuos durante la producción industrial.
3. Descontaminación de las fuentes contaminadas.

Los metales pesados que están presentes en aguas residuales dependen de una combinación de diversos factores, uno de ellos es la localización geográfica. Si bien el zinc es necesario para diversas actividades antropogénicas (como suplemento alimenticio, en productos domésticos, para el galvanizado de acero y para la fabricación de pilas), la realidad es que también genera contaminación en las aguas.

Dado esto, surgen propuestas de restauración de aguas contaminadas a condición de reúso, en donde se establece como objetivo disminuir la movilidad de materiales potencialmente tóxicos para todo organismo vivo. No obstante, algunas propuestas recientes presentan serios inconvenientes de nivel económico y de impacto ambiental. Últimamente han surgido varios métodos para llevar a cabo la recuperación de metales, uno de ellos es mediante la síntesis de nanopartículas (NP), donde

surge un nuevo enfoque de los materiales, desarrollando un nivel tecnológico alto que está impulsando tecnologías de gran potencialidad, ya que tienen diversas aplicaciones debido a la mejora significativa de sus propiedades eléctricas, luminiscentes, fotoeléctricas, etc., generadas por su tamaño y forma.

Las nanopartículas de ZnS son materiales avanzados semiconductores ampliamente utilizados en glucómetros para diabéticos, pHmetros de laboratorio, sensores de radiación UV, entre muchos otros usos. En la búsqueda por hacer más eficiente y económico el proceso de fabricación de estas estructuras, se está explorando el uso de organismos vivos, con los cuales se pretende remplazar las herramientas de alta tecnología que se usan actualmente (Takeuchi, 2009). Esta alternativa se enfoca en la biosíntesis de NPs de ZnS mediante un proceso biológico de sulfato-reducción a partir de bacterias anaerobias para la recuperación de metales de las aguas residuales, proceso basado en la oxidación del sustrato orgánico presente en el agua residual, y la reducción del sulfato a sulfuro de hidrógeno (Gallegos, 2009).

CAPÍTULO 1. Antecedentes de las nanopartículas de ZnS y su recuperación de agua residuales a partir de procesos biológicos

1.1 ZINC

Descubierto en el siglo XIII en India, el zinc es un elemento químico con número atómico 30 y peso atómico 65.4 g/mol, situado en el grupo 12 y periodo 4 de la tabla periódica. Su estructura cristalina es hexagonal y su configuración electrónica es $[Ar]3d^{10}4s^2$ (Segovia - Sandoval, 2014). Es un metal blanco azulado, lustroso, que arde en aire con llama verde azulada, uno de los más abundantes en la corteza terrestre. Está presente, no solo en las rocas y suelos, sino también en el aire, agua, las plantas, animales y seres humanos. Se denomina elemento esencial porque se encuentra en los procesos biológicos de todos los organismos vivos. Una ingesta adecuada de zinc genera un correcto funcionamiento del sistema inmunológico, reproducción, los sentidos del gusto y del olfato, entre muchos otros. El zinc contribuye de múltiples formas al logro de una mejor calidad de vida, ya que es un elemento natural que la humanidad ha venido utilizando extensamente a lo largo de la historia. Se emplea en varias formas médicas y farmacéuticas, como ejemplo están los vendajes, tabletas antigripales, tratamiento para la piel, tratamiento en quemaduras y heridas, champús y cosméticos (ZINC. International Zinc Association, 2017).

1.1.1. Toxicidad del zinc

A este metal no se le atribuye nivel de clasificación de riesgo para el agua, porque no hay un gran peligro ambiental. No obstante, esto sólo se refiere al zinc elemental, ya que algunos derivados del zinc, como el cianuro de zinc y arseniato de zinc, pueden ser extremadamente peligrosos. El zinc es un mineral nutricional esencial para funciones catalíticas, estructurales, y regulatorias en el cuerpo humano, la ingestión de cantidades excesivas, pueden perjudicar la salud, por encima de cierto nivel resulta ser tóxico.

El cuerpo humano contiene aproximadamente 2.3 g de zinc, el cual tiene un valor alimenticio como elemento traza. La ingesta diaria recomendada por la Junta de Alimentos y Nutrición (FNB por sus siglas en inglés) del Instituto de los Estados Unidos para hombres y mujeres es de 11 mg/día y 8 mg/día, respectivamente. El consumo a largo plazo de zinc en exceso del nivel máximo de ingesta tolerable (40 mg/día para adultos) puede provocar

deficiencia de cobre. La carencia del zinc puede afectar al sistema inmunológico y enzimático (Prasad et al., 2014). Puede darse que las personas absorban sobredosis de zinc, aunque esto no suele ser muy frecuente. Síntomas como náuseas, vómitos, diarreas, cólicos y fiebre se dan tras consumos de 4-8 g de zinc. Algunos ejemplos en la salud atribuidos al zinc son los consumos de 2 g de Sulfato de zinc que provocan toxicidad aguda con síntomas como dolor de estómago y vómitos, 3-5 g de cloruro de zinc provoca infección de las mucosas y envenenamiento por vitriolo (Lenntech, 2016).

1.1.2. Producción y aplicaciones del zinc

De acuerdo con la Asociación Internacional de Zinc (IZA) cerca de 12 millones de toneladas de zinc son producidas anualmente en el mundo (ZINC. International Zinc Association, 2017). En México, la producción anual de zinc en el 2015 fue de 38 575 toneladas (INEGI, 2014). El metal tiene muchos usos en la industria. Un uso común es para revestir hierro y otros metales con el objeto de prevenir el enmohecimiento y la corrosión; este proceso se conoce como galvanización, y la capacidad que tiene en fundirse en distintos componentes lo hace indispensable en una multitud de productos industriales y para su uso doméstico, así como para la construcción, en productos químicos y en productos farmacéuticos, constituyéndose como un elemento nutritivo esencial. En la Figura 1.1, se muestran los principales usos del zinc, que, además es usado den la industria aeroespacial para misiles y cápsulas espaciales, fabricación de piezas de automóviles, herramientas de maquinaria ligera, equipos electrónicos, juguetes, artículos ornamentales y compuestos de zinc como cloruro de zinc, sulfuro de zinc, sulfato de zinc y óxido de zinc (ZINC. International Zinc Association, 2017).

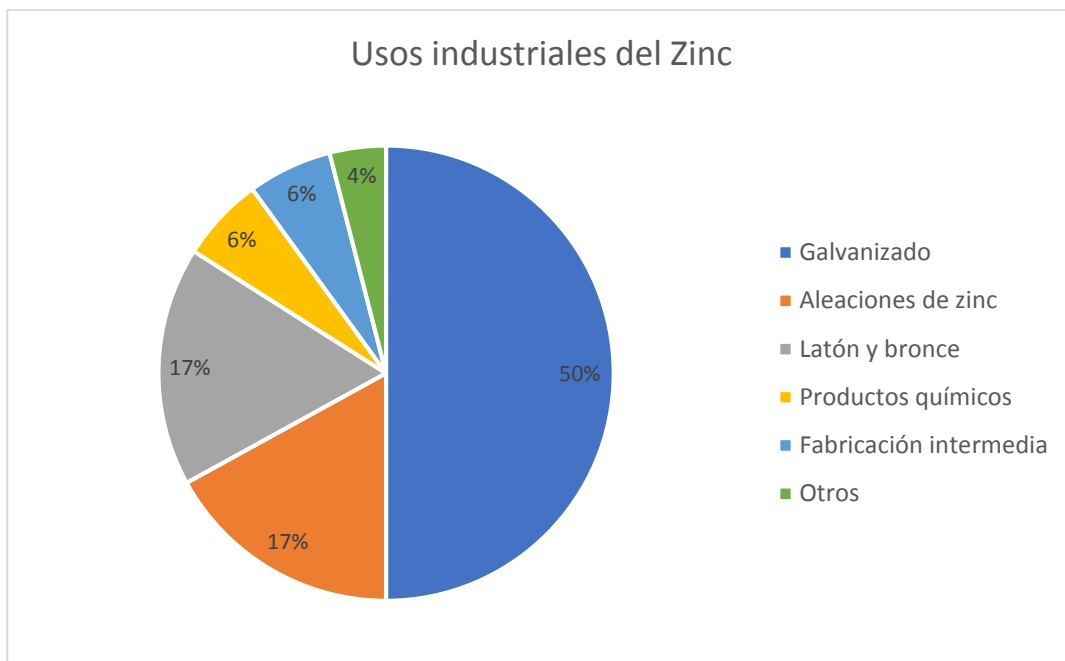


Figura 1. 1 Usos industriales del zinc (ILZSG, 2019)

1.1.3. Química del zinc en soluciones acuosas

El zinc en sistemas acuáticos habitualmente se encuentra en estado de oxidación (II). El Zn^{2+} es un catión inorgánico ligeramente ácido, estable en medio acuoso, como se presenta en la Figura 1.2, donde se muestra un diagrama de especiación, se ve afectado por el potencial oxido reducción (ORP) contra pH, así mismo, se observa que el H_2S reacciona con iones metálicos en solución, en presencia de zinc forma un sulfuro metálico de baja solubilidad, para este caso en la forma de ZnS , que se obtiene a partir de potenciales menores -0.300 V y pH de 6.5, favoreciendo la formación de dichos precipitados.

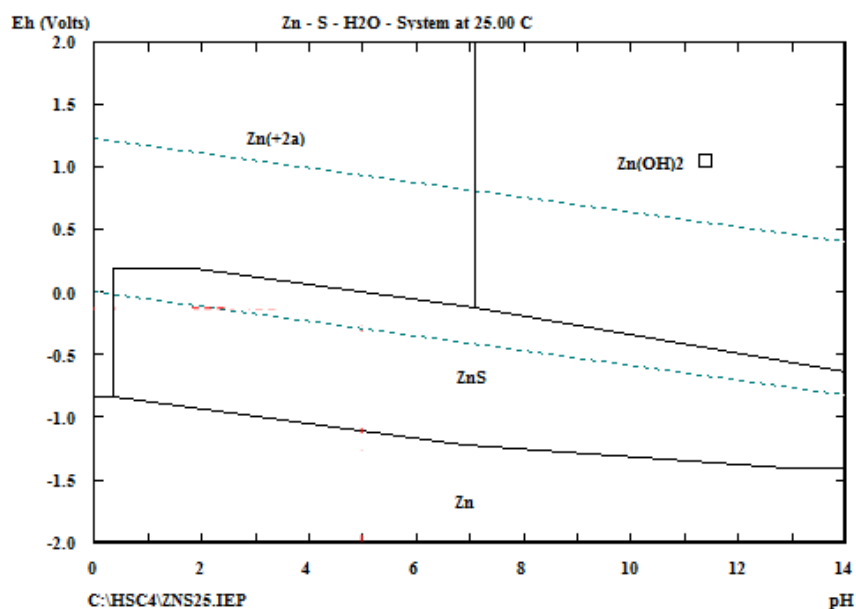


Figura 1.2 Diagrama de Pourbaix de zinc en solución acuosa (Eh-pH) (Outokumpu, Researcho OY, Finlandia).

Tabla 1.1. Productos de solubilidad de distintos compuestos de zinc (Chang, 2016).

Compuesto	Fórmula	K_{ps}	Notas
Carbonato de zinc	ZnCO ₃	1×10^{-10}	
Hidróxido de zinc	Zn (OH) ₂	3×10^{-16}	Amorfo
Oxalato de zinc	ZnC ₂ O ₄	8×10^{-9}	
Sulfato de zinc	ZnSO ₄	---	No precipita
Sulfuro de zinc	ZnS	2×10^{-25}	α
	ZnS	3×10^{-23}	B

La concentración del zinc en solución está dada por el producto de solubilidad (K_{ps}) de sus compuestos. Las sales de zinc (carbonatos, hidróxidos y sulfuros) son muy poco solubles en agua como se muestra en la Tabla 1.1. Esta información puede ser utilizada para poder predecir la formación de precipitados a condiciones específicas (Borja - Maldonado, 2013).

1.1.4. Concentración de zinc presente en el agua

El origen de los metales que se encuentran en el ambiente se divide en dos categorías principalmente: antropogénico y natural. Los metales encontrados en las aguas residuales pueden provenir de las siguientes fuentes:

1. Aguas residuales domésticas.
2. Aguas residuales industriales.
3. Efluentes agotados o de escurrimiento de procesos industriales.
4. De la atmósfera.
5. De la litosfera.

Las descargas domésticas e industriales son las dos fuentes más importantes de origen antropogénico. El zinc se presenta de forma natural en el agua. La medida de concentración de zinc presente en el agua de mar es de 0.6 - 5ppb, los ríos contienen generalmente entre 5-10 ppb de zinc, las algas de 20-700 ppm, los peces de mar y conchas 3-25 ppm, las ostras 100-900 ppm y las langostas 7-50 ppm. La Organización Mundial para la salud, estableció como límite máximo permisible 5 mg Zn²⁺/L (ZINC. International Zinc Association, 2017).

En México se han aprobado una serie de normas con la finalidad de proteger al ambiente y la salud humana. Estas normas establecen los límites máximos permisibles de los contaminantes en el agua para consumo humano y residual. En la Tabla 1.2 muestran los límites máximos permisibles de zinc para distintos tipos de agua.

La Norma Oficial Mexicana, NOM-001-SEMARNAT-1996 (D. O. F., 2003) establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

La Norma Oficial Mexicana, NOM-002-SEMARNAT-1996 (D. O. F., 2003), establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.

La Norma Oficial Mexicana, NOM-127-SSA1-1994 (D. O. F., 2000), "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad y tratamientos a

que debe someterse el agua para su potabilización” indica los límites máximos permisibles de la calidad y tratamientos de potabilización del agua para uso y consumo humano que debe cumplir los sistemas de abastecimientos públicos y privados.

Tabla 1. 1. (D. O. F., 2003) Límites máximos permisibles de la calidad de agua en México

Norma	Límites máximos permisibles para el Zn (II)															
NOM-001-SEMARNAT-1996	Ríos						Embalses naturales y artificiales				Aguas costeras					
	Uso en riego agrícola		Uso público urbano		Protección de la vida acuática		Uso en riego agrícola		Uso público urbano		Explotación pesquera, navegación y otros usos		Recreación		Estuario	
	(mg/L)		(mg/L)		(mg/L)		(mg/L)		(mg/L)		(mg/L)		(mg/L)		(mg/L)	
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.
	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20
NOM-002-SEMARNAT-1996	Parámetros (miligramos por litro, excepto cuando se especifique otra)															
	Promedio mensual						Promedio diario				Instantáneo					
	6						9				12					
NOM-127-SSA1-1994	Límite permisible (mg/L)															
	5															

P.D.= Promedio Diario, P.M.= Promedio Mensual

1.1.5. Caso de estudio, aguas ácidas de mina

La minería es una de las actividades industriales con mayor grado de manipulación del agua, ya que se emplea en un gran número de operaciones asociadas. Por lo general, el drenaje ácido se presenta cuando los minerales ácidos exceden a los alcalinos, conteniendo elevadas concentraciones de SO₄²⁻ (como anión principal), Fe, Mn, Al, Zn, Pb, Cd, Cu (como cationes mayoritarios), entre otros metales (Aduvire, 2016). Se genera por la oxidación de sulfuros metálicos a sulfatos, en muchos casos por la acción bacteriana. El pH de estas aguas es alrededor de 2 a 4.5 y tiene un alto contenido de oxígeno (Villa – Gómez, 2006).

1.2 TÉCNICAS EMPLEADAS PARA LA REMOCIÓN DE ZINC EN EL AGUA

Numerosas tecnologías han sido desarrolladas para la remoción de metales pesados de soluciones acuosas, entre estos métodos se encuentran la adsorción, el intercambio iónico, la filtración con membranas, la coagulación, fotocatalisis y la precipitación química. Cada uno de estos métodos presentan ventajas y desventajas (Segovia - Sandoval, 2015), sin embargo, son métodos muy costosos y algunos son poco efectivos cuando los metales están presentes en concentraciones relativamente bajas, entre 1 a 100 mg/L (Fortuna – González, 2016). Existen otros tratamientos que se encuentran en etapa de investigación o de reciente aplicación como son los tratamientos electroquímicos y el uso de microorganismos para eliminaciones de metales pesados (Cruz - Briano, 2018).

1.2.1. Procesos biológicos

Los procesos de digestión anaerobia constituyen en la actualidad una de las tecnologías de tratamientos biológicos más convencionales para la eliminación de materia orgánica por sus múltiples beneficios, tales como:

- Altas remociones de materia orgánica
- Baja producción de lodos
- Generación de biogás como fuente de energía
- Alternativas más económicas sobre métodos químicos
- Recuperación de metales mediante precipitación

Sin embargo, como todos los procesos, tienen algunos inconvenientes en su utilización, como cinéticas lentas con largos periodos de arranque (de 1 día con sustratos de fácil digestión, hasta de 30 días con sustratos complejos). En la actualidad se ha aplicado satisfactoriamente en el tratamiento de aguas residuales para la remoción de metales como Cd, Fe, Zn, Ni, Cu, Pb, con eficiencias de alrededor del 90% (Borja - Maldonado, 2013).

1.2.2. Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso empleado para la estabilización de lodos, se produce por la descomposición de la materia orgánica e inorgánica en ausencia de oxígeno

molecular. El proceso de digestión anaerobia está caracterizado por la existencia de varias fases consecutivas diferenciadas en el proceso de degradación del sustrato (Figura 1.3):

- 1) **Hidrólisis:** Ocurre la desintegración de la materia orgánica compleja e insoluble. En esta etapa, los carbohidratos, proteínas y lípidos son hidrolizados a monosacáridos, aminoácidos, purinas y ácidos grasos de cadena larga, se transforman por vía enzimática los compuestos de alto peso molecular en compuestos que pueden servir como fuentes de energía y de carbono celular.
- 2) **Acidogénesis:** implica la conversión bacteriana de los compuestos producidos en la primera etapa, en compuestos intermedios identificables de menor peso molecular, como ácido acético, fórmico, butírico, así como la producción de hidrógeno, dióxido de carbono y etanol.
- 3) **Acetogénesis:** consiste en la conversión de ácidos grasos volátiles a acetato, hidrógeno y dióxido de carbono.
- 4) **Metanogénesis:** es la formación de productos finales más simples, principalmente de metano por la descarboxilación del ión acetato, llevada a cabo por las bacterias metanogénicas acetotróficas, y por la hidrogenación de dióxido de carbono por las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas.

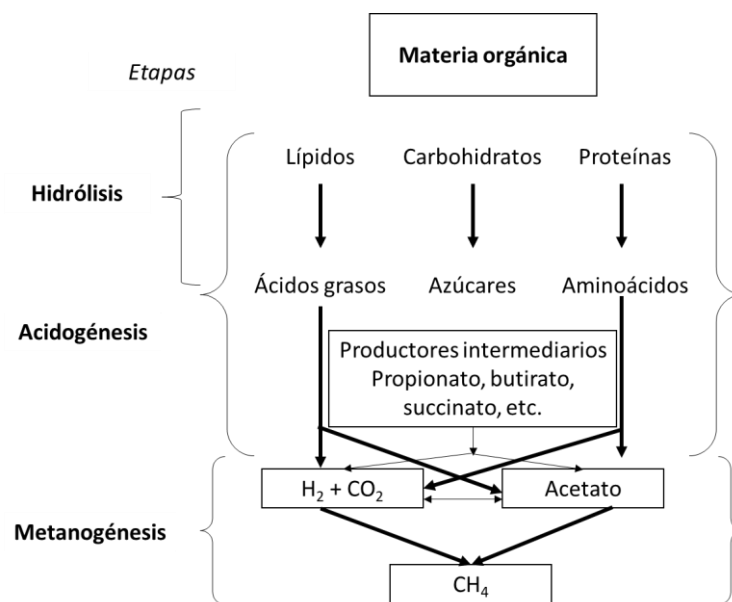


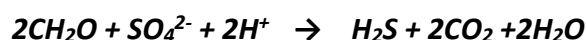
Figura 1. 3 Diagrama de la digestión anaerobia de la materia orgánica, modificado (Metcalf y Eddy, 1996).

En presencia de sulfato (SO_4^{2-}) se lleva a cabo el proceso de sulfatorreducción, en esta etapa ocurren las reacciones de oxidación de ácidos grasos volátiles con más de dos átomos de carbono, así como la oxidación de acetato por bacterias sulfatorreductoras acetotróficas y de hidrógeno por bacterias hidrogenotróficas (Ruiz - Castillo, 2011).

1.2.3. Proceso de sulfato-reducción

Las Bacterias Sulfato Reductoras (BSR) son microorganismos ubicuos que participan en el ciclo de azufre en sedimentos de ríos y marinos, plantas de tratamiento de aguas residuales, yacimientos de petróleo, etc., son bacterias anaerobias obligadas, utilizan sulfato (SO_4^{2-}) u otros compuestos sulfurados como aceptores finales de electrones, es decir, el ión sulfato es un agente oxidante, dando lugar a la producción de H_2S (Vallejos - Rios 2011).

La reacción de oxidación de materia orgánica por BSR que involucra la reducción de sulfatos hasta llegar al producto sulfuro de hidrógeno puede representarse por la expresión general:



Esta expresión considera la oxidación de una amplia variedad de sustratos orgánicos como donadores de electrones (e^-) y la reducción de SO_4^{2-} , y comprenden un amplio grupo de bacterias anaerobias, morfológicas y fisiológicamente diversas (Vallejos - Rios, 2011).

Los microorganismos se clasifican en dos grupos principales de acuerdo con la capacidad para degradar la materia orgánica en forma parcial o total:

1.- Oxidantes incompletas del sustrato, generando acetato como producto final. Éstas utilizan lactato, piruvato, etanol y ciertos ácidos grasos como fuente de carbono y energía para reducir el sulfato a sulfuro. Bajo condiciones ideales tienen una velocidad de crecimiento mucho más rápida que las oxidantes incompletas y pueden lograr tiempos de duplicación de 3 a 4 horas. El grupo está constituido por géneros como *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus* y *Thermosulfobacterium*.

2.- Oxidantes completas del sustrato a dióxido de carbono y sulfuro. Estos géneros utilizan ácidos grasos, especialmente el acetato. Tienen un crecimiento lento, frecuentemente con

tiempos de duplicación mayores a 20 horas. El grupo está compuesto por Desulfobacter, Desulfococcus, Desulfosarcina, Desulfonema y Desulfobacterium (Vallejos Ríos 2011). En la Tabla 1.3, se muestran las reacciones involucradas en la degradación de la materia orgánica por BRS (modificado de Gallegos et al., 2010).

Durante el tratamiento de aguas con altos niveles de sulfato compiten con las bacterias fermentativas o acidogénicas por los productos de la hidrólisis, con las bacterias acetogénicas por sustratos intermediarios como los ácidos volátiles (AGV) y alcoholes, y con las bacterias metanogénicas por los sustratos menos complejos como hidrógeno y acetato. El resultado de esta competencia es importante porque determina el rendimiento de los productos finales de la mineralización (sulfuro y metano). Es decir, la actividad de las BSR depende principalmente de la disponibilidad de sulfato.

Tabla 1. 2. Reacciones de la degradación de la materia orgánica por BSR (modificado de Gallegos et al. 2010)

Reacción	$\Delta G^\circ \left(\frac{kJ}{mol} \right)$	Género representativo (BSR)
Oxidación completa		
$Lactato + \frac{3}{2} SO_4^{2-} \rightarrow 3HCO_3^- + \frac{3}{2} HS^- + \frac{1}{2} H^+$	- 127.6	Desulfobacter, Desulfosarcina
$Propionato + \frac{7}{4} SO_4^{2-} + \frac{1}{4} H^+ \rightarrow 3HCO_3^- + \frac{7}{4} HS^- + \frac{1}{2} H^+$	-85.2	Desulfococcus, Desulfobacterium
$Acetato + SO_4^{2-} \rightarrow 2HCO_3^- + HS^-$	- 47.6	Desulfobacter, Desulfobacterium
Oxidación incompleta		
$Lactato + \frac{1}{2} SO_4^{2-} \rightarrow Acetato + HCO_3^- + \frac{1}{2} HS^- + \frac{1}{2} H^+$	- 80.0	Desulfovibrio, Desulfotomaculum
$Propionato + \frac{3}{4} SO_4^{2-} \rightarrow Acetato + HCO_3^- + \frac{3}{4} HS^- + \frac{1}{4} H^+$	- 37.7	Desulfobulbus

Para que pueda desarrollarse un proceso sulfato reductor, se deben mantener las condiciones ambientales y operacionales adecuadas, para ello se controlan diversos parámetros ambientales:

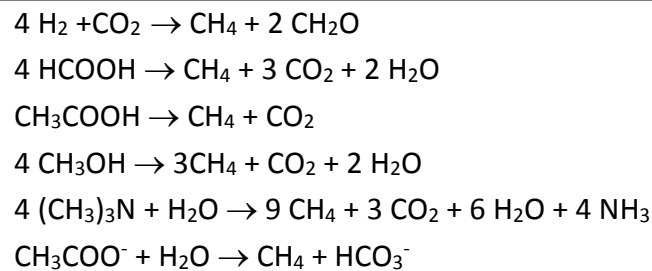
- Ausencia de oxígeno
- Valores de pH entre 6.5 y 7.5

- Potencial REDOX debajo de -300 mV
- Presencia de sustrato orgánico como fuente de energía y iones SO_4^{2-} como aceptores de electrones.
- Carga orgánica volumétrica (COV), expresada normalmente en sólidos volátiles por unidad de volumen y tiempo (AgroWaste, 2014).

1.2.4. Proceso metanogénico

El proceso metanogénico pertenece a un grupo de microorganismos que convierte el hidrógeno y el ácido acético originado por bacterias formadoras de ácidos, en gas metano y en dióxido de carbono. Las bacterias responsables del proceso metanogénico son anaerobias estrictas conocidas como bacterias metanogénicas. Los principales géneros de microorganismos que se han identificado incluyen los bastoncillos como *Methanobacterium* y *Methanobacillus*, y las esferas *Methanococcus* y *Methanosarcina*. Las bacterias más importantes de este grupo, que son las que degradan el ácido acético y ácido propiónico, tienen tasas de crecimiento muy lentas, razón por la cual se considera que su metabolismo es un factor limitante del tratamiento anaerobio de los residuos.

Las bacterias metanogénicas emplean determinados sustratos para llevar a cabo su función, entre ellos $\text{CO}_2 + \text{H}_2$, acetato, etanol, metanol y monóxido de carbono. Las reacciones típicas de producción de energía ligadas a estos compuestos son las siguientes:



Para que pueda desarrollarse un proceso metanogénico, se deben mantener condiciones ambientales y operacionales adecuadas, para ello se controlan diversos parámetros ambientales:

-
- Ausencia de oxígeno
 - Valores de pH en el medio acuoso entre 6.5 – 7.5
 - Alcalinidad entre 1 y 5 mg/L
 - Ácidos volátiles inferior de 250 mg/L
 - Temperatura óptima 30 a 38 °C
 - Presencia de sustrato orgánico como fuente de energía y CO₂ como aceptores de electrones.
 - Potencial REDOX inferior de -300 mV

1.3 REACTORES ANAEROBIOS

Los reactores anaerobios se desarrollaron para numerosos procesos en el tratamiento de lodos y residuos con alto contenido en materia orgánica. Se basan principalmente en la capacidad que tienen las bacterias en inmovilizarse en lodos granulares o en partículas sólidas (Villa Gómez, 2006). Tienen bajos requerimientos energéticos y generan biogás. La optimización de los digestores anaerobios se basa en la capacidad de tratamiento de los reactores biológicos dada por la cantidad de biomasa activa que puede tener el sistema, y por el eficiente contacto que se establezca entre la biomasa y el agua residual.

1.3.1. Reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB)

Es un reactor utilizado para el tratamiento de aguas residuales, se basa en la actividad microbiana de diversos grupos, los cuales se encuentran en gránulos, colaborando entre sí para realizar una reacción química. Este proceso representa una solución viable para el tratamiento de aguas y lodos residuales debido a su bajo consumo de energía. En la Figura 1.4, se muestra el esquema de un reactor UASB.

El tratamiento de agua residual se lleva a cabo por el influente, donde fluye en sentido ascendente a través de un manto de lodos con microorganismos anaerobios. El gas producido genera una circulación interior. El biogás, el lodo y el líquido tratado ascienden a la parte superior del reactor, en donde entran en contacto con los deflectores que permiten la separación del biogás y la sedimentación del lodo, el biogás es capturado en la campana de

recolección que se encuentra en la parte superior del reactor, saliendo por la parte superior el efluente.

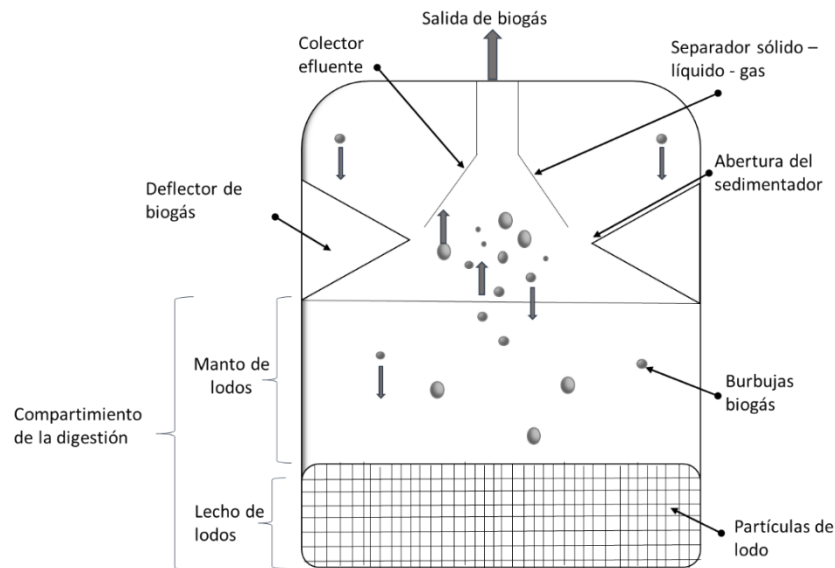


Figura 1.4 Esquema de un reactor UASB

1.3.2. Reactor de lecho fluidificado inverso (LFI)

Son reactores utilizados para el tratamiento anaerobio de aguas residuales de efluentes industriales. Utiliza como soportes polietileno, nylon, poliéster, etc., partículas pequeñas con densidad específica menor que el agua. Las partículas son fluidificadas por un flujo descendente del líquido. El flujo de gas y el flujo líquido, que circulan en direcciones opuestas a la fuerza de flotación de las partículas, ayudan a la expansión del lecho (Villa – Gómez, 2006). Las ventajas de este reactor son la gran área superficial biopelícula – líquido, las altas velocidades interfaciales, la mayor transferencia de masa. Comparado con la fluidificación convencional, permite la recuperación de sólidos insolubles del fondo del reactor (Houbron et al., 2015). Estudios previos han reportado la utilización de un reactor LFI con un soporte de polietileno de baja densidad para el desarrollo de una biopelícula sulfatorreductora, para la recuperación de metales pesados como Fe, Cd y Zn, con eficiencias del 99% (Ruiz Castillo, 2016).

1.3.3. Eliminación de metales a partir de la reducción del potencial REDOX por bacterias anaerobias

La medida de la actividad de los electrones es el ORP, así como el equilibrio entre especies oxidantes y reductoras, es decir, cuando sea menor la cantidad de agentes oxidantes en el medio, más bajo será su ORP. Es por ello que la distribución espacial de microorganismo aerobio y anaerobio se determina principalmente por éste. Los microorganismos aerobios son metabólicamente activos a ORP positivo, en cambio las bacterias anaerobias solo pueden desarrollarse bajo condiciones de ORP negativos. En sistemas naturales, las condiciones oxidantes o reductoras se usan para lograr la remediación de sitios acuosos contaminados.

Existen estudios que han evaluado la remoción de metales pesados a través de procesos anaerobios, en donde el ORP conlleva un papel importante con valores de -32 hasta -300 mV (ver Tabla 1.4), en donde se estudió el potencial reductor de Cu, Zn, Pb, Ni, Cd, Cr, As y Ag a partir de diagramas de Pourbaix, para tomar decisiones en los parámetros de pH y ORP y modificar para obtener el metal en el estado de oxidación deseado (Ruiz Castillo, 2016).

Tabla 1. 3. Potenciales estándar de reducción a 25° C

Par REDOX	E°
$\text{Pb}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Pb}$	-0.13
$\text{Sn}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Sn}$	-0.14
$\text{Ni}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Ni}$	-0.25
$\text{Co}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Co}$	-0.28
$\text{PbSO}_4 + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Pb} + \text{SO}_4^{2-}$	-0.36
$\text{Cd}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Cd}$	-0.40
$\text{Cr}^{3+} + \text{e}^- \leftrightarrow \text{Cr}^{2+}$	-0.41
$\text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Fe}$	-0.44
$\text{Cr}^{3+} + 3\text{e}^- \leftrightarrow \text{Cr}$	-0.74
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Zn}$	-0.76
$\text{Na}^+ + \text{e}^- \leftrightarrow \text{Na}$	-2.71
$\text{Ca}^{2+} + 2\text{e}^- \leftrightarrow \text{Ca}$	-2.87

1.4 TEORÍA DE LAS BANDAS

La teoría de las bandas constituye una explicación del comportamiento de los materiales conductores, aislantes y semiconductores. Las bandas de energía se encuentran separadas por brechas denominadas bandas prohibidas (E_g). La banda de conducción es la banda de energía superior que consiste en los estados desocupados del sólido, cuando se encuentran electrones en ésta pueden moverse libremente en el sólido y, por lo tanto, conducir corriente cuando se les aplica un campo eléctrico. La banda de valencia es la correspondiente a los niveles más externos, en donde los electrones permanecen fuertemente enlazados a sus átomos respectivos, teniendo una menor energía potencial, por lo tanto, son incapaces de conducir la corriente eléctrica (Figura 1.5).

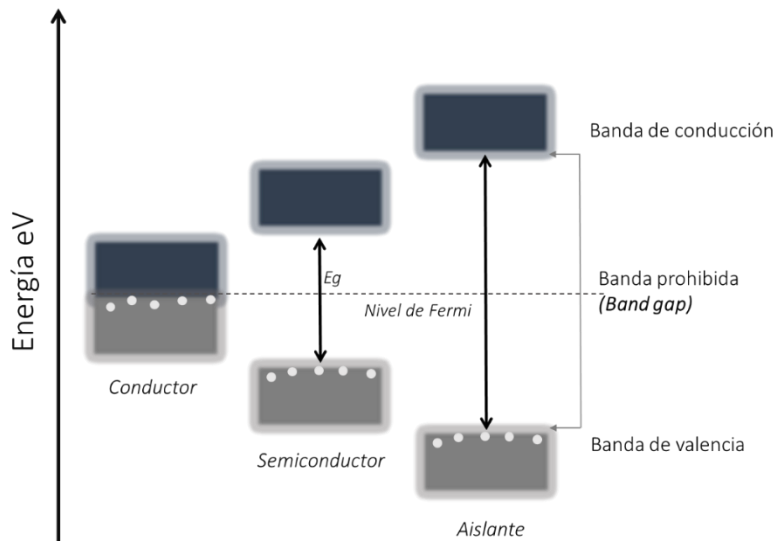


Figura 1.5 Representación general de las bandas de energía

1.4.1. Semiconductores

Los semiconductores son materiales que tienen una conductividad eléctrica inferior a la de un conductor metálico pero superior a la de un buen aislante, esto depende de diversos factores, como por ejemplo el campo eléctrico o magnético, la radiación incidente, la presión o la temperatura del ambiente que lo rodea. La conductividad eléctrica puede controlarse para su uso en dispositivos electrónicos tales como transistores, diodos y circuitos integrados (Martínez – García, 2014).

Los semiconductores intrínsecos son aquellos en los que el comportamiento eléctrico se basa en la estructura electrónica inherente al material puro. Cuando las características eléctricas están dictadas por átomos de impurezas, se dice que el semiconductor es extrínseco. Un material se considera semiconductor cuando el ancho de su banda prohibida (band gap o E_g) está entre 2.8 y 4.1 eV (Castro et al., 2016). Materiales con un ancho de banda prohibida mayor a este valor se consideran aislantes.

1.4.2. Tipos de semiconductores

a. Semiconductores intrínsecos

Es un material hecho sólo de un único tipo de átomo. Los más empleados son el germanio (Ge) y el silicio (Si); siendo este último el más empleado por ser mucho más abundante y por poderlo trabajar, formando una red cristalina, en la que la unión entre los electrones y temperaturas que el germanio. Como se muestra en la Figura 1.6, cada átomo de un semiconductor tiene 4 electrones en su órbita externa (electrones de valencia), que comparte con los átomos adyacentes formando 4 enlaces covalentes. De esta manera cada átomo posee 8 electrones en su capa sus átomos son muy fuertes. Por consiguiente, en dicha red, los electrones no se desplazan fácilmente, y el material en circunstancias normales se comporta como un aislante.

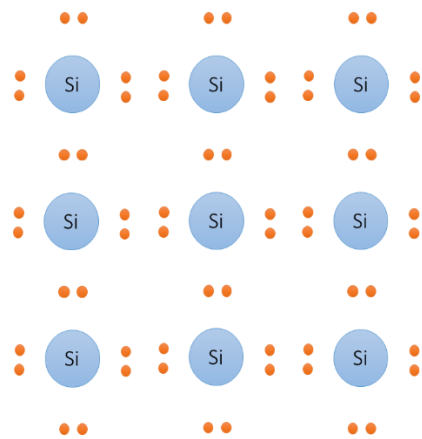


Figura 1.6 Modelo de semiconductor intrínseco

Sin embargo, al aumentar la temperatura, los electrones ganan energía, por lo que algunos pueden separarse del enlace e intervenir en la conducción eléctrica. De esta manera, la resistividad de un semiconductor disminuye con la temperatura (su conductividad

aumenta). A temperatura ambiente, algunos electrones de valencia absorben suficiente energía calorífica para librarse del enlace covalente y moverse a través de la red cristalina, convirtiéndose en electrones libres. Si estos electrones se someten a un potencial eléctrico, como por ejemplo de una pila, se dirigen al polo positivo. Cuando un electrón libre abandona el átomo de un cristal de silicio, deja en la red cristalina un hueco, cuyo efecto es similar al que provocaría una carga positiva (Figura 1.7).

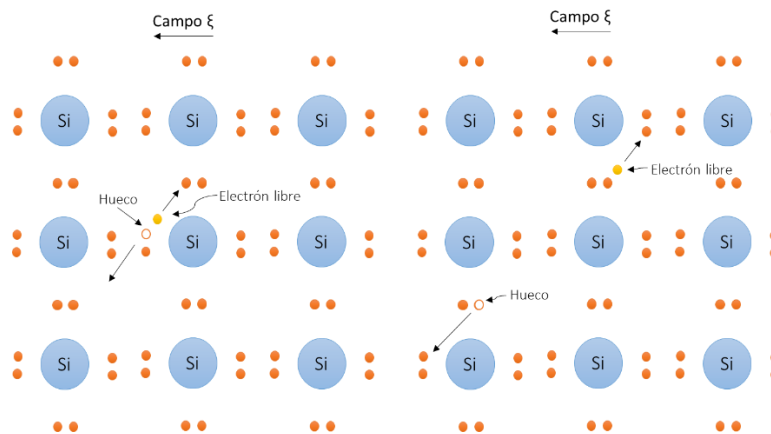


Figura 1.7 Semiconductores intrínsecos movimiento de los electrones libres

Los electrones y los huecos reciben el nombre de portadores. La conducción eléctrica a través de un semiconductor es el resultado del movimiento de electrones (de carga negativa) y de los huecos (cargas positivas) en direcciones opuestas al conectarse a un generador. Si se somete el cristal a una diferencia de potencial se producen dos corrientes eléctricas: una debida al movimiento de los electrones libres de la estructura cristalina, y otra debida al desplazamiento de los electrones en la banda de valencia, que tenderán a saltar a los huecos próximos, originando una corriente de huecos. Los electrones libres se dirigen hacia el polo positivo de la pila (cátodo), mientras que los huecos pueden considerarse como portadores de carga positiva y se dirigen hacia el polo negativo de la pila, llamado ánodo (hay que considerar que por el conductor exterior sólo circulan los electrones que dan lugar a la corriente eléctrica; los huecos sólo existen en el seno del cristal semiconductor).

b. Semiconductores extrínsecos

Para mejorar las propiedades de este tipo de semiconductor, se le somete a un proceso de impurificación llamado dopaje, que consiste en introducir átomos de otros elementos con el fin de aumentar su conductividad. Según la impureza llamada dopante distinguimos dos tipos tipo P y N.

i. Semiconductor tipo N

Representado en la Figura 1.8, en este tipo de semiconductor se emplean como impurezas elementos pentavalentes (con 5 electrones de valencia) como el fósforo (P), el arsénico (As) o el antimonio (Sb). El donante aporta electrones en exceso, los cuales, al no encontrarse enlazados, se moverán fácilmente por la red cristalina aumentando su conductividad. De ese modo, el material tipo N se denomina también donador de electrones.

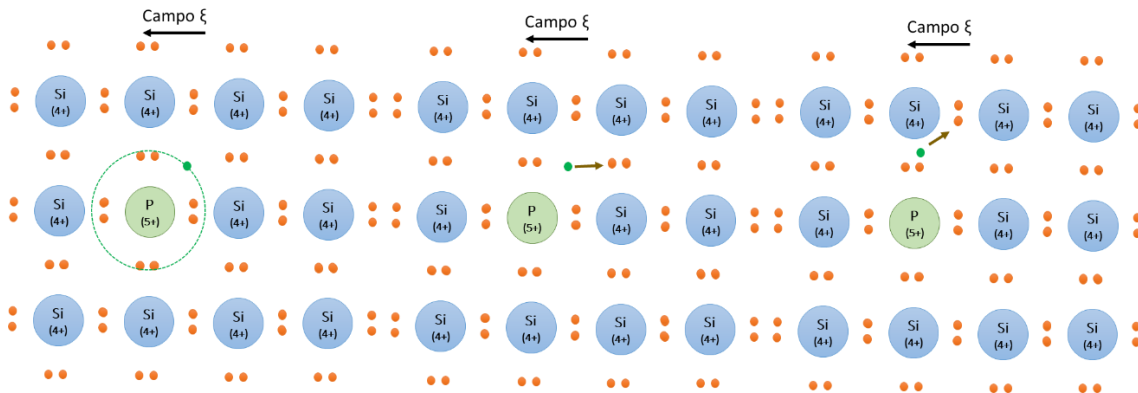


Figura 1.8 Modelo de semiconductor extrínseco tipo N

ii. Semiconductor tipo P

Se emplean elementos trivalentes (3 electrones de valencia) como el boro (B), indio (In) o galio (Ga) como dopantes. Puesto que no aportan los 4 electrones necesarios para establecer los 4 enlaces covalentes, en la red cristalina estos átomos presentarán un defecto de electrones. De esa manera se originan huecos que aceptan el paso de electrones que no pertenecen a la red cristalina. Así, al material tipo P también se le denomina donador de huecos (o aceptador de electrones), como se muestra en la Figura 1.9 (Callister, 1995).

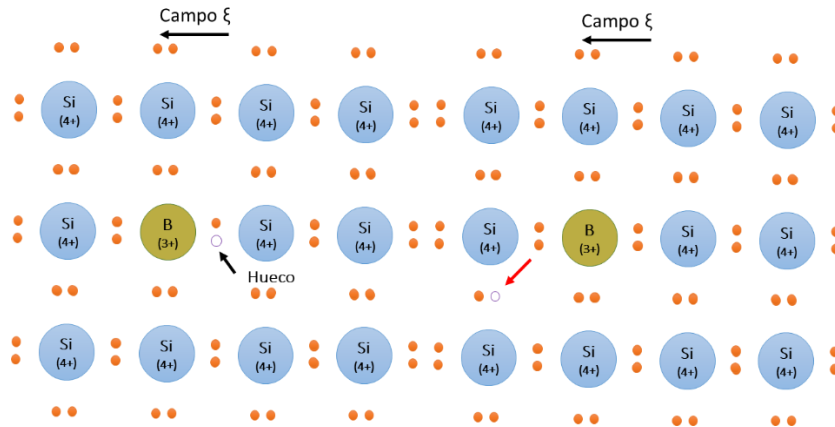


Figura 1.9 Modelo de semiconductor extrínseco tipo P

El tamaño de la banda prohibida tiene implicaciones en las aplicaciones que pueden tener, ya que entre más grande sea la banda prohibida, mayor será la cantidad de energía necesaria para la excitación.

1.5 NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología en conjunto es el diseño, desarrollo, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a una escala de una mil millonésima parte de un metro. Tiene su fundamento en el estudio de los fenómenos ocurridos en los nanomateriales, constituyendo un nuevo dominio científico que ha surgido para el diseño, fabricación y aplicación de nanoestructuras, por propiedades físicas y químicas, así como dimensiones de los materiales. Este nuevo nivel tecnológico permite lograr importantes beneficios económicos y sociales en múltiples campos de la actividad humana tan diversos como:

1. Alimentación
2. Medicina
3. Telecomunicaciones
4. Medioambiente
5. Industria de la construcción

El prefijo nano- proviene del latín nanus, que significa “enano” y actualmente tiene la aceptación de un nanómetro (nm) equivalente a una millonésima parte (1/1 000 000 000)

de un metro. Es decir, el tamaño del objeto más pequeño que se puede ver a simple vista es de unos 10000 nm de diámetro (Figura 1.10). Así, según sus tamaños, las partículas se dividen en gruesas ($>10 \mu\text{m}$), finas ($\sim 1 \mu\text{m}$) y nanopartículas ($<0.1 \mu\text{m}$).

Por lo tanto, las nanopartículas se definen como partículas con un cierto número de átomos o moléculas enlazados entre sí, con un radio $< 100 \text{ nm}$. Es por eso, que la nanoescala está “en medio”, entre dos escalas conocidas: la atómico-molecular y la escala de los objetos miniaturizados (microtecnologías) de la industria electrónica. Pero ese mundo de “el medio” era, hasta hace poco, relativamente desconocido (Soler, 2015).

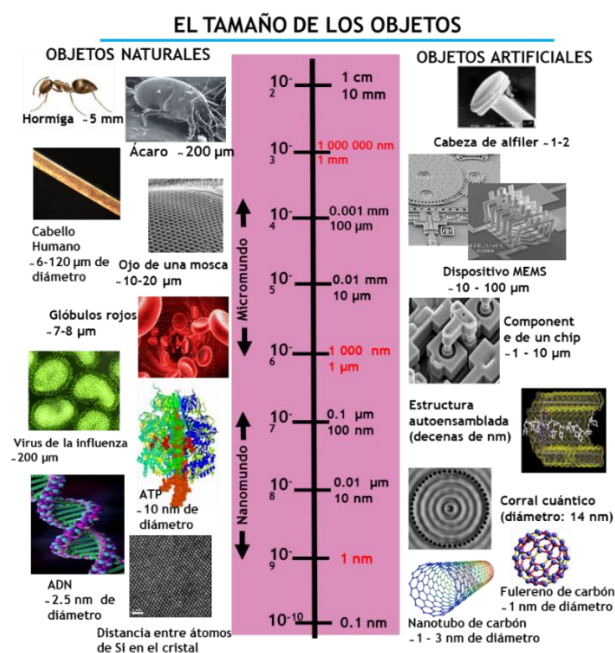


Figura 1.10 Escala de tamaño de los objetos (Takeuchi N. 2009)

1.5.1. Propiedades de las nanopartículas

Las nanopartículas tienen diversas aplicaciones por sus propiedades, ya que son una nueva clase de materiales que, al ser manipuladas, se comportan de manera inesperada y adoptan propiedades totalmente nuevas, no observadas normalmente en la naturaleza (Borah et al., 2008). Por esta razón, se utiliza la nanotecnología para desarrollar materiales y sistemas novedosos con propiedades únicas. Se podría decir que el tamaño de las partículas a escala nanométrica de un material tiene una influencia significativa en sus propiedades físicas y

químicas, su comportamiento es completamente diferente a su contraparte. En general pueden ser reconocidas por sufrir cambios en las siguientes propiedades, comparando con el material masivo:

1. Propiedades químicas – Reactividad, catálisis
2. Propiedades térmicas – Temperatura de fusión
3. Propiedades mecánicas – Adhesión, fuerza capilar
4. Propiedades ópticas – Absorción, dispersión de la luz
5. Propiedades eléctricas – Corriente túnel
6. Propiedades magnéticas – Efecto súper paramagnético

Esta lista puede ampliarse para incluir muchas otras propiedades sensoriales y bioquímicas. Las causas de las diferentes propiedades de las nanopartículas son porque los materiales cuyo tamaño se aproxima a la del átomo, manifiestan propiedades inusuales que no tienen cuando su tamaño se aleja de los 100 nm. Los factores que lo producen son:

- Mayor área superficial relativa
- Efecto del confinamiento cuántico
- Su forma
- Su composición química
- La química de las superficies de la masa y las interfaces

1.5.2. Técnicas para la síntesis de nanopartículas

La investigación en nanotecnología busca entender y aprovechar estas nuevas propiedades para fabricar materiales y dispositivos que superan las limitaciones del presente, ya sea creando estructuras con tipos de arreglos atómicos diferentes o con nuevas composiciones químicas. Los métodos de síntesis de nanopartículas como se muestra en la Figura 1.11, se agrupan en dos categorías:

1. El “Top Down” (de arriba hacia abajo), a partir de un objeto grande se obtiene uno pequeño, consiste en la división de sólidos másicos en porciones más pequeñas, se generan las nanoestructuras a partir de la ruptura física desde un sólido. Este enfoque puede involucrar la molienda o el desgaste, métodos químicos, y la volatilización de un sólido

seguido por la condensación de los componentes volatilizados. Con este proceso se producen nanopartículas de mayor tamaño, menor control de forma y del rango de tamaño.

2. El “Bottom up” (de abajo a arriba), busca construir estructuras controlando la manera como se acomodan los átomos o moléculas a estructuras moleculares en una escala nanométrica, es decir a través de la condensación de átomos o entidades moleculares en una fase gaseosa o en una solución (Zanella et al., 2012). Este enfoque se utiliza comúnmente para la síntesis química y biológica, ya que intenta copiar la forma como trabaja la naturaleza. Con este método se puede controlar el tamaño de las nanopartículas, su uniformidad y su forma.

1.5.3. Síntesis química de nanopartículas

La nanociencia se encarga de crear estructuras para el diseño de materiales avanzados, nanodispositivos de alto rendimiento y miniaturización de dispositivos electrónicos. Se emplean una variedad de condiciones de reacción para tener una estructura adecuada para los nanomateriales. Hasta ahora, se han realizado avances significativos utilizando estrategias químicas, para sintetizar nanopartículas de alta calidad de gran variedad de materiales inorgánicos, incluyendo metales, óxidos y semiconductores (Zanella et al., 2012).

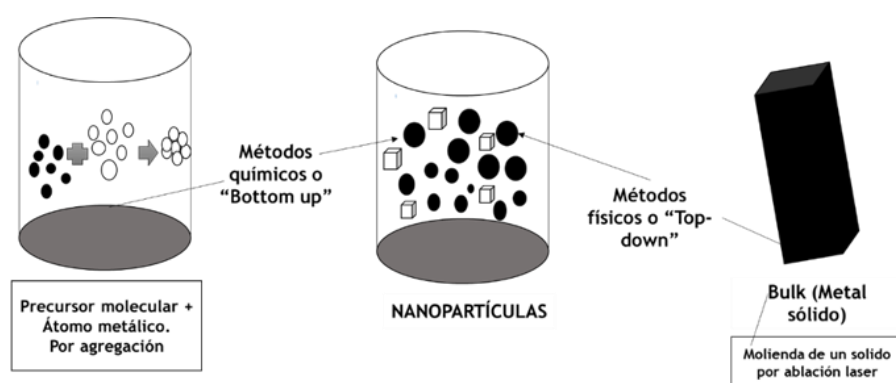


Figura 1.11 Esquema de los métodos de síntesis de nanopartículas

Existen diversos métodos que utilizan la aproximación de bottom up para la síntesis de nanopartículas, los más empleados son aquellos que utilizan procedimientos químicos. El método químico es el más conveniente para la obtención de nanopartículas uniformes y pequeñas. Los métodos más representativos son:

1. El método coloidal
2. Reducción fotoquímica y radioquímica
3. Irradiación con microondas
4. Utilización de dendrimetros
5. Método sol-gel

Por lo general, inician con la reducción de los iones metálicos a átomos metálicos, seguido por la agregación controlada de estos átomos. En el caso para la preparación de nanopartículas metálicas, existen diversos agentes estabilizantes y agentes reductores, un ejemplo representativo de la misma se presenta en la Figura 1.12. Los factores que controlan las rutas de formación y crecimiento de las nanopartículas formadas son:

- Cinética de formación del núcleo y crecimiento de los cristales
- Concentración del agente estabilizante
- Estructura del agente estabilizante
- pH del medio y temperatura empleada
- Naturaleza de los agentes estabilizantes
- La velocidad y
- Agitación

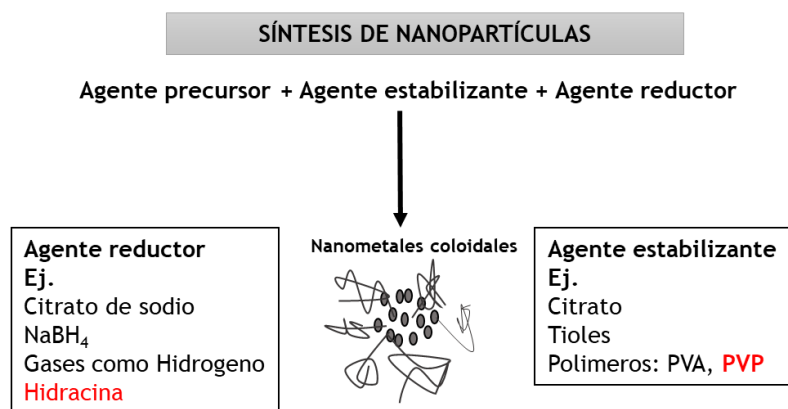


Figura 1. 1. Representación esquemática de la formación de nanopartículas metálicas empleando un agente estabilizante

1.5.4. Agente estabilizante polivinilpirrolidona (PVP)

Llamado comúnmente polividona o povidona, es un polímero soluble en agua y otros disolventes polares, que se obtiene a partir del monómero N-vinilpirrolidona, por polimerización vinílica por radicales libres (Koczur et al., 2015). Actualmente es usado como adhesivo en barra de pegamento y adhesivos, aditivo especial para baterías eléctricas, cerámicas y fibras de vidrio, ayuda a aumentar la solubilidad de los fármacos en formas de dosificación líquidas y semilíquidas (jarabes, capsulas de gelatina blanda) y como un inhibidor de la recristalización. También se utiliza en productos de cuidado personal, tales como champú y cremas dentales y en pinturas y en la elaboración del vino y para eliminar los polifenoles en la producción de cerveza para obtener cervezas claras con espuma estable (Mitchell et al., 2005).

1.5.5. Síntesis biológica de nanopartículas a partir de bacterias

Cuando se habla de sostenibilidad química, hay que tomar en cuenta cómo los productos químicos que usamos pueden afectar el ambiente. La producción tradicional de nanopartículas utiliza frecuentemente materiales tóxicos como reactivos químicos para producir nanopartículas. Una de las mayores preocupaciones que se tiene es la acumulación de estos materiales tóxicos en el ambiente, pudiendo afectar a los organismos que viven allí, y por consiguiente cambiar el equilibrio de un ecosistema en particular.

Actualmente se está explorando una forma sostenible para preparar nanopartículas mediante la utilización de organismos vivos para este propósito. Los microbios producen materiales inorgánicos intra o extracelularmente, a menudo en dimensiones de nanoescala con morfología distinguida. La resistencia microbiana a la mayoría de los metales pesados tóxicos se debe a procesos de desintoxicación química, así como debido al flujo de iones dependientes de la energía de la célula por las proteínas de membrana que funcionan como ATP_{asa} o como catión quimiosmótico o anti-transporte de protones.

1.6 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

Alrededor de la década de los ochenta, surgió la capacidad para ver, medir y manipular la materia en escalas nanométricas. Las propiedades características de cada material se

pueden estudiar a través de diversas técnicas de caracterización. Estos métodos, proveen datos precisos en el tamaño y la forma de las NPs, así como la dispersión y estructura de los átomos que se aglomeran formando éstas, entre estas destacan la Microscopía Electrónica de Transmisión (MET), de Barrido (MEB), Difracción de rayos X (DRX), y las espectrofotometrías ultravioleta-visible (UV-Vis) e infrarrojo (IR).

1.6.1. Microscopio electrónico de transmisión

La microscopía electrónica de transmisión (TEM, del inglés *transmission electron microscopy*) se usa para la caracterización de materiales por tener la ventaja de ser una técnica directa, no necesita hacer suposiciones matemáticas o físicas, proporcionando la imagen y la información de difracción de nanopartículas. Funciona con los principios básicos de un microscopio óptico, pero la diferencia es que usa electrones en lugar de luz, que tienen una longitud de onda más corta, permite una resolución miles de veces mejor que la de un microscopio óptico.

Para su análisis, la fuente de electrones, localizada en la parte superior del microscopio emite electrones que viajan a través del vacío que se encuentra en la columna del microscopio. Los rayos paralelos creados, impactan en la muestra, donde se dispersan como resultado del índice de refracción variable espacial. Los rayos dispersados desde el mismo punto en la muestra son conducidos al mismo punto en la imagen formada por la lente del objetivo. El efecto total es equivalente a la transmisión de electrones primarios a través de la muestra. Es decir, los microscopios de transmisión pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces (Takeuchi, 2009).

1.6.2. Microscopio electrónico de barrido (MEB)

La MEB es una herramienta para explorar e interpretar la estructura en pequeña escala de diversos materiales y es usada ampliamente en la ciencia de materiales avanzados. El principio se basa en la interacción entre un haz de electrones y la superficie de material objetivo, el cual debe ser un sólido. Este microscopio es un objeto muy versátil debido a los diversos modos complementarios de formación de imagen, como son la formación de imagen por detección de la intensidad de la corriente eléctrica inducida en la muestra, por

el haz de electrones para formar una imagen, y por la formación por imagen por retrodispersión basada en la detección de electrones de alta energía. El rendimiento de los electrones retrodispersados es una función de número atómico promedio de cada punto en la muestra y así proporcionar información composicional (Grandez – Arias, 2016).

1.6.3. Difracción de rayos X (DRX)

Es una técnica utilizada para la caracterización de sólidos cristalinos y la determinación de su estructura. Se basa en los fenómenos físicos producidos al interaccionar un haz de rayos X, de una determinada longitud de onda, con una sustancia cristalina, y en la dispersión coherente del haz de rayos X por parte de la materia, y la interferencia constructiva de las ondas que están en fase y se dispersan en determinadas direcciones del espacio.

1.6.4. Espectroscopia de UV-Vis

La absorción de radiación UV-Vis en un material proviene de la excitación de los electrones enlazantes y como consecuencia, las longitudes de onda de los picos de adsorción pueden correlacionarse con los tipos de enlaces en las especies de estudio. Se obtienen espectros electrónicos como gráficas de la absorbancia frente a la longitud de onda de la radiación incidente expresada en nanómetros. La posición del máximo (λ_{\max}) y su intensidad, son parámetros que caracterizan una banda espectral (Martínez - García, 2016).

1.6.5. Espectroscopia infrarroja (FT - IR)

Los átomos de cada molécula o material vibran con frecuencias que dependen principalmente de la magnitud del enlace entre los átomos. Es por ello que cada combinación de átomos tiene una frecuencia particular, la cual se pueden para identificar la composición del material. Al iluminar una muestra con radiación infrarroja se puede observar que en algunos casos no hay pérdida de radiación, pero para algunas frecuencias la radiación es absorbida casi completamente. Si la radiación es absorbida para una frecuencia particular cuando pasa por la muestra, significa que la energía es transferida al material, cambiando el modo de vibración de las moléculas. La frecuencia de adsorción, la cual generalmente está en el rango del infrarrojo, da información sobre el tipo de enlaces que se tiene en la muestra (Takeuchi, 2009).

1.6.6. Aplicaciones

La nanotecnología tiene un impacto muy grande, siendo uno de los objetivos centrales la construcción de estructuras para el diseño de materiales con alto rendimiento y miniaturización para su empleo.

En la Figura 1.13, se muestra un esquema de aplicaciones de la nanociencia y la nanotecnología, del cual se puede observar que abarca grandes áreas, siendo muy extensas y que día a día siguen creciendo:

- **Nanomateriales:** Hay una búsqueda continua de nuevos materiales con propiedades específicas articulares. Ejemplo de ello, son las compañías aeroespaciales, que utilizan materiales hechos de fibras de carbón para construir aviones resistentes, pero a la vez livianos para reducir el uso de combustibles. Otro ejemplo son los nanotubos de carbón, que poseen mejores características que las fibras de carbón en cuanto a su resistencia mecánica y térmica y en cuanto a sus propiedades eléctricas. Otras aplicaciones de nanomateriales incluyen: las pinturas, las defensas de los automóviles y los recubrimientos anticorrosivos, así como las pelotas de tenis más duraderas, las raquetas más fuertes y livianas, la ropa anti-manchas, tintas y muchas más.
- **Energía:** para convertir la energía proveniente del sol en energía eléctrica se utilizan celdas solares, las cuales están fabricadas por semiconductores como el silicio o el arseniuro de galio, la nanotecnología ofrece una oportunidad, ya que permite fabricar materiales para celdas solares en nuevas formas una de ellas es el ZnS, se utiliza como capa tipo buffer en celdas solares, el semiconductor que más uso tiene como capa buffer es el sulfuro de cadmio (CdS), pero en busca de mejoras en la tecnología de las celdas solares se requieren nuevos materiales que mejoren las propiedades (Gándara – Martínez, 2015).

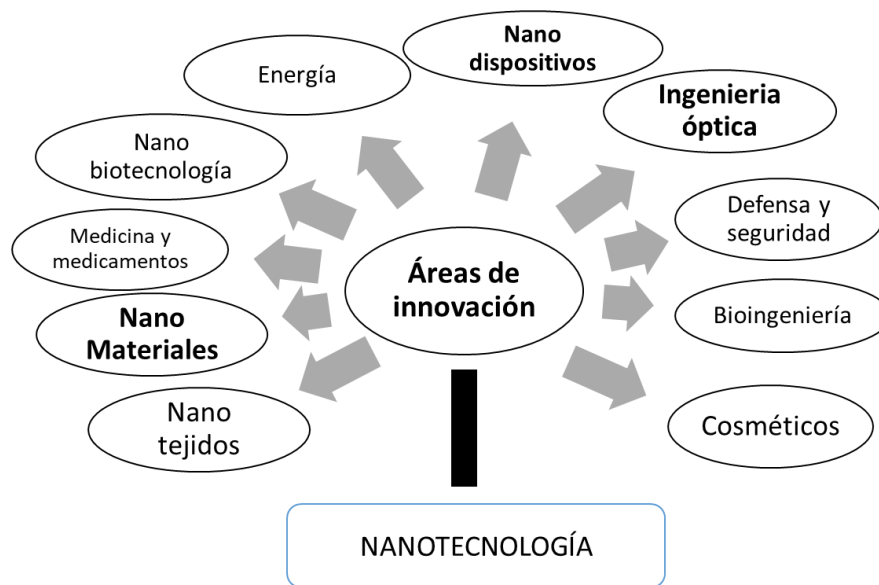


Figura 1. 2. Aplicaciones de la nanotecnología

- **Biología y medicina:** a nivel nanoscópico algunos de los desarrollos en la biomedicina actualmente, se están diseñando huesos, cartílagos y pieles artificiales que además de no ser rechazados por el cuerpo, se está buscando ayudar a regenerarse a algunas partes del cuerpo humano. Otro ejemplo de aplicación son las nanoestructuras, que podrían ser utilizadas para almacenar y transportar medicinas al lugar exacto donde se necesiten, mitigando los efectos secundarios de los medicamentos actuales. Las nanopartículas de plata pueden ser usadas como bactericidas resistentes a los antibióticos, ejemplo de ellas en catéteres e implantes, así como agentes cicatrizantes y bactericida en vendajes; asimismo, en la fabricación de electrodomésticos como refrigeradores y aires acondicionados, en pinturas y polímeros usados para centros de salud, precisamente por sus propiedades antimicrobianas (Takeuchi, 2009).

1.6.7. Nanopartículas semiconductoras de sulfuro de zinc (ZnS)

El sulfuro de zinc (ZnS) es una sal compuesta por un átomo de azufre y otro de zinc, posee una estructura cristalina cúbica tipo blenda de zinc, o estructura hexagonal tipo wurzita

(Figura 1.14), lo que cambia sus propiedades ópticas debido a que tienen diferente band gap. La forma cúbica de ZnS es útil en electroluminiscencia, fotoconductividad y semiconductividad (Macías – Rodríguez, 2015). Posee una amplia banda de energía de entre 3 a 4 eV, y tiene aplicaciones en electrónica, o que reduzcan inconvenientes al hacer uso de un elemento, un caso sería el sustituir el CdS por ZnS, lo que proporciona dos ventajas, la primera es que su band gap es mayor (3.5 eV), en comparación con 2.4 eV del CdS, es decir tiene una incidencia de mayor radiación sobre el dispositivo, la segunda es que a diferencia del cadmio, el zinc no causa problemas en la salud porque no es un elemento tóxico (Gándara Martínez, 2015).

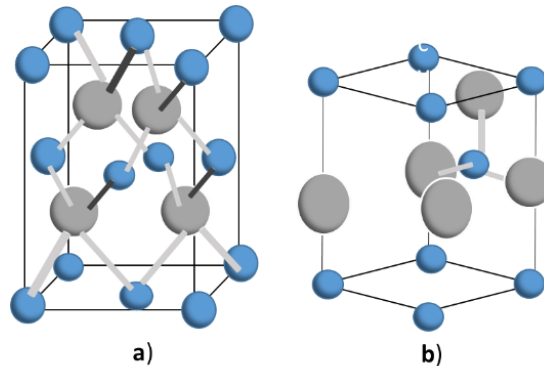


Figura 1. 34. Estructuras cristalinas del ZnS: a) cúbica tipo blenda de zinc y b) hexagonal tipo wurzita

Es posible caracterizar las nanopartículas de ZnS de acuerdo con su composición química (ZnS, ZnS₂, ZnS₃) usando espectroscopía UV-Vis (Figura 1.15)

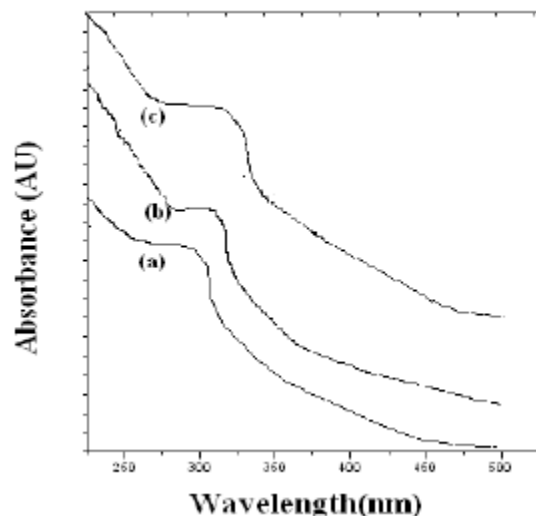


Figura 1. 15 Espectro UV-Vis para nanopartículas de: a) ZnS, b) ZnS₂ y c) ZnS₃ con respecto a la absorbancia (Borah et al., 2008).

1.7 JUSTIFICACIÓN

Los contaminantes del agua provenientes de la industria minera son principalmente los metales pesados, tales como el mercurio, cadmio, plomo, cromo y zinc, etc., que en exceso provocan graves enfermedades crónicas que pueden llegar a provocar la muerte. Dada la importancia del agua en nuestras vidas se propone una investigación tecnológica para resolver retos relacionados con el abastecimiento del agua, su uso y control, así como el desarrollo de materiales avanzados como nanopartículas de ZnS. Optando para ello por la precipitación de metales en un agua de proceso mediante un proceso biológico de sulfato reducción con bacterias anaerobias.

1.8 OBJETIVOS

1.8.1. Objetivo general

Estudiar las condiciones óptimas para el desarrollo de nanopartículas de ZnS de un agua residual de la industria minera, mediante sistemas anaerobios. Con el fin de proponer una alternativa biológica y económicamente viable para la recuperación y reutilización del metal y el agua.

1.8.2. Objetivos específicos

- 1) Evaluar la formación de nanopartículas de ZnS a partir de medio reductor sulfidogénico de un agua residual sintética, ver la capacidad estabilizante en controlar el crecimiento de las nanopartículas de ZnS y confirmar su desarrollo mediante caracterización por UV-Vis, FT-IR, y TEM.
- 2) Evaluar la recuperación de nanopartículas de ZnS a partir de pruebas en lote con lodo granular sulfatorreductor expuesta a diferentes concentraciones de Zn, PVP y sonicación, así como, obtener una técnica de lavado para su desaglomeración, además de su caracterización por mediante MEB, DRX, y TEM.
- 3) Remover metales pesados de un agua residual de la industria minera a partir de medio reductor metanogénico y evaluar la formación de nanopartículas de ZnS a partir de medio sulfidogénico de un agua residual real y caracterizar por el Espectroscopia de plasma ICP-OES, UV-Vis, DRX y TEM.
- 4) Remover metales pesados de un agua residual de la industria minera de diferentes concentraciones en pruebas en lote con lodo granular metanogénico y evaluar la formación de nanopartículas de ZnS a partir de medio sulfidogénico de un agua residual real y caracterizar por el Espectroscopia de plasma ICP-OES, UV-Vis, DRX y TEM.
- 5) Eliminación de diversos metales y recuperación de nanopartículas de ZnS de un agua residual real a partir de bacterias anaerobias en un sistema de reactores. Caracterizar por Espectroscopia de plasma ICP-OES, DRX, UV-Vis, MEB y TEM.

CAPÍTULO 2. Materiales y métodos para la síntesis de nanopartículas de ZnS y eliminación de diversos metales a partir de bacterias anaerobias

2.1 MATERIALES

Para la realización de este trabajo, se utilizó un lodo granular metanogénico adaptado a un reactor UASB, así como la formación de una biopelícula sulfidogénica formada en un reactor LFI, como a continuación se describe.

2.1.1. Reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB)

El reactor UASB que se utilizó tiene la geometría correspondiente a un prototipo de tanque circular completamente tapado, fabricado a base de material acrílico, con un volumen útil de 500 mL. Para alimentar el reactor, se utilizó una bomba peristáltica marca Masterflex. El flujo de alimentación fue de 0.5 mL/min. En la Figura 2.1 se muestra el esquema general de un reactor UASB, donde se distinguen cuatro zonas:

1. Lecho de lodos
2. Manto de lodos
3. Sedimentador
4. Separador sólido – gas – líquido
5. Efluente

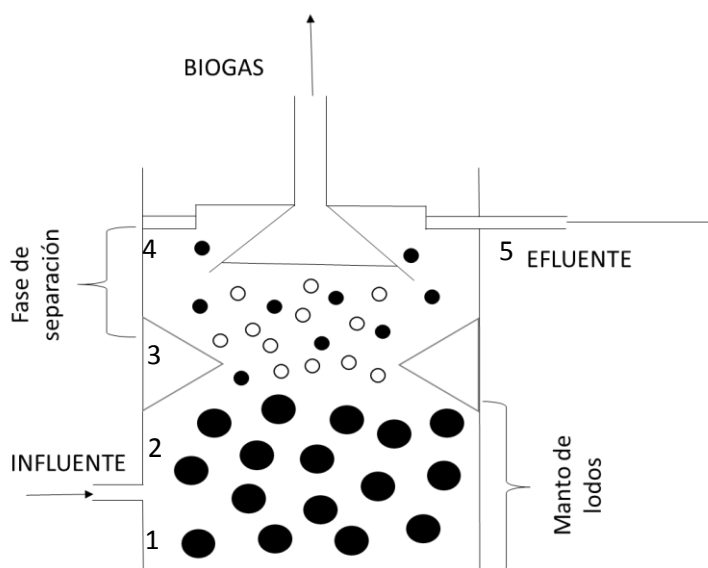


Figura 2. 1 Esquema general de un reactor UASB

2.1.2. Inóculo del reactor UASB

El reactor UASB se inoculó con lodo granular de origen metanogénico proveniente de un reactor anaerobio de la planta Ricolino S. A. de C. V. San Luis Potosí. El lodo contenía 0.0558 g de sólidos suspendidos volátiles (SSV) por g de lodo en base húmeda. Se inocularon aproximadamente 250 g de lodo en el reactor alcanzando una concentración de 20 g SSV/L.

2.1.3. Medio mineral de alimentación del reactor UASB

La composición del medio mineral que sirvió de alimentación para el reactor UASB fue de, en g/L: NH_4Cl (0.3), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.015), KH_2PO_4 (0.2), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.12), KCl (0.25), extracto de levadura (0.02) y 1 mL/L de solución de elementos traza. Como sustrato orgánico 1 g de DQO/L a partir de etanol. El pH de la solución se ajustó a 6.5 con NaHCO_3 .

2.1.4. Reactor anaerobio de lecho fluidificado inverso (LFI)

Se utilizó un reactor LFI de acrílico de 1.5 L de volumen y un separador de fases, que también sirve para ajustar el nivel del líquido. Se utilizaron bombas peristálticas marca Masterflex para su alimentación y recirculación de efluente, con un flujo de 1.12 y 180 mL/min, respectivamente. Como material de soporte se utilizaron 100 mL de partículas finas de polietileno de baja densidad. Para su preparación se utilizaron 500 mL de agua destilada, 0.5 g de peptona de carne y 0.5 g de levadura. Previo a la utilización, el soporte fue expuesto en agitación en la solución preparada durante 24 hrs, para después filtrarse y colocarse dentro del reactor LFI; El reactor fue inoculado con 15 mL del mismo lodo granular; este fue disgregado y agregado al reactor, funcionando en lote durante 12 h para la formación de la biopelícula, alimentado con medio mineral (Sección 2.2.1), pero con una concentración de DQO de 0.5 g/L con una relación $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ respecto al 1.34. Una vez acondicionadas, el reactor se llenó con medio mineral con un 1 g DQO/L de acetato como sustrato, una relación $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 0.66 con un TRH de 1 día, a pH de 7.0.

2.1.5. Inoculo del reactor LFI

El reactor LFI se inoculó con 15 mL de lodo granular sulfatorreductor. Se disgregó el lodo para que la formación de biopelícula ocurriera con mayor rapidez. Dicho lodo contenía 0.0558 g de sólidos suspendidos volátiles (SSV) por gramo de lodo en base húmeda.

2.1.6. Medio mineral de alimentación del reactor LFI

Para la alimentación del reactor LFI se utilizó medio mineral con la composición (g/L): NH_4Cl (0.3), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.015), KH_2PO_4 (0.2), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.12), KCl (0.25), extracto de levadura (0.02) y 1 mL/L de solución de elementos traza. Como sustrato orgánico se utilizó 1 g de DQO/L de acetato y sulfato en forma de Na_2SO_4 a una relación DQO/ SO_4^{2-} de 0.66. El pH de la solución se ajustó a 7 con NaHCO_3 .

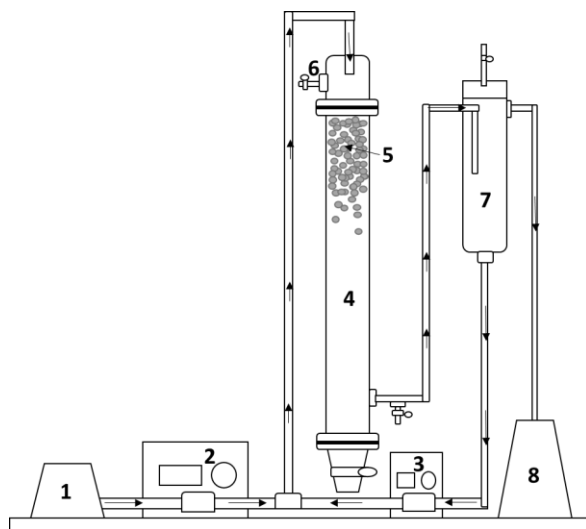


Figura 2. 2. Diagrama del reactor LFI. 1) Influyente, 2) bomba peristáltica de alimentación, 3) bomba peristáltica de recirculación, 4) Lecho fluidificado, 5) biopelícula, 6) salida de biogás, 7) separador de fases y ajustador del nivel de agua de la columna, 8) Efluente.

2.1.7. Solución de elementos traza

La composición de la solución de elementos traza fue (g/L): $\text{FeCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1.5), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.10), EDTA (0.50), H_3BO_3 (0.062), ZnCl_2 (0.07), $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.036), $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.04), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.024), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.07), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.020), HCl al 36% (1mL), Na_2SeO_3 (0.10) y rezaurina (0.50) como indicador de condiciones oxidativas y reductoras.

2.2 MÉTODOS

2.2.1. Síntesis de nanopartículas de ZnS a partir de sulfuro biogénico

Con la finalidad de establecer la posibilidad de preparar nanopartículas de ZnS a partir de sulfuro biogénico producido por las bacterias sulfatorreductoras al estar expuestas a una determinada concentración de zinc, se realizó una síntesis por medio de la precipitación de un ZnS a partir de la reducción de SO_4^{2-} con la cantidad correspondiente de sulfuro

biogénico con los siguientes reactivos: sulfato de zinc (ZnSO_4) como agente precursor metálico, sulfuro biogénico (H_2S) y para la síntesis: polivinilpirrolidona (PVP) marca Sigma Aldrich P2307 como agente estabilizante.

En esta prueba se utilizaron dos soluciones: la solución uno (Figura 2.3 a), compuesta por 800 mg/L de Zn^{2+} (ZnSO_4) en un matraz de 10 mL, aforando con solución PVP (20 mg/L), y la solución dos (Figura 2.3 b) se conformó por 850 mg de H_2S /L en un matraz de 10 mL aforado en solución de PVP. Posteriormente, se adicionó la solución uno a la solución dos en un baño de ultrasonido (marca Branson modelo 2800), dejando sonicando por 5 minutos, el resultado final se muestra en la Figura 2.3. Las nanopartículas recuperadas se caracterizaron mediante UV-Vis con un barrido de 1000 a 200 nm, para confirmar la formación de ZnS. Se obtuvieron espectros a diferentes tiempos para evaluar su estabilidad (sección 2.2.2), y posteriormente se realizaron lavados de las nanopartículas para su caracterización por FT-IR, TEM y MEB (sección 2.2.4).

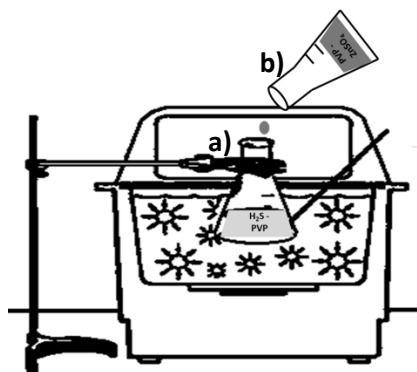


Figura 2. 3. Representación gráfica de una síntesis de nanopartícula. a) Solución uno, b) Solución dos.

2.2.2. Obtención de espectro UV-Vis

Para la obtención del espectro de absorción, se tomó una alícuota de las nanopartículas de ZnS, se colocó en una celda rectangular de cuarzo de 2 mm y se analizó la muestra longitud de onda en diferentes tiempos (0, 20, 30, 45, 60, 180 y 300 min). El borde de absorción (320-380 nm) determina si hay nanopartículas de ZnS formadas, entre más cerca se encuentren de la línea de absorbancia menor es el tamaño de la partícula (Figura 2.4).

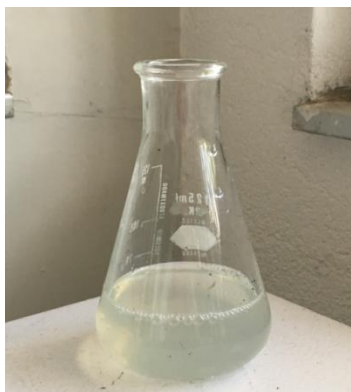


Figura 2. 4. Sistema de reacción para la síntesis de nanopartículas de ZnS a partir de BSR

2.2.3. Determinación de energía de banda prohibida

La energía de banda prohibida se determinó a partir del espectro de absorción obtenido por UV-Vis, comenzando por el trazo de tres líneas desde la región descendente del espectro que se intercepta con la línea del eje de la longitud de onda, tal como se muestra en la Figura 2.5. El valor obtenido λ (nm) es usado para el cálculo de la energía de banda prohibida (E_g) (ver sección 2.4.8).

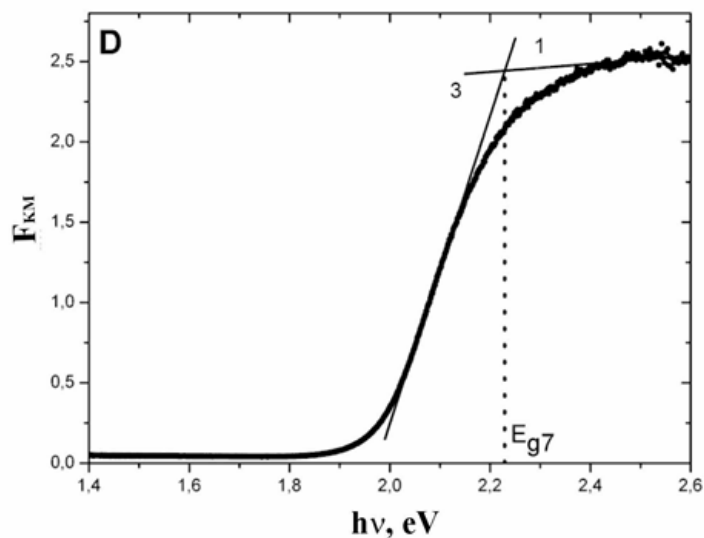


Figura 2. 5. Espectro UV-Vis con trazo de línea para determinar la energía de banda prohibida (Nowak et al., 2009)

2.2.4. Proceso de lavado de nanopartículas de ZnS

Una vez formadas las nanopartículas de ZnS suspendidas, se procedió a hacer lavados con el objetivo de eliminar los excesos de reactivos de la síntesis; se re-suspendieron en 1.5 mL de disolvente (alcohol isopropílico) sometiendo el tubo Eppendorf a agitación vórtex por 5 minutos; después de esto, se centrifugó por 10 minutos a 100 rpm en una centrífuga marca Hettich modelo 120, y se obtuvo un precipitado en el fondo del tubo. El sobrenadante se decantó, para así agregarle por segunda vez el disolvente repitiendo el procedimiento de agitación aproximadamente de 20 veces, todo esto por el alto contenido de materia orgánica presente en el sistema. Una vez hecho esto, se retiró el sobrenadante con una pipeta Pasteur y se le agregó 1.8 mL de alcohol etílico para eliminar la materia orgánica llevándolo a sequedad en un desecador para proceder a caracterizar por FT – IR, MEB y TEM (ver Figura 2.6).

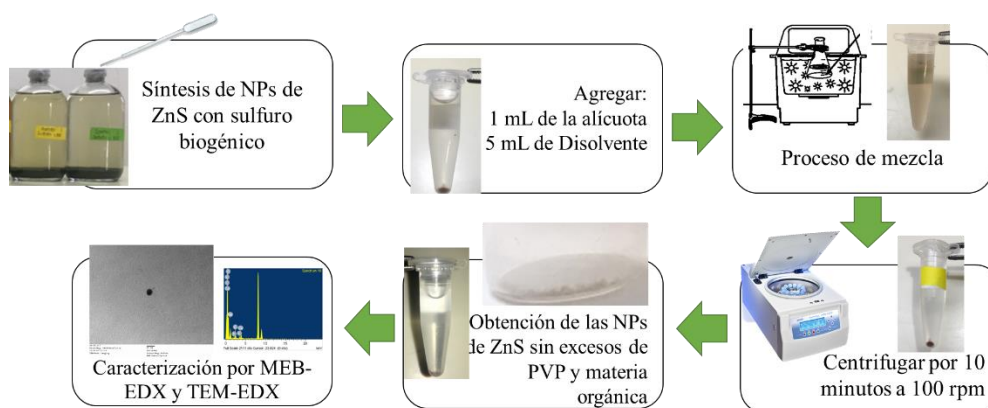


Figura 2. 6. Proceso de lavado de nanopartículas de ZnS

2.2.5. Determinación de espectro FT-IR

Para la obtención del espectro infrarrojo, se obtuvo la muestra sólida seca de las nanopartículas a partir de los lavados (sección 2.2.4), se llevó a analizar a un equipo espectrómetro de FT-IR marca Thermo Scientific Nicolet modelo iS optimizado de 3500 a 500 cm^{-1} .

2.2.6. Obtención de micrografías

Las nanopartículas recuperadas después de los lavados se re-suspendieron en alcohol isopropílico y se sonicaron por 5 minutos. Para que se tenga una buena micrografía, la suspensión debe estar en un punto medio entre lo turbio e incolora. Se agregaron 3 gotas de esta suspensión a la rejilla, y se dejó secar para después observarlas con el TEM marca Jeol JEM modelo 1230 y un SEM FEI modelo Quanta 250.

2.2.7. Pruebas en lote para el desarrollo de nanopartículas de ZnS y su desaglomeración

Para el desarrollo, estabilización y dispersión de las nanopartículas de ZnS se realizaron diversas pruebas en lote, con diversas concentraciones de Zn, agentes dispersantes y técnicas físicas.

Se realizaron cuatro diferentes pruebas en lote en botellas serológicas de 160 mL, todas las botellas contenían medio mineral con la siguiente composición en (g/L): $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.703), KH_2PO_4 (0.6), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.11), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.006), NH_4Cl (0.28) y extracto de levadura (0.02) y 1 mL/L de solución de elementos traza. 2 g SSV/L de lodo granular sulfato reductor, 2 g-DQO/L de acetato y sulfato de sodio (Na_2SO_4) como aceptor de electrones para tener una relación $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 0.66. En la primera prueba se le adicionó 10 mL de PVP con la finalidad de establecer si éste pudiera ser considerado como alimento (DQO) para las bacterias.

En la segunda prueba se le adicionaron a cada botella diferentes concentraciones de Zn^{2+} (como ZnSO_4) que fueron de 300, 500 y 1000 mg/L. La tercera prueba contenía las mismas concentraciones del metal y 25 mL de PVP (Zn - PVP). La cuarta prueba también contenía las mismas concentraciones del metal y PVP, pero éstas fueron expuestas a ondas sonoras (Zn – PVP – S) en un sonicador marca marca Branson modelo 2800) durante 10 minutos. Las botellas se sellaron con tapones de hule y anillos de aluminio, se incubaron a $30 \pm 2^\circ \text{C}$ y en agitación a 125 rpm. La cantidad de sulfuro disuelto en las botellas se determinó realizando mediciones cada 3 hrs en un espectrofotómetro de acuerdo a la técnica descrita por Cord – Ruwich, 1995 (sección 2.3.6). El desempeño de las bacterias se evaluó a partir del análisis de DQO, pH, ORP, zinc en solución, producción de sulfuro.

2.2.8. Técnicas (lavados) para la desaglomeración de nanopartículas de ZnS

El grado de desaglomeración de las nanopartículas de ZnS (Zn-PVP y Zn-PVP-S) se analizó por MEB y TEM, siendo el principal problema el exceso de materia orgánica para definir el tamaño y la forma, generando una desventaja para su caracterización. Dado esto, se propusieron cuatro tipos de lavados. En la sección 2.2.4 se describe el proceso general de lavado de nanopartículas de ZnS, donde sólo se sustituye el disolvente y el proceso de mezcla, los cuales son los siguientes:

1. Lavado con alcohol isopropílico y agitación con vórtex
2. Lavado con agua destilada y ultrasonido
3. Lavado con alcohol isopropílico y ultrasonido
4. Lavado con agua destilada y agitación vortex

2.2.9. Caracterización de un agua de proceso real proveniente de la industria minera

La muestra problema provenía de la Refinería Electrolítica de Zinc de Grupo México S.A de C. V. El análisis de la muestra arrojó los siguientes parámetros: pH de 3.2, ORP de +180 mV, SO_4^{2-} de 1,750 mg/L. En la Tabla 2.1 se presentan los resultados para el agua, analizada con la técnica descrita en la sección 2.3.9.

Tabla 2. 1. Análisis del agua real proveniente de la industria minera por ICP-OES

Elemento	Al^{3+}	As^{3+}	B^{3+}	Ca^{2+}	Cd^{2+}	Co^{2+}	Cu^{2+}	Fe^{2+}	K^+	Li^+
mg/L	78	289	47	57	1,637	507	685	2	11	1
Elemento	Mg^{2+}	Mn^{2+}	Na^+	Ni^{2+}	P^{3+}	Pb^{2+}	Si^{4+}	Sr^{2+}	Ti^{4+}	Zn^{2+}
mg/L	473	805	15	97	0	1	28	5	1	15,607

2.2.10. Precipitación de metales de un efluente real con medio metanogénico y la formación de nanopartículas de ZnS a partir de un medio sulfidogénico

El objetivo de este proceso fue la eliminación de los metales que contenía la muestra real a través de la reducción del ORP por la acción de las bacterias anaerobias. Se estudió la solubilización de los metales presentes en la muestra (sección 1.3.3, Tabla 1.4), para así obtener el metal con estado de oxidación cero y dejar libre el Zn para proceder a la síntesis

de nanopartículas a partir del proceso de sulfato reducción. Se añadió a un matraz de precipitado 20 mL de medio metanogénico, el cual tenía un ORP de -255 mV; después, se le añadieron 6 mL de la muestra real, para obtener un precipitado. El medio acuoso fue separado del precipitado, esta solución se analizó por ICP-OES y el precipitado se dejó secar a 80° C por 24 horas para su caracterización por DRX. En la Figura 2.7 se presentan las imágenes del experimento.

Enseguida se realizó la síntesis de nanopartículas de ZnS de la siguiente manera: el medio líquido residual de la prueba anterior se mezcló con un medio líquido sulfidogénico proveniente de un consorcio de BSR (Ver técnica en la sección 2.2.1). Posteriormente, se realizaron lavados a las nanopartículas de ZnS (Ver sección 2.2.4), y se caracterizaron por UV-Vis, FT-IR, MEB y TEM como se indica en las secciones 2.2.2, 2.2.5 y 2.2.6.

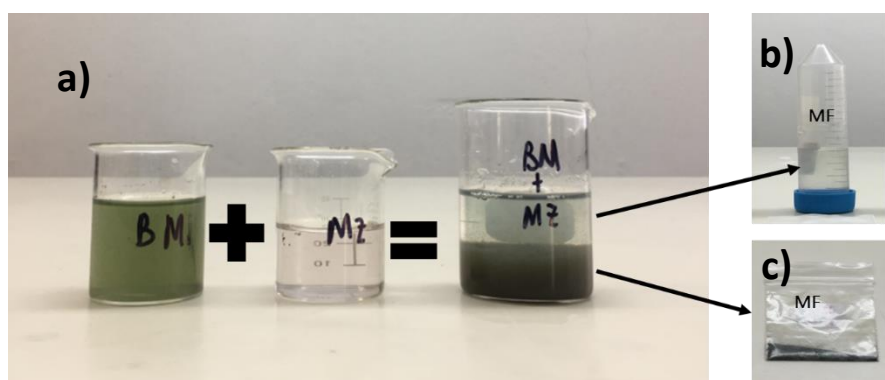


Figura 2. 7. a) Medio metanogénico en contacto con muestra real y como resultante formación de un precipitado. b) Separación del medio líquido resultante para análisis de muestra por ICP-OES. c) Precipitado seco final resultante para análisis por DRX

2.2.11. Eliminación de diversos metales a partir de su reducción con bacterias metanogénicas en pruebas en lote

Para las pruebas en lote se utilizaron botellas serológicas de 80 mL y se les adicionó 2 g SSV/L de lodo granular anaerobio. Cada botella contenía medio mineral con la siguiente composición en (g/L): $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.703), K_2HPO_4 (0.6), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.11), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.006), NH_4Cl (0.28) y extracto de levadura (0.02), 2 g SSV/L de lodo granular metanogénico y 1 g-DQO/L de etanol como sustrato. A cada botella se le añadieron diluciones de muestra real (sección 2.2.9) al 1%, 2%, 4%, 5% y 10% y se ajustó el pH a 6.5 con NaHCO_3 . Las botellas

se sellaron con tapones de hule y anillos metálicos, se purgó la botella mediante una conexión de una aguja en una manguera y posteriormente se incubaron a 30°C. La velocidad de CH₄ producido se cuantificó a partir del volumen de CH₄ acumulado cada 12 horas hasta el término de su cinética, mediante el desplazamiento de una solución de NaOH al 3%. Al inicio y final de cada prueba se evaluó la eficiencia de remoción de DQO, pH, ORP y concentración de metales. El precipitado recuperado de las pruebas en lote se analizó por DRX, MEB y TEM.

2.2.12. Preparación de nanopartículas de ZnS de un agua real a partir de lodo granular sulfatorreductor en pruebas lote

Para obtener las nanopartículas de ZnS de un agua real a partir de bacterias sulfatorreductoras, se usó el medio líquido final de cada una de las botellas de la sección 2.2.11.

Se realizaron cinco pruebas en lote con el líquido de las diferentes diluciones de agua real proveniente de la industria minera (1%, 2%, 4%, 5% y 10%) en botellas serológicas de 70 mL, todas las botellas contenían medio mineral, 2 g SSV/L de lodo granular sulfatorreductor, 1 g-DQO/L como acetato, Na₂SO₄ como aceptor de electrones para tener una relación DQO/SO₄²⁻ de 0.66 y 10 mL de PVP. Las botellas se sellaron con tapones de hule y anillos de aluminio, se incubaron a 30 ± 2° C y en agitación a 125 rpm. La cantidad de sulfuro producido en las botellas se determinó cada 3 hrs en un espectrofotómetro de acuerdo con la técnica descrita por Cord – Ruwich, 1995 (sección 2.3.6). El desempeño de las bacterias se evaluó a partir del análisis de DQO, pH, ORP, zinc en solución, producción de sulfuro. Posteriormente, el precipitado recuperado de las pruebas en lote se caracterizó por UV-Vis, MEB, TEM y DRX.

2.2.13. Eliminación de diversos metales y recuperación de nanopartículas de un agua industrial real a partir de bacterias anaerobias en un sistema continuo

Se implementó un sistema continuo a partir de la muestra de agua real con el objetivo de eliminar diversos elementos (As³⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, Sr²⁺, etc.) de la muestra (reactor UASB) y así dejar libre el zinc y obtener nanopartículas de ZnS (reactor LFI).

Los reactores UASB con lodo granular metanogénico y el reactor LFI con biopelícula sulfidogénica se estabilizaron a 91 y 129 días, respectivamente, posteriormente se implementó un sistema continuo, en donde se alimentó al reactor UASB con muestra real establecida al 10% para después, esa salida ingresarla como afluente en el reactor LFI (secciones 2.2.11 y 2.2.12).

Para el reactor UASB la operación total duró 129 días con un flujo de circulación de 180 mL/min y un flujo de alimentación de 1.12 mL/min, se operó en lote por 1 día, y 2 diferentes periodos de operación en continuo. Durante los primeros 94 días de operación del reactor UASB este se alimentó con medio mineral descrito en la sección 2.1.3, como sustrato orgánico acetato y el pH se ajustó a 6.8 con NaHCO_3 con la finalidad de adaptar a las BM al medio. El segundo periodo inició a los 95 días, donde el reactor se alimentó con el 10% de concentración de muestra real proveniente de la industria minera, esta concentración fue elegida por los resultados obtenidos de las pruebas en lote con lodos metanogénicos realizadas en contacto a diferentes concentraciones de muestra real.

En el caso del reactor LFI este se operó en continuo durante 116 días para la formación y estabilidad de la biopelícula sulfidogénica (Sección 2.1.4). A partir del día 116 a 129 de operación del reactor (segundo periodo) este se alimentó con medio mineral (Sección 2.1.6), una carga orgánica de 1g DQO como acetato, 10% de la solución real proveniente de la salida del reactor UASB, 175 mg/L de SO_4^{2-} , el pH a 7 se ajustó con NaHCO_3 , y el reactor opero en continuo con un TRH de 1d.

De los dos reactores se tomaron muestras 3 veces por semana tanto del influente como del efluente, para analizar la concentración de DQO, pH, alcalinidad, ORP, sulfatos y sulfuros. La concentración de los metales se analizó por ICP-OES para determinar si fue posible llevar acabo la eliminación de los 20 metales del agua real por reducción y/o precipitación en el reactor UASB, y la eliminación del Zn por sulfato reducción en el reactor LFI. La caracterización del precipitado recuperado de ambos reactores se efectuó por UV-Vis, DRX y MEB. En la Figura 2.8 se muestra un esquema general de la operación de los reactores en un sistema continuo.

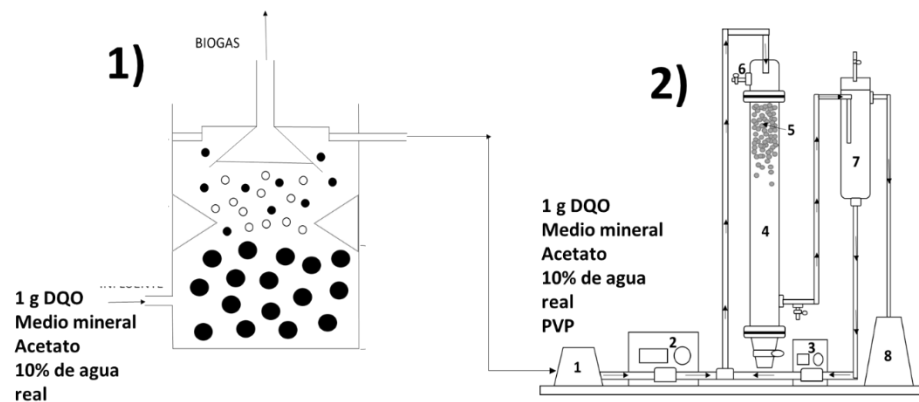


Figura 2. 8. Esquema general de reactores en sistema continuo. 1) Reactor UASB con lodo granular metanogénico, 2) Reactor LFI con biopelícula sulfidogénica

2.3 ANÁLISIS

2.3.1. Seguimiento del desempeño de los reactores

El desempeño de los reactores UASB y LFI fue monitoreado 3 veces a la semana durante su periodo de operación, con el fin de determinar las concentraciones de DQO, sulfatos y sulfuros (para el reactor LFI), pH y alcalinidad tomándose las muestras del influente y del efluente de cada reactor.

2.3.2. Determinación de sólidos suspendidos volátiles

Esta determinación se realizó en crisoles gooch a los cuales se les introdujo un filtro de papel a peso constante de acuerdo con lo descrito en los métodos estándar (APHA, 2005), dejándose enfriar a temperatura ambiente en un desecador, registrándose el peso al finalizar el procedimiento (sección 2.3.7). Posteriormente se adicionó un volumen conocido de lodo con bacterias sulfatorreductoras. El crisol se secó en la estufa a una temperatura de 105° C durante 12 horas. Se dejó enfriar en el desecador a temperatura ambiente y se determinó el peso, para después llevarlo a la mufla previamente calentada a 550° C, se dejó ahí por 1 hora, se llevó al desecador para enfriarse y luego se tomó el peso.

2.3.3. Determinación de pH y alcalinidad

Para la determinación de pH del influente y efluente, se midió mediante un potenciómetro Thermo Orion 5 Star equipado con un electrodo de pH marca Oakton previamente calibrado con soluciones buffer de pH 4.01, 7.01 y 10.01. Para la alcalinidad, se analizó con la toma

de una muestra de 20 mL del efluente del reactor titulando con ácido clorhídrico 0.1 N, hasta alcanzar un pH de 5.8 para poder cuantificar la alcalinidad por bicarbonato (CaCO_3/L) y consecutivamente llevar la muestra a un pH de 4.3 para determinar la alcalinidad por ácidos grasos volátiles (APHA, 2005).

2.3.4. Determinación potencial de oxidación – reducción

El potencial REDOX es una forma de medir la energía química de oxidación – reducción mediante un electrodo, convirtiéndola en energía eléctrica. Si el potencial es positivo se produce una oxidación y si es negativo ocurre una reducción. Para conocer el valor del ORP de las muestras, se midió con un potenciómetro marca Thermo Orion 5 star y un electrodo de potencial marca ST Ohaus (APHA, 2005).

2.3.5. Determinación de DQO

La demanda química de oxígeno (DQO) es la medida del equivalente en oxígeno del contenido de materia orgánica de una muestra que es susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte. Para calcular la concentración de DQO de las muestras, fueron analizadas usando el método colorimétrico de reflujo cerrado (APHA, 1998). La muestra, por duplicado, de 2 mL, fue previamente filtrada y burbujeadada con aire con el fin de eliminar sólidos y sulfuro evitando interferencias, para después cuantificar la muestra oxidada que utiliza dicromato de potasio como agente oxidante y sulfato de plata como catalizador. Después de preparar la muestra, es llevada a digestión en tubos viales HACH en un reactor de DQO automático (HACH DRB200 para 15 viales) a 150°C por dos horas. La concentración de DQO es determinada por un espectrofotómetro UV-Vis (HACH, DR/5000) a una longitud de onda de 600 nm a partir de la curva estándar correspondiente de 0 a 1 g DQO/L.

2.3.6. Determinación de sulfuro disuelto por el método Cord-Rewisch

Se usó el método de Cord – Ruwisch (1995) para calcular la concentración de sulfuro en los ensayos de actividad sulfatorreductora. Consistió en usar tubos HACH, se adicionaron para cada muestra, 4 mL de una solución que contenía 1 mL de sulfato de cobre 5 mM y 99 mL de HCl 50 mM, posteriormente se le adicionó 0.1 mL de muestra problema y se agitó en vórtex marca Labnet modelo S0200 llevando la muestra para obtener la absorbancia a 480

nm en un espectrofotómetro UV-Vis marca HACH modelo DR/4000. A partir de una curva de calibración correspondiente de 0 – 20 mM H₂S/L y utilizando como solución estándar Na₂S de 100 mM, se analizó la concentración de sulfuro.

2.3.7. Determinación de sulfatos

Es un método basado en la precipitación del ión sulfato con cloruro de bario en un medio ácido y en condiciones en las que se formen cristales de sulfato de bario de tamaño uniforme, para después medir la turbidez producida por espectroscopia UV-Vis (APHA, 2005). Para este análisis, el blanco fue agua destilada, midiendo a una absorbancia de 355 nm. Para medir la absorbancia de las muestras, se emplearon celdas de cristal marca HACH de 5 mL. Las diluciones se prepararon en matraces de 25 mL, en donde se les agregó 2.5 mL de una solución de NaCl al 20% en HCl 2M a cada dilución, en donde se aforó. La muestra se colocó en un matraz Erlenmeyer y se le adicionó 0.1 g de BaCl₂, se agitó suavemente y se dejó reposar por 3 minutos la muestra, posteriormente se midió la absorbancia. La concentración se determinó a partir de la curva de calibración correspondiente (50 – 150 mg/L de SO₄²⁻) a partir de una solución patrón de 200 mg/L de SO₄²⁻.

2.3.8. Determinación de zinc

La determinación del Zn²⁺ a partir de ZnSO₄ (solución sintética) se realizó en un espectro fotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo AAS AAnalyst 400, con límite de detección del equipo correspondiente de 0 a 3 mg/L. Ver tabla 2.1.

2.3.9. Caracterización muestra real proveniente de la industria minera

La determinación de los metales presentes en el agua se realizó por un análisis con un espectrofotómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP - OES) marca Varian, modelo 720/730. Se tomó una muestra de 10 mL y se llevó al laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola, Médica y Ambiental (LANBAMA) para su análisis.

2.4 CÁLCULOS

2.4.1. Actividad Sulfato Reductora

Se calcula al obtener la pendiente de la gráfica de la concentración de sulfuro producido expresada en DQO contra Tiempo:

$$ASR = \frac{m H_2S}{V_B * SSV}$$

En donde:

m H₂S = velocidad de producción de sulfuro, expresado en DQO (g DQO – H₂S/d)

V_B = volumen del líquido en la botella (L)

SSV = concentración de sólidos suspendidos volátiles (g SSV/L)

2.4.2. Actividad metanogénica específica

$$\text{Actividad metanogénica específica (AME)} = \frac{m}{V_B * SSV * f_c}$$

En donde:

m = pendiente de la tasa de producción de metano (L/d)

V_B = volumen de líquido en la botella (L)

SSV = concentración de sólidos volátiles suspendidos (g SSV/L)

f_c = factor de concentración de metano a DQO = 0.35 L CH₄/ g DQO

2.4.3. Eficiencia de remoción de DQO

$$\% \text{ de remoción de DQO} = \frac{DQO_{influyente} - DQO_{efluente}}{DQO_{influyente}} * 100$$

2.4.4. Determinación de la alcalinidad por bicarbonato

$$\frac{mg \text{ CaCO}_3}{L} = \frac{V_{pH 5.8} * EQ * N}{V_m}$$

En donde:

$V_{pH\ 5.8}$ = mL de HCl gastados para obtener un pH de 5.8

EQ = peso equivalente del bicarbonato ($CaCO_3$) (50 000 eq.)

N = normalidad de HCl

V_m = volumen de la muestra (mL)

2.4.5. Determinación de la alcalinidad total

$$\frac{mg\ CaCO_3}{L} = \frac{V_{pH\ 4.3} * EQ * N}{V_m}$$

$V_{pH\ 4.3}$ = mL de HCl gastados para obtener un pH de 4.3

EQ = peso equivalente del bicarbonato ($CaCO_3$) (50 000 eq.)

N = normalidad de HCl

V_m = volumen de la muestra (mL)

2.4.6. Eficiencia de conversión de sulfatos

$$ECS = \frac{[SO_4^{2-}]_{influyente} - [SO_4^{2-}]_{Efluyente}}{[SO_4^{2-}]_{influyente}}$$

En donde:

ECS = Eficiencia de conversión de sulfatos

SO_4^{2-} _{influyente} = concentración de sulfatos en la solución de entrada (mg/L)

SO_4^{2-} _{efluente} = concentración de sulfatos en la solución de salida (mg/L)

2.4.7. Determinación de solidos suspendidos volátiles

Se calculó mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{Sólidos suspendidos totales (SST)} = \frac{G_2 - G_1}{V} * 1000$$

$$\text{Sólidos suspendidos volátiles (SSV)} = \frac{G_2 - G_3}{V} * 1000$$

Donde:

G_1 = Peso del crisol con el filtro a peso constante (mg)

G_2 = Peso del crisol con el filtro y el residuo seco (mg)

G_3 = Peso del crisol con el filtro y el residuo después de la calcinación (mg)

2.4.8. Determinación de la energía de banda prohibida (band gap)

Para la determinación de band gap se utiliza la ecuación de Planck que se relaciona la energía de un fotón y la frecuencia de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$E = h * f$$

En donde:

E = energía (J)

h = constante de Planck 6.6261×10^{-34} (Js)

f = frecuencia (Hz)

Tomando en cuenta la relación entre la frecuencia y velocidad de la luz se tiene entonces la ecuación:

$$\lambda = \frac{c}{f}$$

En donde:

λ = longitud de onda (nm)

c = velocidad de la velocidad en el vacío

f = frecuencia (Hz)

Dado esto, la longitud de onda radiada se puede expresar de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\lambda = \frac{hc}{E_g}$$

En donde:

E_g = energía de banda prohibida (J)

λ = longitud de onda (nm)

Para así, tener la siguiente ecuación (Botello et al., 2007):

$$E_g = \frac{1.24 \times 10^3}{\lambda}$$

En donde:

1.24×10^3 = expresa la energía de separación volts (eV)

λ = longitud de onda (nm)

2.4.9. Eficiencia de remoción de Zinc

$$\% \text{ de remoción de Zinc} = \frac{Zn(II)_{influyente} - Zn(II)_{efluente}}{Zn(II)_{influyente}}$$

En donde:

$Zn(II)_{influyente}$ = Concentración de Zn (II) de la solución inicial (mg/L)

$Zn(II)_{efluente}$ = Concentración de Zn (II) de la solución final (mg/L)

2.4.10. Determinación de la cantidad de metales eliminados en un agua real proveniente de la industria minera a partir de bacterias anaerobias

La eficiencia de remoción de los metales que contenía la muestra real se calculó a partir de la diferencia entre la concentración de en el influente y en el efluente, expresada en porcentaje.

$$\% \text{ de remoción de metales de agua real} = \frac{M_{influyente} - M_{efluente}}{M_{influyente}}$$

En donde:

$M_{\text{influyente}}$ = Concentración de metales del agua real de la solución inicial (mg/L)

M_{efluente} = Concentración de metales del agua real de la solución final (mg/L)

2.4.11. Balance de masa de los sulfuros de zinc precipitados

El balance de masa de los sulfuros de zinc precipitados se calculó a partir de la concentración de metales solubles en el influente, la concentración de metales solubles contenidos en el efluente y el volumen del reactor.

Entradas – Salidas = Consumo

$$\text{Masa de Zn soluble por reaccionar} = (Zn_{\text{influyente}}^+ - Zn_{\text{Efluente}}^+) * V_R$$

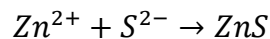
En donde:

Zn^+ influente = Concentración de zinc soluble en el influente (mg/L)

Zn^+ efluente = Concentración de zinc soluble en el efluente (mg/L)

V_R = Volumen del reactor (L)

La masa teórica de los sulfuros de zinc esperados se calculó con la estequiometría de la masa de zinc soluble y los sulfuros del reactor.



$$\text{Masa teórica de sulfuro de zinc esperados} = \sum \frac{(Zn_{\text{soluble}}^+) * (PM_{ZnS})}{PM_{Zn^+}}$$

Donde:

Zn^+ soluble = Masa de zinc soluble por reaccionar (mg)

PM_{ZnS} = Peso molecular de sulfuro de zinc (mg/mmol)

CAPÍTULO 3. Evaluación de la formación de nanopartículas de ZnS a partir de bacterias sulfatorreductoras de un agua residual sintética

3.1 SINTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ZnS A PARTIR DE SULFURO BIOGÉNICO PRODUCIDO POR LAS BACTERIAS SULFATO REDUCTORAS

El método de síntesis empleado para la obtención de las nanopartículas de ZnS se basó en una reacción de precipitación por mezcla de la solución de sulfuro biogénico, con 850 mg de H₂S/L producido por las bacterias sulfatorreductoras, con 800 mg de Zn²⁺/L (sección 2.2.10).

La ventaja de este procedimiento consiste en la reducción de sulfato a sulfuro, precipitando el ZnS con un agente biológico producido por las bacterias sulfatorreductoras, disminuyendo costos y toxicidad para la salud y el medio ambiente.

3.1.1. Caracterización de las nanopartículas de ZnS por UV-Vis

El seguimiento de la evolución del sistema de reacción se llevó a cabo por espectroscopia UV-Vis. La Figura 3.1 muestra el espectro de absorción para las nanopartículas de ZnS de alícuotas extraídas en diferentes tiempos (0, 20, 30, 45, 60, 180 y 300 min) de la síntesis. Los bordes de absorción se encuentran en promedio a 340 nm, esto coincide con lo reportado por Borah et al. (2008), en donde los bordes de absorción entre 320 y 350 nm indican la presencia de nanopartículas de ZnS.

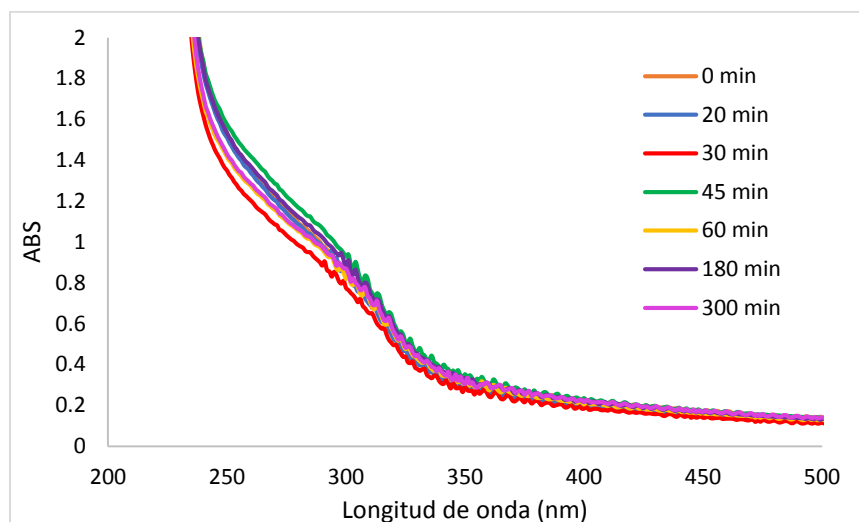


Figura 3. 1 Espectro UV-Vis de la síntesis biológica de las nanopartículas de ZnS

Al observar los espectros a diferentes tiempos, se observa que son similares y podemos definir que la forma representa la de un característico material semiconductor.

3.1.2. Banda de energía prohibida (band gap)

Para determinar la banda de energía prohibida, en la Figura 3.2 se trazó una línea desde la región descendiente del espectro, que se intercepta con la línea del eje de la longitud de onda. Los valores de banda de energía prohibida fueron calculados mediante una ecuación de ajuste lineal (ver sección 2.3.8), en donde arrojó la longitud de onda de 342 nm correspondiente a la banda de energía prohibida de 3.63 eV. Castro et al. (2016) compararon la acción catalítica de dos nanomateriales (CdS y ZnS) preparados por síntesis química, estabilizándolos con dodecil sulfato de sodio y ácido etilendiaminotetraacético, para el tratamiento fotocatalítico del colorante azul de metileno con radiación UV, y reportaron un valor de band gap para ZnS de 3.75 eV. Por otro lado, Bhushan et al. (2019) sintetizaron ZnS por el método de co-precipitación, y obtuvieron un valor de energía de banda prohibida de 3.5 eV. Los valores de banda prohibida varían con el tamaño de partícula, y dependen del proceso de síntesis.

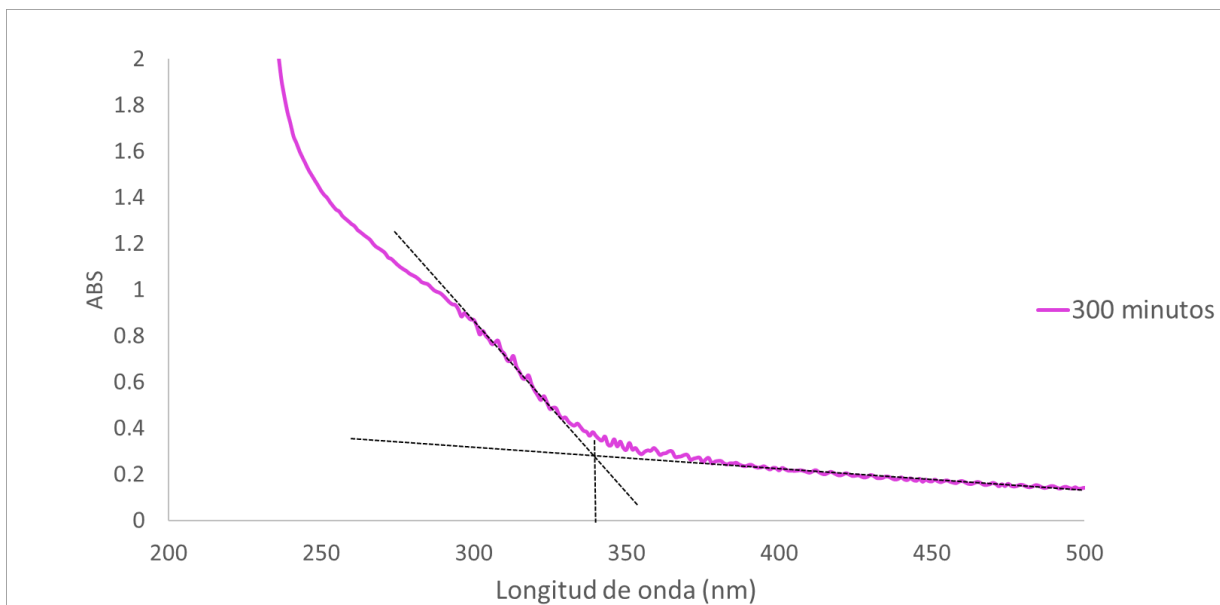


Figura 3. 2. Trazo de línea imaginaria para el espectro UV-Vis de las nanopartículas de ZnS

3.1.3. Caracterización TEM de las nanopartículas de ZnS

Para el análisis morfológico de las nanopartículas de ZnS, se usó un microscópico electrónico de transmisión. Las Figuras 3.5 y 3.6 muestran la micrografía de la muestra representativa junto con su EDS, donde se puede ver la presencia de nanopartículas, cuyo tamaño aproximado se encuentra entre 15 -25 nm, con morfología esférica. Asimismo, se puede observar que las nanopartículas tienden a aglomerarse. El análisis químico por EDS confirma la presencia de Zn y S.

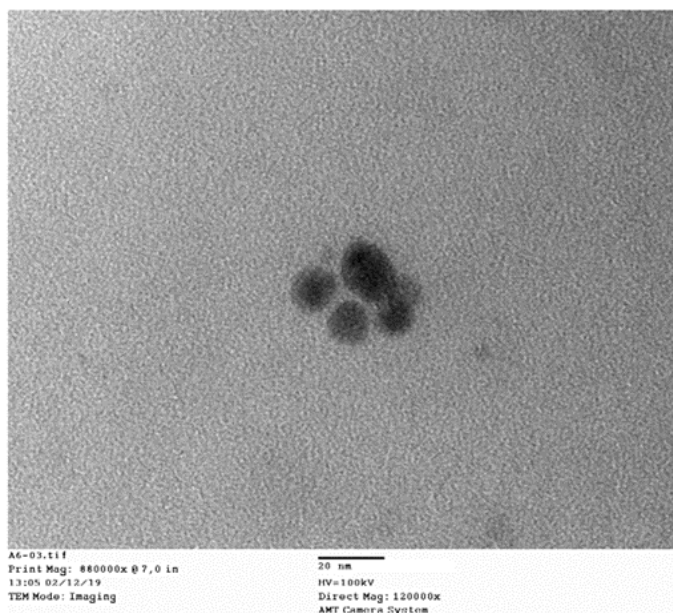


Figura 3. 3. Micrografía por TEM de las nanopartículas de ZnS preparadas por síntesis biológica.

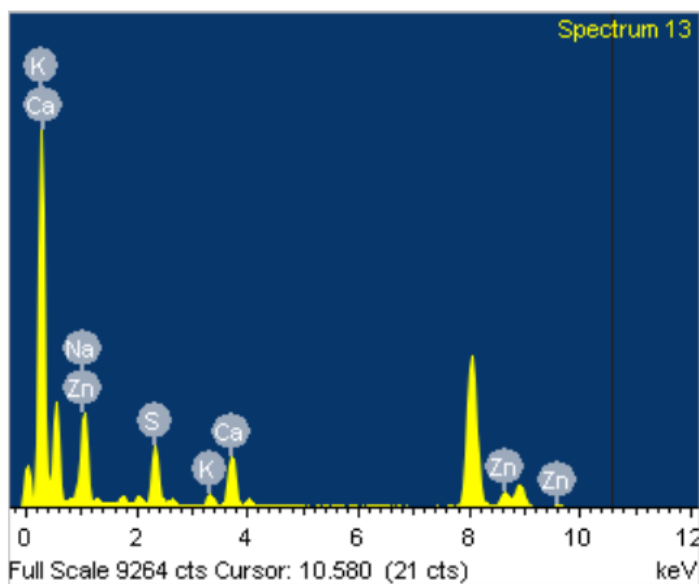


Figura 3. 4. Análisis químico EDS de las nanopartículas de ZnS a partir de una síntesis biológica

Con base en los resultados obtenidos en estas pruebas, es posible sintetizar nanopartículas de ZnS a partir del sulfuro biogénico producido por las BSR. Este proceso es de menor impacto ambiental ya que se sustituyen agentes químicos, y es económico, por lo que en el siguiente capítulo se presenta la realización de pruebas en lote con BSR expuestas a

diferentes concentraciones de Zn (300, 500 y 1000 ppm), con la finalidad de evaluar si el metal puede llegar a causar algún efecto adverso sobre las BSR.

CAPÍTULO 4. Evaluación de síntesis de nanopartículas de ZnS a partir de bacterias sulfatorreductoras en pruebas en lote

4.1 BACTERIAS SULFAORREDUCTORAS EXPUESTAS A PVP, ZN, ZN- PVP Y ZN-PVP-S

Se estudió la adaptación de las BSR previamente acondicionadas de acuerdo con lo indicado en la sección 2.2.14. La Figura 4.3 muestra los resultados de la velocidad de producción de sulfuro con respecto al tiempo durante las pruebas en lote. En la Figura 4.3a se presentan los resultados obtenidos del lodo granular alimentado con acetato y otra con PVP, con el objetivo de comprobar si el PVP funcionaba como sustrato orgánico para las bacterias. Los resultados obtenidos para la prueba con PVP fueron los siguientes: a las 200 horas se observa un ligero aumento de sulfuro de 40 mg/L, la producción fue constante hasta las 750 horas donde aumentó hasta 110 mg/L de H₂S, siendo esta última su producción máxima en comparación con el ensayo de lodo granular con acetato como fuente de alimento que alcanzó una mayor producción de sulfuro de hasta 890 mg/L. En base a estos resultados podemos decir que el PVP es una fuente de energía para las bacterias, sin embargo, la degradación del PVP es mínima (muy lenta degradación) ya que es un polímero de cadenas largas, por lo que son difíciles de degradar para las BSR.

Así mismo, en la Figura 4.1 se presentan los resultados de las pruebas en lote con BSR con un control sin metal, Zn, Zn-PVP y Zn-PVP-S, y concentraciones de: 300, 500 y 1000 mg/L de Zn²⁺, respectivamente. Los resultados para las pruebas con 300 mg/L de Zn, Zn-PVP y Zn-PVP-S se presentan en la Figura 4.3b, donde podemos observar que a las 300 hrs la prueba con Zn-PVP-S fue la primera en producir sulfuro en comparación con las pruebas de Zn y Zn-PVP, esto es debido a que al aplicar un método físico (ondas sonoras) en su preparación de mezcla, el medio mineral se integró más rápido lo cual para las bacterias fue muy fácil de adaptarse y degradar el sustrato orgánico, en comparación de las muestras de Zn-PVP que empezó la producción de sulfuro a las 300 horas pero con la mitad de lo que producía las muestras Zn-PVP-S. Los resultados obtenidos de las pruebas con Zn nos indican que la adaptación de las BSR al metal fue más lenta ya que la producción de sulfuro inicio hasta las

350 horas. Por lo que podemos decir que el PVP ayudó a aumentar la solubilidad en el sistema (medio mineral y Zn^{2+}) acelerando la adaptación de las BSR.

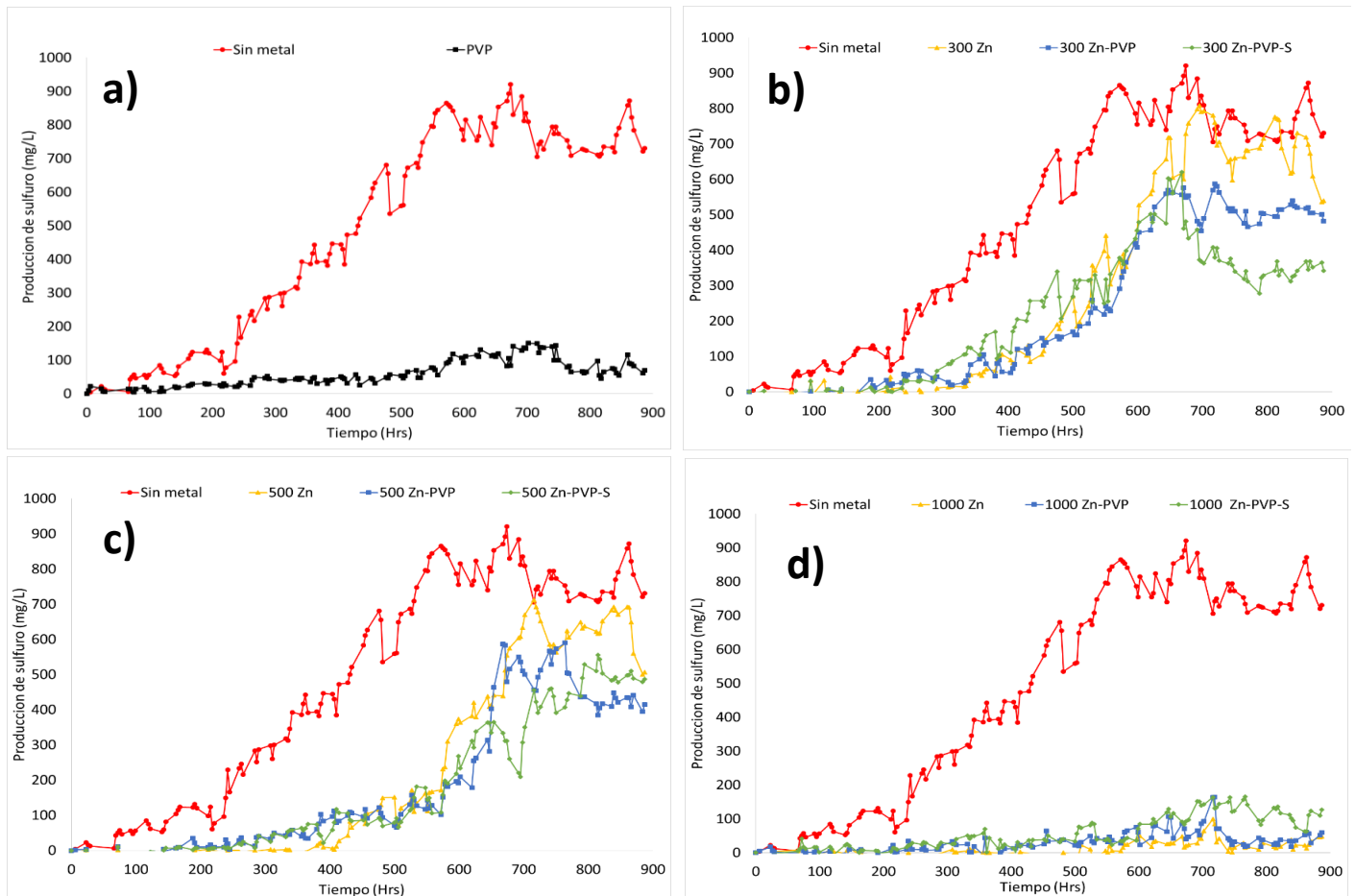


Figura 4. 1. Velocidad de producción de sulfuros en lodo granular sulfatorreductor en pruebas en lote expuestas a) PVP y a diferentes concentraciones de zinc: b) 300 mg/L (Zn, Zn-PVP, Zn-PVP-S), c) 500 mg/L (Zn, Zn-PVP, Zn-PVP-S), d) 1000 mg/L (Zn, Zn-PVP, Zn-PVP-S).

A las 750 hrs de la cinética, podemos observar que el comportamiento de las BSR fue distinto, ya que en la prueba con Zn la producción de sulfuro fue en aumento hasta alcanzar valores de hasta 800 mg/L de H_2S . Las tres pruebas (Zn, Zn-PVP y Zn-PVP-S) produjeron menor cantidad de sulfuro en comparación con el control (sin metal), debido a que parte del sulfuro producido es consumido con el metal, precipitando como ZnS .

En el caso de la prueba con 500 mg/L de Zn^{2+} (Figura 4.1c) podemos observar que durante las primeras 300 hrs de las pruebas de Zn-PVP y Zn-PVP-S la producción de sulfuro fue de 50 mg/L. En cuanto a la prueba con Zn su adaptación inicial al metal fue mucho más lenta ya que la producción de sulfuro inició hasta las 410 horas. A las 600 horas, las muestras Zn-

PVP y Zn-PVP-S produjeron menor cantidad sulfuro, esto puede ser debido a que el PVP y el baño ultrasónico ayudan a la adaptación del medio, pero llega un punto de estabilización y son constantes, mientras que la prueba con Zn su decaimiento se percibe a las 800 horas. Así mismo, las tres pruebas produjeron menor cantidad de sulfuro que la muestra sin metal ya que parte de él precipita como ZnS.

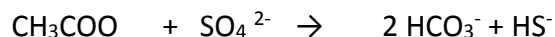
En la Figura 4.1d se presentan los resultados de las pruebas con 1000 mg/L de Zn^{2+} , en donde podemos observar una notoria inhibición de las BSR para la prueba con solo Zn ya que no hubo una producción de sulfuro. En cuanto a las muestras Zn-PVP y Zn-PVP-S se observa una ligera producción de sulfuro (100 mg/L) a las 650 horas. En la muestra Zn-PVP-S, el baño ultrasónico favoreció el medio ya que las bacterias no se inhibieron. Cabe destacar que las pruebas con Zn-PVP y Zn-PVP-S se dejaron cerradas hasta las 2000 hr sin medir la producción de sulfuro, con la finalidad de evaluar si las BSR eran capaces de adaptarse a la concentración del metal. Los resultados obtenidos del análisis de la producción de sulfuro medido a las 2000 horas en cada prueba fueron de 120 y 380 mg/L, respectivamente. Estos resultados nos indican que las BSR pueden llegar adaptarse a altas concentraciones del metal.

Con base en estos resultados, se puede decir que la concentración de zinc influye de manera significativa con respecto a las bacterias, ya que, al aumentar la concentración del metal, las BSR tardan más en adaptarse y la producción de sulfuro es menor, es por ello que a mayor concentración el tiempo de adaptación de las bacterias aumenta. Por otro lado, el PVP favorece al medio mineral logrando que sea suficientemente activo en el sistema. En cuanto a la preparación del sistema con ondas sonoras fue significativo, ya que permitió una distribución uniforme de energía en el medio de reacción, lo cual provocó que el medio mineral fuera de fácil disponibilidad para las BSR.

4.1.1. Desempeño del pH, ORP, DQO y SO_4^{2-} en el lodo sulfatorreductor.

En la Tabla 4.1 se presentan los resultados de pH, ORP, % de remoción de materia orgánica, % de remoción de SO_4^{2-} y % de remoción de Zn iniciales y finales de pruebas en lote al término de la ASR.

El pH inicial fue neutro con un valor promedio de 7.0, el pH final en todas las soluciones aumentó, con un valor promedio de 7.4, debido a la oxidación de la materia orgánica y a la producción de bicarbonato, como se presenta en la siguiente reacción:



En cuanto al ORP inicial de todos los ensayos fue positivo con un valor promedio de 136 mV, el ORP final disminuyó a valores negativos (-269 a -420 mV), el cambio de condiciones oxidativas a reductivas se atribuye a la actividad metabólica de las BSR. Al tener en cuenta estas condiciones de pH y ORP finales el zinc precipita en forma de ZnS (ver diagrama de Pourbaix, sección 1.1.3, Gráfica 1). La eficiencia de remoción de sulfatos para las pruebas sin metal fue de 65%, para las pruebas con Zn alcanzaron valores de hasta 76%, para las de Zn-PVP un 65% y para las pruebas de Zn-PVP-S un 60% en promedio, estos valores son similares a los reportados por Matins et al. (2009), que realizaron pruebas en lote con bacterias sulfatorreductoras capaces de remover contaminantes de aguas residuales, en donde las eficiencias de remoción de SO_4^{2-} fueron de hasta un 65%. En cuanto a la eficiencia de remoción de DQO y Zn hay una relación con la producción de sulfuro, es decir entre mayor es la producción de sulfuro la eficiencia se incrementa. Ting et al. (1994), evaluaron el efecto tóxico que podría causar el Zn a un lodo granular activado en un reactor Batch, y reportan que en las pruebas sin metal obtuvieron eficiencias de remoción de DQO de hasta 92%, mientras que la eficiencia de remoción en presencia de zinc disminuyó a 72%, debido a que el metal actúa como un competidor por los sitios activos de lodo, con lo que se obstaculiza la adsorción orgánica y afecta la degradación de la materia orgánica.

Los resultados obtenidos de las pruebas expuestas a 1000 mg/L de zinc muestran que las bacterias no fueron capaces de soportar esta concentración ya que la eficiencia de remoción de DQO y zinc fueron de 0%, Lo contrario para las muestras con 1000 Zn-PVP y Zn-PVP-S, ya que se obtuvo una eficiencia de remoción de DQO y zinc de 99% y 88% respectivamente, debido al PVP en el sistema comportándose como un agente excipiente.

Tabla 4. 1. Parámetros iniciales y finales de las soluciones de pruebas en lote

Muestra	ORP _{Inicial}	ORP _{Final}	pH _{Inicial}	pH _{Final}	% de Remoción		
	(mV)	(mV)			SO ₄ ²⁻	DQO	Zn
Sin metal	138	-420	7	7.7	65	71	-
PVP	137	-385	7	7.0	47	10	-
300 Zn	144	-412	7	7.4	71	52	100
500 Zn	134	-406	7	7.2	83	46	100
1000 Zn	134	-269	7	6.9	2	0	0
300 Zn-PVP	136	-410	7	7.3	62	55	95
500 Zn-PVP	138	-410	7	7.2	74	56	96
*1000 Zn-PVP	136	-381	7	7.0	61	50	87
300 Zn-PVP-S	132	-417	7	7.1	62	57	99
500 Zn-PVP-S	139	-406	7	7.2	70	53	97
*1000 Zn-PVP-S	132	-394	7	7.0	48	53	88

* Estos resultados se analizaron a las 2000 horas

4.1.2. Caracterización por UV-Vis de las nanopartículas de ZnS

En la Figura 4.2 se observan los espectros de absorción de las soluciones de las pruebas en lote una vez terminada la ASR. El seguimiento de la evolución se llevó a cabo para comprobar la formación de nanopartículas, siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.3. Los espectros con PVP (Zn-PVP y Zn-PVP-S) son los que se apegan a la forma típica de sulfuro de zinc, las muestras con solo Zn no presentan el hombro a 300 nm, lo que indica que posiblemente las partículas de ZnS son más grandes o no se formaron.

En la Tabla 4.2 se presentan los valores correspondientes a la energía de banda prohibida (ver sección 2.4.8). Para las pruebas de Zn-PVP se observa que los materiales de ZnS presentaron una energía de banda prohibida óptica a 361, 358 y 337 nm (3.46, 3.43 y 3.68 eV) y para Zn-PVP-S en 351, 337 y 376 nm, es decir 3.53, 3.68 y 3.30 eV.

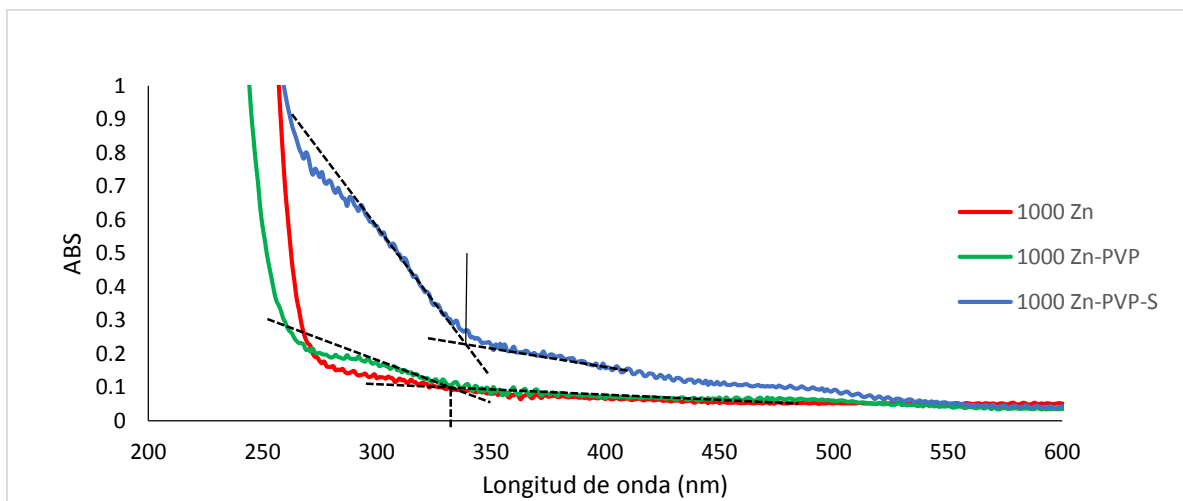
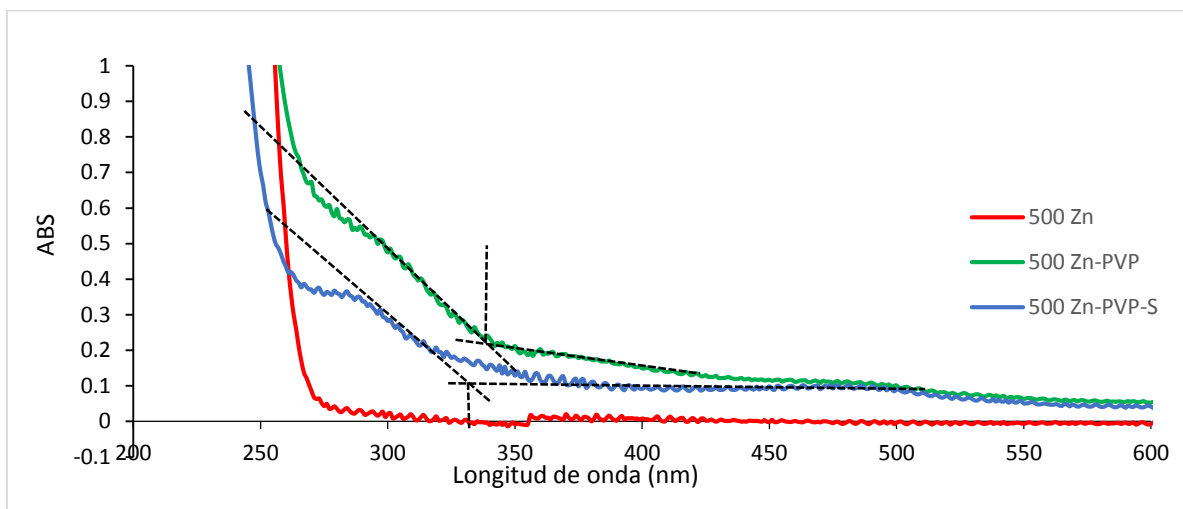
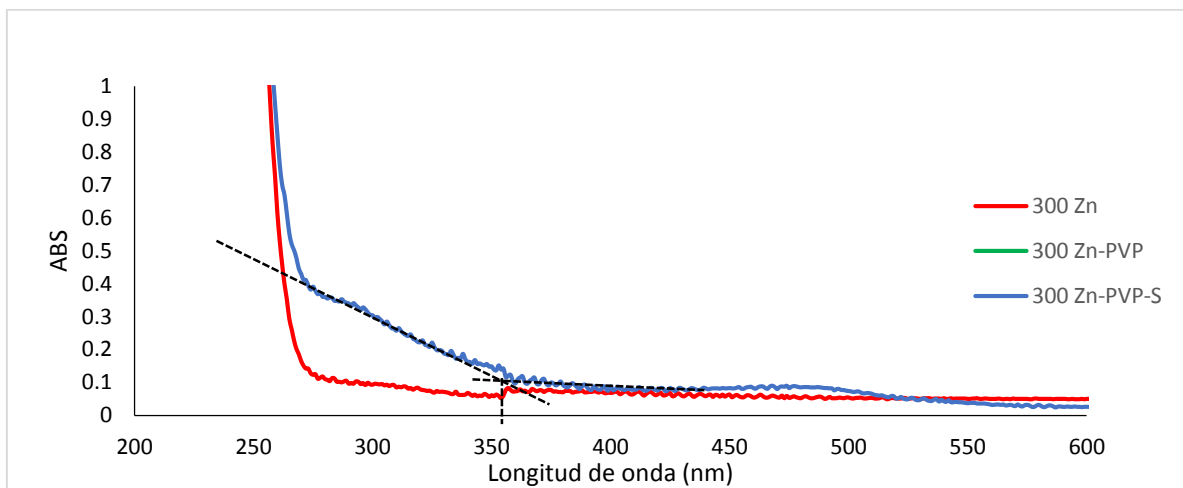


Figura 4. 2 UV-Vis de las soluciones en pruebas en lote: a) 300 mg/L de Zn, b) 500 mg/L de Zn, c) 1000 mg/L de Zn.

Tabla 4. 2 Resultados de las intersecciones de las tangentes (λ) y banda prohibida (eV) de las soluciones de pruebas en lote.

Muestra	λ (nm)	Banda prohibida (eV)
300 Zn	282	N/A*
300 Zn -PVP	334	3.71
300 Zn -PVP-S	359	3.45
500 Zn	277	N/A*
500 Zn -PVP	334	3.71
500 Zn -PVP-S	342	3.63
1000 Zn	280	N/A*
1000 Zn -PVP	331	3.75
1000 Zn -PVP-S	343	3.62

*N/A: No aplica

4.1.3. Técnicas de lavados para la recuperación de nanopartículas de ZnS

Se estudiaron las condiciones de recuperación y desaglomeración de las nanopartículas de ZnS sintetizadas en pruebas en lote, a través del uso de diferentes técnicas de lavado (ver sección 2.2.8). Para la preparación de muestras y caracterización por TEM con su respectivo EDS se muestran en la sección 2.2.6. Los resultados obtenidos para elegir el mejor método de lavado se presentan en las Figuras 4.1 y 4.2.

En la Figura 4.3 se aprecian nanopartículas de ZnS con un exceso de sales (Na, Mg, K y Ca) provenientes del medio mineral de las bacterias, después de un lavado con alcohol isopropílico y ultrasonido, la técnica fue descartada. En la Figura 4.4, se observan las nanopartículas de la misma muestra usando la técnica de lavado con alcohol isopropílico y agitación con vórtex, estas se aprecian una disminución de sales. Para los resultados obtenidos de los lavados con agua destilada, vórtex y sonicador no se pudieron apreciar las nanopartículas debido a la gran cantidad de materia orgánica y sales (potasio, sodio, cloruros, etc.) presentes. Se puede concluir que el alcohol isopropílico ayudó en la disminución de materia orgánica como interferencia para el análisis de la muestra. El uso del sonicador se descartó en este proceso ya que hace que las partículas se aglomeren

debido a que el sonicador es un aparato electrónico que produce vibraciones y genera ondas de sonido, éstas al estar en contacto con un material en fase líquida proyectan burbujas microscópicas y ocurre así el proceso de cavitación, es decir, al tener una pérdida de presión se forman burbujas de vapor y éstas viajan a zonas de mayor presión e implosionan produciendo una estela de gas, alterando así las cargas positivas y negativas presentes en el sistema (Tippens y Hernandez, 2007). En el caso del vórtex, su función fue mezclar la solución rápidamente en un movimiento circular, es decir, se generó un flujo turbulento en rotación de espiral con trayectorias de corriente cerrada (vórtice) sin alterar las cargas del sistema, es por ello por lo que se cumplió con el objetivo de mayor eliminación de materia orgánica y sales en el sistema para la caracterización de nanopartículas de ZnS.

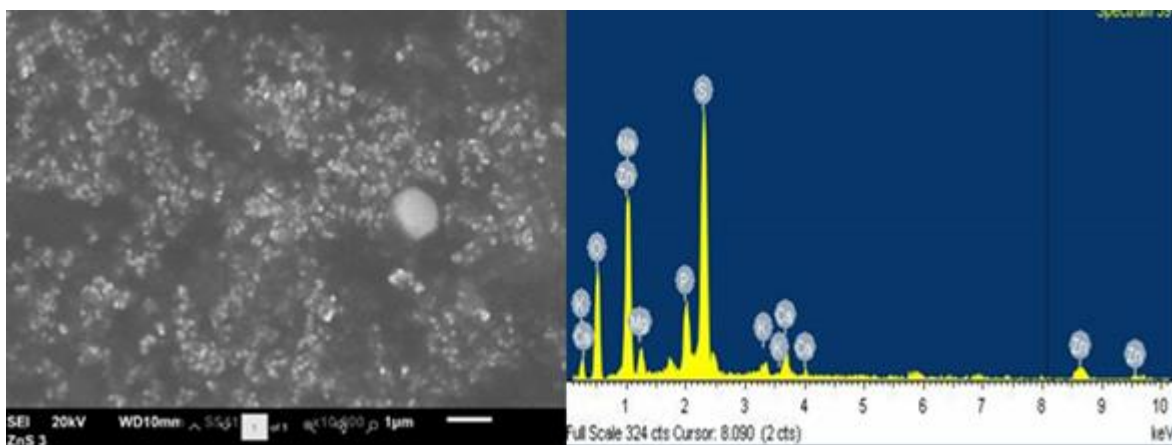


Figura 4. 3 Lavado de nanopartículas de ZnS con alcohol isopropilico y sonicador

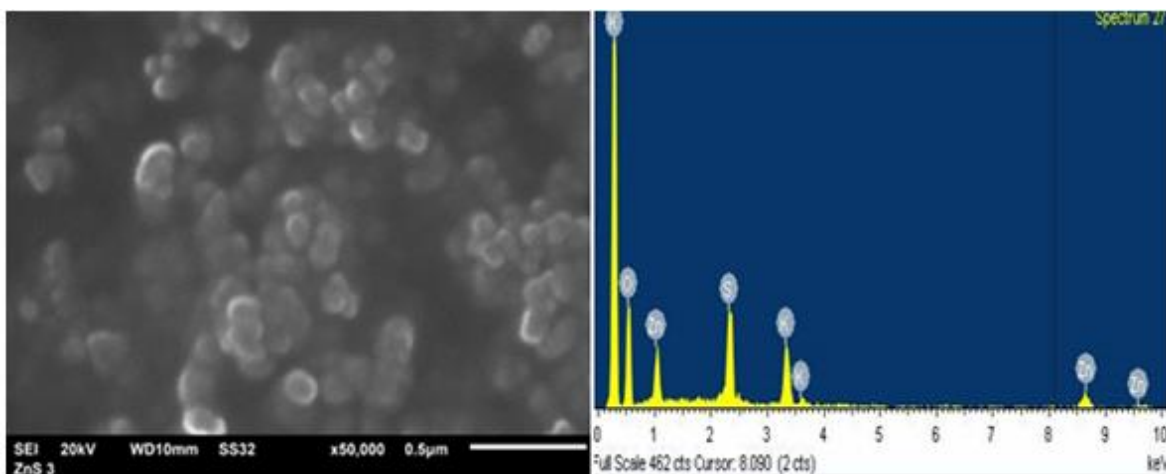


Figura 4. 4 Lavado de nanopartículas de ZnS con alcohol isopropilico y vortex

4.1.4. Caracterización por TEM

En la Figura 4.5 se aprecian las nanopartículas junto con su EDS, se aprecian partículas esféricas, de entre 20 a 30 nm, con exceso de sales y materia orgánica proveniente del medio mineral. En la literatura se sugiere hacer entre 20 a 30 lavados (ver sección 2.2.4) para su recuperación y desaglomeración, aunque en este caso el exceso de materia orgánica y sales fue mayor, lo que impide tener una mejor imagen. El análisis químico por EDS muestra la presencia de Zn y S lo que confirma que son nanopartículas de ZnS. Los resultados obtenidos nos demuestran que las BSR en un sistema en lote son capaces de adaptarse a concentraciones de hasta 1000 mg/L de Zn y producir nanopartículas de ZnS. Con base en esto se procedió a usar una muestra real con concentraciones altas de zinc. Los resultados se presentan en el siguiente capítulo.

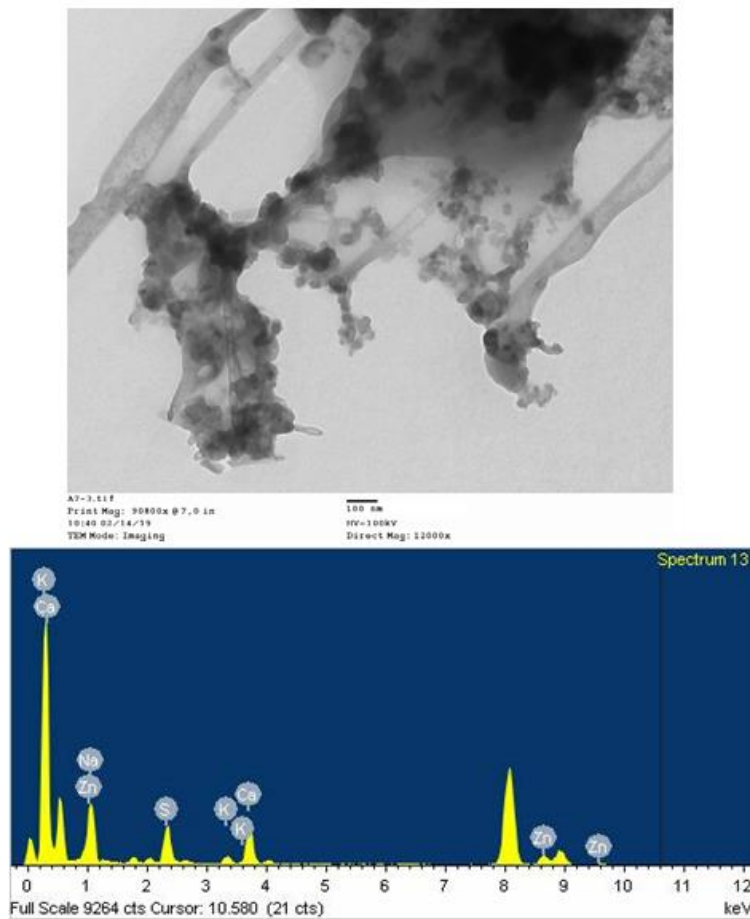
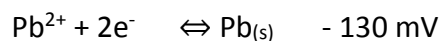


Figura 4. 3 Imagen de TEM-EDS de nanopartículas de ZnS obtenidas a partir de bacterias sulfatorreductoras en pruebas en lote

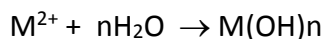
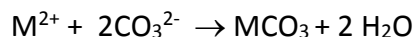
CAPÍTULO 5. Eliminación de diversos metales y recuperación de nanopartículas de un agua residual real a partir de bacterias anaerobias en pruebas en lote y en un sistema continuo

5.1 EVALUACIÓN DE LA PRECIPITACIÓN DE METALES DE UN AGUA RESIDUAL REAL A PARTIR DE LAS BACTERIAS METANOGÉNICAS

Las pruebas que se realizaron de la combinación de la muestra real con el medio reducido (-255 mV) por las bacterias anaerobias (sección 2.2.1) se presentan en la Tabla 5.1. La mayoría de los elementos fueron removidos entre un 70 y el 100 % (Al, As, B, Cd, Co, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Ni, Pb, Sr y Ti), para el potasio y el sodio la concentración aumentó hasta 17 veces, debido a la presencia del medio mineral. La remoción de la mayoría de los metales pudo deberse a diversas razones, entre ellas, la reducción en su forma elemental, las siguientes semi-reacciones comparan la fuerza REDOX:



Otro de los motivos pudo ser la precipitación en forma de carbonatos que provienen de la alcalinidad de la oxidación de la materia orgánica, y por la formación de hidróxidos debido a los OH^{-} presentes en el medio.



Cabe mencionar que la remoción del Cd y Zn fue mínima (14%) ya que para que exista la reducción de Cd y Zn elemental el potencial debe ser menor a -400 y -760 mV, respectivamente, potencial que no alcanzan las bacterias anaerobias. En la Figura 5.1, se presenta la muestra real con color violeta y al mezclarla con el medio metanogénico, se obtiene como resultado un agua incolora.

Tabla 5. 1 Porcentaje de remoción de metales de la muestra real en contacto con el medio metanogénico y sulfidogénico.

Elemento	Muestra			Muestra	
	Inicial (mg/L)	*Final (mg/L)	% de remoción Medio metanogénico	Final (mg/L)	% de remoción Medio sulfidogénico
Al	78	0	100	0	-
As	289	29	90	7	76
B	47	10	78	1	90
Ca	57	43	24	9	79
Cd	1637	192	88	5	97
Co	507	87	83	5	94
Cu	685	1	100	0	-
Fe	2	0	100	0	-
K	11	184	↑*	162	12
Li	1	0	100	0	-
Mg	473	53	85	20	62
Mn	805	125	84	8	94
Na	15	32	↑*	83	↑*
Ni	97	17	82	0	100
Pb	1	0	100	0	-
Si	28	10	64	2	80
Sr	5	1	80	0	-
Ti	1	0	100	0	-
Zn	15607	13399	15	139.98	99

↑* Aumento de concentración

* Concentración final del líquido reducido por BM y concentración inicial del líquido expuesto con medio sulfidogénico.

Para esta prueba los resultados en cuanto a la precipitación de metales con medio metanogénico resultó favorable, ya que, de los diecinueve metales, catorce de ellos fueron removidos entre un 80 a 100 %. Dos de ellos (K y Na) aumentaron más del doble su concentración debido al medio anaeróbico (metanogénico), y de Zn se removió solo el 15 %. En el momento en que la solución tuvo contacto con el medio sulfatorreductor la remoción de la muestra fue mayor, ya que para once de los catorce elementos presentes se removió entre un 80 a 100 %. De los resultados finales de la muestra al estar en contacto con medio anaeróbico (metanogénico y sulfatorreductor), ocho elementos fueron removidos en su totalidad (Al, Cu, Fe, Li, Ni, Pb, Sr y Ti), nueve de ellos se removieron más

de un 90 % de su concentración inicial entre ellos está As, B, Ca, Cd, Co, Mg, Mn, Si y Zn. Y solo 2 elementos (K y Na) aumentaron su concentración debido a su presencia en los medios reductores.

Una vez separada la muestra líquida del precipitado (Figura 5.1b), se procedió a hacer la síntesis de nanopartículas de ZnS, el proceso se describe en la sección 2.2.1. El resultado final de la síntesis de nanopartículas de ZnS con sulfuro biogénico como agente precipitante se presenta en la Figura 5.2b, el color de la solución tiende a estar café oscuro (amarillento) en comparación a la muestra sintética (Figura 5.2 a), esto es debido a la variedad de metales presentes en la muestra.

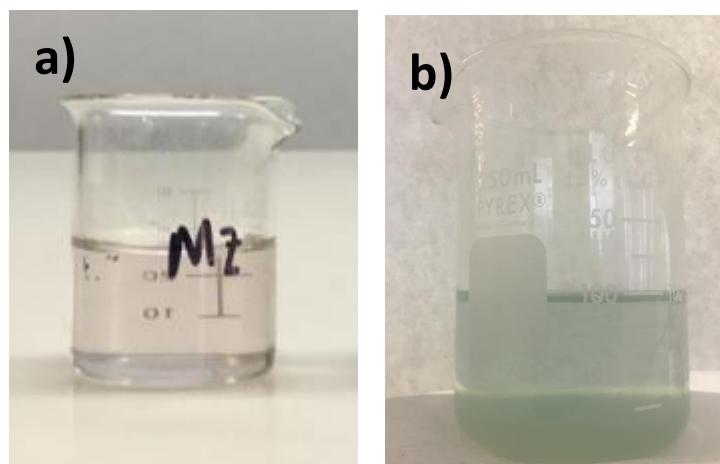


Figura 5. 1 a) Muestra real proveniente de la industria minera; b) Muestra final con alto porcentaje de remoción de metales al estar en contacto con medio metanogénico.

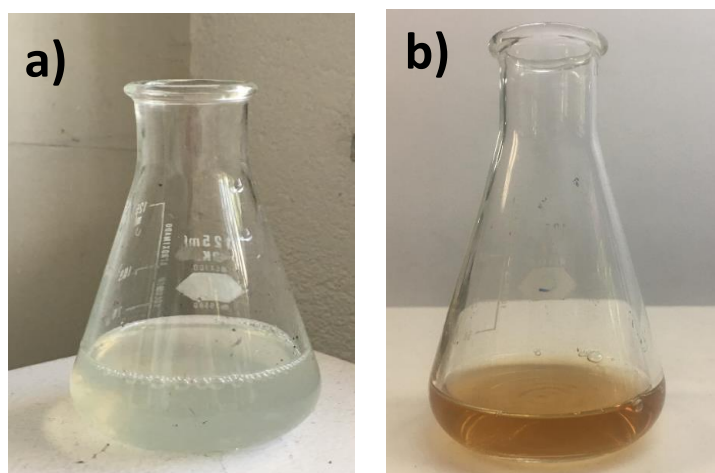


Figura 5. 2 Síntesis de nanopartículas de ZnS con sulfuro biogénico. a) Muestra sintética; b) Muestra real

5.1.1. Caracterización del precipitado

Los resultados obtenidos por DRX de las muestras secas de la industria minera y del precipitado obtenido de la combinación de la muestra real con el medio reducido por las BM, se presentan en la Figura 5.3 y 5.4. En los difractogramas podemos observar que, para ambas muestras, se presenta un material cristalino definido con cuatro picos alrededor de 18.58° , 29.2° , 35.09° y 41.1° en 2θ que corresponden a $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. En el primer difractograma se aprecian picos bien definidos ya que es un material cristalino, a diferencia de la Figura 5.4 donde se observa un alto contenido de materia orgánica, lo que ocasiona interferencias para obtener picos definidos, se aprecia la presencia de minerales de calcio, magnesio y sodio. Sin embargo, se pueden observar picos en 22° , 28.2° y 50.02° del compuesto de $\text{Na}_2\text{Zn}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. En ambas muestras no se aprecia la presencia de los demás metales ya que la concentración es muy baja y no son detectable para el equipo.

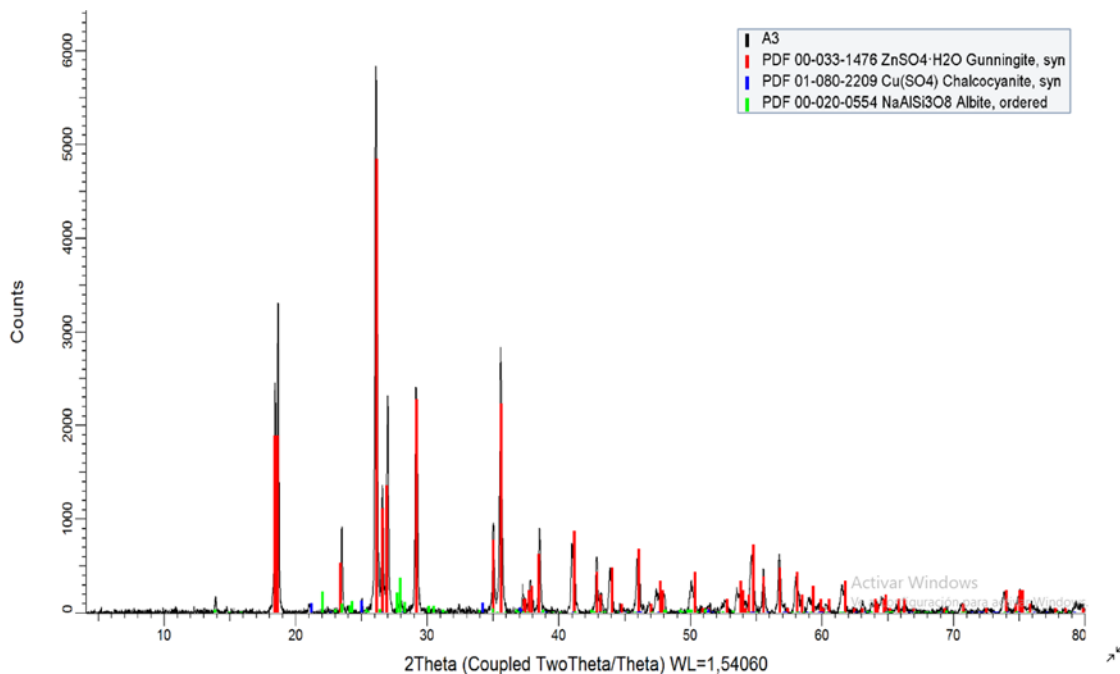


Figura 5. 3 Difractograma de rayos X obtenido del secado de la muestra real proveniente de la industria minera.

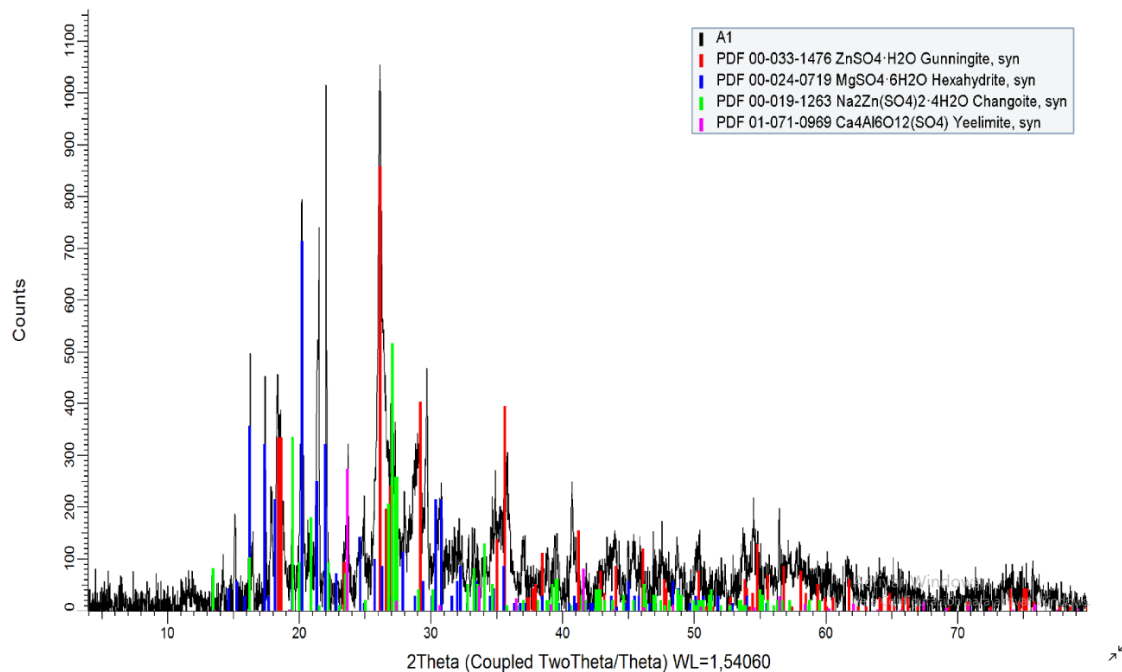


Figura 5. 4 DRX del precipitado final, obtenido del resultado la muestra real en contacto con medio mineral metanogénico.

5.1.2. Caracterización por UV-vis de las nanopartículas de ZnS

El espectro de absorción de las partículas obtenidas no muestra un espectro definido, ya que presenta grandes interferencias (ruido), posiblemente se debe a que la muestra contiene varios metales.

5.2 ELIMINACIÓN DE DIVERSOS METALES Y RECUPERACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE UN AGUA RESIDUAL REAL A PARTIR DE BACTERIAS ANAEROBIAS EN PRUEBAS EN LOTE

5.2.1. Evaluación del efecto tóxico sobre lodo granular metanogénico expuesto a diferentes diluciones de un agua residual

Para evaluar la adaptación de las BM en contacto con la muestra real, así como la eliminación de diversos metales por la reducción del ORP, se realizaron diferentes pruebas con 1, 2, 4, 5, y 10 % de la muestra real (ver sección 2.2.11). Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 5.7, en donde se observa la producción de metano (CH_4) con respecto al tiempo para los diferentes porcentajes de concentración de la muestra real en contacto con las bacterias metanogénicas. La producción de metano comienza con la prueba control del sistema a partir de las 46 horas, seguido de las pruebas 1, 2 y 4% de muestra real, estas últimas presentan una producción de CH_4 muy similar durante a las primeras 230 hrs, a

partir de este tiempo se puede apreciar un aumento en la producción de CH₄ solo para las pruebas 1 y 2. Esto puede ser debido al aumento en la concentración de metales contenidos en la muestra. En los experimentos 5 y 10% de la muestra real se puede apreciar una adaptación más lenta con un tiempo de iniciación de 304 horas de producción de CH₄. Con esto se puede decir que entre mayor sea la concentración, el tiempo de adaptación será mayor. Así mismo, el grado de inhibición de las bacterias anaerobias depende de factores como la concentración de los metales y de las condiciones del entorno como pH y temperatura, así como la cantidad y distribución de la biomasa (Ruiz-Castillo, 2016). Podría decirse que la solución proveniente del proceso (solución del lavado de jarosita) causa un efecto adverso en la actividad metabólica de las bacterias BM por su lenta y poca producción de metano comparándola con el control.

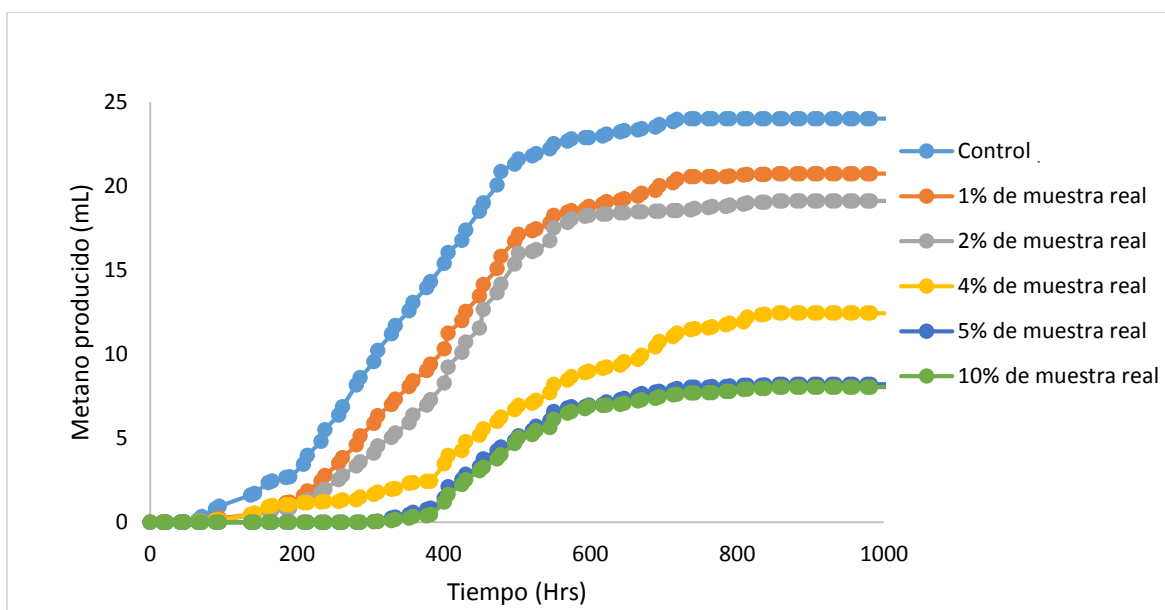


Figura 5. 6 Velocidad de producción de CH₄ de las pruebas en lote.

5.2.2. Desempeño del pH, ORP, DQO y Zn en el lodo metanogénico

La eficiencia de remoción de DQO está relacionada con la producción de CH₄, a mayor producción de CH₄ mayor remoción de DQO, esto debido a que las BM necesitan degradar la materia orgánica para generar biogás. Estos parámetros también están relacionados con las concentraciones de la muestra real con metales pesados en la muestra (Al, As, B, Co, Cu, Fe, Ni, Pb, Si, Cd, Zn, etc.), con forme aumenta la concentración de metales, la eficiencia de

remoción de DQO disminuye, al igual que la producción de CH₄. En las botellas sin metal la eficiencia de remoción de DQO fue de 70%, mientras que en las botellas de 10 % de concentración de muestra real alcanzó una remoción del 52%. Ting et al. (1994) reportan que, en sus pruebas en lote, en los primeros 30 minutos de contacto entre el lodo anaerobio-aerobio y el metal, la eficiencia de remoción de DQO disminuyó del 93 al 80%, del 89 a 86% y del 80 al 60% en presencia de zinc, cadmio y cobre, respectivamente.

En la Tabla 5.2, se presentan los valores de pH y ORP iniciales y finales, así como el porcentaje de remoción de materia orgánica, Cd y Zn de las soluciones al término de la cinética. El pH inicial se ajustó a un valor promedio de 6.5, al finalizar la producción de CH₄, el pH final de las muestras fue en promedio de 7.3, debido a la oxidación de la materia orgánica y a la producción de bicarbonato (Sección 2.4.4).

Tabla 5.2 Parámetros de pH, ORP entrada y salida y % de remoción de DQO de las soluciones de pruebas en lote.

Muestra	pH	pH	ORP	ORP	% de remoción		
	Inicial	Final	Inicial	Final	DQO	Cd	Zn
Control	6.5	7.3	131	-93	75	-	-
1 % muestra problema	6.5	7.3	136	-196	67	52	53
2 % muestra problema	6.5	7.3	136	-226	60	69	55
4 % de muestra problema	6.5	7.4	131	-194	63	64	49
5 % de muestra problema	6.5	7.3	139	-120	56	59	46
10 % de muestra problema	6.5	7.1	140	-115	52	63	50

El ORP inicial de todas las muestras fue positivo, con valor promedio de 135 mV, en cuanto a el ORP final disminuyó a valores negativos (-93 a -194 mV). Este intercambio de condiciones oxidativas a reductivas se le atribuye a la actividad metabólica de las bacterias metanogénicas. Bajo estas condiciones de pH y ORP, las bacterias generaron un ambiente reductor que permitió recuperar los metales en diversas formas, principalmente por reducción metálica, así como, por precipitación en forma de carbonatos provenientes de la alcalinidad de la materia orgánica y por la formación de hidróxidos debido a los OH⁻

presentes en el medio. La eficiencia de remoción de metales principalmente Cd y Zn, fue en promedio de 61 y 50 %, respectivamente.

5.2.3. Evaluación del efecto tóxico del lodo granular sulfatorreductor expuesto a una solución real con diversos metales

Una vez finalizada la cinética de las botellas expuestas a diferentes concentraciones de muestra real en contacto con BM se procedió a extraer el medio acuoso, y se puso en contacto con las BSR. La Figura 5.8 muestra la velocidad de producción de sulfuro con respecto al tiempo a diferentes diluciones de la muestra real (1, 2, 4, 5 y 10 %) y lodo granular sulfatorreductor, con la finalidad de ver la adaptación de las BSR y/o la toxicidad que pueden presentarse en cada experimento.

Para las muestras 1 y 2 %, se observa una menor producción de sulfuro en comparación con la prueba control, aunque la concentración inicial de sulfatos en las tres pruebas era la misma. Esto pudo ser debido a que parte del sulfuro producido fue consumido con el metal para producir ZnS y CdS.

Para las pruebas 4 y 5% se observó una producción de sulfuro por debajo de la muestra control, sin embargo, a partir de las 400 hrs podemos observar un aumento en la velocidad producción de sulfuro de hasta de 380 y 520 mg/L, respectivamente, sobre pasando a la prueba control. Y por último la prueba de 10% podemos observar hasta las 370 horas cantidades similares de sulfuro con respecto al control, pero a partir de las 370 hrs la producción de sulfuro continuó en aumento de forma significativa hasta alcanzar un máximo de 550 mg/L de H₂S (25% mayor de producción de sulfuro con respecto al control). Las pruebas 4,5 y 10% produjeron cantidades mayores que el control debido a que las muestras contenían una concentración inicial de sulfato de 1.5 g (0.2 g más que el control).

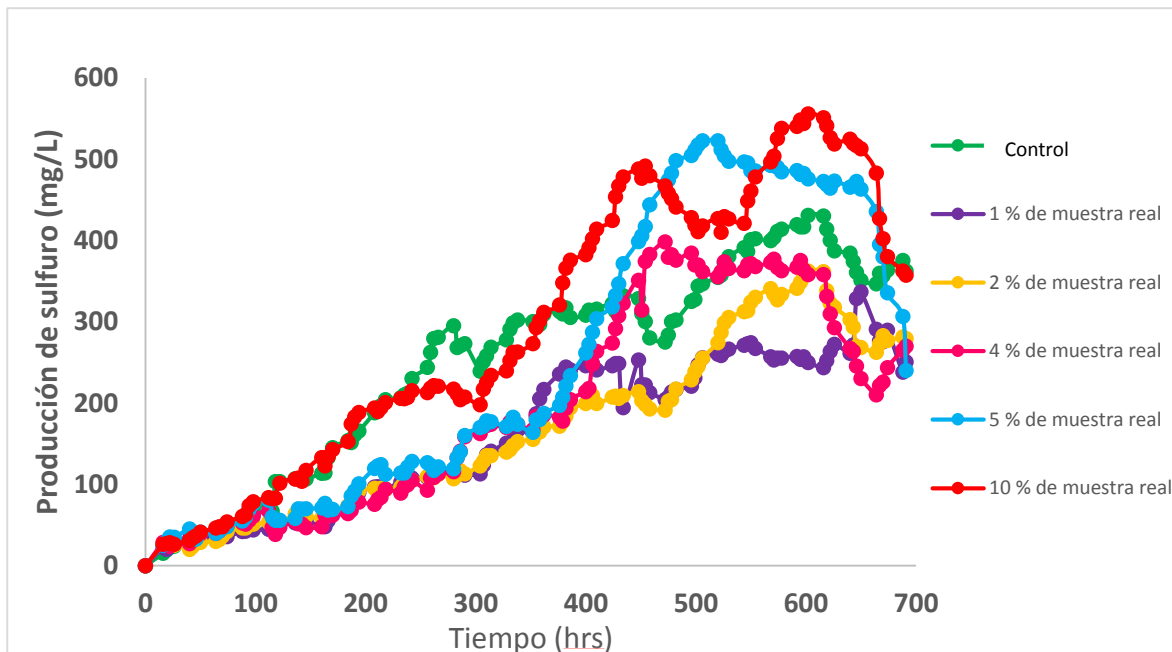


Figura 5. 7 Velocidad de producción de sulfuros de las pruebas en lote

5.2.4. Cambios en el pH, ORP, DQO y SO₄²⁻ en el lodo sulfatorreductor

Los resultados obtenidos de entrada y salida de pH, ORP, porcentaje de remoción de materia orgánica, sulfatos y zinc de las pruebas en lote se muestran en la Tabla 5.3. El pH inicial fue neutro con un valor promedio de 7.5, siendo el efluente de las botellas procedentes con medio mineral de las bacterias metanogénicas; el pH final en todas fue de un valor promedio de 8.0, debido a la oxidación de la materia orgánica y a la producción de bicarbonato. En cuanto al ORP inicial, las muestras ingresaron con valores negativos debido al medio metanogénico. Conforme fue la adaptación en cada sistema, los valores de ORP disminuyeron a valores negativos en un promedio de -384 mV, atribuido por la actividad metabólica de las BSR. Bajo estas condiciones de pH y ORP final el Zn y Cd precipitarían como ZnS y CdS (ver el diagrama de Pourbaix, sección 1.1.3). En cuanto a la eficiencia de remoción de DQO, Cd y Zn, podemos decir que hay una relación con la producción de sulfuro, es decir entre mayor es la producción de sulfuro la eficiencia incrementa. La eficiencia de remoción de sulfatos para la prueba de BSR (control) fue de 70%, para la muestra real al 1, 2 y 4% dio un resultado de un promedio de 72%, en cambio el aumento

de concentración de muestra real (5 y 10%) el porcentaje de remoción de sulfatos disminuyó hasta un 47%.

Tabla 5. 3 Parámetros iniciales y finales de pH, ORP y % de remoción de DQO, sulfato, Cd y Zn

Botella	pH	pH	ORP	ORP	% Remoción			
	Inicial	Final	Inicial	Final	DQO	SO ₄ ²⁻	Cd	Zn
Control positivo	7	8.2	138	-376	80	70	-	-
1 % muestra real	7.5	8	-50	-390	61	76	92	97
2 % muestra real	7.5	7.9	-41	-375	76	70	90	97
4 % de muestra real	7.5	7.9	-37	-381	90	70	91	98
5 % de muestra real	7.5	8	-36	-399	32	48	92	99
10 % de muestra real	7.5	8	17	-393	30	47	91	99

5.2.5. Caracterización por UV-Vis de las nanopartículas de ZnS

Una vez finalizada la actividad sulfatorreductora, se presentan en la Figura 5.9 los resultados de los espectros de absorción para cada una de las pruebas en lote. Todo este seguimiento fue para comprobar la presencia de nanopartículas de CdS y ZnS, así mismo, se continuó con el procedimiento de análisis descrito en la sección 2.2.3., para el análisis de cada muestra. Todos los espectros resultantes de las muestras se apegan a la forma típica del de un material semiconductor de NPs de ZnS y en la Tabla 5.4 se presentan los resultados de longitudes de onda de las intersecciones de las líneas tangentes, así como, los valores de la banda prohibida de cada una de las muestras, con un promedio de 3.5 eV. Para este experimento no se detectaron NPs de CdS debido a la baja concentración que tenían las muestras (< 60 mg/L).

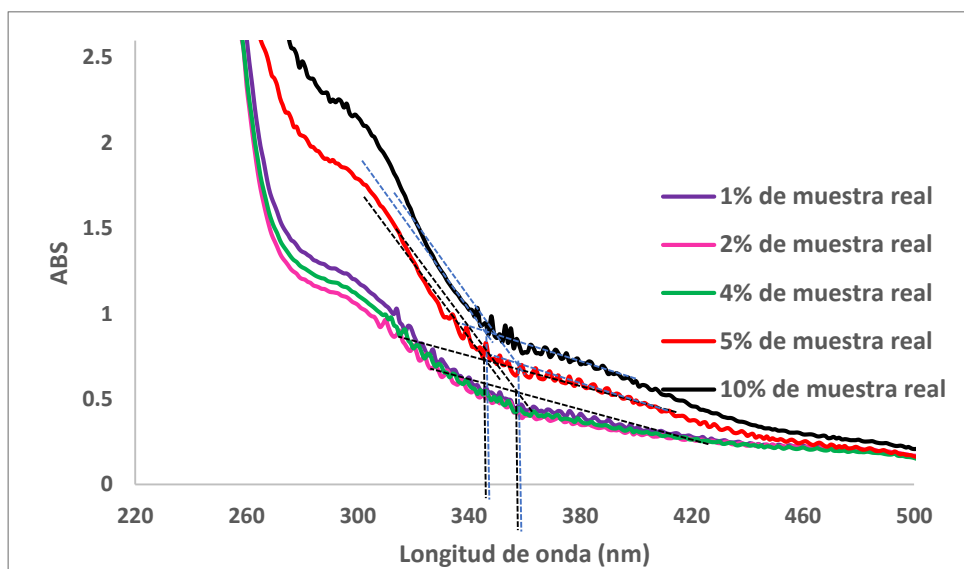


Figura 5. 8 Caracterización por espectroscopia UV-Vis de las pruebas en lote con BSR

Tabla 5.4 Intersecciones de tangentes y banda prohibida de las pruebas en lote

Solución	λ (nm)	Banda prohibida (eV)
1% de muestra real	360	3.44
2% de muestra real	361	3.43
4% de muestra real	358	3.46
5% de muestra real	401	N/A*
10% de muestra real	346	3.58

*N/A: No aplica

5.2.6. Caracterización por MEB de las nanopartículas

En la Figura 5.10 se muestra la micrografía de nanopartículas aglomeradas obtenidas de las pruebas en lote. Aunque el tamaño y forma de la partícula no se define claramente por la aglomeración de éstas, el análisis EDS demuestra la presencia de Zn y S, confirmando así un material de ZnS, cabe destacar que no se encontraron NPs de CdS en la muestra.

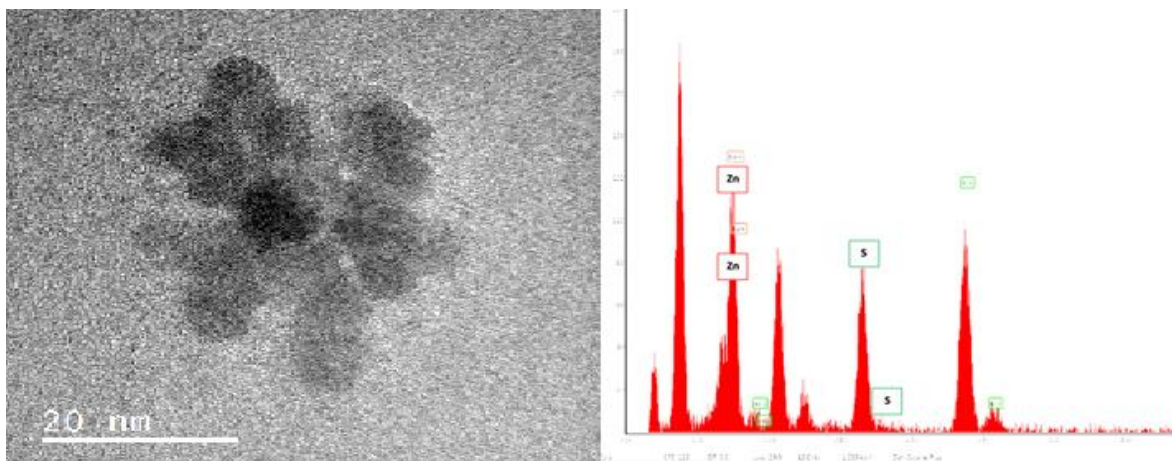


Figura 5. 5 Caracterización por MEB-EDS de nanopartículas de ZnS de las pruebas en lote.

5.3 TRATAMIENTO DE UN AGUA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA MINERA A PARTIR DE BACTERIAS ANAEROBIAS EN UN REACTOR UASB Y LFI

5.3.1. Desempeño del reactor UASB

En la Figura 5.11, se presenta el desempeño del reactor UASB con lodo metanogénico expuesto al 10 % de dilución de un agua, proveniente de la industria minera (ver características del agua en la Tabla 2.1 de la sección 2.2.9). En la Tabla 5.5 se muestran los resultados promedio de cada periodo operacional del reactor. El desempeño fue analizado mediante los análisis de ORP, pH, eficiencia de remoción de DQO y alcalinidad. Al término de la operación del reactor, se analizó la concentración inicial y final de metales presentes. La caracterización del precipitado se realizó por DRX y MEB (ver sección 5.3.4).

En el periodo uno (1-94 días), la carga orgánica fue de un 1 g como acetato y se alcanzó una eficiencia de remoción de DQO de hasta un 60 % en promedio (Figura 5.11c). En la Figura 5.11b se muestran el pH inicial de 6.8, alcanzando un pH en el efluente de alrededor de 7.5 y una alcalinidad promedio de 600 CaCO₃/L. En cuanto al comportamiento del potencial oxido reducción podemos observar que las bacterias anaerobias fueron capaces de cambiar el medio a valores reductivos (Figura 5.11a). En base con los resultados obtenidos en el primer periodo, podemos decir que las BM se adaptaron al medio.

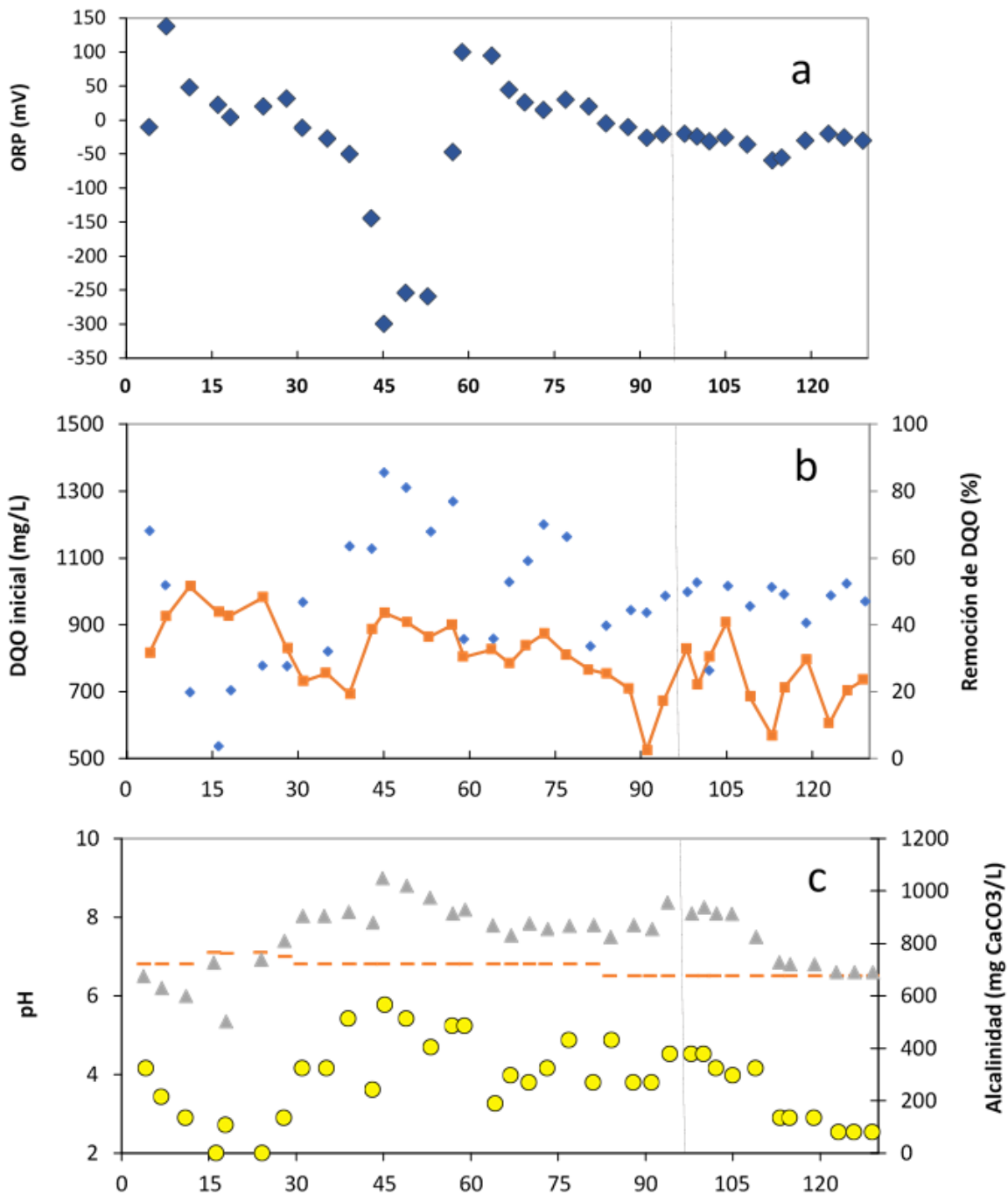


Figura 5. 60 Desempeño del reactor UASB con respecto al tiempo de operación con 10% de concentración de muestra real de industria minera. a) ORP (◆); b) Carga orgánica aplicada al reactor DQO (◆), % de remoción de DQO (■), c) pH afluente (---), pH efluente (▲), Alcalinidad por bicarbonato (●).

Para el periodo dos de 94 – 129 días, cuando se alimentó con agua industrial, la eficiencia de remoción no se vio afectada por la adición de los metales manteniendo una eficiencia

alrededor constante de 50 %, sin embargo, el pH disminuyó a valores de alrededor de 6.5 y la alcalinidad a 250 CaCO₃/L. Como podemos ver en la Tabla 5.5, hay una eficiencia de remoción de sulfato lo cual nos indica la presencia de BSR ya que estas son factor importante para eliminar el sulfato que contiene el agua real. Para este periodo el ORP alcanzo valores reductores por debajo de los -50 mV y la eficiencia de remoción de DQO se mantuvo por arriba del 50%, logrando así la remoción de la mayoría de los metales presentes en el efluente (100% de remoción de Cu, 75% de As, 61% de Cd y 50% de Zn). Al final de la operación del reactor el sistema se mantuvo estable a pesar de la presencia de los diversos metales ya que las condiciones anaerobias se mantuvieron estables.

Tabla 5.5 Desempeño del lodo metanogénico expuesta a muestra real de la industria minera al 10% en un reactor UASB.

Parámetros	Periodo Experimental	
	I n= 39	II n= 39
Días	0 - 94	94 - 129
Muestra real de la industria minera (%)	0	10
pH	7.5 ± 1.2	7.4 ± 1
ORP (mV)	-22 ± 122	-31.5 ± 28
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	301 ± 266	227 ± 150
% de remoción SO ₄ ²⁻	-	22 ± 23

Promedios (±) desviación estándar
n= Número de muestras

5.3.2. Desempeño del reactor LFI

Durante la operación del reactor LFI se tomaron muestras de entrada y salida del sistema con el fin de monitorear el desarrollo y funcionamiento de los microorganismos sobre una biopelícula sulfatorreductora expuesta al efluente con muestra real del reactor UASB. En la Figura 5.12, se muestran estos resultados. El reactor tuvo una operación total de 129 días y en la Tabla 5.6 se reportan los resultados promedios de parámetros operacionales del reactor.

En el periodo uno, el sistema se alimentó con 1 g de DQO como acetato en relación DQO/SO₄²⁻ de 0.67, en la Figura 5.12b se observa que, desde los primeros días de operación, la remoción de DQO alcanzó valores promedio por arriba del 60%. Para la Figura 5.12c, se

muestran los valores de pH y alcalinidad del sistema. El pH del afluente fue en promedio de 7.0, y debido a la actividad de las BSR oxidando la materia orgánica y produciendo bicarbonato, el pH del efluente alcanzó valores de hasta 8.4. y una alcalinidad promedio de 700 CaCO₃/L. La Figura 5.12a presenta el comportamiento del ORP negativo en el sistema, datos normales respecto a las remociones de más del 80 % de DQO, y a los -350 mV del potencial ORP, reportados por otros autores para consorcios anaerobios (Doran, 2013; Lorenzo Acosta y Obaya Abreu, 2005), y que son indicativos de una formación de biopelícula sulfidogénica en el sistema.

El periodo dos de operación del reactor del reactor LFI (116-129) se inició alimentando el efluente con muestra real del reactor UASB y PVP, sin embargo, a pesar de estos cambios no sufre una perturbación evidenciada por los datos de remoción de DQO, donde se presentó un porcentaje de remoción de DQO promedio de 50 %. Estos resultados comprueban una estabilidad en la biopelícula a pesar del cambio de carga, debido a que los microorganismos fueron adaptados con experimentos sintéticos realizados en este trabajo (sección 4.1). En cuanto a los resultados obtenidos del pH, no hubo un cambio en su comportamiento con valores promedio de 8.4; mientras que la alcalinidad llegó a valores promedio de 600 mg CaCO₃/L, similares fueron a los reportados en la literatura al evaluar la alcalinidad de un sistema de degradación de un reactor anaerobio con deflectores (Özkaya et al., 2009). Para el ORP los valores fueron reductivos, siendo óptimos para el desempeño de la biopelícula. La producción de sulfuros varió durante los primeros días hasta llegar a valores de 380 mg H₂S/L al alcanza una estabilidad alrededor de 30 días de operación del reactor. Al momento de añadir la muestra problema (efluente proveniente del reactor UASB con metales) la producción de sulfuro disminuyó (280 mg de H₂S/L) debido a la precipitación como sulfuros metálicos (Figura 5.4). El reactor en general se mantuvo estable lo cual indica que los metales no afectaron la formación de la biopelícula ni en la alcalinidad.

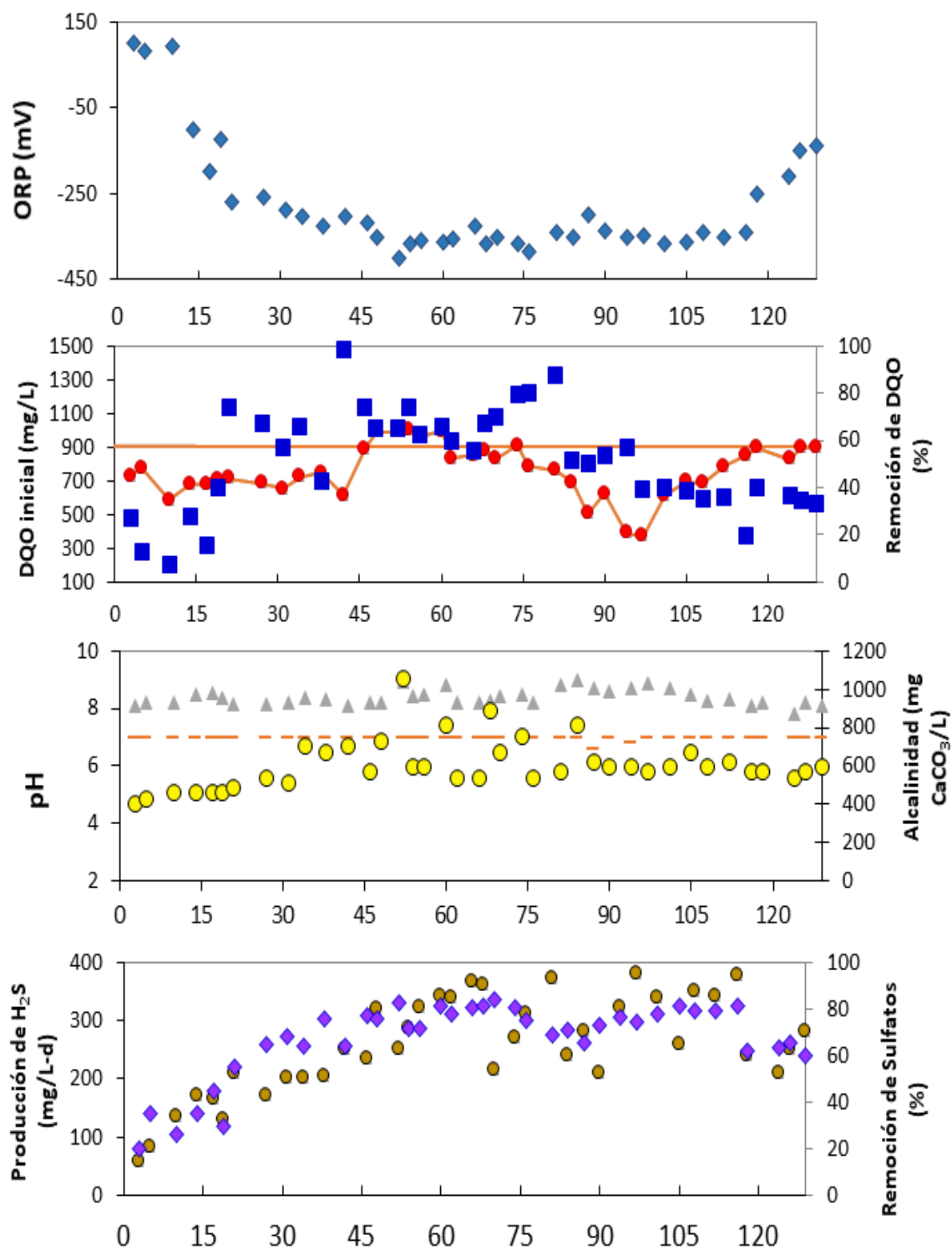


Figura 5. 71 Desempeño de la biopelícula en el reactor LFI expuesto a diferentes concentraciones de Zn. a) ORP (◆); b) Carga de DQO (●), Remoción de DQO (■), c) pH afluente (---), pH efluente (▲), Alcalinidad por bicarbonato (●), d) velocidad de producción de H₂S (●) y eficiencia de remoción de sulfato (◆).

En cuanto a la remoción de los metales alcanzó una remoción de Zn de hasta el 90%, Cd un de 92%, entre otros (Tabla 5.7). Bai et al. (2013) y Zhang et al. (2016) tuvieron eficiencias de remoción de Zn parecidas, de hasta el 99% usando un reactor de lecho fijo de flujo ascendente con lodo granular sulfatorreductor expuesto a una concentración máxima de Zn de 120 mg/L, siendo tan solo la sexta parte de la concentración a la que se expuso la biopelícula sulfidogénica en este trabajo.

Tabla 5.6. Desempeño de la biopelícula expuesta a el 10% de muestra real en un reactor LFI operando en continuo bajo condiciones de sulfato reducción.

Parámetros	Periodo Experimental	
	I n= 39	II n=39
Días	0-94	94-129
pH	8.4 ± 0.5	8.0 ± 0.2
ORP (mV)	-319 ± 79	-187 ± 62
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	611 ± 199	567 ± 27
H ₂ S (mg/L)	366 ± 280	362 ± 40
% de remoción de DQO	53 ± 21	36 ± 4
% de remoción SO ₄ ²⁻	75 ± 8	36 ± 4

Promedios (±) desviación estándar
n= Número de muestras

5.3.3. Resultados de la salida del agua real del reactor UASB y LFI por Espectroscopía de plasma ICP-OES

La concentración de los metales pesados en el efluente del reactor UASB y LFI se determinó por espectrofotometría de plasma inducido (ICP-OES) (sección 2.3.9). La muestra se obtuvo del efluente del reactor UASB y LFI (sección 2.2.9, Tabla 2.1). En la Tabla 5.7 se presenta el porcentaje de remoción promedio de metales solubles totales presentes en muestra, en donde se observa que la remoción de los metales (Al, As, B, Cd, Co, Fe, Li, Ni, Si, Ti, Zn, etc.) presentes en el agua fue entre el 85 y el 100%, siendo Cd y Zn los metales que se mantuvieron presentes con concentraciones de 160 y 1500 mg/L, respectivamente. Se observa un aumento en la concentración de K y Na (4 y 12 veces) respectivamente, debido al medio mineral que se usó para la alimentación de las BM en el sistema. La remoción de la mayoría de los metales en el sistema pudo haber sido por diversas razones, entre ellas, la reducción en su forma elemental.

Tabla 5.7. Concentraciones iniciales y finales del reactor y porcentaje de remoción del reactor LFI

Elemento	REACTOR				
	UASB			LFI	
	Afluente (mg/L)	*Efluente (mg/L)	Remoción (%)	Efluente (mg/L)	Remoción (%)
Al	8	0	100	0	-
As	29	7	75	0	-
B	5	5	0	1	80
Ca	6	14	↑	9	35
Cd	164	63	61	5	92
Co	51	37	27	5	86
Cu	68	0.5	100	0.01	100
Fe	0.24	0	100	0	-
K	11	134	↑	162	↑
Li	1.4	0.2	↑	0	0
Mg	47	58	↑	20	65
Mn	80	71	12	8	88
Na	1.4	62	↑	83	↑
Ni	10	7	27	0	100
Pb	0.14	0	100	0	-
Si	2.7	4	↑	2	50
Sn	0.03	0	100	0	-
Sr	0.5	0.4	20	0	100
Ti	0.1	0	100	0	-
Zn	1561	758	50	74	90
SO ²⁻	175	156	11	33	79

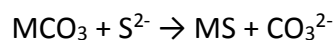
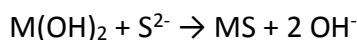
*: Afluente para el reactor LFI

↑: Aumento de concentración

Otras de las razones por la que pudo haber existido una remoción es por la precipitación en forma de carbonatos que provienen de la alcalinidad de la oxidación de la materia orgánica y por la formación de hidróxidos debido a los OH⁻ presentes en el medio. Cabe mencionar que existió una remoción de Cd y Zn de hasta 14%, esto pudo haber sido por la precipitación por carbonatos e hidróxidos.

Para los resultados del efluente del reactor LFI, se observa que la mayoría de los metales fueron removidos, principalmente el Zn y Cd (cationes con concentración mayor en el sistema) en donde se obtuvo una remoción de 90 y 92%, respectivamente. Una de las principales razones fue tener un sistema reductor sulfidogénico estable, suficiente para

reaccionar con todos los metales presentes en el sistema, en donde se precipitaron como sulfuro metálico (ver sección 2.4.9. Cálculo de sulfuro necesario para precipitar el zinc). Debido a que los precipitados de sulfuros metálicos son más estables que los precipitados con hidróxido o carbonato de acuerdo con el Kps (Quan et al., 2003):



En la Figura 5.13b se presenta el efluente del reactor LFI, en donde se puede observar que el agua es incolora, en comparación con la entrada que presentó una solución turbia (Figura 5.13a) , disminuyendo así un impacto ambiental significativo.

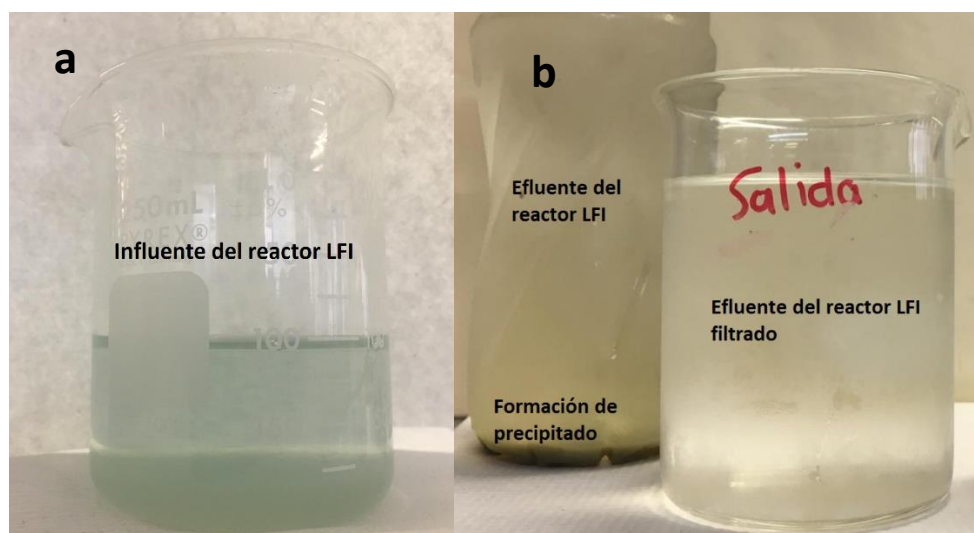


Figura 5. 82 Efluente del reactor LFI

5.3.4. Caracterización DRX del precipitado obtenido del reactor UASB y LFI

El difractograma de DRX de la muestra obtenida a partir de lodos del reactor UASB y LFI una vez finalizada su operación se presenta en las Figuras 5.13 y 5.14, con un barrido de 0 a 90° con un tiempo de 21 minutos. Para los resultados obtenidos del lodo del reactor UASB, se observa una interferencia (ruido) por la presencia de materia orgánica en la muestra (lodos metanogénicos), así como la baja concentración de ciertos materiales cristalinos. Sin

embargo, en el difractograma identificó como fases mayoritarias más probables a Anhidrita (CaSO_4), Magnetita (Fe_3O_4), Natrita (Na_2CO_3) y Vaterita (CaCO_3) con picos más estrechos.

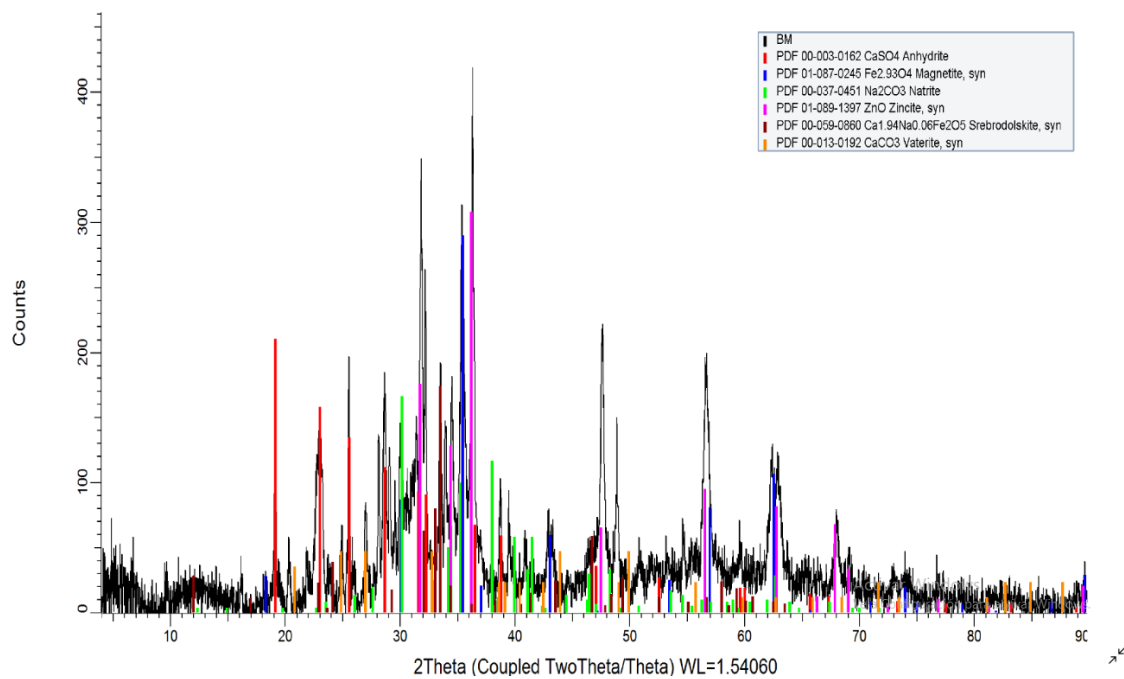


Figura 5. 13 Difractograma del lodo metanogenico y precipitados obtenidos del reactor UASB.

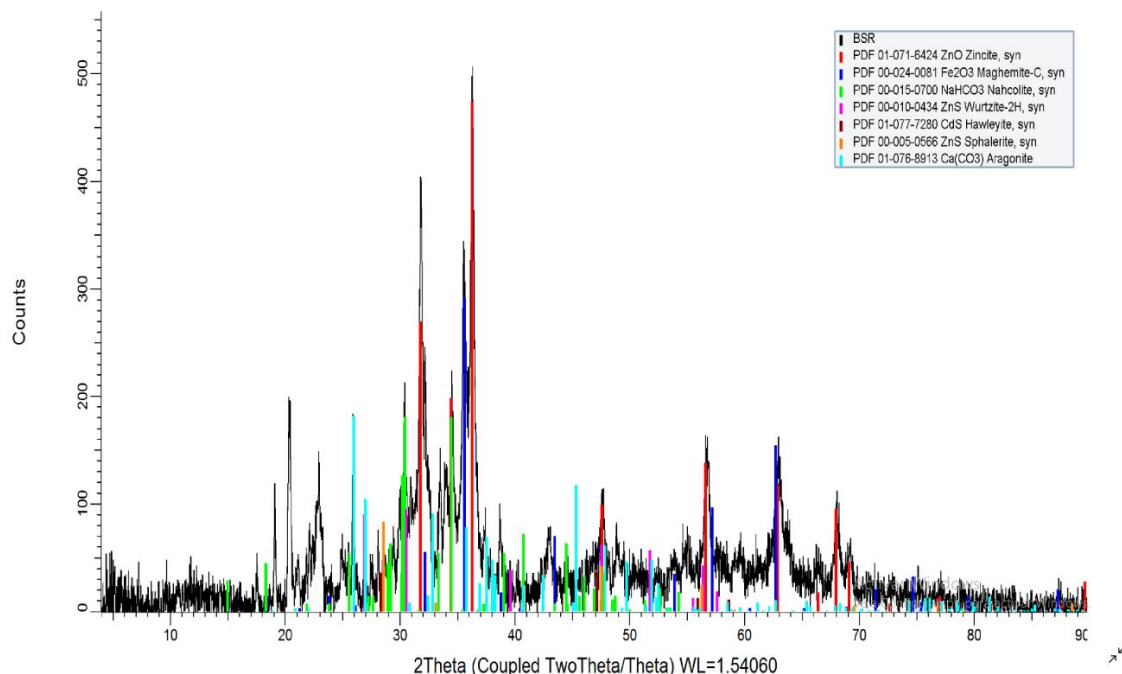


Figura 5. 14 Difractograma de rayos X del sólido proveniente del fondo cónico del reactor LFI

El difractograma a partir del sólido proveniente del fondo cónico del reactor LFI presenta interferencia (ruido) por la presencia de materia orgánica en la muestra, así como la baja concentración de ciertos materiales cristalinos. Sin embargo, en el difractograma identificó como fases mayoritarias más probables a Magnetita (Fe_3O_4), Nacolita (NaHCO_3), Wazurita (ZnS), Esfalerita (ZnS) y Aragonita (CaCO_3) con picos más estrechos. Cabe señalar que, para la detección de algún material cristalino por esta técnica, se necesita tener concentraciones mayores del 5%, es por ello que para tener una mayor precisión se hizo una caracterización por MEB (ver sección 5.3.6).

5.3.5. Caracterización por espectroscopia UV-Vis del efluente del reactor LFI

Para la espectroscopia UV-Vis, se tomó una muestra del efluente del reactor LFI. En la Figura 5.16 se presenta el espectro de absorción obtenido, con el borde de absorción entre 310 y 360 nm, característico de ZnS , así mismo se presenta la intersección de la tangente trazada, con una energía de banda prohibida de 3.65 eV, similar a lo reportado por Nanda et al. (2000). Para comprobar la presencia de nanopartículas de ZnS , por lo que se procede a caracterizar por MEB.

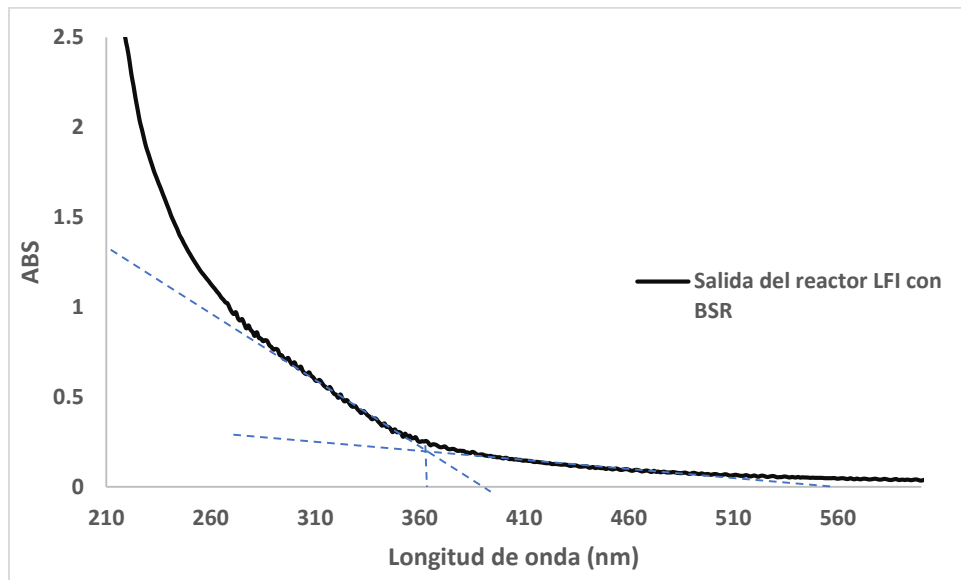
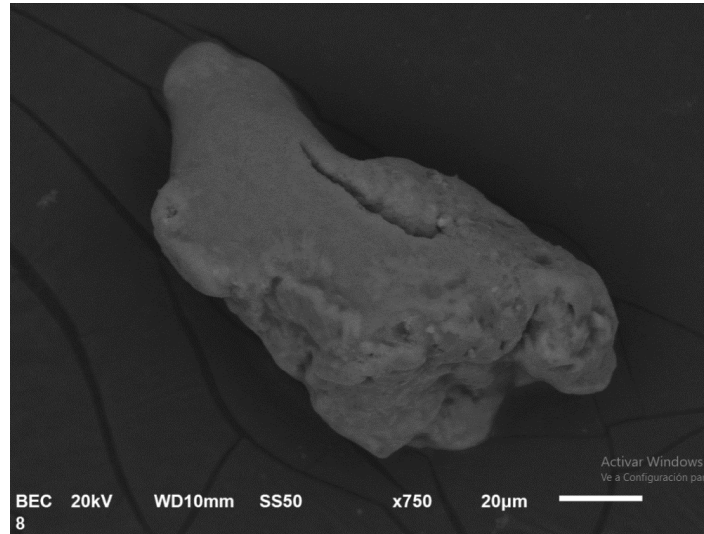


Figura 5. 15 Espectro UV-Vis del efluente del reactor LFI

5.3.6. Caracterización por MEB del lodo sulfatorreductor del reactor LFI

La micrografía MEB del sólido obtenido del fondo cónico del reactor LFI se muestra en la Figura 5.17, el EDS confirma la presencia de Zn y S, así como sales como Na, Ca, K y Mg provenientes del medio mineral, ocurriendo posiblemente la reducción y formación del ZnS a partir de una biopelícula sulfidogénica.

a)



b)

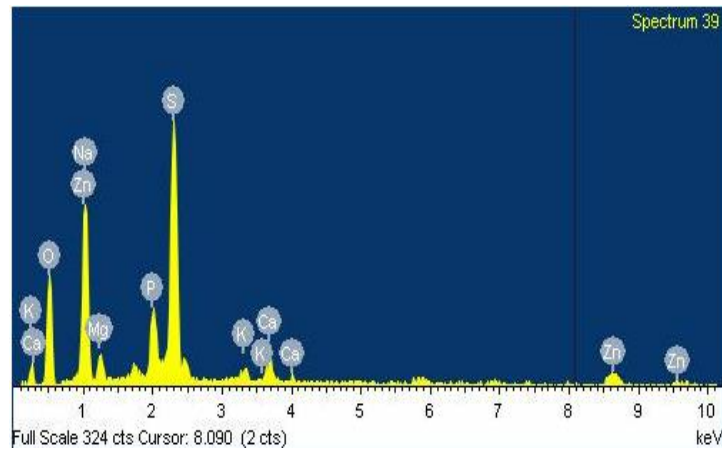
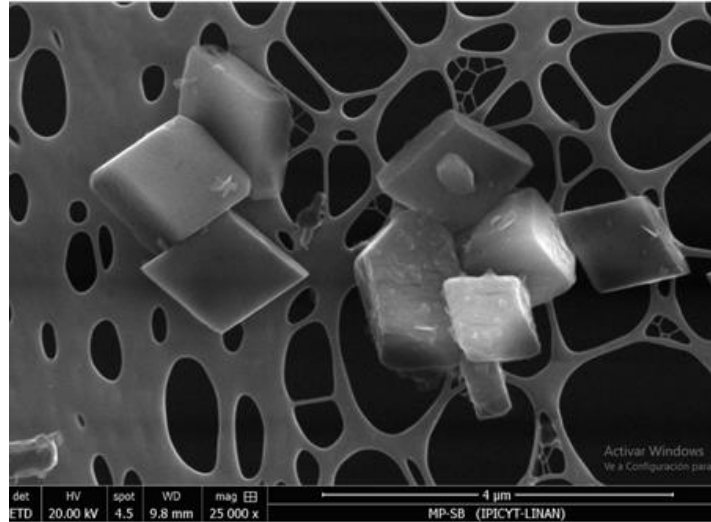


Figura 5. 16 a) Micrografía por MEB de lodo proveniente del reactor LFI, b) Espectro EDS

La Figura 5.18 muestra una micrografía MEB de una muestra del efluente del reactor LFI, en donde se observa un material presentando formas cúbicas. No se comprueba la presencia de Zn como sulfuro metálico, y podría suponerse la existencia de distintos compuestos de Zn, principalmente de $ZnSO_4$.

a)



b)

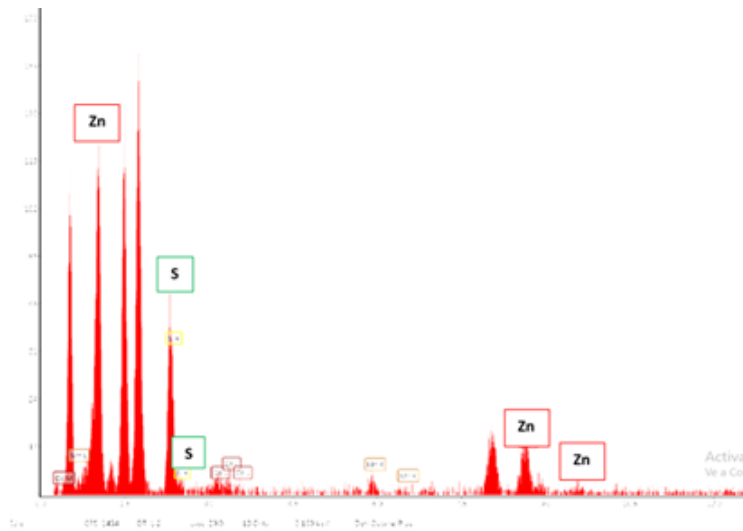


Figura 5. 17 a) Micrografía por MEB de materiales de ZnS proveniente del reactor LFI, b) Espectro EDS

Este trabajo presenta ventajas económicamente hablando, ya que se sustituyen agentes químicos por bacterias anaerobias, así como la disminución en la generación de lodos con metales pesados, evitando así su confinamiento.

CONCLUSIONES

Se puede concluir que la formación de nanopartículas de ZnS a partir de sulfuro biogénico es posible el análisis por UV-Vis, FT-IR y TEM comprueban la formación y estabilización de las nanopartículas, con tamaño aproximado de 15 a 25 nm y morfología esférica.

Los resultados en las pruebas en lote con lodo granular expuesto a Zn-PVP y Zn-PVP-S permiten concluir que las BSR son capaces de producir sulfuro expuesto hasta concentraciones de 1000 mg/L con PVP y al añadirle sonicación en su preparación las nanopartículas de ZnS obtenidas presentan propiedades de material semiconductor al tener un band gap de 3.30 eV.

Con los resultados obtenidos en la eliminación de diversos metales de un agua residual real mezclada con medio reductor removi6 en la mayoría los metales principalmente Al, As, Cd, Cu, Mn y Ni en promedio de 80%.

Los resultados de remoción de DQO y producción de metano, mostraron que las bacterias anaerobias no se inhiben en presencia de diluciones con hasta 10% de muestra real. Así mismo las BSR no se vieron inhibidas por el efluente a6adido proveniente de las BM en contacto con agua residual al haber obtenido remociones DQO y SO_4^{2-} . Las nanopartículas recuperadas como ZnS formaron aglomerados con tama6os de 25 nm.

Con los estudios desarrollados en los reactores UASB y LFI a partir de bacterias anaerobias, se comprueba la adaptaci6n de los sistemas ya que ambos se mantuvieron estables, y se demostr6 la capacidad que tienen para remover diversos metales, principalmente el Zn presente en concentraciones de hasta 1500 mg/L.

Con los estudios desarrollados en los reactores UASB y LFI a partir de bacterias anaerobias, se comprueba la adaptaci6n de los sistemas ya que ambos se mantuvieron estables, y se demostr6 la capacidad que tienen para remover diversos metales, principalmente el Zn presente en concentraciones de hasta 1500 mg/L.

REFERENCIAS

- Andrade V. (2010). Evaluación del Potencial de Generación de Sulfuro por la Acción de las Bacterias Sulfato Reductoras y sus Posibles Aplicaciones en el Tratamiento de los Drenajes Ácidos de Mina (Tesis de licenciatura). Universidad San Francisco de Quito. Ecuador.
- Angelov A., Bratkova S., Loukanov A. (2013). Microbial fuel cell based on electroactive sulfate-reducing biofilm. *Energy conversion and management*, 67, 283-286.
- Antoniadou M., Daskalaki V. M., Balis N., Kondarides D. I., Kordulis C., Lianos P. (2011). Photocatalysis and photoelectrocatalysis using (CdS-ZnS)/TiO₂ combined photocatalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 107(1), 188-196.
- APHA A. P. (2005). Standard methods for examination of water and wastewater. APHA/AWWA/WEF (21st Edition Ed.). Washington, USA.
- Bai H. J., Zhang Z. M., Gong J. (2006). Biological synthesis of semiconductor zinc sulfide nanoparticles by immobilized *Rhodobacter sphaeroides*. *Biotechnology letters*, 28(14), 1135-1139.
- Borah J. P., Barman J., Sarna K. C. (2008). Structural and optical properties of ZnS nanoparticles. *Chalcogenide Letters*, 5(9), 201-208.
- Borja Maldonado F. J. M. (2013). Producción de sulfuro biogénico a partir de bacterias sulfato reductoras para la recuperación de plata y eliminación de sulfatos de aguas residuales (Tesis de maestría). Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
- Botello Salinas L. A., Garza González M. T., Gómez de la Fuente I., Hinojosa Rivera M. (2007). Biosíntesis de nanopartículas de ZnS utilizando cepas de hongo. *Ingenierías*, 10(37), 16-22.
- Brus L. (1986). Electronic wave functions in semiconductor clusters: experiment and theory. *The Journal of Physical Chemistry*, 90(12), 2555-2560.
- Cabrera G., Pérez R., Gomez J. M., Abalos A., Cantero D. (2006). Toxic effects of dissolved heavy metals on *Desulfovibrio vulgaris* and *Desulfovibrio* sp. strains. *Journal of hazardous materials*, 135(1), 40-46.
- Cao G. (2004). Nanostructures and nanomaterials: synthesis, properties and applications. World Scientific.
- Castro Acuña G. A., Reyes Cuellar J. C. (2016). Nanocrystals for the degradation of a pollutant dye. *Revista Colombiana de Química*, 45(1), 27-33.
- Celis-Garcia M. L. B., Ramirez F., Revah S., Razo-Flores E., Monroy O. (2004). Sulphide and oxygen inhibition over the anaerobic digestion of organic matter: influence of microbial immobilization type. *Environmental technology*, 25(11), 1265-1275.
- Chang, R., Goldsby, K. A. (2013). Química. Revisado por Rodolfo Álvarez Manzo, Silvia Ponce López (11a. Ed. --.). México D.F.: McGraw Hill.

-
- Chen Y., Cheng J. J., Creamer K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource technology*, 99(10), 4044-4064.
- Cord-Ruwisch R. (1985). A quick method for the determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 4(1), 33-36.
- Da Costa J. P., Girão A. V., Lourenço J. P., Monteiro O. C., Trindade T., Costa M. C. (2012). Synthesis of nanocrystalline ZnS using biologically generated sulfide. *Hydrometallurgy*, 117, 57-63.
- Di Stefano M. C., Cabanillas E. D., Trigubo A. B., Rodriguez Torres C., Walsoe de Reza N. E. (2010). TEM studies of ZnS nanoparticles obtained by wet chemical reaction. *Acta Microscopica*, 19(2), 202-207.
- Díaz del Castillo Rodríguez F. (2012). Introducción a los nanomateriales. *Lecturas de ingeniería 20*. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Doran, Pauline M. (2013). *Bioprocess Engineering Principles*. Second Edition. Elsevier. United Kingdom.
- Fortuna González M. (2016). Precipitación y recuperación de níquel de un agua residual de la industria metal mecánica a partir de una biopelícula sulfidogénica en un reactor anaerobio (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
- Gallegos García M. (2009). Procesos biológicos de sulfatorreducción en biopelículas para la precipitación de metales (Tesis Doctoral). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), San Luis Potosí, México.
- Gericke M., Pinches A. (2006). Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy*, 83(1-4), 132-140.
- Goswami N., Sen P. (2007). Photoluminescent properties of ZnS nanoparticles prepared by electro-explosion of Zn wires. *Journal of Nanoparticle Research*, 9(3), 513-517.
- Ghosh G., Naskar M. K., Patra A., Chatterjee M. (2006). Synthesis and characterization of PVP-encapsulated ZnS nanoparticles. *Optical Materials*, 28(8), 1047-1053.
- Gibson G. R. (1990). Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 69(6), 769-797.
- Hoang T. T. H., Liamleam W., Annachatre A. P. (2007). Lead removal through biological sulfate reduction process. *Bioresource technology*, 98(13), 2538-2548.
- International Lead and Zinc Study Group (ILZSG) (2017). Sitio web: <http://www.ilzsg.org/static/home.aspx?from=2>
- Iranmanesh P., Saeednia S., Nourzpoor M. (2015). Characterization of ZnS nanoparticles synthesized by co-precipitation method. *Chinese Physics B*, 24(4), 046104.
- Kaksonen A. H., Riekkola-Vanhanen M. L., Puhakka J. A. (2003). Optimization of metal sulphide precipitation in fluidized-bed treatment of acidic wastewater. *Water*

- Klaus-Joerger T., Joerger R., Olsson E., Granqvist C. G. (2001). Bacteria as workers in the living factory: metal-accumulating bacteria and their potential for materials science. *Trends in Biotechnology*, 19(1), 15–20.
- Kowshik M., Ashtaputre S., Kharrazi S., Vogel W., Urban J., Kulkarni S. K., Paknikar K. M. (2003). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology*, 14(1), 95–100.
- Koczur K., Mourdikoudis S., Polavarapu L., Skrabala S. (2015). Polyvinylpyrrolidone (PVP) in nanoparticle synthesis. *Dalton Trans.* 44, 17883-17905.
- Labrenz M., Druschel G. K., Thomsen-Ebert T., Gilbert B., Welch S. A., Kemner K. M., Logan G. A., Summons R. E., De Stasio G., Bond P. L., Lai B., Kelly S. D., Banfield J. F. (2000). Formation of Sphalerite (ZnS) Deposits in Natural Biofilms of Sulfate- Reducing Bacteria. *Science*, 290(5497), 1744-1747.
- LENNTECH: Water Treatment Solutions.
<http://www.lenntech.es/periodica/elementos/zn.htm> (Accessed Feb 2015).
- Lens P., Pol L. H. (2000). Environmental technologies to treat sulfur pollution. International Water Association. Londres.
- Lorenzo Acosta, Y., & Obaya Abreu, M. C. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar, 39(1), 35–48.
<https://doi.org/0138-6204>
- Macías Rodríguez X. K. M. (2015). Recuperación de zinc, cadmio y cobre contenidas en soluciones procedentes de una refinería electrolítica de zinc, por extracción líquido-líquido, para ser usados en la formación de nanopartículas de sulfuros metálicos (Tesis de licenciatura). Universidad de Guanajuato, Guanajuato, México.
- Martínez Castañón G. A. (2017). Síntesis de nanopartículas luminiscentes de CdS, ZnS y ZnS-CdS: un método simple en medio acuoso. (Tesis doctoral). Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV), Chihuahua, México.
- Martínez de Jesús G. (2008). Eliminación de sulfatos en un reactor de lecho móvil anaerobio-aerobio (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Martínez García N. E. (2014). Síntesis y funcionalización de nanopartículas semiconductoras con aplicación potencial a celdas solares de tercera generación (Tesis de Maestría). Instituto Politécnico Nacional, Tamaulipas, México.
- Martins M., Faleiro M. L., Baroos R. J., Veríssimo A. R., Barreiros M. A., Costa M. C. (2009). Characterization and activity studies of highly heavy metal resistant sulphate-reducing bacteria to be used in acid mine drainage decontamination. *Journal of Hazardous Materials*, 166(2-3), 706-713.

-
- Mitchell A.E., Hong Y., May J.C., Wright C.A., Bamforth C.W. (2005). A comparison of polyvinylpyrrolidone (PVPP), silica xerogel and a polyvinylpyrrolidone (PVP) – silica co-product for their ability to remove polyphenols from beer. *Journal of the Institute of Brewing*, 111(1), 20–25.
- Morales Estrada J. A. (2014). Síntesis y caracterización de nanopartículas de TiO₂ (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Moussaoui M., Saoudi R., Lesnichiy I. V., Tishchenko A. V. (2011). Optical measurements of ZnS nanoparticles aqueous solution. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 112(11), 1792-1795.
- Mukherjee P., Ahmad A., Mandal D., Senapati S., Sainkar S. R., Khan M. I., Parischa R., Ajayakumar P. V., Alam M., Kumar R., Sastry M. (2001) Fungus mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelia matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Letters*, 1(10), 515-519.
- Muyzer G., Stams A. J. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 6(6), 441-454.
- Nanda J., Sapra S., Sarma D. D., Chandrasekharan N., Hodes G. (2000). Size-selected zinc sulfide nanocrystallites: synthesis, structure, and optical studies. *Chemistry of Materials*, 12(4), 1018-1024.
- Nayono S. E. (2010). Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production (Vol. 46). KIT Scientific Publishing.
- Nowak M., Kauch B., Szperlich P. (2009). Determination of energy band gap of nanocrystalline SbSI using diffuse reflectance spectroscopy. *Rev. Sci. Instrum.* 80 046107.
- Ni Y., Yin G., Hong J., Xu Z. (2004). Rapid fabrication and optical properties of zinc sulfide nanocrystallines in a heterogeneous system. *Materials Research Bulletin*, 39(12), 1967-1972.
- Nicolella C., Van Loosdrecht M. C. M., Heijnen J. J. (2000). Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *Journal of biotechnology*, 80(1), 1-33.
- Ortega N. M. (2006). Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process. Universal-Publishers.
- Özkaya, B., Kaksonen, A. H., Sahinkaya, E., & Puhakka, J. A. (2019). Fluidized bed bioreactor for multiple environmental engineering solutions. *Water Research*, 150, 452–465.
- Oude Elferink S. J. W. H., Visser A., Hulsoff Pol L., Stams A. J. M. (1994). Sulfate reduction in methanogenic bioreactors, *FEMS Microbiology Reviews*, 15, 119-136.
- Piña Salazar E. Z. (2010). Desarrollo de biopelículas en un reactor de lecho fluidificado de flujo descendente a diferente relación DQO/sulfato y tiempo de retención hidráulico (Tesis de Maestría). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), San Luis Potosí, México.

-
- Prabakaran M., Subha K., Thennarasu V., Merinal S. (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Sphaerulina albispiculata* and evaluation of antibacterial activity. *European Journal of Experimental Biology*, 2 (1), 297-303.
- Prasad AS. (2014). Impact of the discovery of human zinc deficiency on health. *JTEMB*. 28(4), 357-363.
- Pozo-Antonio J. S., Puente I., Lagüela S., Vega M. (2017). Tratamiento microbiano de aguas ácidas resultantes de la actividad minera: una revisión, 8 (3), 75-91.
- Qiao Z., Xie Y., Qian Y., Zhu Y. (2000). γ -Irradiation preparation and characterization of nanocrystalline ZnS. *Materials Chemistry and Physics*, 62(1), 88-90.
- Quan Z. X., La H. J., Cho Y. G., Hwang M. H., Kim I. S., Lee S. T. (2003). Treatment of metal-contaminated water and vertical distribution of metal precipitates in an upflow anaerobic bioreactor. *Environmental technology*, 24(3), 369-376.
- Ruiz-Castillo, A. L. (2016). Recuperación de plata metálica de aguas residuales a partir de una biopelícula anaerobia en un reactor de lecho fluidificado inverso. Tesis de maestría. Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México
- Ríos Alveal J. E. (2002). Formación de biopelículas por adherencia bacteriana a probetas de cobre (Tesis de Licenciatura). Universidad Austral de Chile, Chile.
- Sahinkaya E., Ozkaya B., Kaksonen H. A., Puhakka J. A. (2007). Sulfidogenic fluidized-bed treatment of metal-containing wastewater at low and high temperatures. *Biotechnology and bioengineering*, 96(6), 1064-1072.
- SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (1996). Normas Oficiales Mexicanas, NOM-001-SEMARNAT-1996 y NOM-002-SEMARNAT-1996, Diario Oficial de la Federación (DOF).
- SSA. Secretaría de Salud (1994). Normas Oficiales Mexicanas, NOM-127-SSA1-1994 Oficial de la Federación (DOF).
- Soledad Vicente M. (2006). Uso de bacterias sulfato-reductoras inmovilizadas para la precipitación de metales pesados. Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Soltani N., Saion E., Hussein Z., Erfani M., Abedini A., Bahmanrokh G., Navaresy M., Vaziri P. (2012). Visible Light-Induced Degradation of Methylene Blue in the Presence of Photocatalytic ZnS and CdS Nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 13(10), 12242-12258.
- Stefanie J. W. H., Elferink O., Visser A., Pol L. W. H., Stams, A. J. (1994). Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. *FEMS Microbiology Reviews*, 15(2-3), 119-136.

-
- Tippens, P. E. & Hernández, A. E. G. (2007). Física: conceptos y aplicaciones
- Vázquez Dimas A., López Hernández I. A., Gómez de la Fuente I., Aguilar Garib J. A. (2008). Síntesis de nanopartículas de ZnS vía microondas. *Ingenierías*, 2(38), 60-63.
- Vega Baudrit J. R., León Ruiz E. (2014). Síntesis de nanopartículas a partir de microorganismos. Universidad Nacional de Costa Rica, Costa Rica.
- Villa Gómez D. K. (2006). Arranque de un reactor de lecho fluidificado inverso (LFI) para la producción biológica de H₂S (Tesis de Maestría). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), San Luis Potosí, México.
- Visser A., Beeksmá I., Van Der Zee F., Stams A. J., Lettinga G. (1993). Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 40(4), 549-556.
- Wageh S., Ling Z. S., Xu-Rong X. (2003). Growth and optical properties of colloidal ZnS nanoparticles. *Journal of Crystal Growth*, 255(3), 332-337.
- Zhao Y., Zhang Y., Zhu H., Hadjipanayis G. C., Xiao J. Q. (2004). Low temperature synthesis of hexagonal (Wurtzite) ZnS nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society*, 126(22), 6874-6875.
- Zhu J., Zhou M., Xu J., Liao X. (2001). Preparation of CdS and ZnS nanoparticles using microwave irradiation. *Materials Letters*, 47(1-2), 25.

