



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

**DESARROLLO DE NANOPARTÍCULAS DE ZnS DE UN AGUA RESIDUAL
SINTÉTICA A PARTIR DE UNA BIOPELÍCULA SULFIDOGÉNICA EN UN
REACTOR DE LECHO FLUIDIFICADO INVERSO (LFI)**

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Maestría en Tecnología y Gestión del Agua

Presenta:

Ing. Rogelio Ernesto Cruz Briano

Asesor:

Dra. Marisol Gallegos García

San Luis Potosí, S. L. P.

Febrero de 2018



20 de julio de 2017

**ING. ROGELIO ERNESTO CRUZ BRIANO
P R E S E N T E.**

En atención a su solicitud de Temario, presentada por la **Dra. Marisol Gallegos García** *Asesora de la Tesis* que desarrollará Usted, con el objeto de obtener el Grado de **Maestro en Tecnología y Gestión del Agua**. Me es grato comunicarle que en la Sesión del H. Consejo Técnico Consultivo celebrada el día 20 de julio del presente, fue aprobado el Temario propuesto:

TEMARIO:

"Desarrollo de nanopartículas de ZnS de un agua residual sintética a partir de una biopelícula sulfidogénica en un reactor de lecho fluidificado inverso".

Introducción

1. Antecedentes del zinc y de los procesos biológicos para su recuperación de aguas residuales en forma de nanopartículas de sulfuro de zinc.
2. Materiales y métodos para el desarrollo de nanopartículas de sulfuro de zinc a partir de una biopelícula sulfidogénica.
3. Evaluación del desarrollo de nanopartículas de sulfuro de zinc a partir de una biopelícula sulfidogénica en pruebas en lote.
4. Recuperación de nanopartículas de sulfuro de zinc en un reactor de lecho fluidificado inverso.

Conclusiones.

Referencias.

Anexos

"MODOS ET CUNCTARUM RERUM MENSURAS AUDEBO"

A T E N T A M E N T E



M. I. JORGE ALBERTO PÉREZ GONZÁLEZ
DIRECTOR.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE INGENIERÍA
DIRECCIÓN



**FACULTAD DE
INGENIERÍA**

Av. Manuel Nava 6
Zona Universitaria • CP 78290
San Luis Potosí, S.L.P.
tel. (444) 826 2330 #139
fax (444) 826 2336
www.uaslp.mx

Copia. Archivo.
*etn.

DEDICATORIAS

A Dios por permitirme concluir una meta más en mi vida.

A mis padres, Ma. Del Carmen Briano Olvera y Miguel Cruz Fraga por todo su apoyo, por darme las bases, por todo ese amor y cariño que me han brindado, que sepan que este logro es también de ustedes.

A mis hermanos por sus consejos, por su apoyo y por todo el tiempo de convivencia a lo largo de esta experiencia.

A mi tía Catalina Briano Olvera por su apoyo y por ser un ejemplo a seguir.

A Karen Lillíán Márquez García por darme su apoyo incondicional en cada momento de esta experiencia, por ser mi fortaleza para seguir siempre hacia adelante, por la confianza, paciencia, comprensión y sobre todo, por el amor y cariño que me ha brindado.

A mis amigos por estar al pendiente de mí y por todo el apoyo que me han brindado.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora Dra. Marisol Gallegos García por su paciencia, enseñanza y por toda la confianza que puso en mi para desarrollar este proyecto.

A Nicolás Miranda encargado del laboratorio de Ciencias Ambientales por su apoyo técnico y por proporcionarme el material de laboratorio necesario en mi proyecto.

A la Dra. Gladis Judith Labrada Delgado, Coordinadora de LINAN, División de Materiales Avanzados, IPICYT, por su apoyo técnico en el análisis de Microscopía Electrónica de Barrido.

A la Dra. Claudia Hernández Galván, encargada del laboratorio de Difracción de Rayos X del Instituto de Metalurgia, UASLP.

A la M.I.M. Claudia Guadalupe Elías Alfaro, encargada del laboratorio de Microscopía Electrónica de Trasmisión del Instituto de Metalurgia, UASLP.

Al Ing. Héctor Isidro Solís Torres, profesor investigador de la UASLP, por su apoyo técnico en el análisis de Zn mediante Absorción Atómica.

A la Dra. Verónica Gallegos García por permitirme hacer uso del laboratorio de Bioquímica y nutrición, del cual está a cargo.

A mis compañeras de laboratorios de Ciencias Ambientales, Arely Cruz y Karla Sánchez, por su apoyo en algunas técnicas y análisis realizados en este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Centro de Investigación y estudios de Posgrado (CIEP) por las becas otorgadas para la realización de este proyecto.

Índice general

	Página
Hoja de aprobación de tesis	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice general	v
Índice de tablas	x
Índice de figuras	xii
Nomenclatura	xiv
Resumen	xv
	Página
Introducción	1
Capítulo 1 Antecedentes del zinc y de los procesos biológicos para su recuperación de aguas residuales en forma de nanopartículas de sulfuro de zinc	3
1.1 Naturaleza y química del zinc	3
1.2 Usos del zinc	4
1.3 Toxicidad del zinc	5
1.4 Legislación del zinc en agua	6
1.5 Procesos físico-químicos para recuperación del zinc	6
1.6 Procesos biológicos para recuperación de zinc	7
1.6.1 Proceso biológico sulfato reducción	8
1.6.2 Bacterias sulfato reductoras (BSR)	12
1.6.3 Formación de biopelícula anaerobia	14
1.6.4 Reactor de lecho fluidificado inverso (RLFI)	15
1.7 Nanotecnología	16

1.7.1	Nanopartículas	17
1.7.1.1	Nanopartículas de ZnS	18
1.7.1.2	Aplicaciones de nanopartículas de ZnS	19
1.7.1.3	Síntesis de nanopartículas	19
1.7.2	Teoría de bandas	25
1.8	Justificación	26
1.9	Objetivos	27
1.9.1	Objetivo general	27
1.9.2	Objetivos específicos	27
Capítulo 2	Materiales y métodos para el desarrollo de nanopartículas de sulfuro de zinc a partir de una biopelícula sulfidogénica.	29
2.1	Reactor de lecho fluidificado inverso (LFI) para la formación de una biopelícula sulfato sulfidogénica	29
2.1.1	Material de soporte del reactor LFI	30
2.1.2	Inóculo del reactor LFI	30
2.1.3	Medios de cultivo y soluciones	30
2.1.3.1	Medio basal de alimentación para reactor LFI	30
2.1.3.2	Solución de elementos traza	31
2.1.3.3	Medio basal para determinar la actividad sulfato reductora (ASR)	31
2.1.4	Condiciones de operación del reactor LFI para el desarrollo de una biopelícula sulfato reductora	32
2.2	Pruebas en lote	33
2.2.1	Actividad sulfato reductora (ASR) de la biopelícula expuesta a Zn y PVP	34
2.3	Reactor LFI para recuperación de nanopartículas de ZnS	35
2.3.1	Condiciones de operación del reactor LFI	36
2.4	Métodos y análisis	38

2.4.1	Determinación de pH	38
2.4.2	Determinación de potencial óxido-reducción (ORP)	38
2.4.3	Determinación de alcalinidad	38
2.4.4	Determinación de DQO	38
2.4.5	Determinación de sulfuro disuelto	39
2.4.5.1	Concentración de sulfuro disuelto por el método Cord-Ruwisch	39
2.4.5.2	Concentración de sulfuro disuelto por el método Yodométrico	40
2.4.6	Determinación de sulfatos	40
2.4.7	Determinación de sólidos volátiles inmovilizados (SVI)	41
2.4.8	Determinación de energía de banda prohibida (Eg)	41
2.4.9	Lavado de nanopartículas	42
2.5	Cálculos	43
2.5.1	Actividad sulfato reductora	43
2.5.2	Alcalinidad	43
2.5.2.1	Alcalinidad por bicarbonato	43
2.5.2.2	Alcalinidad total	44
2.5.3	Eficiencia de remoción de DQO	44
2.5.4	Concentración de sulfuro disuelto por el método yodométrico	44
2.5.5	Eficiencia de conversión de sulfatos	45
2.5.6	Sólidos volátiles inmovilizados (SVI)	45
2.5.7	Energía de banda prohibida (Eg)	46
Capítulo 3	Evaluación del desarrollo de nanopartículas de sulfuro de zinc a partir de una biopelícula sulfidogénica en pruebas en lote.	49
3.1	Desarrollo y desempeño de la biopelícula sulfidogénica en el reactor LFI	49

3.1.1	Caracterización por MEB de la biopelícula formada en el soporte	53
3.2	Caracterización mediante UV-Vis de nanopartículas de ZnS desarrolladas a partir de la solución del reactor LFI y una solución de 300 ppm Zn y PVP	54
3.2.1	Caracterización por MEB de partículas de ZnS	56
3.3	Actividad sulfato reductora de las pruebas en lote	57
3.3.1	Caracterización por UV-Vis de las soluciones de pruebas en lote	60
3.3.2	Sólidos Volátiles Inmovilizados (SVI)	61
3.3.3	Caracterización DRX de nanopartículas de ZnS de pruebas en lote	62
3.3.4	Caracterización por MEB y MET de nanopartículas de ZnS de pruebas en lote	63
3.3.5	Actividad sulfato reductora de la biopelícula después de su exposición a Zn	66
Capítulo 4	Recuperación de nanopartículas de sulfuro de zinc en un reactor de lecho fluidificado inverso.	69
4.1	Desempeño de la biopelícula sulfidogénica expuesta a diferentes concentraciones de Zn en un reactor LFI.	69
4.1.1	Caracterización por UV-Vis de muestras tomadas del reactor LFI con diferentes concentraciones de Zn	75
4.1.2	Caracterización DRX de nanopartículas de ZnS obtenidas del reactor LFI alimentado con Zn	77
4.1.3	Caracterización mediante MEB y MET de nanopartículas de ZnS del reactor alimentado con Zn	78

4.2	Caracterización mediante MEB de biopelícula expuesta a Zn en el reactor LFI	81
	Conclusiones	83
	Referencias	87
	Anexos	101
Anexo A	Fotografía del reactor LFI para la recuperación de nanopartículas de ZnS	101
Anexo B	Curva de calibración para la determinación de sulfatos	102
Anexo C	Curva de calibración para la determinación de DQO	103
Anexo D	Curva de calibración para la determinación de la actividad sulfato reductora (ASR)	104
Anexo E	Soporte	104

Índice de tablas

	Página
Tabla 1.1 Normas oficiales mexicanas que establecen límites máximos permisibles de Zn en el agua	6
Tabla 1.2 Reacciones involucradas en la degradación anaerobia de materia orgánica en sistemas anaerobios	10
Tabla 1.3 Compuestos azufrados con sus respectivos estados de oxidación y compuestos donadores de electrones utilizados por las BSR	13
Tabla 1.4 Reacciones metabólicas involucradas en la degradación de la materia orgánica por las BSR y sus cambios de energía libre de Gibbs	14
Tabla 1.5 Desarrollo de nanopartículas de diferentes materiales mediante procesos físico-químicos y biológicos	22
Tabla 1.6 Desarrollo de nanopartículas de ZnS mediante procesos físico-químicos	23
Tabla 1.7 Desarrollo de nanopartículas de ZnS mediante procesos biológicos	24
Tabla 2.1 Composición del medio basal de alimentación del reactor LFI	31
Tabla 2.2 Composición de la solución de elementos traza	31
Tabla 2.3 Composición del medio basal para determinar la ASR	32
Tabla 2.4 Parámetros de operación del reactor LFI para el desarrollo de una biopelícula sulfato reductora	33
Tabla 2.5 Composición de las soluciones utilizadas para ASR en las pruebas en lote	35
Tabla 2.6 Características del afluente y condiciones de operación aplicadas al reactor LFI	37

Tabla 3.1	Desempeño del reactor LFI operado en continuo bajo condiciones sulfato reducción	49
Tabla 3.2	Parámetros iniciales (pH y ORP) y finales de las soluciones de pruebas en lote	59
Tabla 3.3	Intersecciones de tangentes y banda prohibida para soluciones de pruebas en lote.	61
Tabla 4.1	Desempeño de la biopelícula expuesta a diferentes concentraciones de Zn en un reactor LFI operado en continuo bajo condiciones sulfato reducción	70
Tabla 4.2	Intersecciones de tangentes y banda prohibida de soluciones del reactor con diferentes concentraciones de Zn	76

Índice de figuras

	Página	
Figura 1.1	Diagrama de Pourbix para un sistema Zn-S-H ₂ O a 25 °C	4
Figura 1.2	Distribución del consumo de Zn por usos industriales	5
Figura 1.3	Esquema de la degradación anaerobia de la materia orgánica por BSR, organismos metanogénicos y acetogénicos	9
Figura 1.4	Ciclo del azufre	11
Figura 1.5	Procesos que contribuyen a la formación de una biopelícula	15
Figura 1.6	Espectro UV-Vis para nanopartículas de ZnS	18
Figura 1.7	Bandas de energía para conductor, semiconductor y aislante	26
Figura 2.1	Diagrama del reactor de lecho fluidificado inverso (LFI)	29
Figura 2.2	Espectro UV-Vis con línea trazada para determinar la energía de banda prohibida	42
Figura 3.1	Desempeño de la biopelícula en el reactor LFI	52
Figura 3.2	Micrografía por MEB de la biopelícula sulfato reductora desarrollada en el reactor LFI	53
Figura 3.3	UV-Vis de una mezcla de solución del efluente del reactor y una solución de 300 ppm Zn y PVP	54
Figura 3.4	UV-Vis reportado por Di Stefano et al. (2010)	55
Figura 3.5	Micrografía por MEB de partículas de ZnS	56
Figura 3.6	Velocidad de producción de sulfuros de las pruebas en lote	58
Figura 3.7	UV-Vis de las soluciones al término de la ASR	61
Figura 3.8	DRX de precipitado obtenido en las pruebas en lote	62
Figura 3.9	Caracterización por MEB de nanopartículas de ZnS de pruebas en	64

	lote	
Figura 3.10	Caracterización por MET de nanopartículas de ZnS de pruebas en lote	65
Figura 3.11	Velocidad de producción de sulfuros para la recuperación de la biopelícula de las pruebas en lote	68
Figura 4.1	Desempeño de la biopelícula en el reactor LFI expuesto a diferentes concentraciones de Zn	74
Figura 4.2	Espectros de absorción de las soluciones de cada período del reactor LFI	76
Figura 4.3	DRX del sólido obtenido en el fondo cónico del reactor LFI	77
Figura 4.4	Micrografía por MEB de nanopartículas del reactor LFI	79
Figura 4.5	Caracterización por MET de nanopartículas de ZnS del reactor LFI	80
Figura 4.6	Micrografía por MEB de biopelícula expuesta a Zn	82

NOMENCLATURA

ABR	Reactor anaerobio con deflectores
ASR	Actividad específica sulfatorreductora
BSR	Bacterias sulfato reductoras
CH ₃ COONa	Acetato de sodio
CH ₄	Metano
DQO	Demanda química de oxígeno
DQO/SO ₄ ²⁻	Relación Demanda química de oxígeno/sulfato (g/g)
DRX	Difracción de Rayos X
ECS	Eficiencia de conversión de sulfato
EDS	Espectroscopia de energía dispersa
HCO ₃	Bicarbonato
H ₂ S	Sulfuro de hidrógeno
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
ZnS	Sulfuro de zinc

RESUMEN

En este trabajo se presenta el desarrollo de una biopelícula sulfidogénica sobre un soporte de polietileno de baja densidad en un reactor de lecho fluidificado inverso (LFI). Se estudió su capacidad para producir sulfuro biogénico (H_2S) y formar nanopartículas de sulfuro de zinc (ZnS). Se tomó muestra del reactor y se mezcló con una solución de 300 ppm de Zn para analizar mediante UV-Vis la variación del tamaño de partícula respecto al tiempo durante 3 h cada 30 min. Se realizaron lavados para eliminar impurezas y analizar la presencia de nanopartículas mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). También mediante MEB se caracterizó el soporte con biopelícula. Los resultados por UV-Vis indican la presencia de partículas de ZnS y que el tamaño de partícula no cambió respecto al tiempo. Los resultados de la caracterización MEB demostraron el desarrollo de una biopelícula sulfidogénica y la formación de partículas de ZnS. Además, se presenta la capacidad de la biopelícula para formar nanopartículas de ZnS en pruebas en lote y en un sistema con operación en continuo. En las pruebas en lote la biopelícula se expuso a 100 y 200 ppm de Zn con y sin polivinilpirrolidona (PVP) y en el reactor LFI se expuso a diferentes concentraciones de zinc (Zn) (50 a 500 ppm) y PVP. Los resultados obtenidos de las pruebas en lote con 100 y 200 ppm de Zn sin PVP y con 100 y 200 ppm de Zn y PVP no presentaron ningún efecto adverso sobre la biopelícula sulfidogénica al obtener una concentración de 332, 393, 598 y 401 mg/L de sulfuro, respectivamente. La caracterización por UV-Vis, difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de transmisión (MET) y microscopía electrónica de barrido (MEB) demostraron la formación de partículas de ZnS de tamaño nanométrico. Los resultados obtenidos del reactor LFI, demostraron la eficiencia de la biopelícula para producir sulfuro y remover sulfato, al estar expuesta hasta 400 ppm de Zn. Para 450 y 500 ppm el período de adaptación de la biopelícula fue más largo, sin embargo, al adaptarse se obtuvo producción de sulfuro de 265 mg H_2S/L y eficiencia de remoción de sulfato mayor a 80%. La caracterización por UV-Vis, DRX, MEB y MET indicaron la formación de nanopartículas de ZnS. Esto sugiere que la utilización de una biopelícula sulfidogénica puede llegar a ser un proceso viable para el desarrollo de nanopartículas de ZnS a partir de un agua residual.

INTRODUCCIÓN

Las aguas residuales industriales, como las aguas procedentes de industrias mineras y metalúrgicas, suelen ser ácidas y típicamente caracterizadas por un contenido significativo de sulfatos (SO_4^{2-}) y metales solubles, como hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb) y cadmio (Cd) (Kousi et al., 2015). Si no se tratan adecuadamente antes de su vertido, estas aguas residuales pueden tener serios impactos en el medio ambiente. Con el fin de eliminar el SO_4^{2-} , la acidez y recuperar los metales del agua de una manera efectiva, se requiere de un método fiable de tratamiento. Los biorreactores reductores de SO_4^{2-} pueden ser esquemas de tratamiento alternativos prometedores para una amplia gama de aguas residuales industriales en las que se pueden abordar y lograr simultáneamente la reducción de SO_4^{2-} , la neutralización de aguas residuales, el secuestro de especies metálicas solubles y el manejo más fácil de lodos (Kousi et al., 2015). El proceso de sulfato reducción se ha llevado a cabo en diversas configuraciones de reactores, de los cuales los más utilizados son el de lecho de lodo anaerobio de flujo ascendente (UASB, por sus siglas en inglés) y de lecho fluidificado (FBR, por sus siglas en inglés), como el de lecho fluidificado inverso (LFI), los cuales han mostrado una alta eficiencia en la remoción de sulfatos y metales pesados, a través de diversos estudios. (Somlev y Banov, 1998; Tuppurainen et al., 2000; Quan et al., 2003; Sahinkaya et al., 2007). Actualmente, uno de los métodos más empleados para recuperar metales de aguas residuales es a partir de la síntesis de nanopartículas metálicas. Las nanopartículas de metal exhiben propiedades únicas electrónicas, magnéticas, catalíticas y ópticas que son diferentes de las de los metales a granel. Podrían ser útiles en nuevas aplicaciones en las ciencias biomédicas y áreas tales como la óptica y la electrónica (Klaus et al., 2001). Diversos métodos de síntesis química y física se emplean actualmente en la producción de nanopartículas, con el objetivo de controlar las propiedades físicas de las partículas. La mayoría de estos métodos se encuentran aún en la etapa de desarrollo y a menudo se experimentan con la estabilidad de las preparaciones de nanopartículas, el control del crecimiento de cristales y la agregación de partículas (Gericke y Pinches, 2006). Se tiene especial interés en el sulfuro de zinc (ZnS), ya que sus propiedades cambian e inclusive

mejoran considerablemente, debido a efectos de confinamiento cuántico, a comparación con sus contrapartes en escala regular (Zhao et al., 2004; Botello et al., 2007). Las nanopartículas de ZnS son ampliamente utilizadas en sensores de glucómetros para diabéticos, pHmetros de laboratorio, sensores de radiación UV, entre otros, ya que poseen propiedades luminiscentes y eléctricas muy particulares que les permiten emitir luz o electricidad de manera muy sensible y eficaz (Fang et al., 2011).

La síntesis de nanopartículas se realiza por métodos físico químicos, sin embargo las desventajas de estos procesos son los altos costos de mantenimiento y de operación, además que se producen grandes cantidades de lodos, los cuales requieren un tratamiento posterior y disposición como residuo peligroso (Kaksonen et al., 2003). Actualmente investigadores se han visto impulsados a buscar nuevas vías de síntesis más respetuosas con el ambiente, encontrando en el uso de microorganismos una solución. Los procesos biológicos se han convertido en una alternativa prometedora sobre los métodos químicos, debido a la mínima producción de lodos, residuos solubles, bajo costo y a la fácil recuperación de metales mediante una precipitación.

Este trabajo se enfoca en estudiar las condiciones óptimas para el desarrollo de nanopartículas de ZnS de un agua residual sintética, mediante un sistema sulfato reductor basado en una biopelícula sulfidogénica formada sobre un soporte de polietileno de baja densidad en un reactor LFI, con el fin de proponer una alternativa biológica y económicamente viable para la recuperación y reutilización del metal y el agua.

Capítulo 1. Antecedentes del zinc y de los procesos biológicos para su recuperación de aguas residuales en forma de nanopartículas de sulfuro de zinc.

1.1. Naturaleza y química del zinc

El zinc (Zn) es un metal cristalino de color blanco, ligeramente azulado, y brillante. Se trata de un metal quebradizo a bajas temperaturas, pero se vuelve muy maleable y dúctil entre 100 y 150 ° C, es insoluble en agua, y soluble en alcohol (Herrero, 2010). En la corteza terrestre el Zn representa el 0.012% de su composición, está ampliamente distribuido el puesto 23 como elemento más abundante en la misma (Rubio et al., 2007). Siempre se encuentra en forma de compuesto en diferentes minerales como: óxidos, carbonatos y sulfuros (Herrero, 2010). El Zn que se encuentra en el ambiente está asociado con el azufre en minerales como la blenda (ZnS) y esfalerita (Zn,Fe)S, principalmente, en menores cantidades en otros minerales como la calamina (ZnCO₃) (Macías, 2015). La fuente artificial más importante en el medio ambiente comprende electro-galvanizadores, fundiciones y procesos mineros, drenaje de mina, aguas residuales domésticas e industriales, escorrentía superficial de caminos, corrosión de aleaciones de Zn y superficies galvanizadas y erosión de suelos agrícolas (Eisler, 1993).

La interacción del Zn en la naturaleza varía y esto depende de las condiciones del entorno. Por ejemplo en ambientes marinos, donde abundan los sulfatos solubles y el consumo de oxígeno, se favorecen las condiciones para la presencia de bacterias sulfato reductoras (BSR), las cuales utilizan el SO₄²⁻ disponible que en condiciones anaerobias forman sulfuro de hidrógeno (H₂S), producto del metabolismo de los microorganismos (Borja, 2013). Este sulfuro reacciona con el Zn y forma sulfuros de zinc (ZnS). Otros factores que influyen en la formación de especies son el potencial óxido reducción (ORP) y el pH del medio, el cual se representa gráficamente mediante el diagrama de especiación ORP vs pH, también llamado diagrama de Pourbaix. La Figura 1.1 muestra el diagrama de especiación del sistema Zn-azufre(S)-agua a temperatura ambiente, en el cual se muestra que en sistemas acuáticos el Zn se presenta como Zn⁺² en aguas ácidas y como ZnOH⁺ en aguas alcalinas.

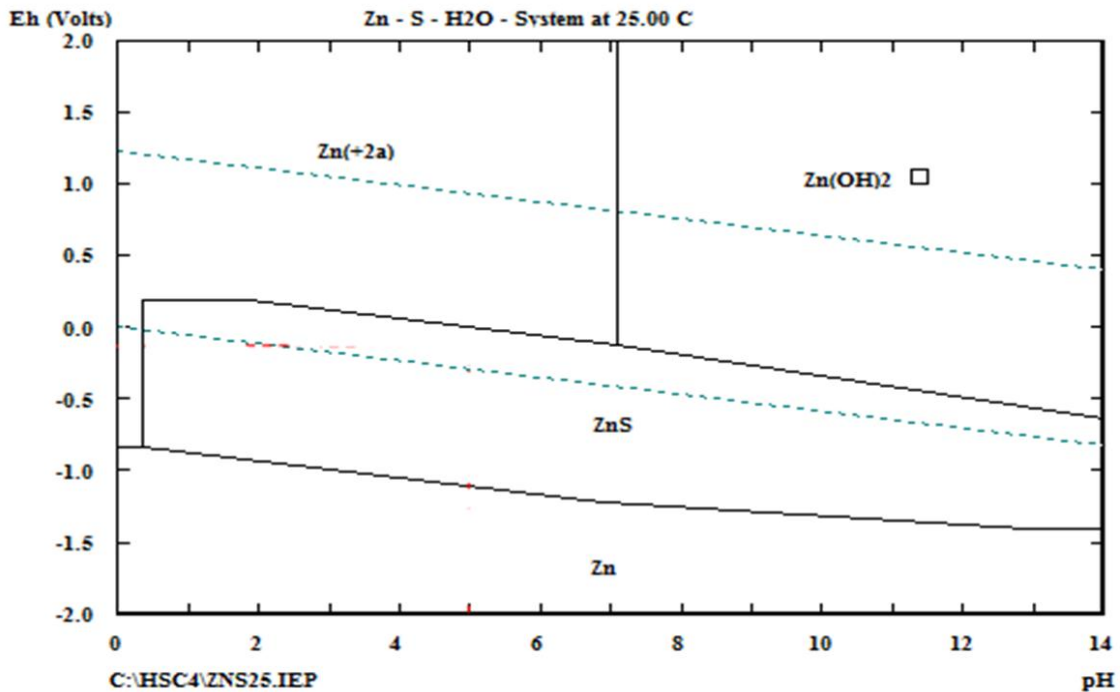


Figura 1.1. Diagrama de Pourbaix para un sistema Zn-S-H₂O a 25 °C, (Outokumpu, Research OY, Finlandia).

1.2. Usos del zinc

En la antigüedad el Zn fue usado para la fabricación de piezas para rituales y algunos otros elementos ornamentales. En la actualidad es empleado en los procesos industriales, formando parte de las construcciones de viviendas y en la creación de insumos intermedios. En cuanto a las aplicaciones del Zn, la galvanización es el principal uso que se le da al metal (Fig. 1.2), y es el proceso en el que se recubre un metal con otro, tiene como objetivo reducir la corrosión en los metales. El bronce y el latón ocupan el segundo lugar en la utilización de Zn. El latón es una aleación de cobre y Zn que tiene la propiedad de ser más resistente, lo cual hace que su uso se dé en campos como el del armamento y terminales eléctricas. Finalmente en el rubro de aleaciones de Zn, son usadas en el sector industrial para la fabricación de baterías, bases de pigmentos, desodorantes, caucho e incluso para separar metales preciosos, así como también lo podemos encontrar en productos de uso diario como curitas, en cremas bloqueadoras y lociones, shampoo,

cosméticos, entre otros. Otro uso interesante es en la industria farmacéutica, ya que se han desarrollado suplementos vitamínicos que incluyen Zn (SNMPE, 2012). En la agricultura se utiliza como fungicida y como un agente protector contra la deficiencia de zinc del suelo (Eisler, 1993).

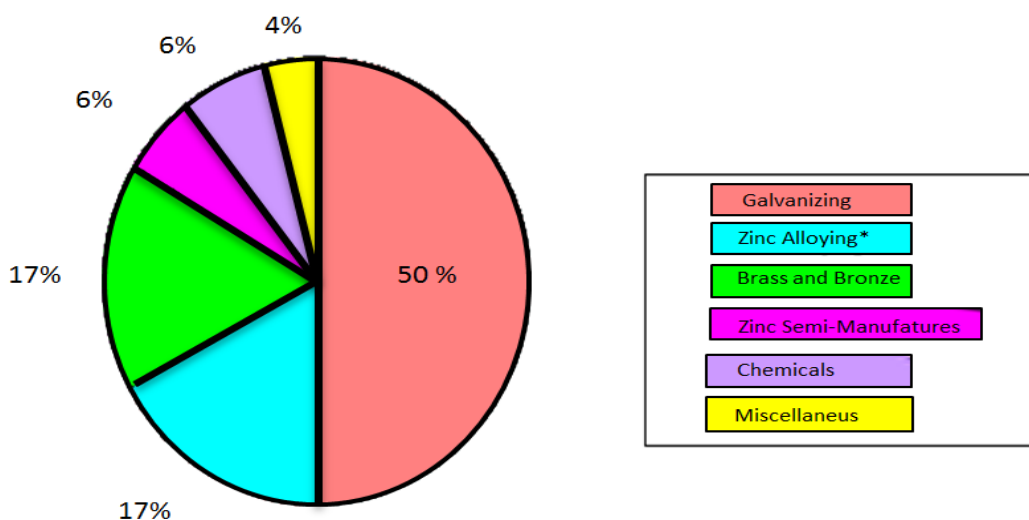


Figura 1.2. Distribución del consumo de Zn por usos industriales (International Lead and Zinc Study Group, 2017).

1.3. Toxicidad del zinc

El Zn es el menos tóxico de todos los oligoelementos. Son pocos los casos de intoxicación aguda en el hombre, y generalmente se deben a la inhalación de humos y polvos de compuestos de Zn en diferentes procesos industriales tales como soldadura, fundición o fabricación de metales fundidos. Los síntomas ocurren varias horas después de la exposición e incluyen fiebre, debilidad, depresión, vómitos, salivación, escalofríos, transpiración, taquicardia, disnea y dolores en el pecho y piernas. Las dosis de compuestos inorgánicos de Zn necesarios para producir envenenamientos agudos son relativamente altas, y varían dependiendo del tipo de sal, la especie biológica, la vía de administración y la disponibilidad de ligandos biológicos del metal (Eisler, 1993; Rubio, 2002). El Zn es un elemento fundamental para el desarrollo de los huesos (SNMPE, 2012).

1.4. Legislación de zinc en agua

Las normas mexicanas que establecen límites máximos permisibles para el Zn en el agua se muestran en la tabla 1.1.

Tabla 1.1. Normas oficiales mexicanas que establecen límites máximos permisibles de Zn en el agua.

Normas mexicanas	Descripción	Límites máximos permisibles (mg/L)
NOM-127-SSAI-1994	Límites máximos permisibles de calidad de agua para uso y consumo humano.	5
NOM-001-SEMARNAT-1996	Límites Máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.	10
NOM-002-SEMARNAT-1996	Límites Máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.	6

1.5. Procesos físico-químicos para recuperación de zinc

Los procesos físico químicos más utilizados en el tratamiento de aguas residuales con altos contenidos de metales, en especial el drenaje ácido de minas, son la aeración y la adición de un químico neutralizante, generalmente descrito como tratamiento activo. Se deben utilizar diferentes agentes neutralizantes, tales como el óxido de calcio, carbonato de calcio e hidróxido de sodio. El principal objetivo es acelerar la oxidación y precipitar los metales en forma de hidróxidos y carbonatos (Villa; 2006). Sin embargo, las desventajas de estos procesos son los altos costos de mantenimiento y de operación, además que se producen grandes cantidades de lodos, los cuales requieren un tratamiento posterior y disposición como residuo peligroso (Kaksonen et al., 2003). Otros procesos utilizados para

obtener el Zn como metal son los procesos de reducción térmica, procesos electrotérmicos y procesos electrolíticos (Sancho et al., 2000).

1.6. Procesos biológicos para recuperación de zinc

Se ha descubierto que los microorganismos tales como bacterias, levaduras y hongos, juegan un papel importante en la remediación de metales tóxicos a través de la reducción de iones metálicos (Kowshik et al., 2003; Botello et al., 2007). Los microorganismos y sus productos pueden ser bioacumuladores muy eficientes de metales solubles y particulados, especialmente a partir de concentraciones externas diluidas, por esto las tecnologías basadas en los microorganismos ofrecen una alternativa o ayudan a las técnicas convencionales para la eliminación/recuperación de metales (Cañizares, 2000).

Los procesos biológicos se han convertido en una alternativa prometedora sobre los métodos químicos, debido a la mínima producción de lodos, residuos solubles, bajo costo y a la fácil recuperación de metales mediante una precipitación (Kaksonen et al., 2003; Borja, 2013). Los procesos biológicos pueden ser aerobios y anaerobios, en los aerobios los microorganismos están en presencia de oxígeno y actúan sobre la materia orgánica disuelta, transformándola en productos finales inocuos y materia celular, dentro de estos procesos se encuentran los lodos activados, lagunas aireadas, filtros biológicos, entre otros. Mientras que en los anaerobios los microorganismos degradan los residuos orgánicos en ausencia de oxígeno, este proceso requiere de menos energía, produce menos lodo como subproducto, genera H_2S que precipita los iones tóxicos de los metales pesados o produce gas metano (CH_4), que puede utilizarse como fuente alterna de energía. Se encuentra también la fitorremediación, que utiliza varios tipos de plantas, incluso árboles, para dar tratamiento a los suelos y aguas contaminadas con residuos orgánicos y metales pesados (Manahan, 2007; Fortuna, 2016), dentro de los procesos anaerobios se involucra el proceso de sulfato reducción, descrito a continuación.

1.6.1. Proceso biológico sulfato reducción

El proceso de sulfato reducción es uno de los procesos biológicos utilizados para la remoción de metales, con reportes de excelentes eficiencias para la remoción de contaminantes. El proceso ocurre dentro de la digestión anaerobia que se describe como una serie de procesos donde los microorganismos degradan la materia orgánica en ausencia de oxígeno para convertirla en CH_4 , CO_2 y H_2S . La degradación es llevada a cabo por diferentes tipos de bacterias (Nayono, 2009; Borja 2013).

La digestión anaerobia se realiza en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y finalmente la metanogénesis como se muestra en la Figura 1.3.

1.- Hidrólisis: En esta etapa ocurre la desintegración de la materia orgánica compleja e insoluble como las proteínas, carbohidratos y lípidos, las cuales son hidrolizadas por enzimas extracelulares producidas por microorganismos acidogénicos y fermentativos. Como resultado se producen compuestos solubles más sencillos como aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga (Ortega, 2006).

2.- Acidogénesis: Las bacterias acidogénicas convierten las moléculas orgánicas en ácidos grasos volátiles (AGV) tales como butírico, propiónico y acético, aunque etanol y ácido láctico también pueden ser producidos (Gallegos, 2009).

3.- Acetogénesis: Los ácidos grasos de cadena corta son transformados en ácido acético, sulfuro de hidrógeno (H_2S) y dióxido de carbono (CO_2), mediante la acción de los microorganismos acetogénicos (Borja, 2013).

4.- Metanogénesis: Por último, los microorganismos metanogénicos producen metano a partir de ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono (Ortega, 2006).

Una vez que se llevó a cabo la hidrólisis de la materia orgánica compleja, en presencia de SO_4^{2-} las BSR pueden competir con microorganismos acetogénicos y metanogénicos por varios sustratos como acetato, propionato, butirato (Flores, 2010).

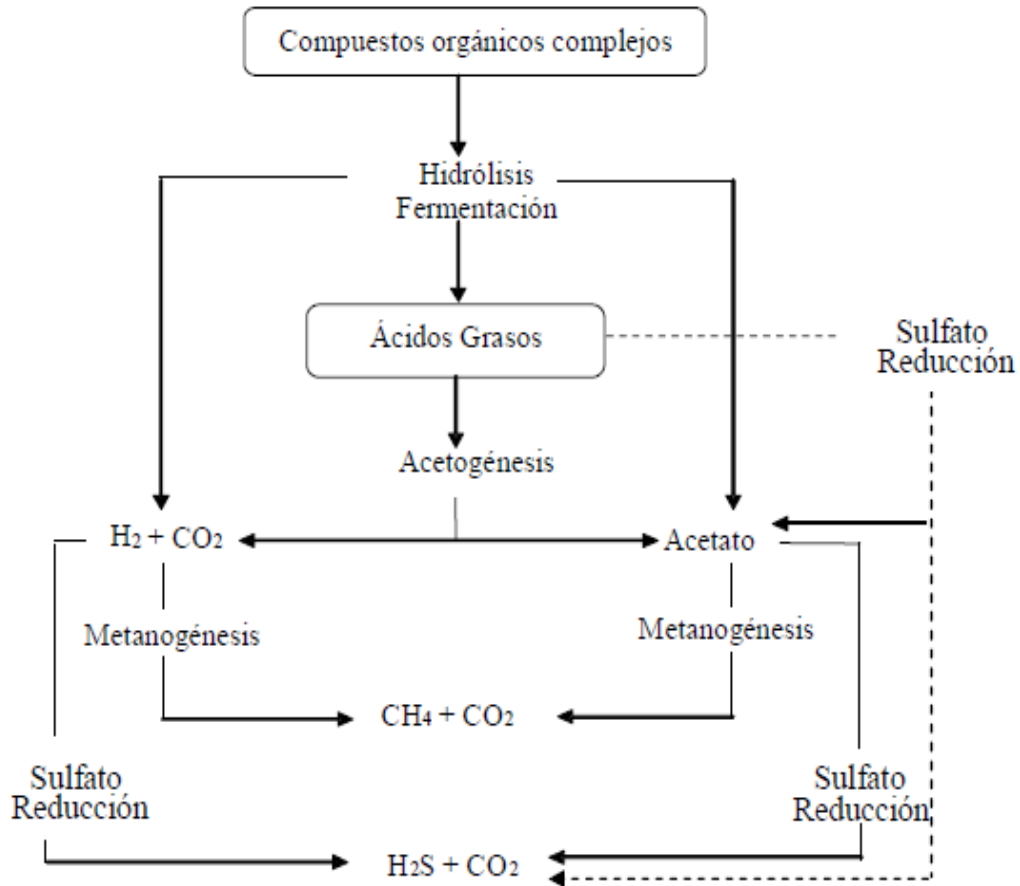


Figura 1.3. Esquema de la degradación anaerobia de la materia orgánica por BSR, organismos metanogénicos y acetogénicos (Lens y Pol, 2000; Gallegos, 2009).

Las principales reacciones que se llevan a cabo dentro de la digestión anaerobia se muestran en la tabla 1.2, las cuales se llevan a cabo por microorganismos fermentativos, acetogénicos, metanogénicos y sulfato reductores.

Tabla 1.2. Reacciones involucradas en la degradación anaerobia de materia orgánica en sistemas anaerobios (Gibson, 1990; Flores, 2010).

Reacciones	ΔG° (KJ/mol)
Fermentativas	
$3\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	-124.99
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{HCO}_3^- + \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O}$	-66.84
$3\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + \text{H}^+ + 3\text{H}_2\text{O}$	+276.93
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{CH}_3\text{COO}^- \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O}$	-38.6
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 3\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	-116.35
Acetogénicas	
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O}$	-4.2
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+9.6
Metanogénicas	
$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-135.6
$\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31.0
Sulfato-reductoras	
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-47.6
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + \frac{3}{4}\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \frac{3}{4}\text{HS}^- + \frac{1}{4}\text{H}^+$	-37.7
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + \frac{1}{2}\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{1}{2}\text{HS}^- + \frac{1}{2}\text{H}^+$	-27.8
$\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + \frac{1}{2}\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \frac{1}{2}\text{HS}^- + \text{H}^+$	-80.0
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \frac{1}{2}\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \frac{1}{2}\text{HS}^- + \frac{1}{2}\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	-66.4
$4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-151.1
Acetato= CH_3COO^- ; Propionato= $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$; Lactato= $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$; Butirato= $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$; Etanol= $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$; Hidrógeno= H_2	

El proceso de sulfato reducción forma parte del ciclo biogeoquímico del azufre y se muestra en la Figura 1.4. El ciclo del azufre consiste de un número de etapas de oxidación-reducción. El SO_4^{2-} es reducido a H_2S vía reducción no asimilativa o reducción asimilativa del SO_4^{2-} seguida por la degradación anaerobia de la materia orgánica. La principal ruta para la reducción de SO_4^{2-} a sulfuro es por la reducción no asimilativa. El H_2S formado puede ser oxidado por otras rutas aerobias a SO_4^{2-} o azufre elemental (Gallegos, 2009).

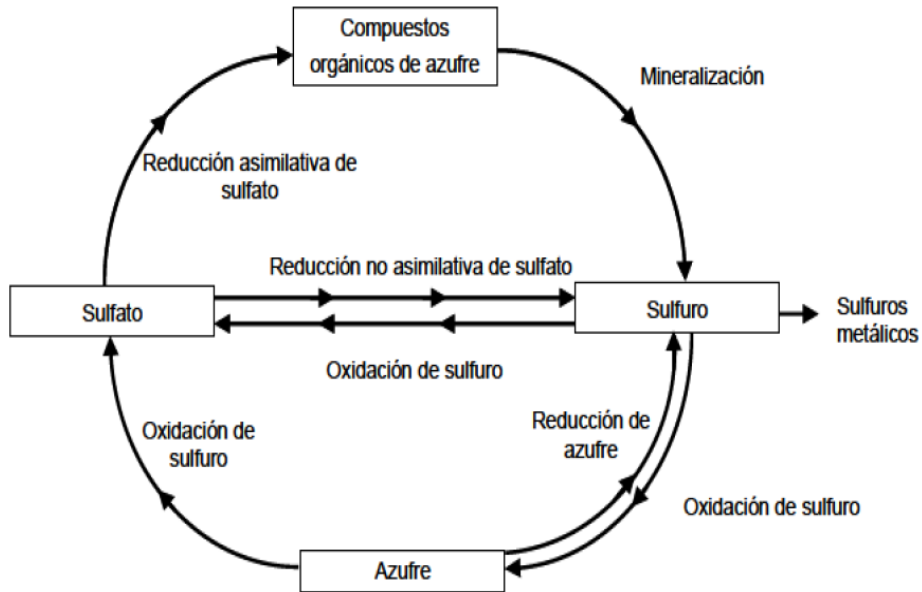
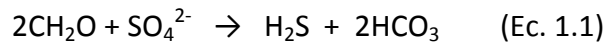
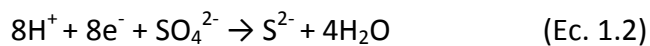


Figura 1.4. Ciclo del azufre (Visser, 1993).

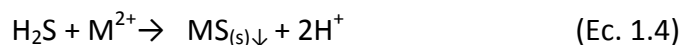
El proceso de sulfato reducción se basa en la oxidación del sustrato orgánico presente en el agua residual y la reducción del SO_4^{2-} a H_2S (Ec. 1.1) (Gallegos, 2009).



El ión sulfuro puede encontrarse como sulfuro (S^{2-}) o como H_2S en el caso de que se combine con protones del medio (Ec. 1.2 y 1.3, respectivamente), lo cual está condicionado por el valor de pH del medio en el que se encuentre (Liamlean y Annachhatre, 2007).



En presencia de metales, el H_2S precipitaría como sulfuros metálicos los cuales podrían ser recuperados como nanopartículas (Ec. 1.4).



Donde:



El proceso de sulfato reducción es uno de los procesos biológicos utilizados para la remoción de metales, con reportes de excelentes eficiencias para la remoción de contaminantes.

1.6.2. Bacterias sulfato reductoras (BSR)

Las BSR son una comunidad bacteriana muy importante dentro de la biodiversidad microbiana ya que al reducir los SO_4^{2-} a sulfuros permiten la precipitación e inmovilización de metales tóxicos solubles en forma de sulfuros metálicos de baja solubilidad (Castillo et al., 2011), requieren condiciones anaerobias y potencial redox de -200 mV para realizar sus funciones metabólicas (Church et al., 2007; Piña, 2010). Las BSR son microorganismos procariotas, bacterias y arqueas, que pueden usar el SO_4^{2-} como aceptor terminal de electrones en su metabolismo llevando a cabo la reducción desasimilatoria del SO_4^{2-} . Las BSR pueden crecer a expensas de la reducción de SO_4^{2-} solo en completa ausencia de oxígeno molecular. Son microorganismos anaerobios estrictos y son principalmente encontrados en hábitats anóxicos ricos en SO_4^{2-} (Parra, 2008). Las características morfológicas de estas células varían considerablemente. Se han descrito distintos tipos celulares, entre los que se encuentran: bacilos, vibrios, cocos, espirilos, etc. (Widdel y Bak, 1992; Soledad, 2006). Algunos géneros toleran el oxígeno y pueden crecer con oxígeno en bajas concentraciones, por esta razón es frecuente, que su población se encuentre bajo colonias activas de microorganismos aerobios, ya que ellos consumen el oxígeno y crean zonas anaeróbicas adecuadas para este tipo de bacterias (Monroy, 2014). Las BSR utilizan compuestos inorgánicos azufrados (en especial SO_4^{2-}) como aceptores de electrones durante la respiración anaeróbica, y ácidos orgánicos, ácidos grasos, alcoholes e hidrógeno como donadores de electrones (Andrade, 2010). La tabla 1.3 resume los compuestos azufrados y los donadores de electrones utilizados por las BSR.

Tabla 1.3. Compuestos azufrados con sus respectivos estados de oxidación y compuestos donadores de electrones utilizados por las BSR (Andrade, 2010).

Estados de oxidación de los compuestos azufrados	
Compuesto	Estado de oxidación
S orgánico (R-SH)	-2
Sulfuro (H ₂ S)	-2
Azufre elemental (S ⁰)	0
Tiosulfato (S ₂ O ₃ ²⁻)	+2
Tetrationato (S ₄ O ₆ ²⁻)	+2.5
Dióxido de azufre (SO ₂)	+4
Sulfito (SO ₃ ²⁻)	+4
Trióxido de azufre (SO ₃)	+6
Sulfato (SO ₄ ²⁻)	+6
Donadores de electrones	
Hidrógeno	Acetato
Lactato	Propionato
Piruvato	Butirato
Etanol y otros alcoholes	Ácidos grasos de cadena larga
Fumarato	Benzoato
Malato	Indol
Colina	Hexadecano

Las BSR se clasifican en dos grupos de acuerdo a su capacidad para oxidar sustratos:

a) BSR que generan acetato como producto final a partir de la oxidación incompleta de sustrato, muchas veces con la formación simultánea de CO₂ (Rabus et al., 2006). Estos microorganismos carecen de un mecanismo enzimático para la utilización de acetato por lo que éste es el producto principal de la oxidación incompleta. Dentro de este grupo se encuentran los géneros *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* y *Desulfobulbus* (Gallegos, 2009).

b) BSR que oxidan completamente el sustrato hasta CO₂. Este tipo de microorganismos obtiene su energía directamente del acetato mediante el ciclo del ácido cítrico modificado (Muyzer y Stams, 2008). A este grupo de bacterias pertenecen los géneros *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema* y *Desulfobacterium* (Gallegos, 2009).

Las reacciones metabólicas que se involucran en la degradación de materia orgánica por BSR se enlistan en la tabla 1.4.

Tabla 1.4. Reacciones metabólicas involucradas en la degradación de la materia orgánica por las BSR y sus cambios de energía libre de Gibbs. (Stefanie et al., 1994; Oude *et al.*, 1994; Montalvo, 2013).

Reacción	ΔG° (KJ/mol)
Oxidación completa	
$\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 3\text{HCO}_3^- + 3/2\text{HS}^- + 1/2\text{H}^+$	-127.6
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 7/4\text{SO}_4^{2-} + 1/4\text{H}^+ \rightarrow 3\text{HCO}_3^- + 7/4\text{HS}^- + 1/2\text{H}^+$	-85.2
$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-47.6
$4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-38.1
Oxidación incompleta	
$\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + 1/2\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + 1/2\text{HS}^- + 1/2\text{H}^+$	-80.0
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 1/2\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 1/2\text{HS}^- + 1/2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	-66.4
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3/4\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + 3/4\text{HS}^- + 1/4\text{H}^+$	-37.7
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 1/2\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + 1/2\text{HS}^- + 1/2\text{H}^+$	-27.8
Acetato= CH_3COO^- ; Propionato= $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$; Lactato= $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$; Butirato= $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^-$; Etanol= $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	

1.6.3. Formación de biopelícula anaerobia

Los microorganismos generalmente construyen y viven en conglomerados o comunidades celulares conocidas como biopelículas. La estructura exacta, la química y la fisiología de la biopelícula varían con la naturaleza de sus microorganismos residentes y el ambiente local. Sin embargo, una importante similitud entre las biopelículas es que su integridad estructural depende en gran medida de una matriz extracelular producida por sus células constituyentes (Branda et al., 2005). En la biopelícula los microorganismos se encuentran agregados generalmente dentro de una estructura de exopolímeros que son producidos por los mismos microorganismos, forman una matriz adherente en donde éstos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos. Estas conformaciones microbianas presentan características como: adherencia, heterogeneidad, diversidad de microambientes (pH, presión parcial de O_2 , concentración de iones y de otros sustratos), resistencia a antimicrobianos y capacidad de comunicación intercelular (Betancourth et al., 2004; Soledad, 2006). En las biopelículas se pueden distinguir cinco compartimientos como un sistema: el soporte, la base de la

biopelícula, la superficie de la misma, la fase líquida, y la fase gaseosa. El soporte juega un rol importante durante el estado temprano de acumulación de la biopelícula y puede influir en la velocidad de acumulación, así como la distribución inicial de la población celular de microorganismos (Ríos, 2002). La hidrodinámica juega un papel importante en el desarrollo de la biopelícula pues estas organizaciones se desarrollan en una interfase líquido-sólido donde la velocidad del flujo que lo atraviesa influye en el desprendimiento físico de los microorganismos (Betancourth et al., 2004). En la Figura 1.5 se muestran los procesos que contribuyen a la formación de una biopelícula.

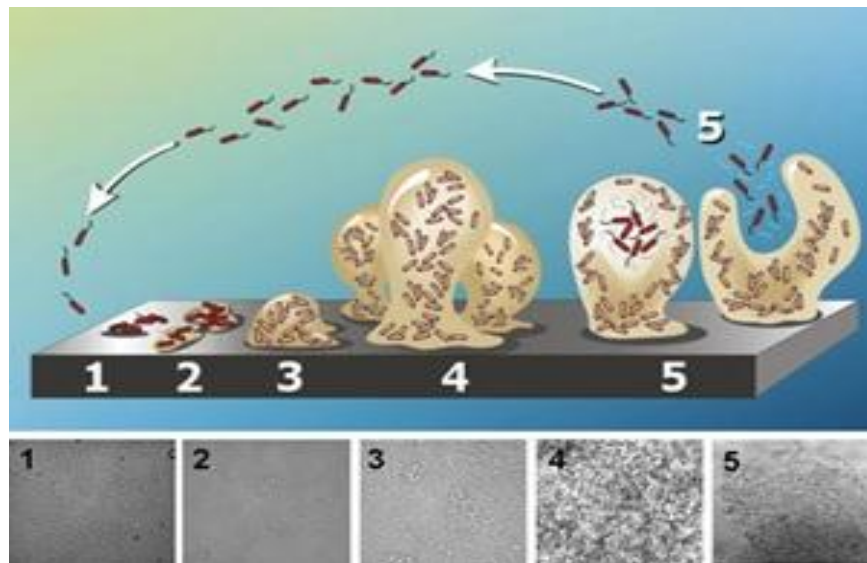


Figura 1.5. Procesos que contribuyen a la formación de una biopelícula. 1. Adhesión inicial de las células a la superficie. 2. Producción de exopolímeros (EPS) ofreciendo fijación irreversible más firme de las células a la superficie. 3. Desarrollo temprano de la arquitectura de la biopelícula. 4. Maduración de la arquitectura de la biopelícula. 5. Desprendimiento (Stoodley et al., 2002; Flores, 2010).

1.6.4 Reactor de lecho fluidificado inverso (LFI)

Los reactores de lecho fluidificado tienen la característica de que una biopelícula se desarrolla sobre un soporte inerte (partículas de silicato, polietileno, esferas de vidrio poroso, gránulos de polímero sintético, polvo de carbón activado, etc.) lo que mejora la

transferencia másica al proveer gran área superficial de biomasa expuesta a sustrato (Kaksonen y Puhakka, 2007; Piña, 2010) y permite retener durante largos períodos de tiempo la biomasa en el reactor y por consecuencia una biopelícula estable y activa, y altas eficiencias de remoción de contaminantes (Celis et al., 2004). El soporte utilizado en este tipo de reactores son partículas de menor densidad que el agua. Las partículas son fluidificadas por un flujo descendente del líquido. El flujo del gas y del líquido, que circulan en direcciones opuestas a la fuerza de flotación de las partículas, ayudan a la expansión del lecho (Villa, 2006). Presenta ventajas en el tratamiento de aguas residuales respecto a otros reactores anaerobios, tales como: una fácil separación de fase sólida-líquida, y una alta concentración de biomasa con mayor actividad específica, lo cual lleva a un diseño más compacto (Nicolella et al., 2000; Flores, 2010). Una de las ventajas para en el tratamiento de aguas residuales con un alto contenido de acidez y metales, son las altas velocidades de recirculación aplicada al FBR ya que diluye la concentración de metales y la acidez del afluente (Kaksonen et al., 2003).

1.7. Nanotecnología

La nanotecnología es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, y la explotación de fenómenos y propiedades de la materia a nanoescala. Cuando se manipula la materia a la escala tan minúscula de átomos y moléculas, muestra fenómenos y propiedades totalmente nuevas. Por lo tanto, científicos utilizan la nanotecnología para crear materiales, aparatos y sistemas novedosos de bajo costo con propiedades únicas (Díaz, 2012). En los últimos años, la investigación en nanotecnología está emergiendo como tecnología de vanguardia interdisciplinaria con la física, química, biología, la ciencia de los materiales y la medicina. Estas disciplinas deben trabajar en conjunto en: (i) síntesis y procesamiento de nanomateriales y nanoestructuras, (ii) comprensión de las propiedades físicas relacionadas con la escala nanométrica, (iii) diseño y fabricación de nano-dispositivos o dispositivos con nanomateriales como bloques de construcción y (iv) diseño y construcción de nuevas herramientas para la caracterización

de nanoestructuras y nanomateriales (Cao, 2004). El prefijo nano se deriva de la palabra griega “*nanos*” que significa "enano" y se refiere a una billonésima parte (10^{-9} m) de algo (Narayanan y Sakthivel, 2010).

1.7.1. Nanopartículas

Los nanomateriales son materiales con propiedades morfológicas más pequeñas que 100 nm en al menos una dimensión. A pesar del hecho de que no hay consenso sobre el tamaño mínimo o máximo de un nanomaterial, algunos autores restringen su tamaño de 1 a 100 nm, una definición lógica situaría la nanoescala entre la microescala (1 micrómetro) y la escala atómica/molecular (alrededor de 0.2 nanómetros) (Díaz, 2012), que proporcionan uno de los mayores potenciales para mejorar el rendimiento y las capacidades ampliadas de los productos en una serie de sectores industriales (Xia et al., 2003; Fang et al., 2011). Las nanopartículas se dividen en cuatro grupos principales: los materiales a base de carbón, composites, dendrímeros y materiales de base metálica, como el oro y la plata (Vega y León, 2014). Las propiedades optoelectrónicas, fisicoquímicas y electrónicas de las nanopartículas están determinadas por su tamaño, forma y cristalinidad. Por lo tanto, la síntesis de nanopartículas monodispersadas con diferentes tamaños y formas ha sido un desafío en la nanotecnología (Narayanan y Sakthivel, 2010). Sus características dependientes del tamaño pueden ser cualitativamente explicadas por su relación superficie/volumen. Por ejemplo, una partícula esférica tiene una relación superficie/volumen inversamente proporcional al diámetro de partícula. Esto implica que cuanto menor sea el diámetro, mayor será la relación. Por lo tanto, una partícula de diámetro de escala nanométrica tiene una relación área superficial/volumen significativamente alta con un gran número de átomos/electrones empaquetados en un volumen muy pequeño (Chopra, 2010). Las nanopartículas de semiconductores II-VI atraen mucha atención debido a sus propiedades fotoeléctricas y electroluminiscentes dependientes del tamaño, donde ZnS, CdS, ZnO, CdTe, etc. son los principales candidatos debido a que sus propiedades electrónicas y ópticas son favorables para aplicaciones optoelectrónicas (Borah et al., 2008). Estas

propiedades no están disponibles en materiales macroscópicos de igual composición (Castro y Reyes, 2016). Sus dimensiones reducidas permiten reducir el tamaño de los circuitos electrónicos (Gayou et al., 2010).

1.7.1.1. Nanopartículas de ZnS

Para el caso de las nanopartículas de ZnS, se puede predecir su presencia en una solución mediante un barrido en UV-Vis aproximadamente entre 200 y 390 nm, para obtener un espectro como el que obtuvieron Mizadeh et al. (2013), el cual se muestra en la Figura 1.6. Este tipo de espectro se caracteriza por tener un borde de absorción que es la caída, en la literatura el borde se ha obtenido entre los 230 (Nath et al. 2008; Kole y Kumbhakar, 2012) y 330 nm (Vázquez et al., 2008) para nanopartículas de ZnS. Cabe señalar que mientras más cerca se encuentre el borde de absorción de la línea de absorbancia, menor será el tamaño de la partícula.

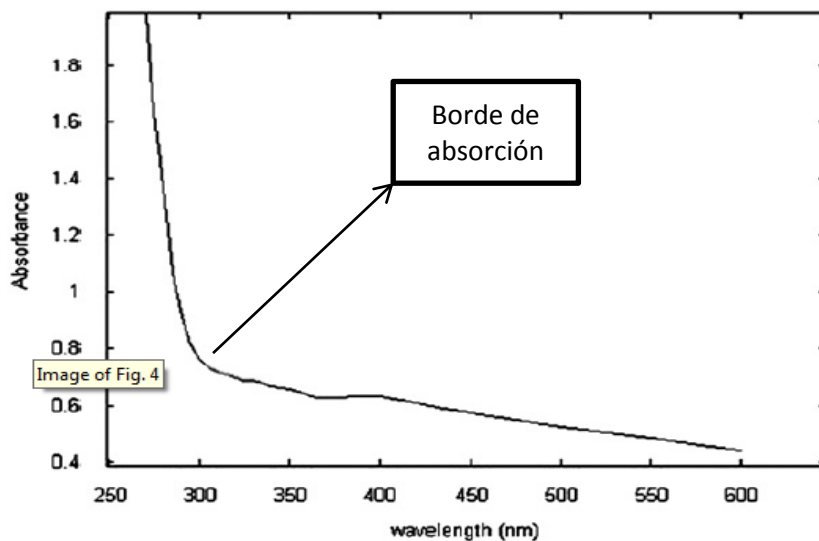


Figura 1.6. Espectro UV-Vis para nanopartículas de ZnS (Mizadeh et al., 2013).

1.7.1.2. Aplicaciones de nanopartículas de ZnS

Las nanopartículas de ZnS tienen gran variedad de aplicaciones en áreas como: catálisis, semiconductores, transistores de electrones simples (SETs) y emisores de luz, dispositivos ópticos no lineales y aplicaciones fotoelectroquímicas (Botello et al., 2007). Muchas de estas propiedades y sus posibles aplicaciones son fuertemente influenciadas por el tamaño y la forma de las mismas: esferas, barras, discos, prismas, etc. (Díaz, 2012).

1.7.1.3. Síntesis de nanopartículas

Existen dos enfoques para la síntesis de nanomateriales y la fabricación de nanoestructuras: de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba. El desgaste o molienda es un método típico de arriba hacia abajo en la fabricación de nanopartículas, mientras que la dispersión coloidal es un buen ejemplo de enfoque ascendente en la síntesis de nanopartículas. Hay ventajas y desventajas en ambos enfoques. Entre otros, el problema principal con el enfoque de arriba hacia abajo es la imperfección de la estructura superficial. Es bien sabido que las técnicas de arriba hacia abajo convencionales tales como la litografía pueden causar daño cristalográfico significativo al procesamiento y se pueden introducir defectos adicionales incluso durante las etapas de grabado. El enfoque ascendente se refiere a la acumulación de un material desde el fondo: átomo por átomo, molécula por molécula. También promete una mejor oportunidad de obtener nanoestructuras con menos defectos, una composición química más homogénea y un mejor ordenamiento a corto y largo plazo. Esto se debe a que el enfoque de abajo hacia arriba está impulsado principalmente por la reducción de la energía libre de Gibbs, de modo que las nanoestructuras y nanomateriales producidos de esta manera están en un estado más cercano a un estado de equilibrio termodinámico (Cao, 2004). Dentro de la síntesis ascendente, entre los métodos que han sido utilizados para la formación de nanopartículas se encuentran la reducción química, reducción fotoquímica, métodos de aerosol, etc. (Narayanan et al., 2010), además de procesos físico-químicos a partir de la utilización de agentes reductores como el trietilborohidruro de litio (LiEt_3BH), por medio de la termólisis, métodos láser de pulso, entre otros. Sin embargo, estos

procesos conllevan una alta inversión económica, por lo que aún no son muy viables para su implementación a gran escala, además que generan lodos de desecho como subproductos del proceso de síntesis clásica y dan lugar a problemas geo-ambientales por su toxicidad, limitando sus usos (Vega y León, 2014).

Un nuevo método de síntesis es la obtención de nanometales a partir de diferentes microorganismos tales como bacterias, levaduras y hongos, juegan un papel importante en la remediación de metales tóxicos a través de la reducción de iones metálicos, por lo tanto recientemente se han considerado como nanofábricas de gran interés (Botello et al., 2007). Se sabe que muchos microorganismos producen cristales minerales nanoestructurados y nanopartículas metálicas con propiedades similares a los materiales sintetizados químicamente, mientras ejercen un estricto control sobre el tamaño, la forma y la composición de las partículas (Gericke y Pinches, 2006). En la Tabla 1.5 se muestran diferentes investigaciones sobre la formación de nanopartículas de diferentes materiales, mediante procesos físico-químicos y biológicos.

La síntesis de nanocristales requiere identificar las moléculas precursoras apropiadas y su concentración para producir especies moleculares o atómicas que contribuyan a la nucleación y crecimiento de la nanoestructura (Castro y Reyes, 2016). Los estabilizantes se han utilizado como agentes de cobertura para la síntesis de nanopartículas y pueden dispersar y estabilizar las partículas (Narayanan et al., 2010). Algunos estabilizantes poliméricos comúnmente utilizados son: polivinilpirrolidona (PVP), polivinilalcohol (PVA), polietilenimina, polifosfato de sodio, poliacrilato de sodio, halogenuros de tetraalquilamonio (Cao, 2004).

Estudios hechos han comprobado la eficiencia de procesos físico químicos para la síntesis de nanopartículas. Vázquez et al. (2008) sintetizaron nanopartículas de ZnS a partir de $ZnSO_4$, utilizando un horno de microondas convencional de 1650 W en pruebas de 60 segundos. Los productos obtenidos se analizaron mediante espectrofotometría UV-Vis, DRX, FT-IR y MET. Los resultados muestran la obtención de nanopartículas de ZnS con un tamaño aproximado de 15 nm y una morfología hexagonal, el borde de absorción obtenido por UV-Vis se localiza en los 330 nm observándose además, propiedades de

fotoluminiscencia en las dispersiones obtenidas. Behboudnia et al. (2005) desarrollaron nanopartículas de ZnS mediante ondas ultrasónicas, fue sonicada una solución de etilendiamina, azufre elemental y acetato de zinc, en presencia de 1-decanotiol. Las nanopartículas se caracterizaron mediante técnicas como DRX de polvos, MEB, Espectroscopia de energía dispersa (EDS) y UV-Vis. Las nanopartículas de ZnS obtenidas tienen un tamaño promedio de 20 nm. Otros métodos físico químicos utilizados para la síntesis de nanopartículas son: Síntesis de baja temperatura (Whang y Hong, 2000; Zhao et al., 2004), método hidrotermal (Quynh et al., 2009), co-precipitación (Iranmanesh et al., 2015), electroquímica (Rahimi, 2014), síntesis de precipitación coloidal (Kho et al., 2000; Panda et al., 2007), irradiación de microondas (Ni et al., 2004; Vázquez et al., 2008; Soltani et al., 2012), electro-explosión (Goswami y Sen, 2007). En la tabla 1.6 se enlistan estudios sobre la formación de nanopartículas de ZnS por métodos físico-químicos.

Otro método es la síntesis de nanopartículas de ZnS mediante un proceso biológico, del cual se han hecho diversos estudios. Botello et al. (2007) sintetizaron nanopartículas de ZnS por medio de una ruta biotecnológica. Ellos utilizaron dos cepas: B-1 y *Fusarium sp.* , las cuales se pusieron en contacto con disoluciones de sulfato de zinc ($ZnSO_4$). Los resultados del análisis espectrofotométrico demostraron los efectos de confinamiento cuántico característicos de semiconductores, con una distribución de tamaños de partícula en escala nanométrica. El análisis por fuerza atómica mostró un rango de nanopartículas obtenidas de 50 hasta 100 nm. Otros estudios sobre la síntesis biológica de nanopartículas de ZnS se muestran en la tabla 1.7.

Tabla 1.5. Desarrollo de nanopartículas de diferentes materiales mediante procesos físico-químicos y biológicos.

Tipo de síntesis	NP's	Agente reductor	Agente precursor	Agitación (rpm)	T (°C)	pH	Tamaño partícula (nm)	Referencia
Biológica	Ag ⁺	Sphaerulina albispiculata (hongos)	AgNO ₃ (1mM)	NR	37	NR	6 - 12	Prabakaran et al., 2012
Química	TiO ₂	NR	Isopropoxido de titanio (97% pureza)	NR	200-900	NR	10 - 45	Morales, 2014
Química	Au ₂ O ₃	Ácido gálico Ácido tánico	AuCl ₄ (0.3 mM)	NR	NR	7	10 - 50 8 - 20	San German, 2015
Biológica	Au	Thermomomospora sp (hongos)	AuCl ₄ (10 m M)	200	50	9	7 - 12	Sastry et al., 2003
Biológica	Ag ⁺	Verticillium sp (hongos)	AgNO ₃ (0.2 mM)	200	28	5.5 - 6	13 - 37	Sastry et al., 2003; Mukherjee et al., 2001
Biológica	Cds	Fusarium oxysporum (hongos)	CdSO ₄ (10 m M)	NR	NR	NR	5 - 20	Ahmad et al., 2002
Biológica	Pbs	Torulopsis sp (levadura)	Pb(NO ₃) ₂ (0.5 mM)	100	30	5.6	2 - 5	Kowshik et al., 2002
Biológica	Au	Fusarium oxysporum (hongos)	HAuCl ₄ (10 mM)	NR	27	NR	22	Thakkar et al., 2013
Química (Reducción)	Ag ⁺	Citrato de sodio (al 1%)	AgNO ₃ (1 mM)	NR	NR	NR	100	Šileikaitė et al., 2006
Química	Fe ₂ O ₃	Ácido gálico	FeNH ₄ (SO ₄) ₂ * 12H ₂ O (0.3 mM)	NR	25	10	10	Herrera et al., 2010

Tabla 1.6. Desarrollo de nanopartículas de ZnS mediante procesos físico-químicos.

Método	Fuente de azufre	Agente precursor	Agitación (rpm)	T (°C)	pH	Borde de Absorción (nm)	Tamaño partícula (nm)	Referencia
Química	Na ₂ S (2% en peso)	ZnCl ₂ (2, 3 y 4% en peso)	200	700	1.4 2 2.8	260 275 275	4.9 5.5 6.6	Borah et al., 2008
Química	Na ₂ S	ZnCl ₂ (4.7 mM)	NR	80	10	NR	5-10	Narayanan et al., 2010
Baja temperatura	Tiourea (7.34 mmol)	ZnCl ₂ (7.34 mmol)	NR	194	NR	280	4.2	Zhao et al., 2004
Precipitación	Na ₂ S*9H ₂ O (98% pureza)	acetato de zinc (98% p/p)	600	70	6	270	100-120	Castro y Reyes, 2016
Irradiación por microondas	Tioacetamida (0.006 M)	Acetato de zinc (0.005M)	500	60	NR	290	4.3	Soltani et al., 2012
Precipitación	Tiourea (15 mmol)	ZnCl ₂ *2H ₂ O (15 mmol)	NR	130	9	260	9	Di Stefano et al., 2010
Hidrotermal	Na ₂ S*7H ₂ O	ZnSO ₄ *5H ₂ O	NR	220	NR	280	13.1 – 28.1	Quynh et al., 2009
Co-precipitación	Na ₂ S (0.1M)	Zn(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ *2H ₂ O (0.005 M)	300	110	7	250	50	Irramaneesh et al., 2015
Precipitación	Na ₂ S (0.85 mM)	ZnSO ₄ (1mM)	NR	NR	6- 9	230	2.4	Gayou et al., 2010
Pirólisis de electros-presión	Tiourea	(Zn(NO ₃) ₂)	NR	600	NR	NR	20 – 40	Lenggoro et al., 2000

Tabla 1.7. Desarrollo de nanopartículas de ZnS mediante procesos biológicos.

Micro-organismo	Especie	Agente precursor	Operación	Agitación (rpm)	T (°C)	pH	Borde de absorción (nm)	Tamaño partícula (nm)	Referencia
Bacterias	Biopelícula sulfato-reductora	Zn de agua natural	Continuo	NR	NR	7.2 – 8.6	NR	2 - 5	Labrenz et al., 2000
Bacteria	Rhodobacter sphaeroides	ZnSO ₄ *7H ₂ O (2.5 mM)	Lote	NR	30	NR	275-300	12	Bai et al., 2006
Planta	Latex de Jatropha curcas	Acetato de zinc (2.5 M)	Lote	NR	27	NR	250-300	10	Hudlikar et al., 2012.
Hongo	Saccharomyces cerevisiae	ZnSO ₄ (1 mM))	Lote	180	25	NR	300	30 – 40	Mala y Rose, 2014
Hongo	Fusarium oxysporum	ZnSO ₄ *7H ₂ O (0.003 M)	Lote	200	27	NR	300	42	Mirzadeh et al., 2013
Bacteria	Serratia entomophila	ZnSO ₄ (1 mM))	Lote	NR	35	NR	NR	80	Malarkodi y Annadurai, 2013.
Bacteria	Thermoanaerobacter	ZnCl ₂ (5 -10 mM)	Lote	NR	65	7.6 - 8	NR	5 - 12	Moon et al., 2014
Bacterias sulfato-reductora	Desulfovibrio desulfuricans	ZnSO ₄ *7H ₂ O (100 mg/L)	Lote	NR	25	7	NR	20 - 30	Da Costa et al., 2012
Bacteria	Pseudomonas aeruginosa BSO1 (Rampolípido)	ZnCl ₂ (4.7 mM)	Continuo	NR	80	10	NR	10 - 15	Hazra et al., 2013

1.7.2. Teoría de bandas

La teoría de bandas constituye una explicación alternativa del comportamiento de los materiales semiconductores. Las bandas de energía (o bandas permitidas) se encuentran separadas por brechas denominadas bandas prohibidas (E_g). La banda de energía superior que consiste de los estados desocupados del sólido es llamada banda de conducción (BC), cuando se encuentran electrones en ésta pueden moverse libremente en el sólido y pueden, por lo tanto, conducir corriente cuando se les aplica un campo eléctrico. La banda correspondiente a los niveles ocupados más externos es llamada banda de valencia (BV), aquí los electrones permanecen fuertemente enlazados a sus átomos respectivos, tienen una menor energía potencial y tienden a permanecer en ella, por lo tanto, no son capaces de participar en la conducción eléctrica.

En la Figura 1.7 se muestra la diferencia de banda prohibida entre diferentes materiales. Para un conductor la posición en energía del borde superior de la banda de valencia es mayor que la de los electrones de la banda de conducción, por lo tanto, las bandas se superponen y muchos electrones de valencia se sitúan sobre la conducción con facilidad y pueden circular por el medio sin necesidad de excitación adicional. En estos materiales la banda prohibida no existe.

En un semiconductor sigue existiendo una separación entre la banda de conducción y la banda de valencia, pero la brecha entre ambas es mucho más pequeña que en un aislante, de modo que, con un incremento pequeño de energía, los electrones de valencia salta a la banda de conducción y puede circular por el medio. Cuando un electrón salta desde la banda de valencia a la conducción deja un hueco en la banda de valencia que también se considera portador de corriente eléctrica.

En un aislante la posición en energía del mínimo de la banda de conducción está mucho más arriba que la energía del mínimo de banda de valencia. En este caso, existe una brecha entre la banda de valencia y la de conducción de modo que, los electrones de valencia no pueden acceder a la banda de conducción que estará vacía. Es por ello que el aislante no conduce (Martínez, 2014).

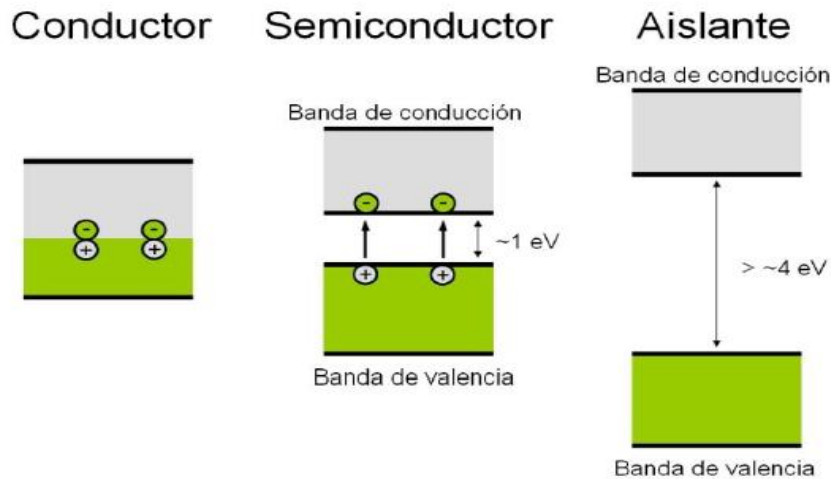


Figura 1.7. Bandas de energía para conductor, semiconductor y aislante.

1.8. Justificación

En la actualidad los niveles de contaminación en los ríos y lagos con metales pesados que provienen de aguas residuales son un problema alarmante para la sociedad y la naturaleza. En el caso de la industria minera, se generan efluentes muy ácidos con elevadas concentraciones de Zn en el efluente. Cuando esta agua contaminada alcanza los cuerpos de aguas aledaños pueden ocurrir alteraciones o daños en los ecosistemas presentes, ocasionando la muerte de flora y fauna y la contaminación de los recursos hídricos, los cuales pueden tornarse dañinos para el consumo humano o los propósitos agrícolas e industriales concominantes. Actualmente, uno de los métodos más empleados para recuperar metales de aguas residuales es a partir de la síntesis de nanopartículas metálicas. Se han desarrollado procesos físico-químicos para recuperar el Zn en forma de nanopartículas de ZnS. Sin embargo, estos procesos son costosos y generan una gran cantidad de residuos tóxicos. Por lo cual se han buscado vías de síntesis más respetuosas con el ambiente, siendo los procesos biológicos una alternativa. El proceso biológico de sulfato reducción es una alternativa económica y amigable con el ambiente, para la eliminación del SO_4^{2-} y la recuperación de Zn de aguas residuales a partir de su precipitación como sulfuro de Zn por la acción de las bacterias anaerobias.

1.9. Objetivos

1.9.1. Objetivo general

Estudiar las condiciones óptimas para el desarrollo de nanopartículas de ZnS de un agua residual sintética, mediante una biopelícula sulfidogénica en un reactor LFI, con el fin de proponer una alternativa biológica y económicamente viable para la recuperación y reutilización del metal y el agua.

1.9.2. Objetivos específicos

- 1.- Desarrollar una biopelícula sulfidogénica en un reactor LFI y evaluar la producción de sulfuro biogénico, para su utilización en la precipitación de zinc como un sulfuro metálico y evaluar su formación por UV-Vis a diferentes tiempos de reacción. Confirmar la formación de la biopelícula y de sulfuro metálico mediante MEB.
- 2.- Evaluar la recuperación de sulfuros de zinc a partir de pruebas en lote con biopelícula expuesta a diferentes concentraciones de Zn y PVP y confirmar la estructura cristalina del precipitado recuperado mediante DRX, MEB y MET, y así demostrar la capacidad del estabilizante para controlar el crecimiento de nanopartículas de ZnS.
- 3.- Evaluar la capacidad de la biopelícula para reducir sulfato a sulfuro biogénico y formar nanopartículas de ZnS, al estar expuesta a diferentes concentraciones de Zn en un reactor LFI con operación en continuo. Evaluar su formación mediante UV-Vis y confirmar la estructura cristalina del precipitado recuperado mediante DRX, MEB y MET.

Capítulo 2. Materiales y métodos para el desarrollo de nanopartículas de sulfuro de zinc a partir de una biopelícula sulfidogénica.

2.1. Reactor de lecho fluidificado inverso (LFI) para la formación de una biopelícula sulfidogénica

Para la formación y desarrollo de la biopelícula se utilizó un reactor LFI, que consistió en una columna de poliacrílico con volumen de 800 mL, diámetro interno de 4 cm, una altura de 47 cm, un fondo cónico y un separador de fases que también funcionó como ecualizador para regular el nivel de flujo en la columna (Figura 2.1) El volumen total del sistema fue de 1.2 L, tomando en cuenta el reactor, ecualizador y las líneas de recirculación. Se usaron bombas peristálticas marca Masterflex para mantener constante el flujo de alimentación y recirculación del sistema. El tiempo de retención hidráulico (TRH) fue de 1 día, con flujo de alimentación de 0.83 mL/min y un flujo de recirculación de 980 mL/min y con una expansión de soporte del 30% del volumen de la columna. El reactor se operó a temperatura ambiente (18 - 26°C).

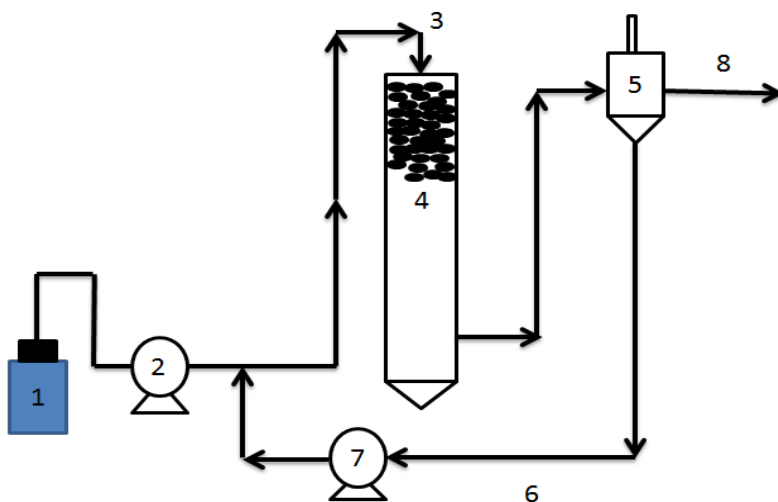


Figura 2.1. Diagrama del reactor de lecho fluidificado inverso (LFI). 1) Alimentación, 2) bomba de alimentación, 3) afluente, 4) lecho fluidificado, 5) separador de fases y ajustador del nivel de agua en la columna, 6) flujo de recirculación, 7) bomba de recirculación, 8) efluente.

2.1.1. Material de soporte del reactor LFI

El soporte utilizado para formar la biopelícula fue polietileno de baja densidad con diámetro promedio de 500 μm y densidad aparente de 400 kg/m^3 (Anexo E). Antes de montarlo, se lijó para obtener una superficie rugosa que beneficia a la adición de los microorganismos y así la formación de la biopelícula, posteriormente se acondicionó colocándolo en un matraz Erlenmeyer de 1 L, que contenía 500 mL de agua destilada, 0.2 g de peptona de caseína y 0.2 g de extracto de levadura. Se mantuvo en agitación a 100 rpm durante 48 h con el fin de acondicionar el soporte. Después de su acondicionamiento, se añadió un volumen de 50 mL de soporte al reactor LFI de la sección anterior por la parte superior, para posteriormente ser inoculado con lodo granular disgregado (ver sección 2.1.2).

2.1.2. Inóculo del reactor LFI

El reactor LFI fue inoculado con 30 mL de lodo granular proveniente de la planta Ricolino de la ciudad de San Luis Potosí, México, el cual fue adaptado previamente a condiciones sulfato reductoras en un reactor UASB. El lodo se activó con medio mineral (sección 2.1.3.1) y después se disgregó con una jeringa, para posteriormente inocularlo en el reactor.

2.1.3. Medios de cultivo y soluciones

2.1.3.1. Medio basal de alimentación para reactor LFI

La composición del medio basal utilizado para alimentar el reactor LFI se presenta en la tabla 2.1. Como sustrato orgánico se utilizó 1 g DQO/L como acetato de sodio (CH_3COONa) y sulfato en forma de sulfato de sodio (Na_2SO_4). Se utilizó la relación $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 0.67, ya que teóricamente a esta relación existe el suficiente SO_4^{2-} en el medio para que toda la materia orgánica presente sea utilizada por las BSR y, en principio, se podría operar en condiciones completamente sulfato reductoras (Dar et al., 2008), el pH del medio se ajustó a 7 con bicarbonato de sodio (NaHCO_3).

Tabla 2.1. Composición del medio basal de alimentación del reactor LFI.

Compuesto	Concentración (g/L)
NH ₄ Cl	3.0
CaCl ₂	0.15
KH ₂ PO ₄	2.0
MgSO ₄	1.2
KCl	2.5
Extracto de levadura	0.2
Elementos traza	1 mL

2.1.3.2. Solución de elementos traza

La tabla 2.2 muestra la composición de la solución de elementos traza. La rezasurina proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos sulfato reductores (Gallegos, 2009).

Tabla 2.2. Composición de la solución de elementos traza.

Compuesto	Concentración (g/L)
FeCl ₂	1.5
MnCl ₂	0.1
EDTA	0.5
H ₃ BO ₃	0.062
ZnCl ₂	0.07
NaMoO ₄	0.036
AlCl ₃	0.04
NiCl ₃	0.024
CoCl ₂	0.07
CuCl ₂	0.02
HCl 36%	1mL
Na ₂ SeO ₃	0.1
rezasurina	0.5

2.1.3.3. Medio basal para determinar la actividad sulfato reductora (ASR)

La composición del medio basal utilizado en la ASR se muestra en la tabla 2.3. El pH se ajustó a 7 con NaHCO₃.

Tabla 2.3. Composición del medio basal para determinar la ASR.

Compuesto	Concentración (g/L)
NaH ₂ PO ₄	0.703
K ₂ HPO ₄	0.6
MgSO ₄	0.11
NaHCO ₃	1.0
Extracto de levadura	0.02
CaCl ₂	0.006
NH ₄ Cl	0.28

2.1.4. Condiciones de operación del reactor LFI para el desarrollo de una biopelícula sulfato reductora

Al principio el reactor LFI se llenó con medio mineral (ver sección 2.1.3.1) con relación DQO/SO₄²⁻ de 0.67, se añadió polietileno de baja densidad como soporte (sección 2.1.1) y se inoculó con lodo granular previamente adaptado a sulfato reducción (sección 2.1.2), después el sistema se operó en lote (únicamente con flujo de recirculación) durante 24 h, para favorecer la adhesión de los microorganismos al soporte y la adaptación al sistema. Posteriormente se operó en continuo por un período de 76 días. La tabla 2.4 muestra los parámetros de operación del reactor LFI. A los 45 días de operación del sistema al observar una producción de 115 mg H₂S/L, se realizó un pequeño experimento para evaluar la capacidad del sulfuro producido en el reactor por la biopelícula sulfato reductora para precipitar el Zn como ZnS. Dicho experimento consistió en tomar una muestra de 1.5 mL de la solución del reactor, se aforó a 10 mL con una solución de 20 g/L de PVP en un matraz y posteriormente se mezcló con 10 mL de una solución que contenía 20 g/L de PVP y 300 mg/L Zn como sulfato de Zn (ZnSO₄) en un matraz Erlenmeyer de 50 mL mediante un baño sónico en un sonicador marca Bransonic modelo 1510R-MT por 3 minutos. La mezcla se mantuvo en un frasco cerrado a temperatura ambiente y se tomó muestra cada 30 min durante 3 h en microceldas de 180 µL marca Cary para realizarles un barrido entre 200 y 390 nm mediante un UV-Vis marca HACH modelo DR5000, para comprobar la presencia de nanopartículas de ZnS y estudiar la variación del borde de absorción respecto al tiempo. Posteriormente se tomó muestra de la mezcla para

realizarle lavados (ver sección 2.4.9) y analizar mediante MEB la posible presencia de nanopartículas de ZnS.

Se tomó muestra de la solución del reactor 2 veces por semana para analizar pH, ORP, eficiencia de remoción DQO, alcalinidad, sulfuro producido y eficiencia de remoción de sulfato (sección 2.4). Al observar que el sistema se mantuvo estable y hubo producción de sulfuro, se optó por detener el sistema (76 días). Posteriormente se tomó una pequeña muestra del soporte para analizar mediante MEB la formación de la biopelícula. El soporte restante fue utilizado para realizar pruebas en lote (sección 2.2)

Tabla 2.4. Parámetros de operación del reactor LFI para el desarrollo de una biopelícula sulfato reductora.

Parámetros	Períodos experimentales
	1
Días de operación	0-76
DQO/SO ₄ ²⁻	0.67
Sustrato Orgánico	Acetato
Carga orgánica (gDQO/L- d)	1
Carga de sulfato (gSO ₄ ²⁻ /L-d)	1.49
TRH (d)	1
pH afluente	7

2.2. Pruebas en lote

Después de los 76 días de operación del reactor en continuo y una vez que se determinó la formación de una biopelícula sulfato reductora madura, se realizaron pruebas en lote con diferentes concentraciones de Zn y PVP. Estas pruebas se realizaron para evaluar la

capacidad de la biopelícula para reducir el sulfato a sulfuro y precipitar partículas o nanopartículas de ZnS (ver la sección 2.2.1).

2.2.1. Actividad sulfato reductora (ASR) de la biopelícula expuesta a Zn y PVP

La ASR de la biopelícula se define como la capacidad que tiene la biopelícula para reducir el SO_4^{2-} , la cual es determinada con la velocidad de producción de sulfuro bajo condiciones óptimas con respecto al tiempo y al contenido de biomasa adherida al soporte (gDQO- H_2S /g SVI-día) (Gallegos, 2009; Flores, 2010). Los ensayos se realizaron por duplicado en botellas serológicas de 70 mL, con 65 mL de medio mineral (sección 2.1.3.3) y 5 mL de soporte con biopelícula adherida, CH_3COONa como sustrato orgánico (1 g DQO), Na_2SO_4 y ZnSO_4 como aceptores de electrones, para obtener una relación DQO/ SO_4^{2-} de 0.67. Las concentraciones de Zn y PVP se presentan en la tabla 2.5, el pH fue ajustado a 7 con NaHCO_3 .

Todas las botellas fueron selladas con tapones de hule y arillos de aluminio, se mantuvieron en una incubadora marca Labnet modelo 311DS a 30°C con agitación de 100 rpm. Se aplicó el método Cord-Ruwisch (1985) descrito en la sección 2.4.5.1 para calcular la ASR de la biopelícula adherida al soporte, mediante la pendiente de la curva de producción de sulfuro (concentración de sulfuro vs. tiempo). Se midió la absorbancia de la suspensión de CuS en un espectrofotómetro DR500 marca HACH a 480 nm (longitud de onda en la que el color del CuS absorbe), cada 3 h durante 30 días de 7 am a 10 pm. El contenido de sólidos volátiles adheridos al soporte se midió por gravimetría (APHA, 2005), se utilizó un baño sónico para desprender la biopelícula del soporte y se reportó como masa de sólidos volátiles inmovilizados (SVI) por volumen de soporte seco (g SVI/L) (sección 2.4.7). Para determinar la concentración de Zn al término de la ASR, se utilizó un Espectrofotómetro de Absorción Atómica marca PerkinElmer modelo Analyst 400. Al finalizar la ASR se determinó el pH, ORP, eficiencia de remoción de SO_4^{2-} y DQO. Además se utilizó UV-Vis, para medir el borde de absorción de cada una de las soluciones al término de la ASR para confirmar la presencia de nanopartículas de ZnS, así como para determinar su energía de banda prohibida (ver sección 2.4.8). Además de realizarle

lavados (ver sección 2.4.9) para caracterizar las nanopartículas de ZnS mediante MET, DRX y MEB.

Tabla 2.5. Composición de las soluciones utilizadas para ASR en las pruebas en lote.

ASR	CH ₃ COONa (g/L)	Na ₂ SO ₄ (g/L)	ZnSO ₄ *7H ₂ O* (g/L)	Concentración Zn (mg/L)	PVP (g/L)
100 ppm Zn	1.306	1.98	0.44	100	0
100 ppm Zn y PVP	1.306	1.98	0.44	100	10
200 ppm Zn	1.306	1.77	0.88	200	0
200 ppm Zn y PVP	1.306	1.77	0.88	200	10

*Concentración de sulfato a partir de ZnSO₄*7H₂O

Una vez terminada la ASR de la biopelícula con metal y PVP, a cada botella se le retiró el medio líquido y se le repuso con un medio fresco como se describe arriba pero sin la adición del metal y PVP. Esto con la finalidad de determinar la capacidad de recuperación de la biopelícula en el caso de que el metal provocara un efecto adverso sobre los microorganismos. Al recuperarse la biopelícula se inoculó en un reactor LFI, para realizar pruebas en un sistema en continuo (ver sección 2.3).

2.3. Reactor LFI para recuperación de nanopartículas de ZnS

El reactor LFI para recuperar nanopartículas consistió en un sistema similar al descrito en la sección 2.1 y al de la Figura 2.1 pero de un menor tamaño debido a la facilidad de operarlo, además de utilizar menor cantidad de reactivos y de agua. El reactor LFI se compuso de una columna de poliacrílico con un volumen de 150 mL, altura de 30 cm y un diámetro de 2 cm, contó con fondo cónico y un separador de fases (Anexo A). El volumen total del sistema fue de 200 mL, se operó con flujo de alimentación de 0.138 mL/min y un flujo de recirculación de 300 mL/min, la expansión del soporte fue del 30%. Se añadieron

20 mL de soporte que contenía la biopelícula previamente formada en el reactor LFI de 1.2 L (ver sección 2.1).

2.3.1. Condiciones de operación del reactor LFI

Inicialmente el reactor LFI se operó en lote por 2 días y posteriormente, en continuo por 478 días bajo 12 diferentes períodos de operación (Tabla 2.6). Durante los primeros 177 días de operación (período 1) el reactor LFI se alimentó con medio mineral descrito en la sección 2.1.3.1 con una relación DQO/SO_4^{2-} de 1.34 para estabilizar el sistema y posteriormente se siguió con la alimentación del metal. El cambio en la relación DQO/SO_4^{2-} fue debido a la baja eficiencia de remoción de SO_4^{2-} que se obtuvo al formar la biopelícula, por lo cual se optó por utilizar la mitad de SO_4^{2-} alimentado anteriormente. El pH se ajustó a 7 con $NaCHO_3$ para asegurar que el metal se encontrara en forma soluble (Stumm y Morgan, 2012; Fortuna, 2016).

En el período 2 (178 días), el metal fue alimentado al reactor con concentración de 50 ppm de Zn como $ZnSO_4$. Las concentraciones de Zn se aumentaron a 75, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 y 500 ppm del período 2 al período 12, respectivamente. Se tomó muestra en cada período, 2 días por semana, para analizar pH, ORP, eficiencia de remoción de DQO, alcalinidad, sulfuro producido, eficiencia de remoción de SO_4^{2-} (ver sección 2.4). Se utilizó muestra de cada período donde hubo buena producción de sulfuro para determinar la concentración de Zn mediante un Espectrofotómetro de Absorción Atómica, y se le realizó un barrido mediante UV-Vis, para confirmar la presencia de nanopartículas de ZnS y determinar la energía de banda prohibida (sección 2.4.8). Se realizaron lavados a las soluciones (sección 2.4.9) para caracterizar mediante DRX, MEB y MET y así confirmar la presencia de nanopartículas de ZnS.

Se tomó muestra del soporte con biopelícula antes de alimentar con Zn (día 146) y al término de la operación del reactor (día 478), para determinar los SVI (sección 2.4.7) y esta última caracterizarla mediante MEB. El Anexo E muestra fotografías del soporte.

Tabla 2.6. Características del afluente y condiciones de operación aplicadas al reactor LFI.

Periodo	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
	0 - 177	178 - 205	206 - 216	217 - 247	248 - 268	269 - 286	287 - 307	308 - 324	325 - 356	357 - 398	399 - 454	455 - 478
días	177	28	11	31	21	18	21	17	32	42	56	25
DDO/SO ₄ ²⁻	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34
Carga orgánica (gDDO/L-d)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Carga de sulfato (s SO ₄ ²⁻ /L-d)	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
pH afluente	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
TRH	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Carga de Zn (mg/L)	0	50	75	100	150	200	250	300	350	400	450	500

2.4. Métodos y Análisis

2.4.1. Determinación de pH

El pH del afluente y efluente se midió con un potenciómetro marca Thermo Orion 3 Star y un electrodo marca OAKTON. El equipo se calibró con soluciones buffer de pH 4.1, 7.0 y 10.1.

2.4.2. Determinación de potencial óxido-reducción (ORP)

El potencial redox es una medida del valor relativo contra el valor 0 de un electrodo normal de hidrógeno. Un medio que acepta electrones de un electrodo normal de hidrógeno se le asigna un valor redox positivo, si un medio dona electrones al electrodo se le asigna un valor redox negativo (Martínez, 2008).

El potencial del efluente se midió con un potenciómetro marca OAKTON modelo ION 700 y un electrodo Cole Parmer. La lectura se hizo inmediatamente después de tomar la muestra del reactor.

2.4.3. Determinación de alcalinidad

La alcalinidad se determinó en 20 mL de efluente en un vaso de precipitado, se utilizó el potenciómetro de la sección 2.4.2, para medir el pH. Se tituló la muestra del efluente con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M hasta un pH de 5.8 para cuantificar la alcalinidad por bicarbonato reportada en mg CaCO₃/L y posteriormente se siguió titulando hasta un pH de 4.3 para cuantificar la alcalinidad total (APHA, 2005). Los cálculos se describen en la sección 2.5.2.

2.4.4. Determinación de DQO

La demanda química de oxígeno (DQO) es la cantidad de oxígeno consumido por las materias existentes en el agua, que son oxidables en condiciones operatorias definidas. La determinación de DQO debe realizarse rápidamente después de la toma de muestras, para evitar la oxidación natural (Borja, 2013). La DQO se determinó con el método de

reflujo cerrado (APHA, 2005). Su objetivo es cuantificar el equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica de muestra al ser oxidada por dicromato de potasio en presencia de una solución catalizadora de ácido sulfúrico y sulfato de plata. Se determinó la DQO al afluente y efluente, se utilizó como blanco agua destilada. Se tomó una muestra de 2 mL de la solución del efluente, la solución se burbujeó por 2 minutos con una bomba para pecera marca Elite 800 para evitar interferencia por la presencia de sulfuro y se filtró para eliminar microorganismos y partículas que pudieran estar presentes. La muestra es oxidada en un medio ácido que contiene dicromato como agente oxidante y sulfato de plata como catalizador. Se añadieron 1.2 mL de una solución de digestión y 2.8 mL de una solución de ácido sulfúrico. Posteriormente la muestra se puso en un digestor marca HACH modelo DRB200 por 2 h a 150 °C en tubos de vidrio cerrado marca HACH. Se hicieron ensayos por duplicado. La concentración de DQO se determinó en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de 600 nm (longitud de onda en la que el color de Cr (III) absorbe), a partir de la curva estándar correspondiente de 0 a 1 g DQO/L (Anexo C). Los resultados se reportaron como porcentaje de remoción de DQO. Los cálculos se describen en la sección 2.5.3.

2.4.5. Determinación de sulfuro disuelto

2.4.5.1. Concentración de sulfuro disuelto por el método Cord-Ruwisch

El método Cord-Ruwisch (1985) permite el análisis cuantitativo de las trazas de sulfuro disuelto a concentraciones de micromoles por litro. La presencia de sulfuro disuelto en cultivos de BSR se demuestra rápidamente por su precipitación coloidal como sulfuro de cobre (CuS) en un reactivo de sulfato de cobre y es estable de 20 a 40 segundos. El precipitado proviene de las reacciones de sulfato de cobre (CuSO₄) en un medio ácido (HCL 50 mM) con el sulfuro presente en la muestra. Este método se utilizó en los ensayos de la ASR de la sección 2.2.1.

En un tubo HACH se añadieron 4 mL de una solución que contenía 99 mL de HCl 50 mM y 1 mL de CuSO₄ 5 mM, se tapó con parafilm y posteriormente se le adicionó 0.1 mL de la muestra con una jeringa y se agitó de 5 a 10 segundos en un vórtex marca Labnet, se

midió inmediatamente la absorbancia a 480 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. La concentración de sulfuro se obtuvo a partir de la curva estándar correspondiente (0–20 mM H₂S/L), utilizando una solución estándar de sulfuro de sodio (Na₂S) de 100 mM (Anexo D). El cálculo de la concentración de sulfuro disuelto por este método se determinó de la misma forma que la ASR en la sección 2.5.1.

2.4.5.2. Concentración de sulfuro disuelto por el método Yodométrico

El sulfuro disuelto en el reactor LFI se determinó por el método yodométrico (APHA, 2005) que se basa en la capacidad de oxidación que tiene el yodo como agente oxidante débil frente al sulfuro que es un agente reductor fuerte en condiciones ácidas. En un matraz de 250 mL se adicionaron, 10 mL de una solución de yodo 0.025 N, 10 mL de agua destilada, 1 mL de una solución de HCl 3N, 5 mL del efluente del reactor LFI y se adicionaron 6 gotas de almidón como indicador, se homogenizó y se tituló con una solución valorada de tiosulfato de sodio 0.025 N. Este método es confiable solo en concentraciones mayores a 1 mg/L. Los cálculos de la concentración de sulfuro se presentan en la sección 2.5.4.

2.4.6. Determinación de sulfatos

Para determinar los sulfatos se utilizó un método turbidimétrico que se basa en la precipitación del ión sulfato con cloruro de bario en un medio ácido para tener las condiciones adecuadas para la formación de cristales de sulfato de bario de un tamaño uniforme y así medir la turbiedad producida a través de espectrofotometría a una longitud de onda de 355 nm (APHA, 2005). Se prepararon las soluciones en matraces volumétricos de 25 mL, en cada matraz se añadieron 2.5 mL de una solución de cloruro de sodio (NaCl) al 20% en HCl 2M y la cantidad de muestra para las diluciones necesarias, se aforaron y después cada solución se vertió en un matraz Erlenmeyer de 50 mL que contenía 0.1 g de cloruro de bario dihidratado (BaCl₂·2H₂O), se homogenizó y se dejó reposar por 4 minutos, posteriormente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 355 nm, en celdas cuadradas marca Thermo Electron de 10 mm, se utilizó como blanco agua destilada. La concentración de sulfatos se determinó a partir de la curva

estándar correspondiente (25–200 ppm SO_4^{2-}) a partir de una solución patrón de 200 ppm SO_4^{2-} (Anexo B). Los resultados se reportaron como eficiencia de remoción de SO_4^{2-} y los cálculos se muestran en la sección 2.5.5.

2.4.7. Determinación de sólidos volátiles inmovilizados (SVI)

La cantidad de sólidos volátiles adheridos al soporte después de la ASR se midió por gravimetría (APHA, 2005). Para desprender la biopelícula del soporte, la botella serológica se llevó a un baño sónico en un sonicador por 5 minutos, se destapó para retirarle el líquido de la botella y se filtró con una bomba de vacío marca Welch modelo 2522B-01 por un filtro de fibra de vidrio colocado en crisoles gooch a peso constante (G1). Después se añadió un volumen de 20 mL de agua desionizada a la botella que contenía el soporte y se volvió a sonicar por 5 minutos y se filtró a vacío. Este procedimiento se repitió hasta que el soporte quedó limpio. Para este método fue necesario poner los crisoles a secar en la estufa a una temperatura de 105° C durante una hora. Se dejaron enfriar en el desecador y se registró el peso (G2). Se introdujeron los crisoles con el residuo seco a la mufla, a una temperatura de 550° C durante 15 minutos. Se retiraron de la mufla y se colocaron en la estufa a 105° C por 20 minutos aproximadamente. Se retiraron y se dejaron enfriar a temperatura ambiente en un desecador y se determinó el peso (G3). Los cálculos para determinar la concentración de SVI se describen en la sección 2.5.6.

2.4.8. Determinación de energía de banda prohibida (Eg)

La energía de banda prohibida se determina a partir del espectro que se obtiene mediante UV-Vis. Se traza una línea desde la región descendiente del espectro que se intercepta con la línea del eje de la longitud de onda como se muestra en la Figura 2.2. El valor que se obtiene de longitud de onda es utilizado para el cálculo de la energía de banda prohibida (ver sección 2.5.7).

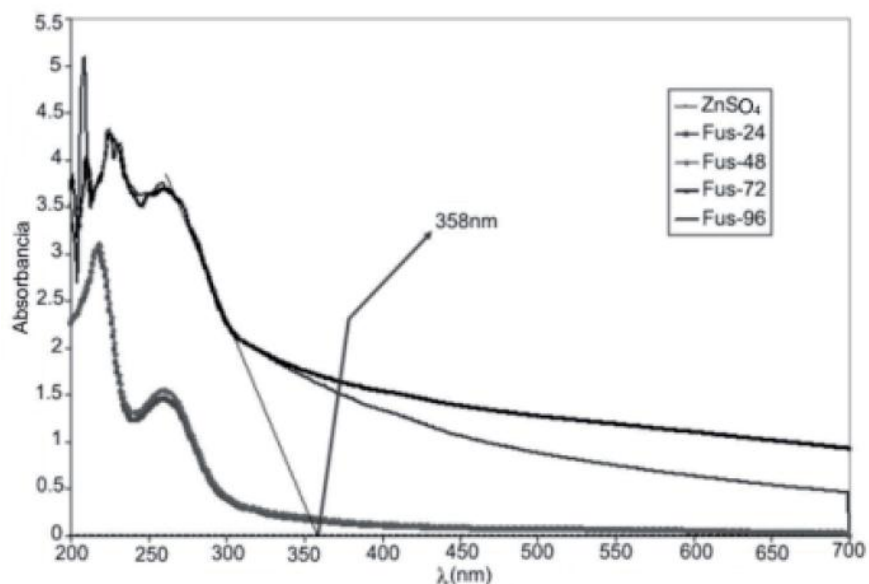


Figura 2.2. Espectro UV-Vis con línea trazada para determinar la energía de banda prohibida (Botello et al., 2007).

2.4.9. Lavado de nanopartículas

Para obtener las partículas del experimento hecho en la sección 2.1.4, una vez analizadas las muestras mediante UV-Vis, se prosiguió a hacer lavados a las soluciones para obtener las partículas y verificar su tamaño mediante MEB. Se utilizaron tubos Eppendorf de 2 mL en donde se agregó 0.5 mL de la solución problema y 1.5 mL de acetona. Se sonicó por 3 minutos y se centrifugó en una centrífuga marca Hettich modelo mikro120 por 3 minutos a 100 rpm. En el fondo del tubo se obtuvo un precipitado y aquí terminó el primer lavado. Después se retiró sobrenadante para volver a añadir acetona y repetir el procedimiento con el sonicador para homogeneizar la muestra y posteriormente se centrifugó para tener el segundo lavado. Se realizaron 8 lavados como los anteriores y se realizó un noveno lavado similar pero en lugar de utilizar acetona, se utilizó alcohol etílico con la finalidad de eliminar la materia orgánica y PVP. Al terminar este ciclo se volvió a añadir alcohol etílico y se resuspendió el precipitado, se tomó una pequeña muestra y se caracterizó mediante MEB.

Al obtener los resultados y ver que el tamaño de las partículas no fue lo esperado, se modificaron algunas cosas en los lavados para los siguientes experimentos. Para las

soluciones de las pruebas en lote y de las soluciones del reactor LFI expuesto a cargas de Zn se realizaron 8 lavados, se utilizó 0.5 mL de muestra y 1.5 mL de alcohol isopropílico para eliminar materia orgánica en cada uno de los lavados, en tubos Eppendorf de 2 mL, posteriormente se sonicó 3 minutos y se centrifugó 3 minutos a 120 rpm para obtener un precipitado en el fondo del tubo. Al término de los 8 lavados, algunos tubos se abrieron y se dejaron en el desecador para que el alcohol isopropílico se evapore y obtener el precipitado seco, el cual se molió en un mortero de agata, para posteriormente ser analizado mediante DRX. En otros tubos Eppendorf después de los 8 lavados, el precipitado se resuspendió con un baño sónico, y después se tomó una muestra para ser caracterizada mediante MEB y MET.

2.5. Cálculos

2.5.1. Actividad sulfato reductora

La actividad sulfato reductora (ASR) se calculó con la pendiente obtenida al graficar la concentración de sulfuro producido expresada en DQO vs. Tiempo.

$$ASR = \frac{mH_2S}{V_B * SVI} \quad (Ec. 2.1)$$

Dónde:

mH_2S = pendiente de la velocidad de producción de sulfuro (g DQO - H_2S/d)

V_B = volumen del líquido en la botella (L)

SVI = concentración de sólidos volátiles inmovilizados (g SVI/L)

2.5.2. Alcalinidad

2.5.2.1. Alcalinidad por bicarbonato

La alcalinidad por bicarbonato se calculó con la ecuación 2.2.

$$\frac{mg \text{ CaCO}_3}{L} = \frac{(V_{5.8} * EQ * N)}{Vm} \quad (Ec. 2.2)$$

Dónde:

$V_{5.8}$ = mL gastados de la solución de HCl para llegar a pH 5.75

EQ = Peso equivalente de CaCO_3 (50,000 eq.)

N = Normalidad de la solución de HCl

V_m = Volumen de muestra (mL)

2.5.2.2. Alcalinidad total

La alcalinidad total se calculó mediante la ecuación 2.3.

$$\frac{\text{mg CaCO}_3}{L} = \frac{(V_{4.3} * EQ * N)}{V_m} \quad (\text{Ec. 2.3})$$

Dónde:

$V_{4.3}$ = mL gastados de la solución de HCl para llegar a pH 4.3

EQ = Peso equivalente de CaCO_3 (50,000 eq.)

N = Normalidad de la solución de HCl

V_m = Volumen de muestra (mL)

2.5.3. Eficiencia de remoción de DQO

La eficiencia de remoción de DQO se expresó en porcentaje y se calculó a partir de la diferencia entre la concentración de DQO en el afluente y la concentración de DQO en el efluente (Ec. 2.4).

$$\text{Remoción de DQO} = \frac{[DQO]_{Afl} - [DQO]_{Efl}}{[DQO]_{Afl}} \times 100 \quad (\text{Ec. 2.4})$$

Dónde:

$[DQO]_{Afl}$ = Concentración de DQO en el afluente (g DQO/L)

$[DQO]_{Efl}$ = Concentración de DQO en el efluente (g DQO/L)

2.5.4. Concentración de sulfuro disuelto por el método yodométrico

Para calcular la concentración de sulfuro se utiliza la ecuación 2.5.

$$\frac{mg}{L} S^{2-} = \frac{[(N_{yodo} * Y) - (N_{tio} * T)] * f}{mL \text{ muestra}} \quad (\text{Ec. 2.5})$$

Dónde:

N_{yodo} = Normalidad de yodo

Y = mL de solución de yodo

N_{tio} = Normalidad del tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$)

T = mL gastados de solución de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$)

f = factor de conversión (16,000)

2.5.5. Eficiencia de conversión de sulfatos

La eficiencia de conversión de sulfatos (ECS) se expresó en porcentaje y se calculó a partir de la diferencia entre la concentración del SO_4^{2-} en el afluente y la concentración del SO_4^{2-} en el efluente del reactor (Ec. 2.6)

$$ECS = \frac{[SO_4^{2-}]_{Afl} - [SO_4^{2-}]_{Efl}}{[SO_4^{2-}]_{Afl}} \times 100 \quad (\text{Ec. 2.6})$$

Dónde:

$[SO_4^{2-}]_{Afl}$ = Concentración de sulfato de la solución de alimentación (mg/L)

$[SO_4^{2-}]_{Efl}$ = Concentración de sulfato del efluente (mg/L)

2.5.6. Sólidos volátiles inmovilizados (SVI)

El contenido de los sólidos suspendidos totales (SST) y volátiles (SSV) se calculó de la siguiente manera:

$$SST = \frac{(G_2 - G_1)}{V} * 1000 \quad (\text{Ec. 2.7})$$

$$SSV = \frac{(G_2 - G_1)}{V} * 1000 \quad (\text{Ec. 2.8})$$

Dónde:

G1 = Peso del crisol con el filtro a peso constante (mg)

G2 = Peso del crisol con el filtro y el residuo seco (mg)

G3 = Peso del crisol con el filtro y el residuo después de la calcinación (mg)

V = Volumen de la muestra de soporte (mL)

Los gramos de SVI por litro de soporte ($g\text{ SVI}/L_{\text{soporte}}$) se calcularon de la siguiente manera:

$$\frac{g\text{ SVI}}{L_{\text{soporte}}} = \frac{\left(\frac{g\text{ SVI}}{L}\right) * VLB}{L_{\text{soporte}}} \quad (\text{Ec. 2.9})$$

Dónde:

VLB= Volumen del líquido de la botella (70 mL)

Los gramos de SVI por gramo de soporte seco ($g\text{SVI}/g_{\text{soporte}}$) se calcularon de la siguiente manera:

$$\frac{g\text{ SVI}}{g_{\text{soporte}}} = \frac{\left(\frac{g\text{ SVI}}{L}\right)}{\text{Densidad aparente}} \quad (\text{Ec. 2.10})$$

Dónde:

Densidad aparente = $4000\text{ g}/L_{\text{soporte}}$

2.5.7. Energía de banda prohibida (Eg)

El cálculo de la energía de banda prohibida se realizó tomando en cuenta el valor de la intersección de la recta tangente a la curva (en el espectro por UV-Vis) con el eje de longitud de onda (λ). Este valor se utiliza en la ecuación de Planck que relaciona la energía de un fotón y la frecuencia de acuerdo a la ecuación 2.11.

$$E = hf \quad (\text{Ec. 2.11})$$

Dónde:

E= energía (J)

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

f= Frecuencia (Hz).

Tomando en cuenta la relación entre frecuencia y velocidad de la luz se tiene entonces la ecuación 2.12.

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad (\text{Ec. 2.12})$$

Dónde:

λ = longitud de onda (m)

c = velocidad de la luz en el vacío

f = frecuencia (Hz).

Entonces la longitud de onda radiada se puede expresar de acuerdo a la ecuación 2.13.

$$\lambda = \frac{hc}{E_g} \quad (\text{Ec. 2.13})$$

Dónde:

E_g = energía de banda prohibida (J)

λ = Longitud de onda (nm).

Teniendo finalmente la ecuación 2.14, la cual expresa la energía de separación en electrón volts (eV) y la longitud de onda en nm (Botello et al., 2007).

$$E_g = \frac{1.24 \times 10^3}{\lambda} \quad (\text{Ec. 2.14})$$

Capítulo 3. Evaluación del desarrollo de nanopartículas de sulfuro de zinc a partir de una biopelícula sulfidogénica en pruebas en lote

3.1. Desarrollo y desempeño de la biopelícula sulfidogénica en el reactor LFI

El desempeño y formación de la biopelícula en el reactor LFI se evaluó mediante el análisis del ORP, eficiencia de remoción de DQO, pH, alcalinidad, concentración de sulfuro producido y eficiencia de remoción de SO_4^{2-} , descritos en el capítulo 2 (sección 2.4). Los resultados promedio se presentan en la tabla 3.1, mientras que el desempeño de la biopelícula en el reactor con respecto al tiempo de operación se muestra en la Figura 3.1. El reactor LFI se inoculó con soporte de polietileno de baja densidad y con lodo previamente adaptado a sulfato reducción y se alimentó con una relación $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 0.67. El reactor LFI se operó 1 día en lote para el acondicionamiento de los microorganismos al sistema y posteriormente 76 días en continuo, el TRH se mantuvo constante (24 h), con flujo de alimentación de 0.83 mL/min (1.2 L/d) y un flujo de recirculación de 980 mL/min. El soporte fue fluidificado hasta un 30% de expansión del largo de la columna del reactor por el flujo de recirculación.

Tabla 3.1. Desempeño del reactor LFI operado en continuo bajo condiciones sulfato reducción.

Análisis		
Días de operación del reactor	45	76
ORP	-362	-333 ± 82
Remoción de DQO (%)	74	42.7 ± 34.7
pH final	7.8	7.6 ± 0.4
Alcalinidad por CaCO_3 (mg/L)	1368	786 ± 582
Alcalinidad total (mg/L)	1680	1101 ± 579
Sulfuro producido (mg/L)	115	87.3 ± 59.8
Remoción de SO_4^{2-} (%)	21	15.9 ± 10.9

El desempeño de la biopelícula en el reactor LFI se muestra en la Figura 3.1. El potencial del sistema al día 4 de operación fue de -251 mV, y llegó a alcanzar valores de -415 mV, el potencial negativo indicó las condiciones reductoras del sistema, mismas a las que trabajan las BSR, lo que indicó que se mantuvieron activas durante los 76 días de operación (Fig. 3.1a).

En la Figura 3.1b se observa que el porcentaje de remoción de DQO varió demasiado en el tiempo de operación del reactor, los porcentajes de remoción variaron entre 8 y 75 %, esto puede ser debido a la presencia de otro tipo de microorganismos en la biopelícula, que compitieron con las BSR por el sustrato, pues la interacción entre las BSR y los microorganismos metanógenos depende considerablemente de la relación de DQO con el SO_4^{2-} . De la competencia de estos microorganismos depende en muchos casos el éxito de un proceso de tratamiento anaeróbico. Estequiométricamente, 96 g de sulfato pueden ser reducidos a sulfuro oxidando 6 g de DQO, relación $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ de 0.67 (Hoa et al., 2007). En teoría con esta relación de $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ los organismos metanógenos serían suprimidos, pero no es así, ya que los organismos metanógenos compiten con las BSR a relaciones $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$ entre 0.57 y 0.90 (Choi y Rim, 1991; Kikot, 2012). La máxima eficiencia de remoción se obtuvo a los 45 días de operación del reactor alcanzando un 75% de remoción de DQO. La remoción del sustrato nos indicó la presencia de microorganismos adheridos al soporte.

El pH del afluente fue de 7 y el pH del efluente alcanzó valores entre 7.2 y 7.9, estos valores de pH son óptimos para el funcionamiento de las BSR, mientras que la alcalinidad varió entre 912 y 1680 mg CaCO_3/L (Fig. 3.1c). El aumento del pH y la alcalinidad dentro del reactor es debido a la oxidación del sustrato orgánico y producción de bicarbonato, lo que favoreció el incremento en la capacidad buffer del sistema (Dvorak et al., 1992).

La producción de sulfuro tuvo un comportamiento oscilante durante los 45 días de operación del reactor, manteniéndose alrededor de los 100 mg $\text{H}_2\text{S}/\text{L}$. A los 52 días se observó un decaimiento en la producción sulfuro de hasta 68 mg $\text{H}_2\text{S}/\text{L}$, esto es debido a que se retiró la biomasa sedimentada y suspendida en reactor la cual contribuía a la producción de sulfuro.

A los 75 días de operación del reactor la producción de sulfuro se mantuvo alrededor de 126 mg H₂S/L lo que indicó la formación de la biopelícula sulfidogénica. Los valores de remoción de sulfatos fueron muy bajos alcanzando un máximo de 26% al día 70 de operación (Fig. 3.1d). La baja remoción de sulfatos puede ser atribuida a que la relación DQO/SO₄²⁻ fue demasiado para la biopelícula, según lo establecido por Martínez (2008), quién demostró que para el proceso sulfato reductor es más importante la relación DQO/SO₄²⁻ que el tiempo de exposición a una determinada relación DQO/SO₄²⁻, ya que a una relación DQO/SO₄²⁻ cercana a 2 la actividad de las BSR es considerablemente más alta, que con la relación de 1, mientras que con la relación DQO/SO₄²⁻=0.67 la aclimatación es nula. Cuando se utilizan relaciones DQO/SO₄²⁻ de 2 ó 2.5 la aclimatación es rápida y la sulfato reducción alcanza eficiencias del 92% de reducción de SO₄²⁻ en 20 horas. Por lo cual es conveniente utilizar una relación cercana o igual a 2, para obtener mejores eficiencias de remoción de SO₄²⁻.

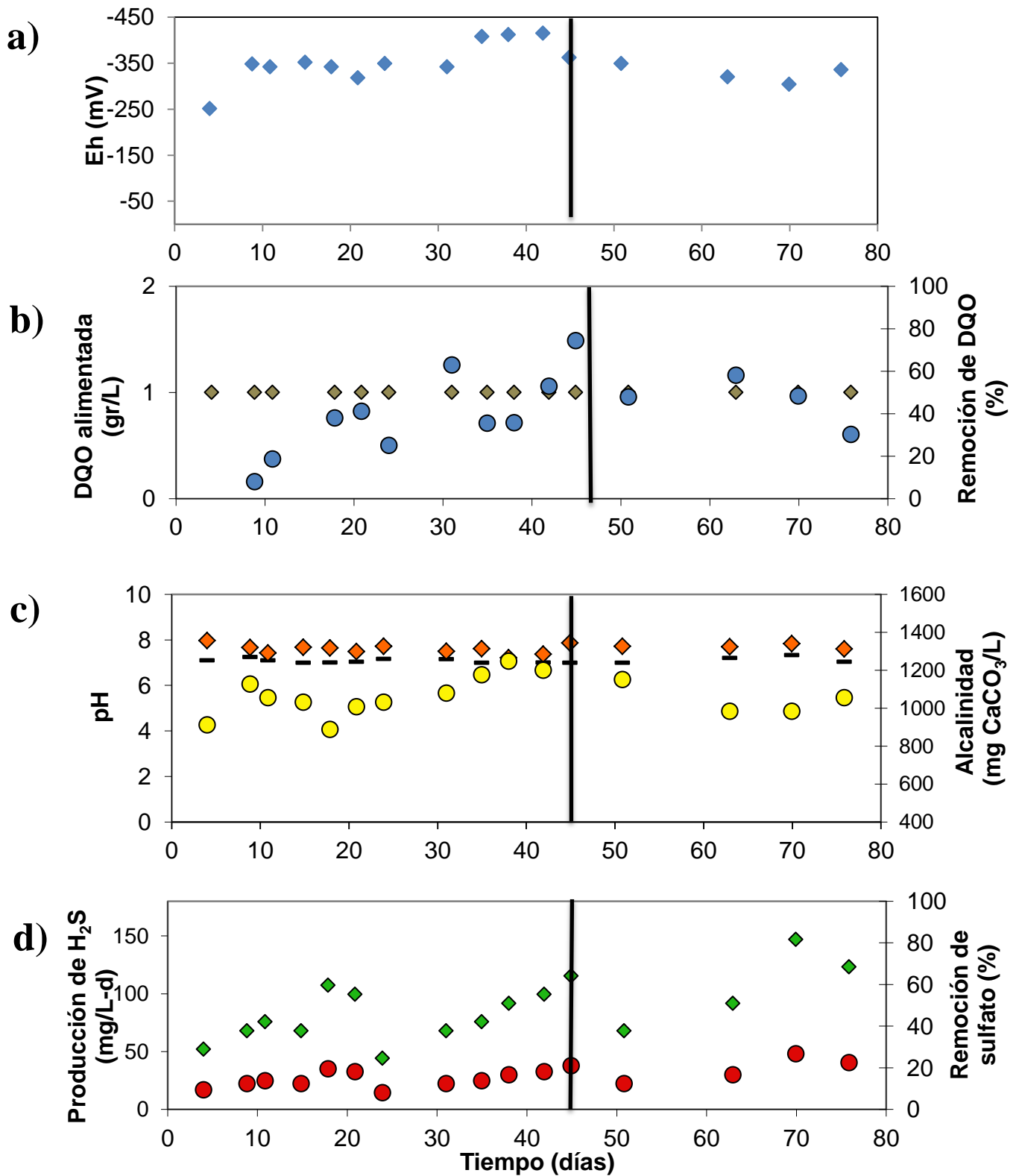


Figura 3.1. Desempeño de la biopelícula en el reactor LFI. a) Seguimiento de ORP (♦); b) Carga de DQO (♦), Remoción de DQO (●); c) pH afluente (–); pH efluente (♦), Alcalinidad por bicarbonato (●); d) velocidad de producción de H₂S (♦) y eficiencia de remoción de SO₄²⁻ (●).

3.1.1. Caracterización por MEB de la biopelícula formada en el soporte

En la Figura 3.2 se muestran las micrográficas del soporte de polietileno de baja densidad obtenidas por MEB. Se observa la superficie del pellet, conformada por partes rugosas y partes lisas, las cuales son predominantes (Fig. 3.2a). La formación de la biopelícula es evidente en las partes rugosas, mientras que en las partes lisas están limpias (Fig. 9b). Las Figuras 3.2c y 3.2d muestran los microorganismos conglomerados que forman la biopelícula, se aprecian microorganismos comunes de BSR como bacilos y vibrios. En el Anexo E se muestra una fotografía del pellet con biopelícula.

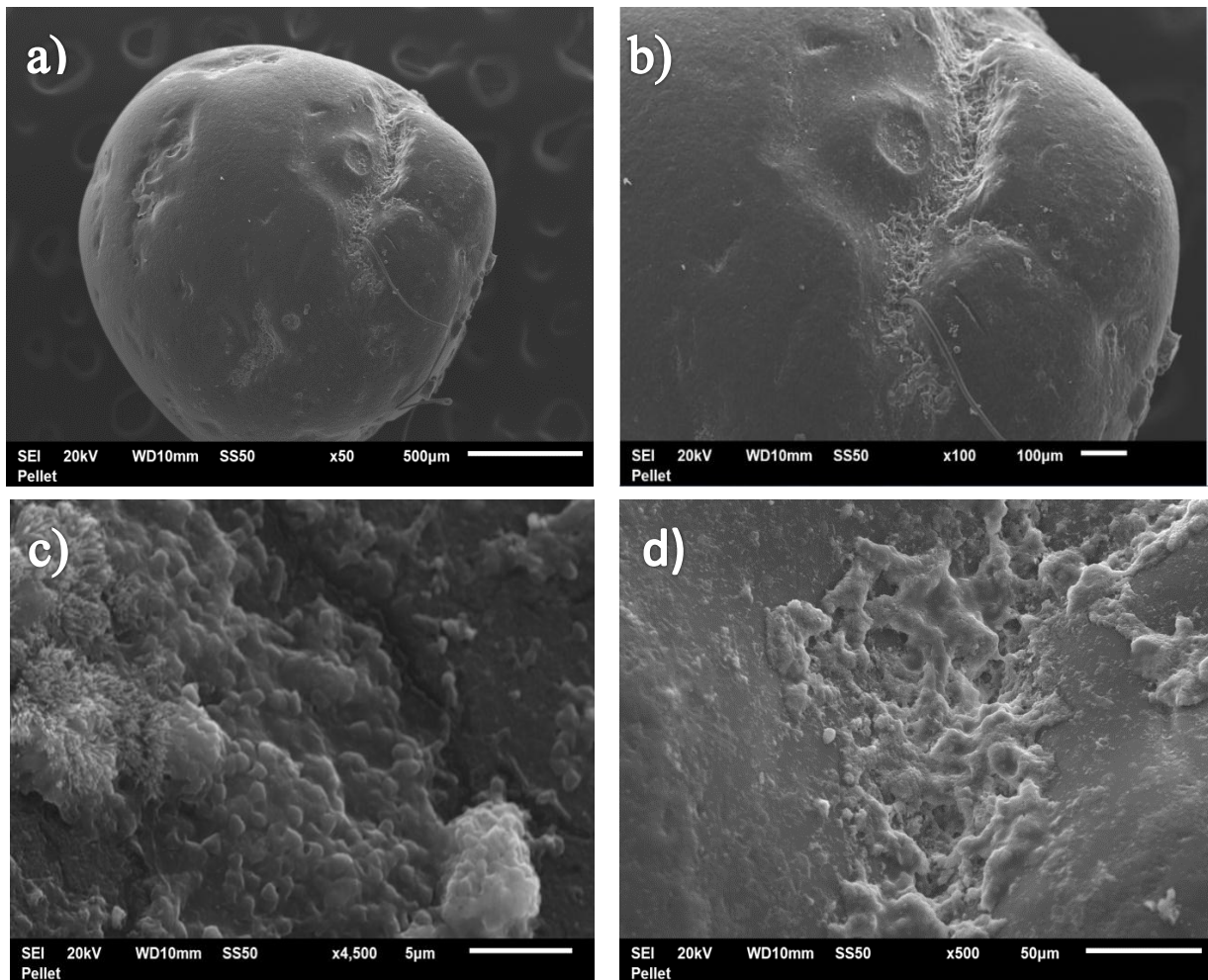


Figura 3.2. Micrografía por MEB de la biopelícula sulfato reductora desarrollada en el reactor LFI. a) Pellet, b) Parte rugosa del pellet donde se forma la biopelícula, c) y d) Biopelícula sulfato reductora.

3.2. Caracterización mediante UV-Vis de nanopartículas de ZnS desarrolladas a partir de la solución del reactor LFI y una solución de 300 ppm Zn y PVP

En la Figura 3.3 se muestra el espectro obtenido por UV-Vis de la mezcla de la solución de sulfuro biogénico (115 mg H₂S/L) producido en el reactor (a los 45 días) con 300 ppm de Zn y PVP (ver sección 2.1.4). Podemos apreciar que el borde de absorción se encuentra alrededor de los 250 nm, lo cual indica la presencia de nanopartículas de ZnS, ya que en la literatura se han reportado nanopartículas de ZnS cuando el borde de absorción se encuentra entre los 230 (Nath et al. 2008; Kole y Kumbhakar, 2012) y 330 nm (Vázquez et al., 2008). En el espectro obtenido no se observan cambios significantes del borde conforme transcurre el tiempo, lo cual puede indicar que el sistema se mantiene estable. El borde que se obtuvo en los distintos intervalos de tiempo se encuentra a la misma longitud de onda, esto indica que el tamaño de partícula no cambia.

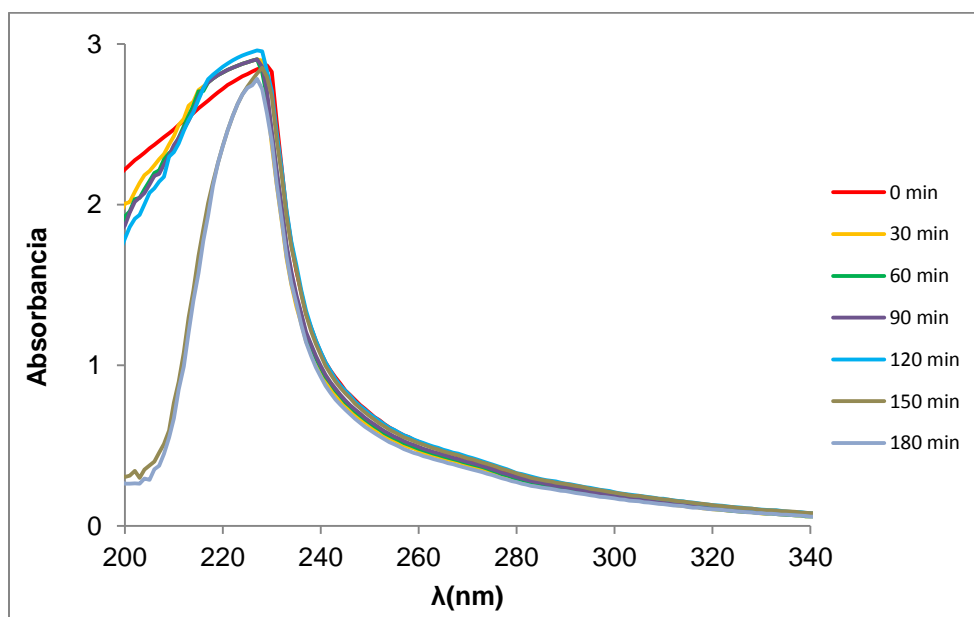


Figura 3.3. UV-Vis de una mezcla de solución del efluente del reactor y una solución de 300 ppm Zn y PVP.

La forma del espectro es similar a lo establecido por Di Stefano et al. (2010), quien sintetizó las nanopartículas de ZnS mediante dos métodos: método termodinámico basado en el crecimiento controlado, verificando la estabilidad de los parámetros con el agregado de cada gota y método cinético corrigiendo directamente el estado final de la mezcla, las muestras obtenidas mediante el método termodinámico se denominaron M1, M2 y M3, corresponden a 30 min, 1 h y 3 h respectivamente, las obtenidas mediante el método cinético M10, M11 y M12, con igual relación en cuanto a los tiempos de reacción. Los espectros que obtuvo se muestran en la Figura 3.4. Se obtuvo un borde similar aproximadamente en los 240 nm, el cuál a los 120 minutos tuvo una mayor absorbancia, lo cual denota mayor concentración de ZnS a ese tiempo. En el método termodinámico se aprecia que el borde es desplazado hacia el rojo, lo cual es debido a la aglomeración de partículas y por consiguiente un mayor tamaño. Aunque estos métodos no son biológicos, el punto importante de la comparación con lo obtenido en el presente trabajo es la similitud de la Figura 3.3 y 3.4a, con lo cual se podría confirmar la presencia de nanopartículas de ZnS.

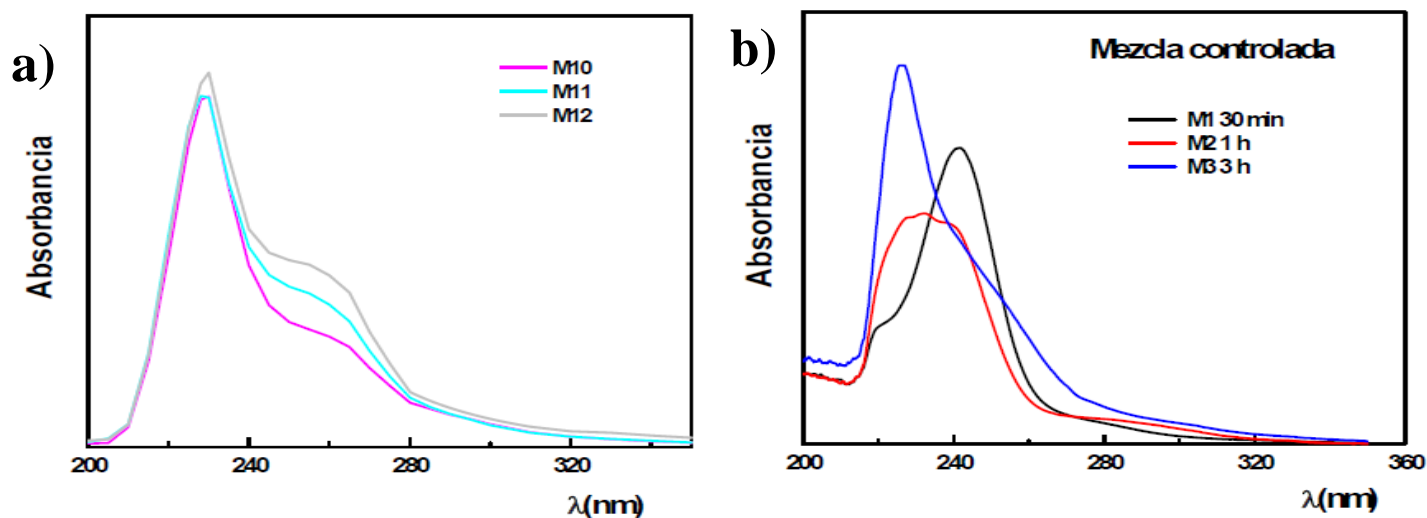


Figura 3.4. UV-Vis reportado por Di Stefano et al. (2010). a) muestras obtenidas por el método termodinámico con 0.5 h, 1 h y 3 h de crecimiento respectivamente, b) muestras obtenidas por el método cinético con 0.5 h, 1 h y 3 h de crecimiento respectivamente.

3.2.1. Caracterización por MEB de partículas de ZnS

En la Figura 3.5 se muestra las micrografías por MEB de las partículas de ZnS, donde se muestran partículas de diversos tamaños obtenidas de la mezcla de la solución del reactor con una solución de 300 ppm Zn y PVP. Donde podemos observar que las partículas se encuentran dispersas (Fig. 3.5a) y aglomeradas (Fig. 3.5b), los tamaños variaron entre 4 y 7 micras (Fig. 3.5c). En la literatura no se han reportado tamaños de partícula similares por lo cual se debe seguir trabajando con la forma de preparar la muestra, concentración del PVP, agitación y los lavados para obtener partículas de tamaño nanométrico. En la Figura 3.5d se muestra el EDS, donde se confirma la presencia de Zn y S, indicando que las partículas son de ZnS.

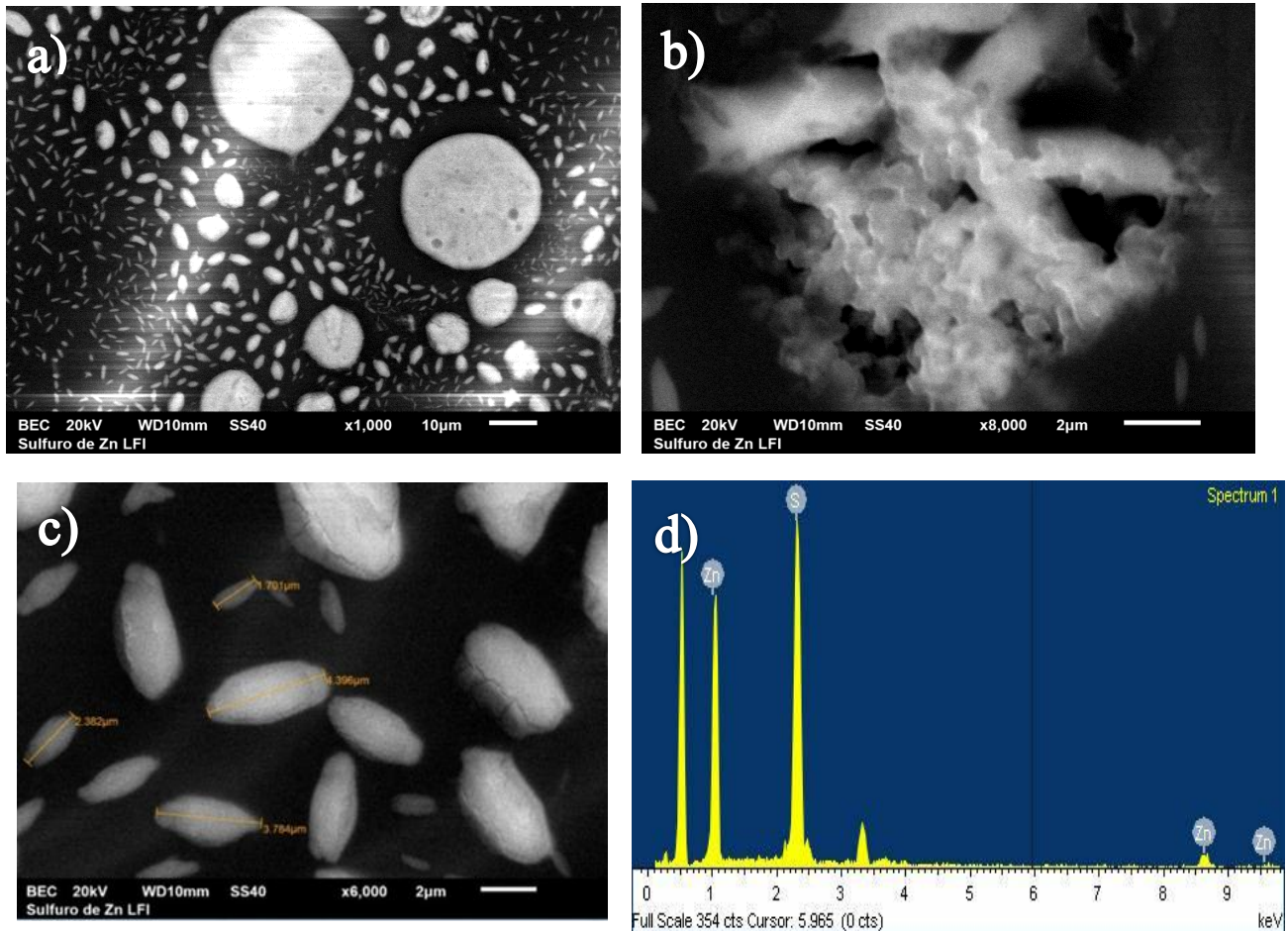


Figura 3.5. Micrografía por MEB de partículas de ZnS. a) Distribución de partículas, b) Partículas aglomeradas, c) Tamaño de partícula, d) Espectro de energía dispersa.

3.3. Actividad sulfato reductora de las pruebas en lote

Se determinó la actividad específica sulfato reductora de la biopelícula como se describió en la sección 2.2.1. La Figura 3.6 muestra la velocidad de producción de sulfuro con respecto al tiempo en las pruebas en lote. Los resultados obtenidos muestran que la biopelícula no tuvo ningún efecto adverso al estar expuesta a 200 ppm de Zn, al obtener una producción de sulfuro de 400 mg H₂S/L. La biopelícula sulfidogénica tuvo mejor desempeño al estar expuesta a 100 ppm de Zn y PVP al producir hasta 598 mg H₂S/L, mientras que la biopelícula que estuvo expuesta a 100 ppm Zn tuvo la menor producción de sulfuro (362 mg H₂S/L). En este caso se tiene la misma concentración de Zn, la diferencia de producción de sulfuro se puede atribuir a la presencia del estabilizante (PVP), el cual es tomado por los microorganismos como fuente de carbono, por lo cual se mantienen más activas. En el caso de la biopelícula expuesta a 200 ppm de Zn, en las primeras 200 h el comportamiento es similar al caso anterior, se obtuvo mayor producción de sulfuro al estar la biopelícula expuesta a PVP con respecto a la que no contenía el estabilizante, pero pasando las 200 h el comportamiento en la producción de sulfuro fue similar en las dos pruebas llegando a producir hasta 400 mg H₂S/L. En general la biopelícula sulfidogénica puede estar expuesta a 200 ppm de Zn sin sufrir efectos adversos, mientras que en la literatura se han reportado efectos sobre BSR con concentraciones más pequeñas de Zn. Utgikar et al. (2001) experimentaron con un cultivo mixto de BSR expuesto a diferentes concentraciones de Zn en tubos anaerobios, ellos reportaron 20 ppm como la concentración mínima de Zn disuelto a la que se inhiben las BSR ya que no se observó reducción de SO₄²⁻ en el experimento. Mientras que Cabrera et al. (2006) utilizaron BSR, *Desulfovibrio vulgaris* y *Desulfovibrio sp. Strainsy*, expuestas a concentraciones de 5, 7, 10, 15 y 20 ppm de Zn como ZnSO₄, para *Desulfovibrio sp. Strainsy* no hubo inhibición con las concentraciones de Zn ya que obtuvieron remoción del 100% de Zn al día 14 de incubación, mientras que *Desulfovibrio vulgaris* requirió de más tiempo para adaptarse a 5, 7 y 10 ppm de Zn. Para 15 y 20 ppm presentó deficiencia al obtener 9% de remoción de Zn después de 14 días de incubación. Comparando los resultados de

estas investigaciones con el trabajo presente se puede decir que las BSR que conforman la biopelícula sulfidogénica son más resistentes a concentraciones más altas de Zn.

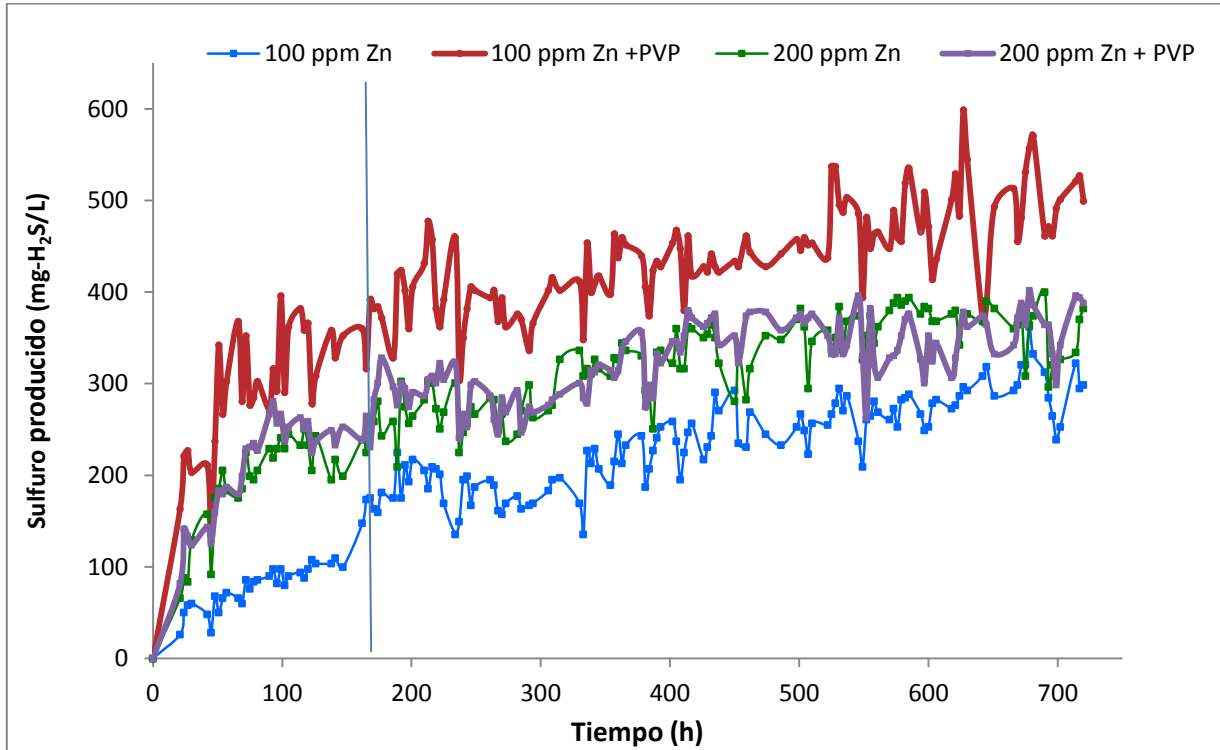


Figura 3.6. Velocidad de producción de sulfuros de las pruebas en lote.

En la tabla 3.2 se presentan los valores de pH y ORP iniciales y finales, así como el porcentaje de remoción de materia orgánica y Zn de las soluciones al término de la ASR. El ORP inicial de todos los ensayos fue positivo, con valor promedio de 100 mV y el pH inicial fue neutro con valor promedio de 7.0. El pH aumentó en todas las soluciones una vez que finalizó la ASR, en un valor promedio fue de 7.6, esto es debido a la oxidación de la materia orgánica y la formación de bicarbonato (Ec. 1.1, Sección 1.6.1). En cuanto al ORP, disminuyó a valores negativos (-276 a -347 mV). Este intercambio de condiciones oxidativas a reductivas se puede atribuir a la actividad metabólica de las BSR. Bajo estas condiciones de pH y ORP el Zn precipita en forma de ZnS como se muestra en el diagrama de Pourbaix (Fig. 1.1) (ver sección 1.1). La eficiencia de remoción de sulfatos fue de 47.5 %

en promedio para las cuatro muestras, un valor intermedio entre 2 muestras reportadas por Martins et al. (2009), quienes utilizaron lodos de dos plantas de tratamiento de aguas residuales en pruebas en lote, obtuvieron eficiencias de remoción de SO_4^{2-} de 33 y 64.7 %. Esto podría indicar un buen desempeño de la biopelícula aunque se espera una mayor eficiencia, en la cual influye la relación DQO/ SO_4^{2-} (ver sección 3.1), por lo cual se trabajaría con una relación mayor para los siguientes experimentos. En cuanto a la eficiencia de remoción de materia orgánica y la remoción de Zn fue mayor en las soluciones en la que la biopelícula estuvo en contacto con el estabilizante (PVP) respecto a las que solo contenían el metal, lo cual coincide con la Figura 3.6, a mayor producción de sulfuro mayor es la eficiencia de remoción de DQO y de Zn. Las BSR son muy eficientes en la remoción de metales pesados, ya que en este experimento se obtuvieron eficiencias de remoción del metal de entre 89.4 y 96% en 30 días. Martins et al. (2009) alcanzaron una eficiencia de remoción de Zn de 98.7% en 18 días, pero a diferencia del presente trabajo, ellos utilizaron un lodo, el cual en teoría contiene mayor cantidad de BSR que una biopelícula, por lo cual se puede establecer que la biopelícula sulfidogénica desarrollada es óptima para remover Zn.

Tabla 3.2. Parámetros iniciales (pH y ORP) y finales de las soluciones de pruebas en lote.

Solución	pH inicial	pH final	ORP inicial (mV)	ORP final (mV)	%Rem SO_4^{2-}	%Rem DQO	%Rem [Zn]
100 ppm Zn	7.05	7.65	97.5	-347	46.7	43.2	89.4
100 ppm Zn y PVP	7.12	7.68	99.0	-344	55.6	61.1	91.6
200 ppm Zn	7.03	7.57	103.1	-276	43.7	45.1	90.7
200 ppm Zn y PVP	7.00	7.69	113.8	-296	44.1	54.7	96.0

% Rem: Eficiencia de Remoción

3.3.1. Caracterización por UV-Vis de las soluciones de pruebas en lote

La Figura 3.7 muestra los espectros de absorción de las soluciones de las pruebas en lote una vez terminada la ASR. Los bordes de absorción de la muestra 1 (100 ppm Zn) y de la muestra 3 (200 ppm Zn) se encuentran a los 237 nm, valor al que se predice la presencia de partículas de ZnS, las cuales serían de tamaño mayor a las partículas de las muestras 2 y 4 (100 ppm Zn y PVP, 200 ppm Zn y PVP, respectivamente), ya que la longitud de onda a la que se presenta el borde es 230 nm para la muestra 2 y 235 nm para la muestra 4, pues entre más cerca esté el borde de la línea de absorbancia menor será el tamaño de la partícula. La diferencia de absorbancia se atribuye a la concentración de ZnS, entre mayor absorbancia mayor es la concentración de ZnS. El ZnSO_4 que pudo estar presente en la muestra, no interfirió en el barrido realizado por UV-Vis, como se muestra en la Figura 3.7. Para determinar la energía de banda prohibida, se trazó una línea desde la región descendiente del espectro que se intercepta con la línea del eje de la longitud de onda como se muestra en la Figura 3.7. En la tabla 3.3 se presentan los valores de longitud de onda de las intersecciones de las líneas tangentes y los valores de banda prohibida, calculada mediante la ec. 2.14 de la sección 2.5.7. Los valores de banda prohibida varían dependiendo del proceso de síntesis, ya que en la literatura se han reportado valores de 3.8 eV al utilizar una ruta biológica (Senapati et al., 2013), 4.14 eV mediante irradiación por microondas (Ni et al., 2004; Zhu et al., 2001); 4.2 y 4.57 eV por precipitación en medio acuoso (Wageh et al., 2003; Martínez, 2017); 4.8 eV por síntesis coloidal (Kho et al., 2000); 5.5 eV al utilizar un biosurfactante de rampolípedo (Hazra et al., 2013). Este último es muy similar a lo obtenido en el presente trabajo y se esperan tamaños de partícula entre 3-10 nm. Todos los valores mencionados resultan mayores al asignado para el material macroscópico ZnS de 3.5 eV (Antoniadou et al., 2011), este aumento se le atribuye al efecto de confinamiento cuántico que se presenta cuando los electrones se encuentran restringidos a moverse en una región tan pequeña comparable a la longitud de onda asociada al electrón (Hernández, 2012).

Tabla 3.3. Intersecciones de tangentes y banda prohibida para soluciones de pruebas en lote.

Solución	λ de la intersección de tangente (nm)	Banda prohibida (eV)
100 ppm Zn	228	5.43
100 ppm Zn y PVP	225	5.51
200 ppm Zn	227	5.46
200 ppm Zn y PVP	225	5.51

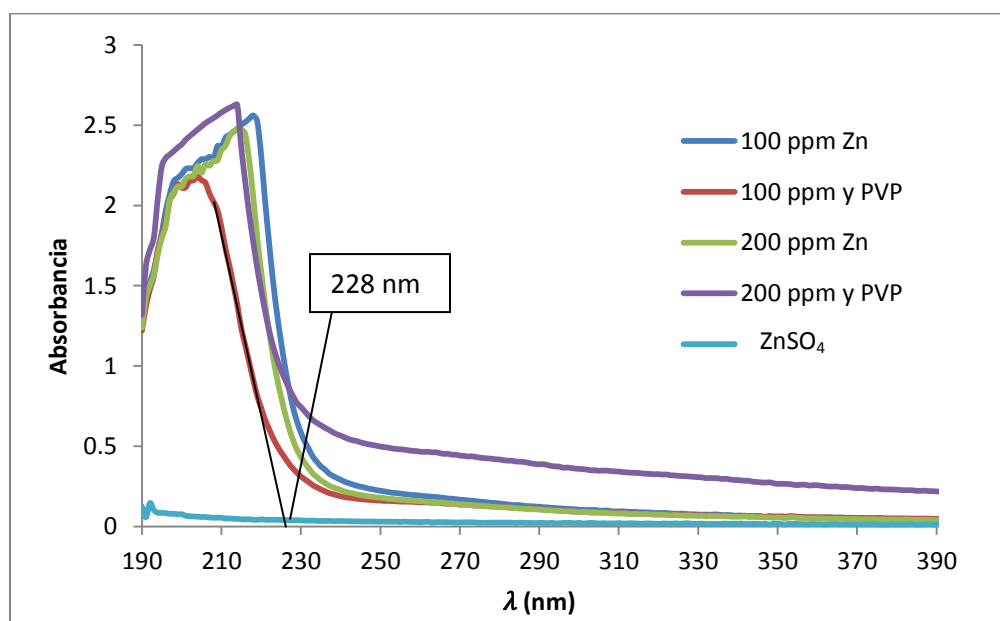


Figura 3.7. UV-Vis de las soluciones al término de la ASR.

3.3.2. Sólidos Volátiles Inmovilizados (SVI)

Los sólidos volátiles adheridos al soporte (biomasa) se reportan como sólidos volátiles inmovilizados (SVI) por volumen de soporte (g SVI/Ls). La concentración de SVI en el soporte al término de la ASR fue de 4.16 g SVI/Ls. Este valor es casi el doble de lo reportado por Gallegos (2009) quien obtuvo 2.2 g SVI/Ls al exponer con Zn una biopelícula

sulfato reductora. Esto podría indicar que la superficie del soporte utilizado en este trabajo fue mejor para la adhesión de los microorganismos.

3.3.3. Caracterización DRX de nanopartículas de ZnS de pruebas en lote

La Figura 3.8 muestra el difractograma DRX de la muestra obtenida de las pruebas en lote una vez que terminó la ASR. Las condiciones de barrido son aquellas con las que se corrieron las muestras. Las muestras se corrieron de 0 a 90°. El tiempo de barrido fue de 21 min. En cuanto a las condiciones del equipo: se utilizó un tubo de cobre con una longitud de onda de 1.5418 Angstroms, con un voltaje de 40 kV y corriente de 35 mA. En el difractograma se observa ruido, que podría ser causado por la materia orgánica, lo que nos impide apreciar los picos del ZnS. Sin embargo, en la caracterización por MEB se pudo determinar la presencia del ZnS (ver sección 3.3.4). En el difractograma se observan picos con mayor intensidad alrededor de los 30.42° y otro a 34.46° que corresponden a NaHCO_3 ; mientras que los picos alrededor de 23.14° y 31.87° corresponden a Na_2HPO_4 .

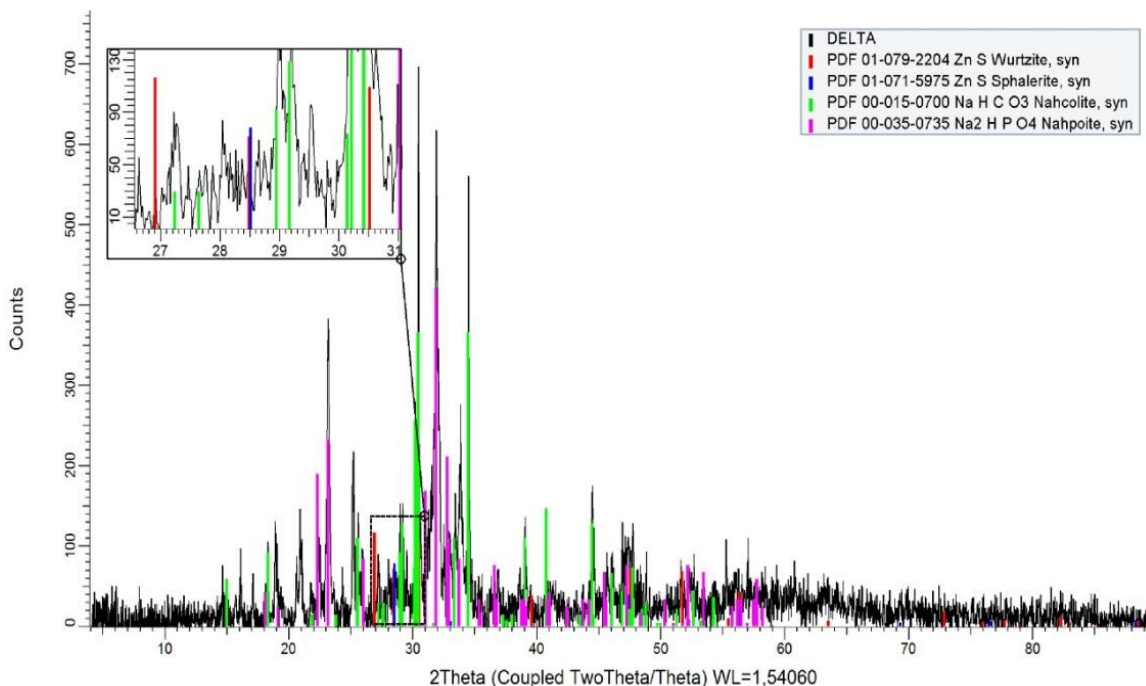
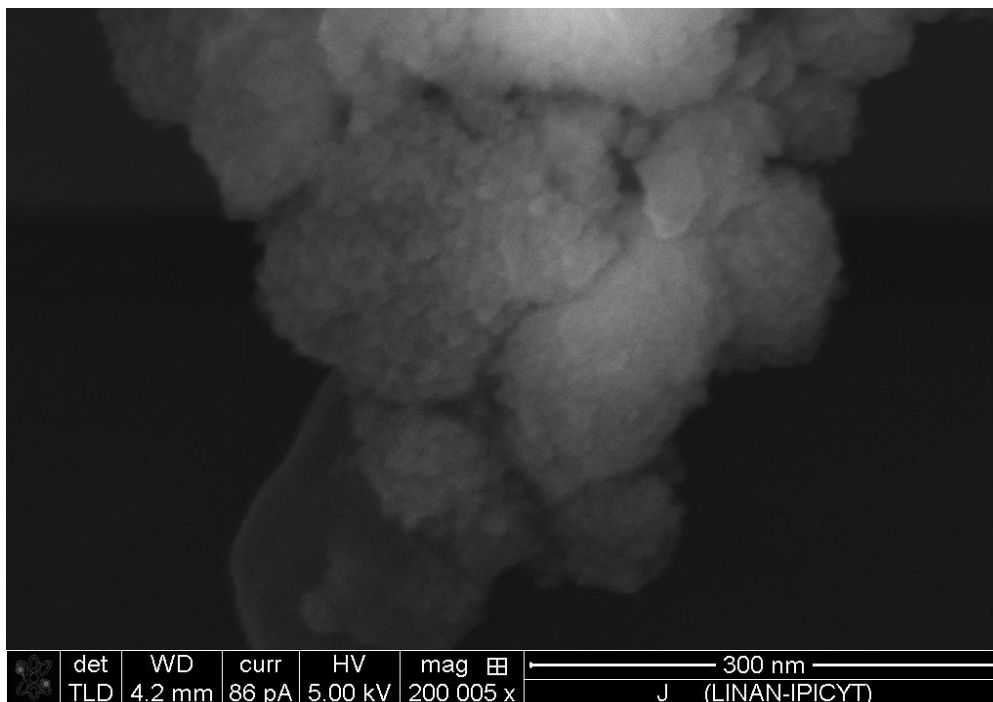


Figura 3.8. DRX de precipitado obtenido en las pruebas en lote.

3.3.4. Caracterización por MEB y MET de nanopartículas de ZnS de pruebas en lote

En la Figura 3.9a se muestra la micrografía de las nanopartículas obtenidas por MEB de las pruebas en lote, donde se aprecian aglomerados de partículas. Aunque el tamaño de los elementos individuales no es claramente observado a partir de las microimágenes se estimó en 10 nm en promedio. Este tamaño de partícula confirma la predicción hecha con el valor de energía de banda prohibida. El análisis químico por EDS muestra la presencia de Zn y de S, por lo cual se podría indicar que las nanopartículas son de ZnS (Fig. 3.9b). Además el porcentaje de Zn en el aglomerado fue de 4.86%, el cual es muy pequeño para ser detectado mediante DRX (sección 3.3.3). En la Figura 3.10 se ilustran las microimágenes obtenidas mediante MET, donde se aprecia que las nanopartículas se encuentran aglomeradas, se obtuvieron nanopartículas de diferentes tamaños, entre 2 y 50 nm (Fig. 3.10a). El análisis químico EDS (Fig. 3.10b) confirmó que las nanopartículas son de ZnS. Se han reportado aglomeraciones de partículas similares dentro del rango de 2-50 nm. Qiao et al. (2000) obtuvieron partículas de 5 nm a partir de irradiación- γ ; Chen et al. (2004) utilizaron un proceso de alta gravedad en un reactor de lecho empacado rotatorio y obtuvieron partículas aglomeradas con tamaño promedio de 23 nm y Da Costa et al. (2012) reportaron tamaños de 20-30 nm mediante método biológico sulfato reductor. En la literatura también se han reportado partículas dispersas. Hudlikar et al., (2012) utilizaron latex a partir de una planta conocida como *Jatropha curcas* y obtuvieron partículas de 10 nm.

a)



b)

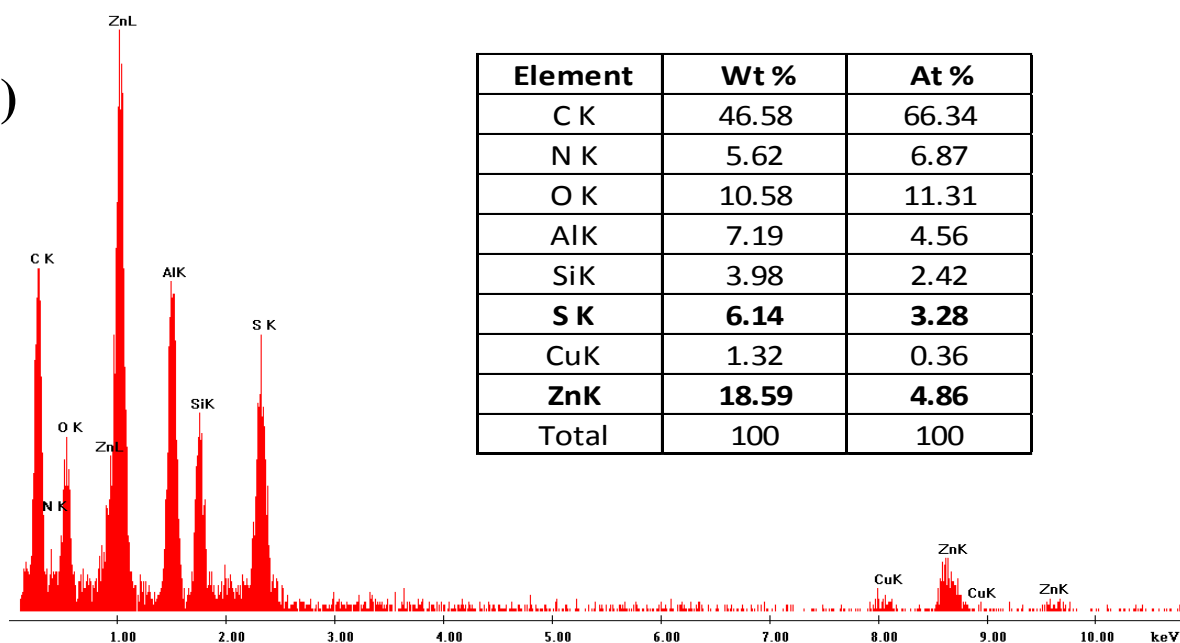
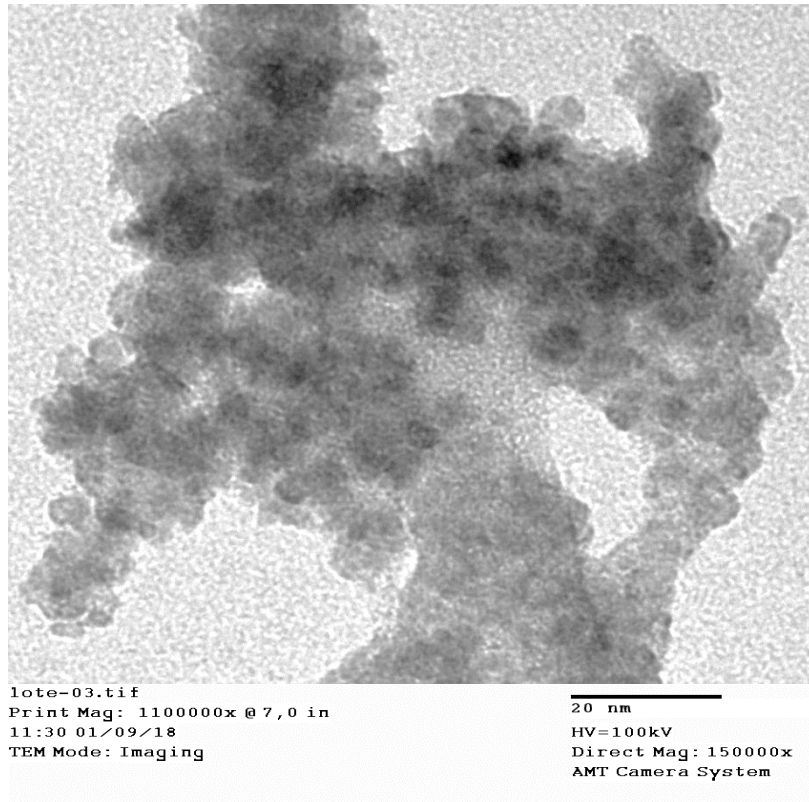
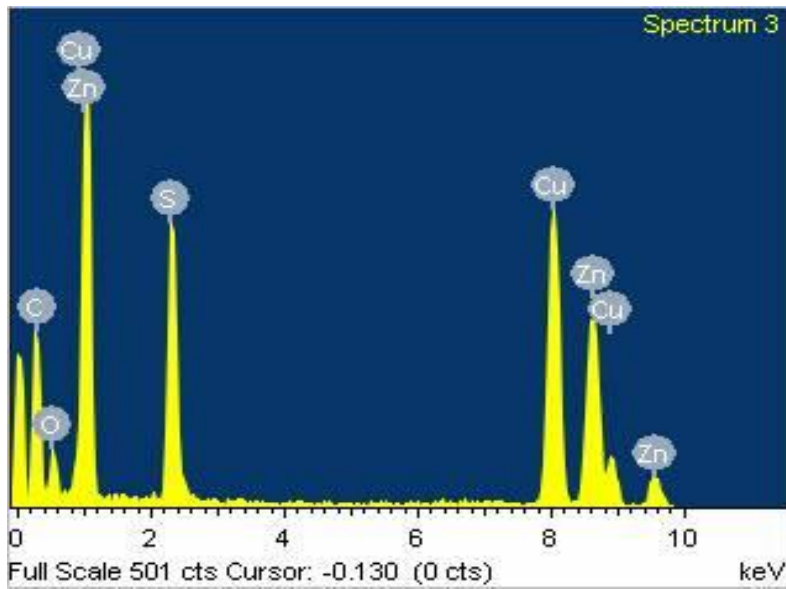


Figura 3.9. Caracterización por MEB de nanopartículas de ZnS de pruebas en lote. a) Micrografía por MEB, b) Análisis químico por EDS.

a)



b)



Element	Weight %	Atomic %
CK	5.37	20.93
OK	1.23	3.61
SK	10.11	14.77
Cu K	47.60	35.10
Zn K	35.69	25.58
Totals	100.00	

Figura 3.10. Caracterización por MET de nanopartículas de ZnS de pruebas en lote. a) Micrografía por MET, b) análisis químico por EDS.

3.3.5. Actividad sulfato reductora de la biopelícula después de su exposición a Zn

Al final de las pruebas de ASR en lote con biopelícula expuesta a 100 y 200 ppm de Zn, la solución fue retirada y se repuso con medio fresco sin metal. Esto con la finalidad de determinar el grado de recuperación de los microorganismos y el efecto tóxico del metal sobre las BSR.

Se realizaron pruebas de ASR en ausencia de Zn a la biopelícula, de acuerdo a lo descrito en la sección 2.2.1. En la Figura 3.11 se presenta la velocidad de producción de sulfuro con respecto al tiempo durante las pruebas de ASR. Se observa que en las primeras 200 h hubo una similitud en la recuperación de la biopelícula, sin embargo a partir de ese tiempo, la biopelícula que estuvo expuesta a 100 ppm de Zn tuvo una mayor velocidad de producción de sulfuro respecto a las demás. Comparando con la Figura 3.6 (sección 3.3) se aprecia que en todas las pruebas en ausencia del metal el tiempo para producir H₂S fue de 120 h y hubo una menor producción de H₂S respecto a las pruebas con metal. En las pruebas de 100 ppm de Zn y PVP alcanzó los 600 mg H₂S/L, mientras la prueba sin metal alcanzó los 450 mg H₂S/L. En las pruebas de 200 ppm de Zn la producción de sulfuro llegó aproximadamente a los 380 mg H₂S/L y en las pruebas sin metal la producción de H₂S alcanzó valores de 200 mg H₂S/L. En las pruebas con metal la producción de H₂S comenzó a las pocas horas. El corto tiempo de adaptación y la mayor velocidad de producción de H₂S en las pruebas con metal indican que este favorece la actividad metabólica de los microorganismos. Aunque la adaptación de la biopelícula fue rápida en la prueba donde la biopelícula estuvo expuesta a 100 ppm de Zn, respecto a la prueba sin metal, se obtuvo la misma producción de H₂S (450 mg H₂S/L). Esto puede indicar que 100 ppm de Zn es una concentración en la que los microorganismos se favorecen en el tiempo de adaptación, pero no en la producción de H₂S. También se observa que en las pruebas sin metal donde la biopelícula estuvo expuesta a 100 ppm de Zn y 100 ppm de Zn y PVP se obtuvo una mayor concentración de H₂S respecto a las pruebas de 200 ppm de Zn y 200 ppm de Zn y PVP. Aunque el Zn es componente de varias enzimas en microorganismos anaerobios (Chen et al., 2008), concentraciones más altas pueden ser tóxicas (Hughes y Poole, 1991).

Cabrera et al. (2006) expusieron BSR (*D. vulgaris* y *Desulfovibrio sp.*) a diferentes concentraciones de metales, y reportaron que el crecimiento bacteriano se ve afectado por la presencia de los iones metálicos y que la fase de retraso de estos cultivos aumenta a medida que aumenta la concentración de metales. Diversos autores reportan que los metales pesados pueden ser estimulantes o inhibidores para los microorganismos anaerobios (Chen et al., 2008; Utgikar et al., 2001). Los metales esenciales a menudo están presentes en el sistema enzimático (Zandvoort et al., 2006). El Zn ejerce funciones catalíticas en determinadas reacciones bioquímicas o en conversiones metabólicas, actúan como micronutrientes o cofactores enzimáticos, o pueden estabilizar estructuras proteicas (Bruins et al., 2000). El Zn fue tomado como nutriente por la biopelícula y sirvió como catalizador, por esta razón, se obtuvo una mayor producción de sulfuro al estar expuesta a Zn y un menor tiempo de adaptación. El efecto tóxico de los metales pesados es atribuido al trastorno causado en la función y estructura de las enzimas (Chen et al., 2008) y depende de muchos factores, como la cantidad de biomasa, temperatura, pH, fuente de carbono, concentración de sulfato, tipo de metal y concentración (Kaksonen y Puhakka, 2007). En este estudio la adición del PVP favoreció el aumento en la producción de sulfuro, ya que al ser consumido el PVP por las BSR hay un mayor flujo de electrones, que son aceptados por el sulfato reduciéndose este a sulfuro biogénico.

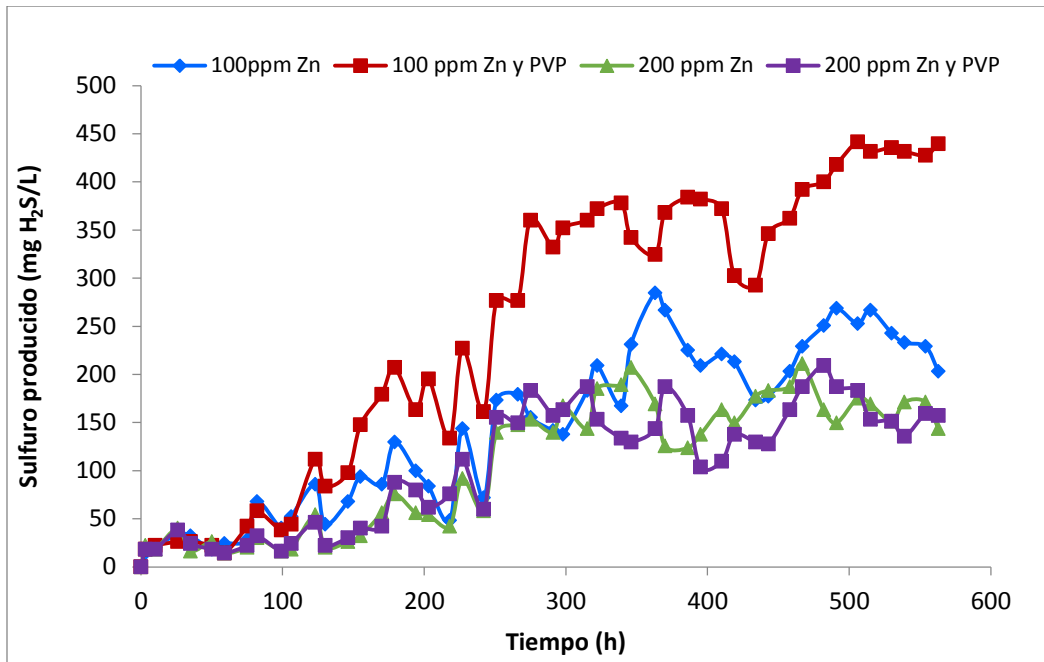


Figura 3.11. Velocidad de producción de sulfuros para la recuperación de la biopelícula de las pruebas en lote.

Capítulo 4. Recuperación de nanopartículas de sulfuro de zinc en un reactor de lecho fluidificado inverso.

4.1. Desempeño de la biopelícula sulfidogénica expuesta a diferentes concentraciones de Zn en un reactor LFI.

El desempeño de la biopelícula en el reactor LFI expuesta a diferentes concentraciones de Zn con operación en continuo se analizó mediante el análisis de ORP, eficiencia de remoción de DQO, pH, alcalinidad, concentración de sulfuro producido y eficiencia de remoción de SO_4^{2-} y de Zn. El reactor LFI se operó 478 días con flujo de recirculación de 300 mL/min y flujo de alimentación de 0.138 mL/min. El TRH se mantuvo en 1 día y fue el mismo para todos los períodos, cada período representa una concentración de Zn. En la Tabla 4.1 se presentan los valores promedio de los parámetros analizados y los períodos de operación del sistema. Durante los primeros 177 días se alimentó con SO_4^{2-} y DQO con una relación de 1.34 para la adaptación de la biopelícula, el cambio de la relación DQO/ SO_4^{2-} respecto al 0.67 que se utilizó para la formación de la biopelícula se debió al bajo porcentaje de remoción de sulfato que se obtuvo en la sección 3.1. Posteriormente se comenzó a alimentar con cargas de Zn que se fueron incrementando desde 50 hasta 500 ppm a partir del día 178 hasta el final de operación del reactor (día 478). El cambio en la concentración de Zn en el afluente se realizó cada vez que el sistema mostraba un comportamiento constante en la producción de H_2S . El aumento de la concentración de Zn fue de 50 ppm en cada período para asegurar que el sistema no fuera afectado con un cambio de concentración mayor.

Tabla 4.1. Desempeño de la biopelícula expuesta a diferentes concentraciones de Zn en un reactor LFI operado en continuo bajo condiciones sulfato reducción.

Período	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
días	177	28	11	31	21	18	21	17	32	42	56	25
Zn inicial (ppm)	0	50	75	100	150	200	250	300	350	400	450	500
pH	7.7 ± 0.70	7.81 ± 0.41	7.66 ± 0.04	7.89 ± 0.31	7.98 ± 0.28	7.83 ± 0.41	7.75 ± 0.38	7.63 ± 0.34	7.46 ± 0.23	7.45 ± 0.35	7.33 ± 0.26	7.13 ± 0.08
ORP	-245.5 ± 183.5	-180.5 ± 43.5	-228 ± 23	-212.3 ± 38.7	-355.5 ± 26.5	-375.5 ± 58.5	-289.5 ± 83.5	-355 ± 44	-333 ± 73	-330.5 ± 89.5	-258.5 ± 209.5	-215.2 ± 111.8
Alcalinidad (mgCaCO ₃ /L)	1128 ± 336	1128 ± 312	1488 ± 48	1128 ± 216	1368 ± 192	1172 ± 308	1152 ± 264	996 ± 180	1104 ± 312	1056 ± 264	900 ± 252	900 ± 180
H ₂ S (mg/L)	104.9 ± 68.5	75.9 ± 15.8	71.9 ± 11.8	127.3 ± 47.4	194.4 ± 86.9	186.5 ± 63.2	190.6 ± 59.3	226 ± 86.9	194.4 ± 71.1	154.9 ± 79	139.1 ± 126.4	178.6 ± 86.9
%Rem DCO	58 ± 21.6	55.6 ± 13.7	52.5 ± 1.1	52.4 ± 7.8	61.2 ± 2.3	49.2 ± 8.2	50.8 ± 11.7	55.6 ± 5	48 ± 8.3	52.4 ± 7.8	47.37 ± 9.5	68.25 ± 19.3
%Rem SO ₄ ²⁻	42.7 ± 32.9	62.3 ± 15.3	73.3 ± 0.8	87 ± 11.9	84.3 ± 8.3	77.1 ± 10.7	78.9 ± 18.7	89.7 ± 4.9	83.6 ± 11.3	92.2 ± 3.5	51 ± 27.8	50.3 ± 11.5
%Rem Zn	-----	100	100	99.5	99.3	99.8	99.9	99.9	99.5	99.9	99.9	99

*% Rem DCO= Eficiencia de remoción de materia orgánica ; % Rem SO₄²⁻=Eficiencia de remoción de sulfato; % Rem Zn=Eficiencia de remoción de Zn

En la Figura 4.1 se muestra el desempeño de la biopelícula expuesta a diferentes concentraciones de Zn en un sistema de operación continuo. La Figura 4.1a presenta el comportamiento del potencial del sistema, donde podemos observar que al inicio de la operación del reactor el potencial fue reductor (-312 mV) y llegó hasta los -431 mV a los 72 días de operación. Se puede apreciar que el ORP aumentó cada vez que se añadió una nueva concentración de Zn, recuperándose en días posteriores en lo que se adaptó la biopelícula y el potencial volvió a disminuir en cada uno de los períodos. El potencial se mantuvo en valores reductivos, los cuales son óptimos para el desempeño de la biopelícula. Al exponer la biopelícula con 450 y 500 ppm de Zn el valor promedio del potencial aumentó, lo cual nos puede indicar efectos de inhibición y un período de adaptación de la biopelícula a dichas concentraciones.

En la Figura 4.1b se presentan los valores de pH y alcalinidad del sistema. El pH del afluente fue de 7.0 en promedio, y debido a la actividad de las BSR para oxidar la materia orgánica y producir bicarbonato, el pH del efluente alcanzó valores de hasta 8.4. En todos los períodos el pH tuvo el mismo comportamiento, aumentó respecto al pH del efluente; mientras que la alcalinidad llegó a valores de hasta 1400 mg CaCO₃/L, valores similares de alcalinidad fueron reportados en la literatura obtenidos a partir de un reactor anaerobio con deflectores (ABR) (Sahinkaya et al., 2009). Los aumentos graduales en el pH y la disminución en el potencial observados después del día 2 fueron indicativos de un período de adaptación por parte de BSR adheridas al soporte. Este mismo comportamiento de pH y ORP ha sido reportado en reactores de lecho fijo del flujo ascendente con lodo sulfato reductor (Jong y Parry, 2003; Bratkova et al., 2011) y con biopelícula (Angelov et al., 2013), así como en reactores discontinuos (Luptakova y Kusnierova, 2005).

En el primer período (1-177 días) se alimentó con sulfato y con 1 g de materia orgánica como CH₃COONa (relación DQO/SO₄²⁻ de 1.34), en este lapso de tiempo la eficiencia de remoción de DQO se mantuvo entre 40 y 80%; en los períodos siguientes se comenzó a alimentar con Zn y PVP (178-478 días), en los cuales la materia orgánica del afluente aumentó debido al PVP y el porcentaje de remoción de DQO varió entre 40 y 60 % (Fig. 4.1c). Valores dentro de este rango se han reportado en la literatura. Hoa et al. (2007)

utilizaron un reactor UASB y variaron la relación DQO/SO_4^{2-} (15:1, 10:1, 5:1 y 2:1) y reportaron que con la relación más pequeña (2:1) obtuvieron una eficiencia de remoción entre 40 y 65%, demostrando que la relación DQO/SO_4^{2-} es parte fundamental en el comportamiento del sistema. Sin embargo, en los períodos de 450 y 500 ppm de Zn, la eficiencia de remoción llegó a un punto en el que disminuyó a valores de hasta 35% y 39%, respectivamente, lo que nos podría indicar que la biopelícula estaba siendo afectada a estas concentraciones, lo cual coincide con el aumento del potencial.

La producción de sulfuros varió durante los primeros días hasta alcanzar valores de 170 mg H_2S/L hasta mantenerse estable alrededor de los 86 días de operación del reactor. Al alimentar el reactor desde 50 a 400 ppm de Zn la producción de sulfuro fue en aumento hasta alcanzar valores de 265 mg H_2S/L . En teoría la producción de sulfuro debería de disminuir debido a su precipitación como un sulfuro metálico, sin embargo se observó un efecto contrario entre mayor concentración de metal mayor producción de sulfuro, lo que podría indicarnos que el metal favorece la actividad metabólica de los microorganismos.

A los 357 días de operación del reactor este se alimentó con 450 ppm Zn, donde se observó una disminución en la producción de sulfuros hasta 12 mg H_2S/L , con el paso del tiempo la producción de sulfuro aumento hasta 265 mg H_2S/L (Fig. 4.1d). Al exponer la biopelícula a 500 ppm de Zn la producción disminuyó y posteriormente aumentó. El período de adaptación de la biopelícula a 450 y 500 ppm Zn, fue mayor respecto a más bajas concentraciones. Este período concuerda con lo que ocurrió con el potencial y con la eficiencia de remoción de DQO. Después de que la biopelícula se adaptó a estas concentraciones, se obtuvo una producción de sulfuro de 265 mg H_2S/L . En cuanto a la remoción de sulfato, este tuvo el mismo comportamiento que la producción de sulfuro en los diversos períodos de operación del reactor. En los últimos períodos donde la biopelícula mostró efectos adversos por la concentración de Zn, se observa que la eficiencia de remoción de sulfato decae, sin embargo en los últimos días de operación el sistema se recuperó hasta alcanzar un 80% de remoción de sulfato. Los valores máximos de remoción de sulfato obtenidos en el presente trabajo son similares a lo reportado por Jong y Parry (2003), quienes utilizaron un reactor de lecho empacado de flujo ascendente

inoculado con un cultivo de BSR mixto y lo alimentaron con 2.3 g SO_4^{2-} y con diversos metales, estando presente el Zn con una concentración de 10 mg/L y obtuvieron una remoción de SO_4^{2-} del 84 % en promedio. También se han obtenido eficiencias de 40-65% en reactor ABR (Sahinkaya et al., 2009), lo cual podría sugerir el uso de una biopelícula en vez de un lodo, ya que pueden tener la misma eficiencia pero a diferencia de un lodo, si se utiliza biopelícula no se pierde biomasa. Esto nos puede indicar que aunque el período de adaptación sea largo, la biopelícula puede estar expuesta a concentraciones mayores de 500 ppm de Zn y se pueden obtener buenas eficiencias.

En cuanto a la remoción del metal podemos observar que en los períodos con menor concentración la remoción del metal fue del 100%, pero al aumentar la concentración de Zn, la remoción se mantuvo en 99%. La eficiencia de la biopelícula para remover Zn es elevada, siendo muy parecidos a los valores establecidos por Bai et al. (2013) quienes utilizaron un lodo sulfato reductor en un reactor UASB expuesto hasta 90 ppm de Zn y obtuvieron eficiencias de remoción de Zn de 93 a 99.9 %; y Zhang et al. (2016) obtuvieron eficiencias del 99.9% mediante un lodo granular sulfato reductor en un reactor de lecho fijo de flujo ascendente expuesto a una máxima concentración de Zn de 120 ppm, siendo tan solo una quinta y cuarta parte, respectivamente, de la concentración a la que se expuso la biopelícula en este trabajo.

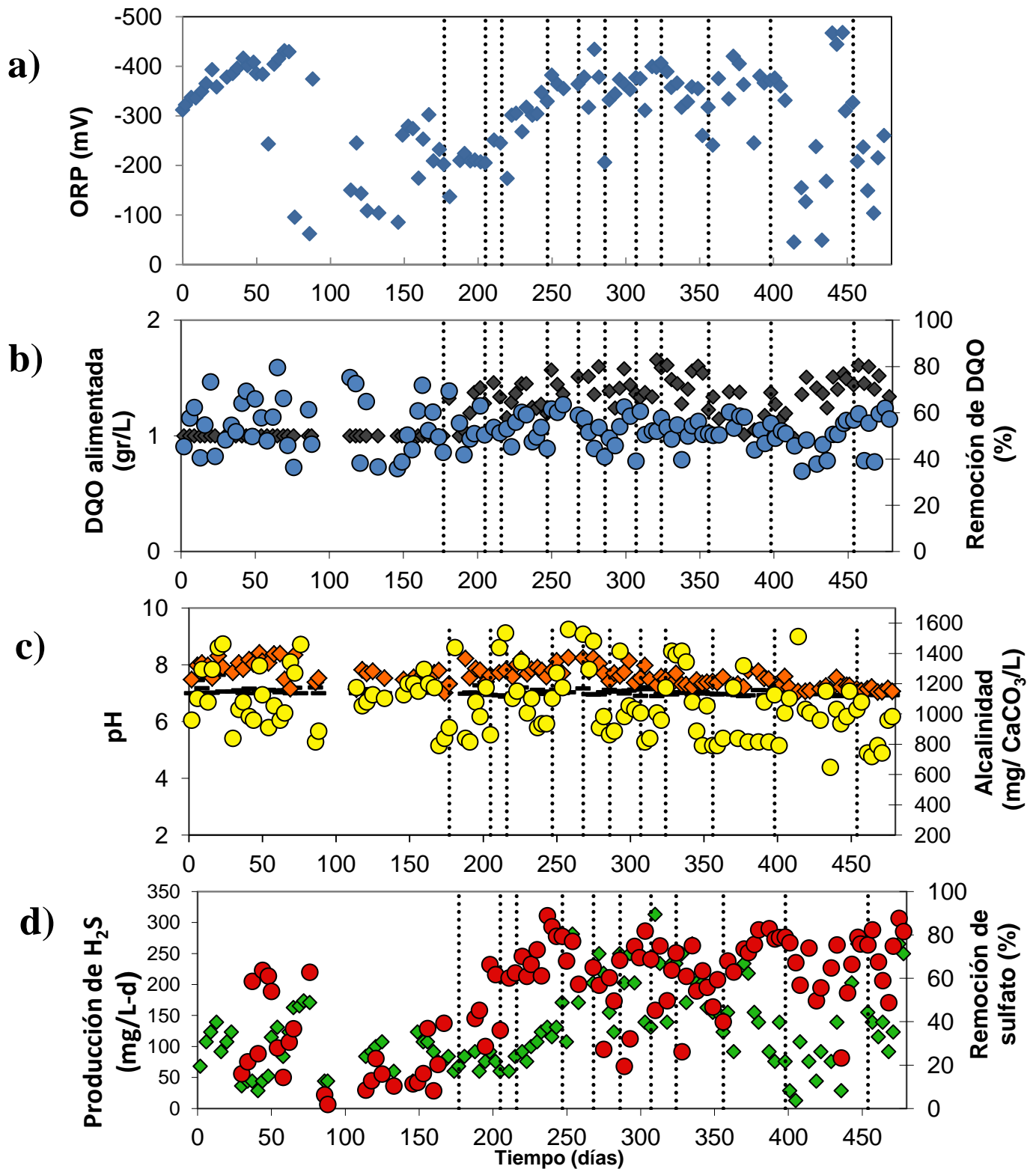


Figura 4.1. Desempeño de la biopelícula en el reactor LFI expuesto a diferentes concentraciones de Zn. a) ORP (◆); b) Carga de DQO (◆), Remoción de DQO (●), c) pH afluente (—), pH efluente (◆), Alcalinidad por bicarbonato (●), d) velocidad de producción de H₂S (◆) y eficiencia de remoción de sulfato (●).

4.1.1. Caracterización por UV-Vis de muestras tomadas del reactor LFI con diferentes concentraciones de Zn

Se tomó muestra de la solución del reactor de cada uno de los períodos, en donde se alimentó el sistema con Zn, para caracterizar por UV-Vis y obtener el espectro para confirmar la presencia de nanopartículas de ZnS. En la Figura 4.2 se muestran los espectros de absorción de las soluciones obtenidas de cada uno de los períodos. Se aprecia que los bordes de absorción para 50 y 350 ppm de Zn se encuentran más desplazados hacia el rojo, lo cual podría predecir un tamaño de partícula mayor a comparación de las partículas de las otras soluciones. En todas las muestras el borde se encuentra entre 230 y 250 nm, un desplazamiento hacia el azul comparado con el borde de absorción para el ZnS a granel (340 nm) y es consecuencia del efecto de confinamiento cuántico (Brus, 1986; Wang et al., 2006). En algunos espectros se aprecian 2 señales, lo cual se atribuye a tres posibles factores que influyen de manera importante en este tipo de análisis. Estos son: la presencia de un tamaño de partícula menor, que ocasiona un desplazamiento hipsocrómico de la señal conforme el tamaño de partícula disminuye; un posible cambio estructural en el tipo de celda unitaria, ya que el ZnS puede poseer la estructura tipo esfalerita o wurtzita; y finalmente, la presencia de otras sustancias, como metabolitos, que presenten absorbancia en la región UV (Botello et al., 2007).

En la tabla 4.2 se presentan los valores de longitud de onda de la intersección de la tangente trazada y la energía de banda prohibida. Los valores de banda prohibida van desde 5 hasta 5.43 eV, los cuales son similares a lo reportado por Moussaoui et al. (2011), quienes mediante una ruta biológica obtuvieron energía de prohibida de 5.5 eV y partículas de tamaño nanométrico (2-100 nm). Estos valores de energía de banda son mayores a los observado en ZnS a granel (3.65 eV) (Nanda et al., 2000). Esto se puede explicar como un efecto de tamaño cuántico, debido al confinamiento de electrones en un volumen pequeño (Wageh et al., 2003).

Tabla 4.2. Intersecciones de tangentes y banda prohibida de soluciones del reactor con diferentes concentraciones de Zn.

Zn (ppm)	λ de la intersección de tangente (nm)	Banda prohibida (eV)
50	240	5.16
75	228	5.43
100	230	5.39
150	229	5.41
200	229	5.41
250	228	5.43
300	227	5.46
350	248	5.00
400	234	5.29
450	230	5.39
500	229	5.41

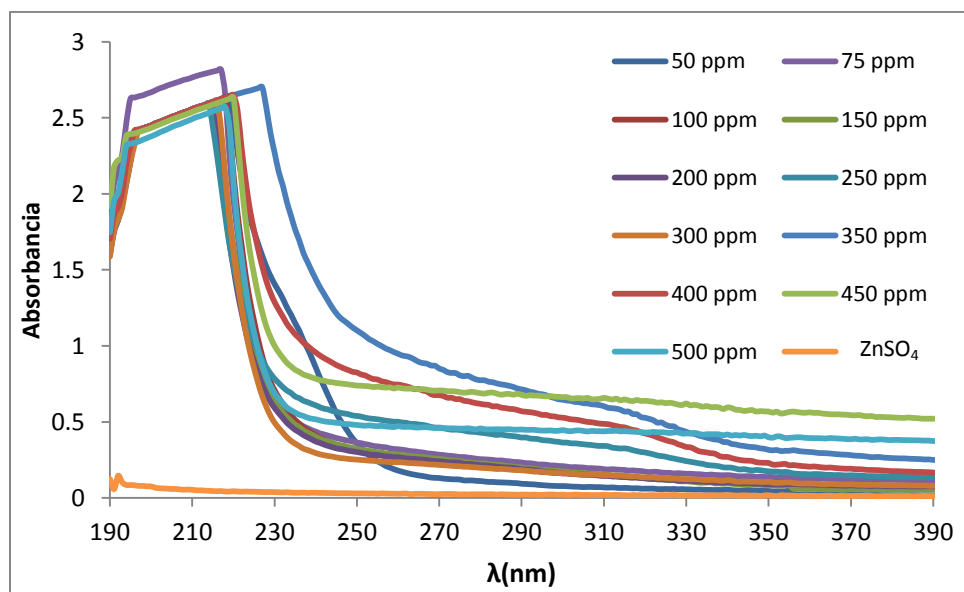


Figura 4.2. Espectros de absorción de las soluciones de cada período del reactor LFI.

4.1.2. Caracterización DRX de nanopartículas de ZnS obtenidas del reactor LFI alimentado con Zn

Las muestras se corrieron de 0 a 90°. El tiempo de barrido fue de 21 min. El difractograma DRX del sólido obtenido del fondo cónico del reactor se muestra en la Figura 4.3. Se observan tres picos anchos alrededor de 28.53°, 47.73°, 56.50° en 2 θ que corresponden a los planos (111), (220) y (311) de ZnS, respectivamente, correspondientes a la tarjeta 01-079-2204 de wurtzita. El ensanchamiento de los picos de difracción sugiere que las dimensiones de las nanopartículas son muy pequeñas (Khiew et al., 2005; Bodo y Kalita, 2010).

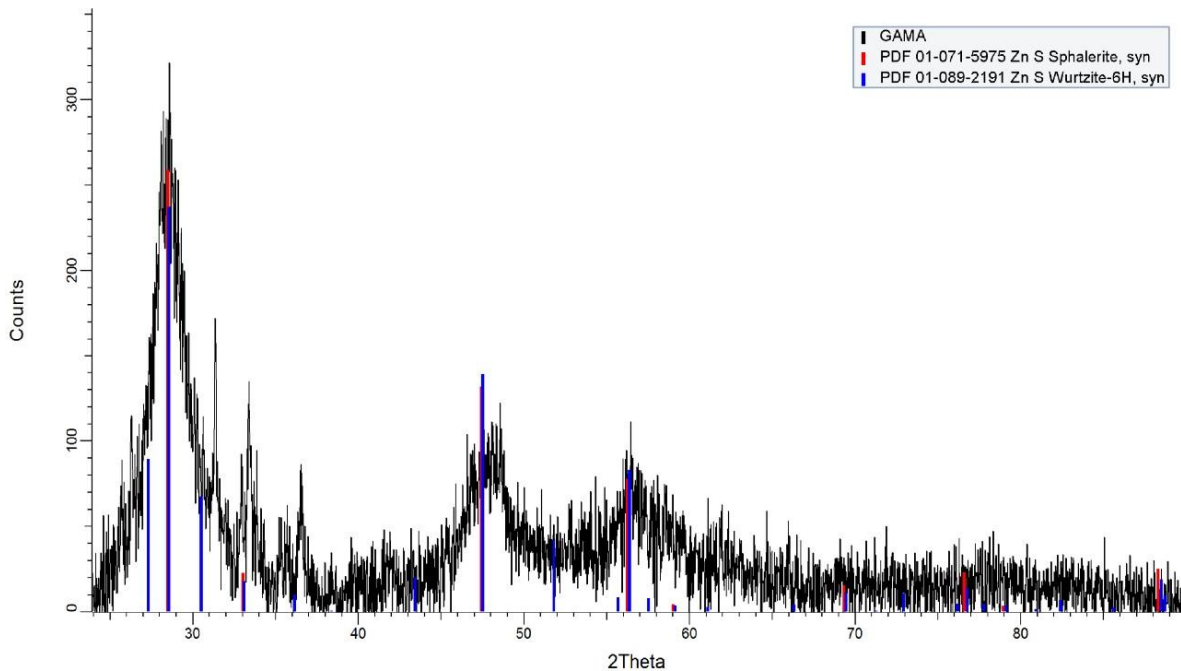
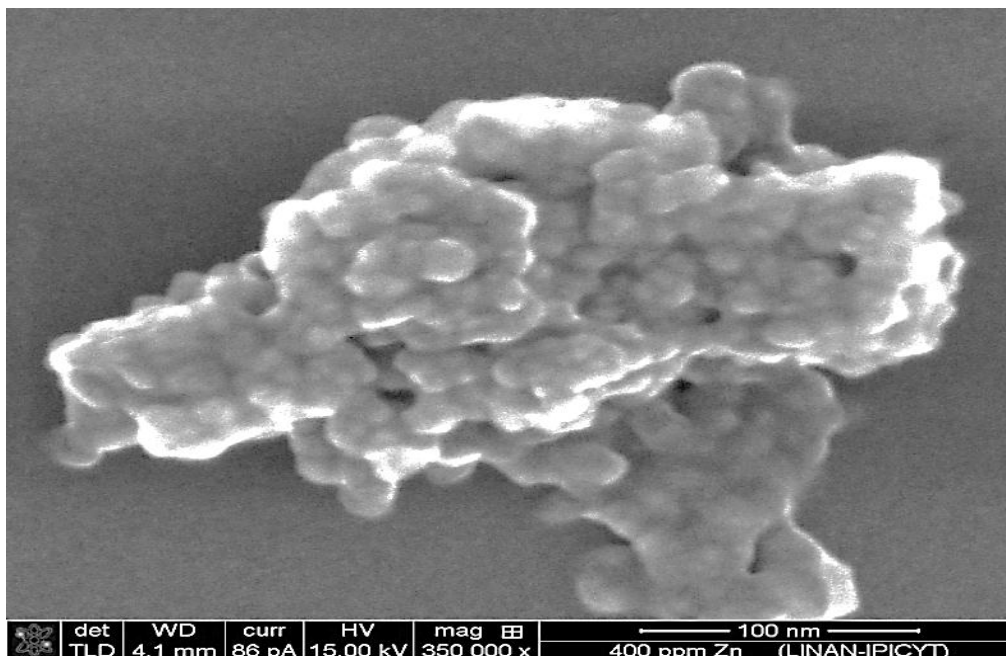


Figura 4.3. DRX del sólido obtenido en el fondo cónico del reactor LFI.

4.1.3. Caracterización mediante MEB y MET de nanopartículas de ZnS del reactor alimentado con Zn

Las imágenes por MEB revelan la presencia de nanopartículas aglomeradas con un tamaño individual que varía de 5 a 20 nm (Fig. 4.4a). La morfología de las partículas observada para estas muestras es predominantemente esférica y, como se esperaba, el análisis EDS confirmó la presencia de Zn y S (Fig. 4.4b). El tamaño nanométrico y la composición de las partículas confirman lo que se predijo mediante el espectro de absorción. La Figura 4.5 muestra las micrografías de nanopartículas obtenidas del sistema en continuo mediante MET. En la Figura 4.5a se observa un aglomerado de partículas con tamaños entre 2 y 7 nm. El análisis químico EDS se muestra en la Figura 4.5b y confirma la presencia de Zn y S. El Cu que está presente es debido a la composición de la rejilla en donde se montó la muestra. En la literatura se han reportado aglomeraciones de nanopartículas de ZnS. Senapati et al. (2013) utilizaron un método de síntesis biológica utilizando glucosa como agente de cobertura y estabilizador, obtuvieron aglomerados con partículas de 5.8 nm. También se han reportado aglomerados con tamaños de partícula de 2-3 nm mediante método químico utilizando PVP como estabilizante (Ghosh et al., 2006), o mediante precipitación (Gayou et al., 2010).

a)



b)

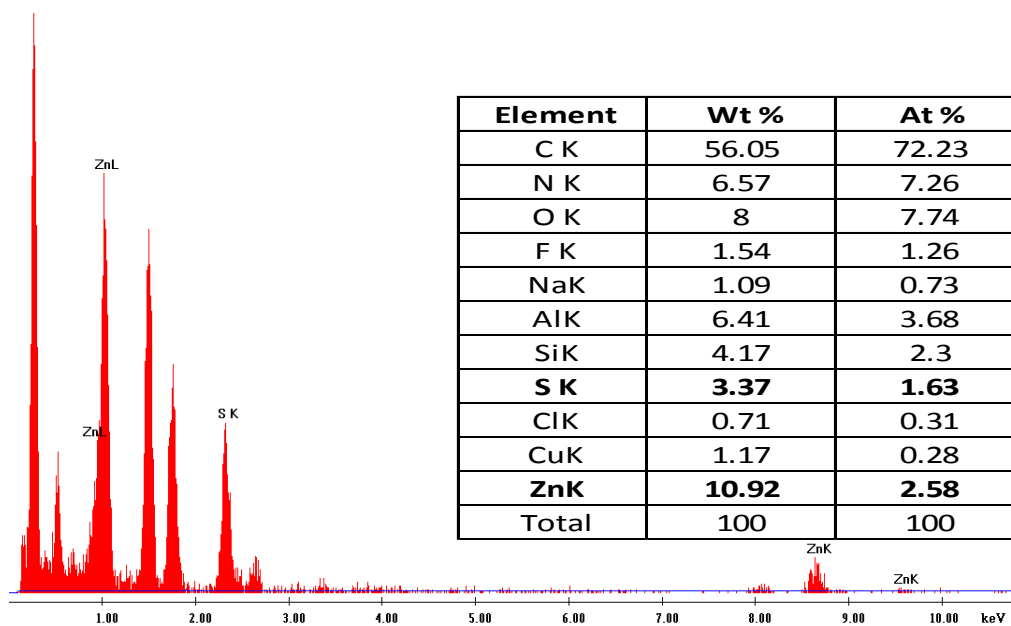
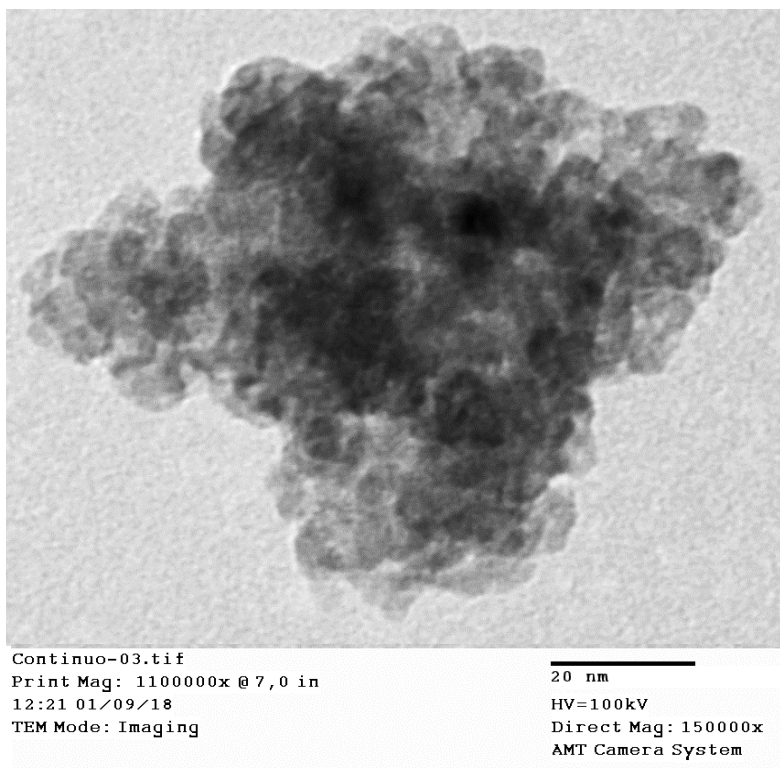
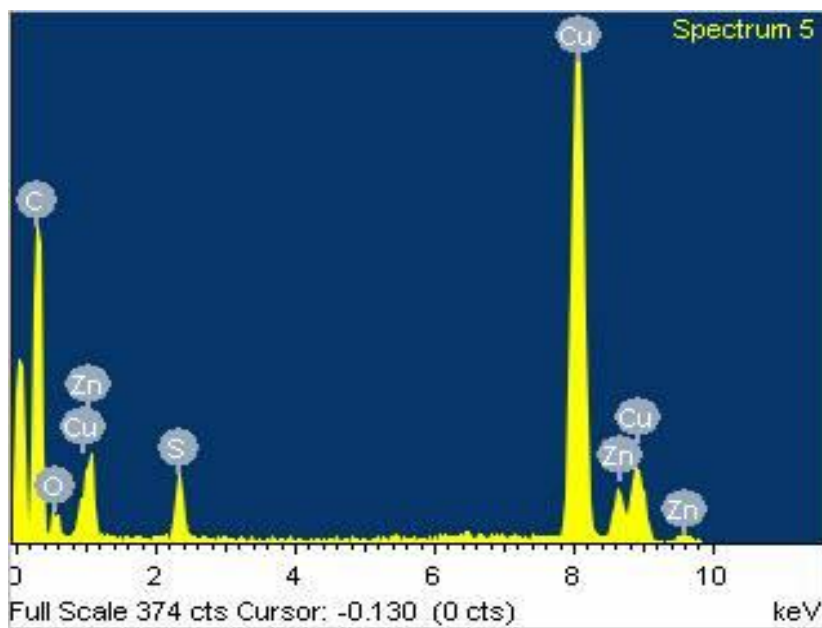


Figura 4.4. Micrografía por MEB de nanopartículas del reactor LFI a) Nanopartículas de ZnS, b) Espectro EDS.

a)



b)



Element	Weight %	Atomic %
C K	11.08	38.7
O K	0.74	1.95
S K	1.97	2.57
Cu K	79.95	52.77
Zn K	6.25	4.01
Totals	100.00	

Figura 4.5. Caracterización por MET de nanopartículas de ZnS del reactor LFI. a) y b) Micrografía por MET, c) Análisis químico por EDS.

4.2. Caracterización mediante MEB de biopelícula expuesta a Zn en el reactor LFI

En la Figura 4.6a se muestra la imagen por MEB del pellet con biopelícula expuesta a diferentes concentraciones de Zn en el reactor LFI. La Figura 4.6b muestra la comunidad microbiana, incluso algunas bacterias contienen esferoides alrededor e incrustadas dentro de su pared celular (Fig. 4.6c y 4.6d), lo cual indica que los esferoides son nanopartículas de ZnS. Los SVI de la biopelícula expuesta a Zn fueron de 3.12 g SVI/Ls. La concentración de SVI disminuyó respecto a la biopelícula que estuvo expuesta a Zn (4.16 g SVI/Ls). Esta disminución indicó el desprendimiento de algunos microorganismos adheridos al soporte, provocado por el efecto adverso de su exposición a Zn dentro del reactor. En el soporte quedaron los microorganismos más resistentes a Zn. En la literatura se han reportado casos similares en la disminución de SVI al estar expuesta a metales. Montalvo (2013) reportó una disminución de SVI de 1.82 a 1.02 g SVI/Ls al exponer una biopelícula sulfato reductora a cromo hexavalente [Cr(VI)]. Sin embargo también existen reportes de biopelículas sulfato reductoras que fueron favorecidas al exponerlas a níquel (Fortuna, 2016); plata (Borja, 2013) y zinc, hierro y cadmio (Gallegos, 2009). El espectro de energía dispersa (Fig. 4.6e) confirmó la presencia de S y Zn sobre la biopelícula.

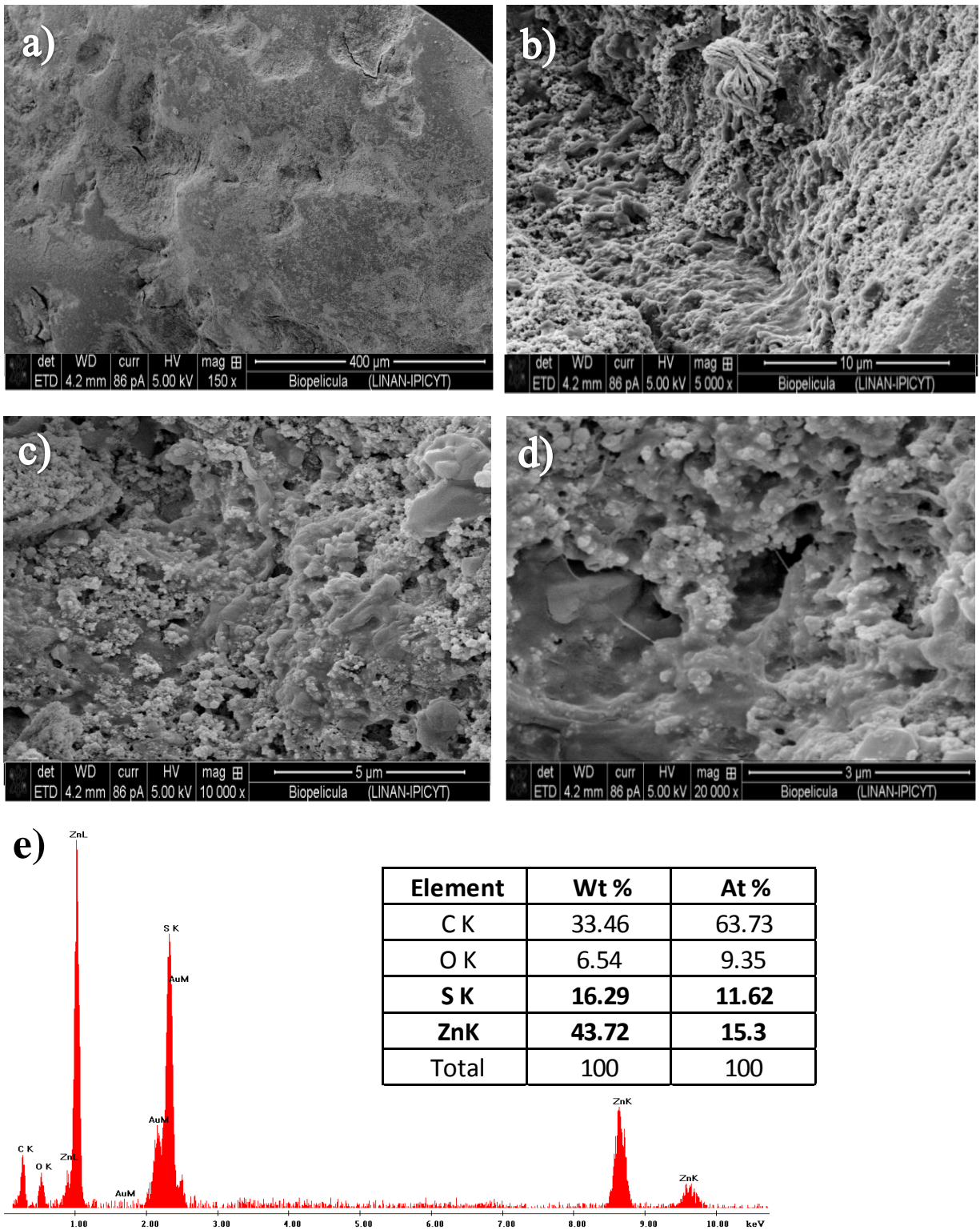


Figura 4.6. Micrografía por MEB de biopelícula expuesta a Zn, a) Pellet; b) Comunidad microbiana; c) y d) Deposición de ZnS sobre la biopelícula; e) Análisis químico por EDS de esferoides incrustados en la biopelícula.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos del reactor LFI se concluye que es posible desarrollar una biopelícula sulfidogénica en un soporte polimérico de baja densidad en un corto tiempo, demostrado con la producción de sulfuro de 115 mg H₂S/L a los 45 días, después del lavado de biomasa suspendida del sistema al inicio de la operación. Este lavado también favoreció el crecimiento de microorganismos adheridos al soporte, lo que se corroboró con el análisis de MEB.

El análisis mediante UV-Vis a diferentes tiempos (0-180 min) de la formación de partículas de ZnS, a partir de una mezcla (muestra tomada del reactor y una solución de 300 ppm de Zn y PVP), indicó la estabilidad de la mezcla, al no presentar variaciones en borde de absorción. En base a esto, se puede predecir que el tamaño de partícula no cambió respecto al tiempo. Se confirmó la presencia de partículas de ZnS mediante MEB, sin embargo el tamaño no fue nanométrico y pudo deberse a la forma de hacer la muestra, concentración del estabilizante, temperatura, pH y a la falta de agitación.

En las pruebas en lote la biopelícula que estuvo expuesta a Zn y PVP presentó mayor producción de sulfuro respecto a las que solo estuvieron en contacto con el Zn debido a que las BSR, que conforman la biopelícula, tomaron el PVP como fuente de carbono. De los resultados obtenidos en las pruebas en lote con metal y sin metal podemos decir que el metal favoreció la actividad metabólica de la biopelícula ya que en las pruebas con metal (100 y 200 ppm de Zn) la producción de sulfuro se presentó a partir de las primeras horas, mientras que en las pruebas sin metal la producción de sulfuro fue más lenta presentándose hasta las 150 h, además al final de la ASR, las pruebas con metal presentaron una mayor producción de sulfuro (600 mg H₂S/L) que en las pruebas sin metal (450 mg H₂S/L).

De las pruebas en lote podemos concluir que la biopelícula no sufrió ningún efecto adverso al estar expuesta a 200 ppm de Zn y obtener una producción de sulfuro máxima de 398 mg H₂S/L, y fue capaz de formar nanopartículas de ZnS, lo cual fue corroborado mediante el espectro del UV-Vis, DRX, MEB y MET. Las partículas que se obtuvieron están aglomeradas y tienen un tamaño individual entre 2-50 nm. En la literatura se han

reportado aglomeraciones y tamaño de partícula similares (Qiao et al., 2000; Chen et al., 2004; Da Costa et al., 2012).

Con el estudio desarrollado en el reactor LFI se pudo demostrar la formación de nanopartículas de ZnS y esto fue debido a las condiciones hidrodinámicas impuestas al sistema como fueron el flujo de alimentación y recirculación, la velocidad desensorial del líquido y el TRH, así como la concentración de sulfuro biogénico para reaccionar con el Zn que era alimentado. El sistema demostró la capacidad de la biopelícula para remover Zn con concentraciones de hasta 500 ppm, además de formar nanopartículas de ZnS con tamaños entre 2-20 nm, lo cual se confirmó mediante UV-Vis, DRX, MEB y MET. En la literatura se han registrado varios estudios donde el tamaño y la aglomeración de nanopartículas de ZnS son similares (Senapati et al, 2013; Ghosh et al., 2006; Gayou et al., 2010).

La biopelícula necesita un período de tiempo para adaptarse a las condiciones del sistema, un día con operación en lote fue suficiente para su adaptación. El período de adaptación fue rápido con concentraciones de 50 a 400 ppm. A concentraciones de Zn de 450 y 500 ppm la biopelícula necesitó un período más largo de adaptación, sin embargo, después de esto, la producción de sulfuro llegó a 265 mg H₂S y la eficiencia de remoción de sulfato alcanzo valores mayores a 80 %. Por lo que podríamos asumir que, la biopelícula podría soportar cargas mayores de Zn. Además la disminución de sulfuro durante los últimos 2 períodos es más evidente que en los otros períodos, ya que a mayor concentración de metal, mayor consumo de sulfuro como ZnS.

En este trabajo la relación DQO/SO₄²⁻ fue muy importante. La biopelícula tuvo un mejor desempeño con una relación de 1.34, ya que se obtuvo una remoción de sulfato hasta del 82%, producción de sulfuro de 313 mg H₂S/L y remoción de DQO de 80 % a comparación de la relación DQO/SO₄²⁻ de 0.67, donde se obtuvo una máxima remoción de sulfato de 26%, producción de sulfuro de 147 mg H₂S/L y remoción de DQO de 74%.

De manera general podemos concluir que el proceso biológico de sulfato reducción mediante una biopelícula sulfidogénica es una alternativa efectiva para la formación de nanopartículas de ZnS a partir del sulfuro generado por las BSR y del Zn presente en aguas

residuales. Sin embargo, es necesario realizar más pruebas para corroborar estas aseveraciones, ya que las aguas residuales contienen mayores concentraciones de Zn. Además que para obtener partículas de ZnS de tamaño nanométrico es importante la concentración del estabilizante, velocidad de agitación, pH y temperatura. La dispersión de las partículas depende de la técnica de lavados y del disolvente que se utiliza para eliminar la materia orgánica.

A manera de recomendación se propone:

*Realizar experimentos variando la relación DQO/SO_4^{2-} a valores cercanos a 2 o mayores, para comparar los resultados y verificar la relación DQO/SO_4^{2-} en la que existe una mayor eficiencia de remoción de DQO, SO_4^{2-} y Zn, además de una mayor producción de sulfuro.

*Realizar evaluaciones para establecer los límites de operación del reactor como TRH, concentración de zinc y velocidades de flujos.

*Realizar experimentos variando la concentración de PVP, con el fin de determinar la concentración óptima para obtener partículas dispersas de tamaño nanométrico.

*Evaluar la capacidad de la biopelícula con concentraciones mayores de Zn y establecer un límite de inhibición.

*Evaluar la capacidad de la biopelícula al estar expuesta a un agua residual de la industria.

REFERENCIAS

- Ahmad A., Mukherjee P., Mandal D., Senapati S., Khan M. I., Kumar R., Sastry M. (2002). Enzyme mediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum*. *Journal of the American Chemical Society*, 124(41), 12108-12109.
- 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.
- Bai H., Kang Y., Quan H., Han Y., Sun J., Feng Y. (2013). Treatment of acid mine drainage by sulfate reducing bacteria with iron in bench scale runs. *Bioresource technology*, 128, 818-822.
- Behboudnia M., Majlesara M. H., Khanbabaee B. (2005). Preparation of ZnS nanorods by ultrasonic waves. *Materials Science and Engineering: B*, 122(2), 160-163.
- Betancourth M., Botero J. E., Rivera S. P. (2004). Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. *Colombia Médica*, 35(3), 34-39.
- Bodo B., Kalita P. K. (2010). Chemical Synthesis of ZnS:Cu Nanosheets. In *AIP Conference Proceedings*, 1276(1), 31-36.

- 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). Centro de investigación y estudios de posgrado (CIEP), 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.
- Branda S. S., Vik A., Friedman L., Kolter R. (2005). Biofilms: the matrix revisited. *TRENDS in Microbiology*, 13(1), 20-26.
- Bratkova S. G., Angelov A. T., Nikolova K. T., Loukanov A. R., Plochev S. K. (2011). Removal of Cu, Fe, Ni and Zn ions from waters with microbial produced hydrogen sulfide. *Annual of the university of mining and geology*, 54, 175-180.
- Bruins M. R., Kapil S., Oehme F. W. (2000). Microbial resistance to metals in the environment. *Ecotoxicology and environmental safety*, 45(3), 198-207.
- 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.
- Cañizares-Villanueva R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología-México*, 42(3), 131-143.
- 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.
- Castillo J., Pérez-López R., Caraballo M. A., Nieto J. M. (2011). Precipitación de esfalerita y wurtzita por bacterias sulfato-reductoras. *Revista de la sociedad española de mineralogía*, 15, 57-58.
- 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.
- Chen Y., Cheng J. J., Creamer K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource technology*, 99(10), 4044-4064.
- Chen J., Li Y., Wang Y., Yun J., Cao D. (2004). Preparation and characterization of zinc sulfide nanoparticles under high-gravity environment. *Materials research bulletin*, 39(2), 185-194.
- Choi E., Rim J. M. (1991). Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment. *Water science and technology*, 23(7-9), 1259-1264.
- Chopra N. (2010). Multifunctional and multicomponent heterostructured one-dimensional nanostructures: advances in growth, characterisation, and applications. *Materials Technology*, 25(3-4), 212-230.
- Church C. D., Wilkin R. T., Alpers C. N., Rye R. O., McCleskey R. B. (2007). Microbial sulfate reduction and metal attenuation in pH 4 acid mine water. *Geochemical Transactions*, 8(1), 10.
- 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.

- Dar S. A., Kleerebezem R., Stams A. J. M., Kuenen J. G., Muyzer G. (2008). Competition and coexistence of sulfate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulfate ratio. *Applied microbiology and biotechnology*, 78(6), 1045-1055.
- Di Stefano M. C., Cabanillas E. D., Trigubo A. B., Rodriguez Torres C., Walsoe de Reca 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.
- Dvorak D., Hendin R., Edenborn H., McIntire, P. (1992). Treatment of metal-contaminated water using bacterial sulfate reduction: Results from pilot scale reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 40(5), 609-616.
- Eisler R. (1993). Zinc Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. *Contaminant Hazard Reviews*.
- Fang X., Zhai T., Gautam U. K., Li L., Wu L., Bando Y., Golberg D. (2011). ZnS nanostructures: From synthesis to applications. *Progress in Materials Science*, 56(2), 175-287.
- 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). Centro de investigación y estudios de posgrado (CIEP), Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
- Flores Aguilar B. (2010). Influencia del sustrato e inóculo en la formación de biopelícula sulfatorreductora en un reactor de lecho fluidificado inverso (Tesis de Maestría). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), 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.

- Gayou V. L., Salazar-Hernández B., Delgado Macuil R., Zavala G., Santiago P., Plova A. I. (2010). Structural studies of ZnS nanoparticles by high resolution transmission electron microscopy. *Journal of Nano Research*, 9, 125-132.
- 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.
- Hazra C., Kundu D., Chaudhari A., Jana T. (2013). Biogenic synthesis, characterization, toxicity and photocatalysis of zinc sulfide nanoparticles using rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* BS01 as capping and stabilizing agent. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 88(6), 1039-1048.
- Hernández Mainet L. C. (2012). Fabricación y caracterización de recubrimientos nanoestructurados de TiN. (Tesis Doctoral). Instituto Politécnico Nacional, Tamaulipas, México.
- Herrera-Becerra R., Rius J. L., Zorrilla C. (2010). Tannin biosynthesis of iron oxide nanoparticles. *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, 100(2), 453-459.
- Herrero Villalibre D. (2010). Desarrollo de procesos hidrometalúrgicos para la fabricación de zinc a partir de óxido waelz (Tesis doctoral). Universidad del País Vasco. Bilbao, España.
- Hoa T. T. H., Liamleam W., Annachhatre A. P. (2007). Lead removal through biological sulfate reduction process. *Bioresource technology*, 98(13), 2538-2548.
- Hudlikar M., Joglekar S., Dhaygud M., Kodam K. (2012). Latex-mediated synthesis of ZnS nanoparticles: green synthesis approach. *Journal of Nanoparticle Research* 14(5), 865.

- Hughes M. N., Poole R. K. (1991). Metal speciation and microbial growth—the hard (and soft) facts. *Microbiology*, 137(4), 725-734.
- 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.
- Jong T., Parry D. (2003). Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs. *Water Research*, 37(14), 3379–3389.
- Kaksonen A. H., Riekkola-Vanhanen M. L., Puhakka J. A. (2003). Optimization of metal sulphide precipitation in fluidized-bed treatment of acidic wastewater. *Water Research*, 37(2), 255–266.
- Kaksonen A. H., Puhakka J. A. (2007). Sulfate reduction based bioprocesses for the treatment of acid mine drainage and the recovery of metals. *Engineering in Life Sciences*, 7(6), 541-564.
- Kho R., Torres-Martinez C. L., Mehra R. K. (2000). A simple colloidal synthesis for gram-quantity production of water-soluble ZnS nanocrystal powders. *Journal of colloid and interface science*, 227(2), 561-566.
- Khiew P. S., Radiman S., Huang N. M., Ahmad M. S., Nadarajah K. (2005). Preparation and characterization of ZnS nanoparticles synthesized from chitosan laurate micellar solution. *Materials Letters*, 59(8), 989-993.
- Kikot P. A. (2012). Bioprecipitación de metales pesados por bacterias reductoras de sulfato aisladas de muestras ambientales (Tesis doctoral). Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires, Argentina.
- 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.

- Kole A. K., Kumbhakar P. (2012). Cubic-to-hexagonal phase transition and optical properties of chemically synthesized ZnS nanocrystals. *Results in Physics*, 2, 150-155.
- Kousi P., Remoundaki E., Hatzikioseyan A., Tsezos M. (2015). Sulphate-reducing bioreactors: current practices and perspectives. *IWA Balkan Young Water Professionals 2015*, 10(12), 409-417.
- Kowshik M., Vogel W., Urban J., Kulkarni S. K., Paknikar K. M. (2002). Microbial synthesis of semiconductor PbS nanocrystallites. *Advanced Materials*, 14(11), 815-818.
- 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.
- 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.
- Lenggoro I. W., Okuyama K., de la Mora J. F., Tohge N. (2000). Preparation of ZnS nanoparticles by electrospray pyrolysis. *Journal of Aerosol Science*, 31(1), 121-136.
- Lens P., Pol L. H. (2000). Environmental technologies to treat sulfur pollution. International Water Association. Londres.
- Liamleam W., Annachhatre A. P. (2007). Electron donors for biological sulfate reduction. *Biotechnology advances*, 25(5), 452-463.
- Luptakova A., Kusnierova M. (2005). Bioremediation of acid mine drainage contaminated by SRB. *Hydrometallurgy*, 77(1), 97-102.
- Macías Rodríguez X. K. M. (2015). Recuperación de zinc, cadmio y cobre contenidas en soluciones procedentes de una refinera 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.

- Mala J. G. S., Rose C. (2014). Facile production of ZnS quantum dot nanoparticles by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 2918. *Journal of biotechnology*, 170, 73-78.
- Malarkodi C., Annadurai G. (2013). A novel biological approach on extracellular synthesis and characterization of semiconductor zinc sulfide nanoparticles. *Applied Nanoscience*, 3(5), 389-395.
- Manahan S. E. (2007). *Introducción a la química ambiental (Primera edición)*. Reverté.
- 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.
- Mirzadeh S., Darezereshki E., Bakhtiari F., Fazelipour M. H., Hosseini M. R. (2013). Characterization of zinc sulfide (ZnS) nanoparticles biosynthesized by *Fusarium oxysporum*. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 16(2), 374-378.
- Monroy Cruz Y. Y. (2014). *Bacterias Sulfato Reductoras. Especialización en Planeación Ambiental y Manejo Integral de los Recursos Naturales*, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.
- Montalvo Espinoza G. Y. (2013). *Reducción y precipitación de Cr (VI) de aguas residuales a partir de un sistema sulfato (Tesis de Maestría)*. Centro de investigación y estudios de posgrado (CIEP). Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

- Moon J. W., Ivanov I. N., Joshi P. C., Armstrong B. L., Wang W., Jung, H., Rondinone A. J., Jellison G. E., Meyer III H. M., Jang G. G., Meisner, R. A., Duty C. E., Phelps T. J. (2014). Scalable production of microbially mediated zinc sulfide nanoparticles and application to functional thin films. *Acta biomaterialia*, 10(10), 4474-4483.
- 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.
- Narayanan J., Ramji R., Sahu H., Gautam P. (2010). Synthesis, stabilisation and characterisation of rhamnolipid-capped ZnS nanoparticles in aqueous medium. *IET Nanobiotechnology* 4(2), 29-34.
- Narayanan K. B., Sakthivel N. (2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in colloid and interface science*, 156(1-2), 1-13.
- Nath S. S., Chakdar D., Gope G., Avasthi D. K. (2008). Characterization of CdS and ZnS quantum dots prepared via a chemical method on SBR latex. *Azoojono-Journal of Nanotechnology online*.

- Nayono S. E. (2010). Anaerobic digestion of organic solid waste for energy production (Vol. 46). KIT Scientific Publishing.
- 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.
- 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(2-3), 119-136.
- Panda S. K., Datta A., Chaudhuri S. (2007). Nearly monodispersed ZnS nanospheres: synthesis and optical properties. *Chemical Physics Letters*, 440(4), 235-238.
- Parra Chavez D. C. (2008). Aislamiento y caracterización bioquímica y morfológica de bacterias reductoras de sulfato (BRS) provenientes de aguas de producción de un campo petrolero (Tesis de Licenciatura). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- 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.
- 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.
- Quynh Hoa T. T., Van Vu L., Dinh Canh T., Ngoc Long N. (2009). Preparation of ZnS nanoparticles by hydrothermal method. *Journal of Physics: Conference Series*, 187(1), 1-6.
- Rabus R., Hansen T. A., Widdel, F. (2006). Dissimilatory sulfate-and sulfur-reducing prokaryotes. In *The prokaryotes* (pp. 659-768). Springer, New York, NY.
- Rahimi-Nasarabadi M. (2014). Electrochemical Synthesis and Characterization of Zinc Sulfide Nanoparticles. *Journal of Nanostructures*, 4(2), 211-216.
- Rubio Armendáriz C. (2002). Ingesta dietética de contaminantes metálicos (Hg, Pb, Cd, Fe, Cu, Zn y Mn) en la Comunidad Autónoma Canaria. Evaluación toxicológica (Tesis de licenciatura), Universidad de la Laguna, Tenerife, España.
- Rubio C., González Weller D., Martín-Izquierdo R. E., Revert C., Rodríguez I., Hardisson A. (2007). El zinc: oligoelemento esencial. *Nutrición hospitalaria*, 22(1), 101-107.
- Ríos Alveal J. E. (2002). Formación de biopelículas por adherencia bacteriana a probetas de cobre (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias Agrarias. 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.
- Sahinkaya E., Gungor M., Bayrakdar A., Yucesoy Z., Uyanik S. (2009). Separate recovery of copper and zinc from acid mine drainage using biogenic sulfide. *Journal of Hazardous Materials*, 171(1), 901-906.
- San German Pérez S. E. (2015). Síntesis de nanopartículas de Au₂O₃ por el método de biorreducción (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, México.

- Sancho J., Verdeja L. F., Ballester A. (2000). Metalurgia Extractiva. Vol II. Procesos de obtención. Editorial Sintesis, España, 245-294.
- Sastry M., Ahmad A., Khan A., Kumar R. (2003). Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Current Science*, 85(2), 162-170.
- 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).
- Senapati U. S., Jha D. K., Sarkar D. (2013). Green Synthesis and Characterization of ZnS nanoparticles. *Research Journal of Physical Sciences*, 1(7), 1-6.
- Šileikaitė A., Prosyčėvas I., Puišo J., Juraitis A., Guobienė A. (2006). Analysis of silver nanoparticles produced by chemical reduction of silver salt solution. *Materials Science-Medžiagotyra*, 12(4), 1392-1320.
- SNMPE. Sociedad Nacional de Minería, Petróleo y Energía (2012). Sitio Web: <http://www.snmpe.org.pe/>
- 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. Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), 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.
- Somlev V., Banov M. (1998). Three stage process for complex biotechnological treatment of industrial wastewater from uranium mining. *Biotechnology techniques*, 12(8), 637-639.

- 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.
- Stoodley P., Sauer K., Davies D. G., Costerton J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 187-209.
- Stumm W., Morgan J. (2012). *Aquatic Chemistry: Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. Environmental Science and Technology: A Wiley-Interscience Series of Texts and Monographs.
- Thakkar J. N., Dalwadi P., Dhandhukia P. C. (2013). Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* JT1, a Plant Pathogenic Fungus. *ISRN Biotechnology* 2013, 1-5.
- Tuppurainen K. O., Vaisanen A. O., Rintala J. A. (2002). Sulphate-reducing laboratory-scale high-rate anaerobic reactors for treatment of metal and sulphate-containing mine wastewater. *Environmental technology*, 23(6), 599-608.
- Utgikar V. P., Chen B. Y., Chaudhary N., Tabak H. H., Haines J. R., Govind R. (2001). Acute toxicity of heavy metals to acetate-utilizing mixed cultures of sulfate-reducing bacteria: EC100 and EC50. *Environmental toxicology and chemistry*, 20(12), 2662-2669.
- 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., Beeksma 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.

- Xia Y., Yang P., Sun Y., Wu Y., Mayers B., Gates B., Yin Y., Kim F., Yan H. (2003). One-dimensional nanostructures: Synthesis, characterization, and applications. *Advanced Materials*, 15(5), 353-389.
- 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.
- Wang L. P., Hong G. Y. (2000). A new preparation of zinc sulfide nanoparticles by solid-state method at low temperature. *Materials research bulletin*, 35(5), 695-701.
- Wang L., Tao X. T., Yang J. X., Ren Y., Liu Z., Jiang M. H. (2006). Preparation and characterization of the ZnS nanospheres with narrow size distribution. *Optical Materials*, 28(8), 1080-1083.
- Widdel F., Bak F. (1992). Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria. In *The prokaryotes* (pp. 3352-3378). Springer, New York, NY.
- Zandvoort M., Hullebusch, V., Fermoso E., Gonzalez F., Lens, P. (2006). Trace metals in anaerobic granular sludge reactors: bioavailability and dosing strategies. *Engineering Life Science*, 6, 293–301.
- Zhang M., Wang H., Han X. (2016). Preparation of metal-resistant immobilized sulfate reducing bacteria beads for acid mine drainage treatment. *Chemosphere*, 154, 215-223.
- 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), 25-29.

ANEXOS

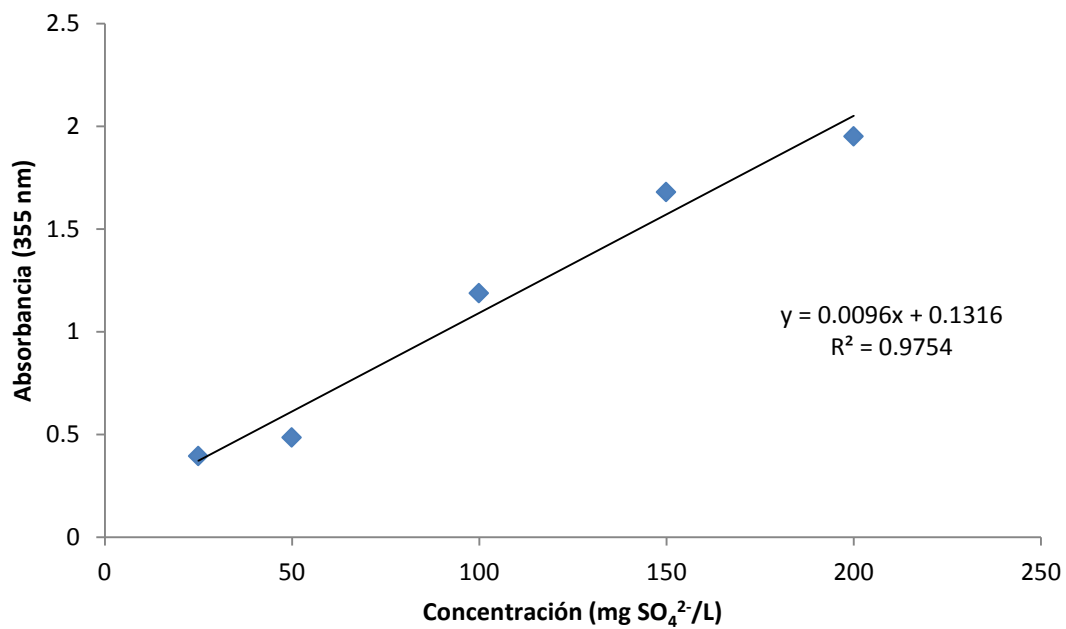
A. Fotografía del reactor LFI para la recuperación de nanopartículas de ZnS



Figura A. Fotografía del aspecto visual del reactor de lecho fluidificado inverso para la recuperación de nanopartículas de ZnS.

B. Curva de calibración para la determinación de sulfatos

a)



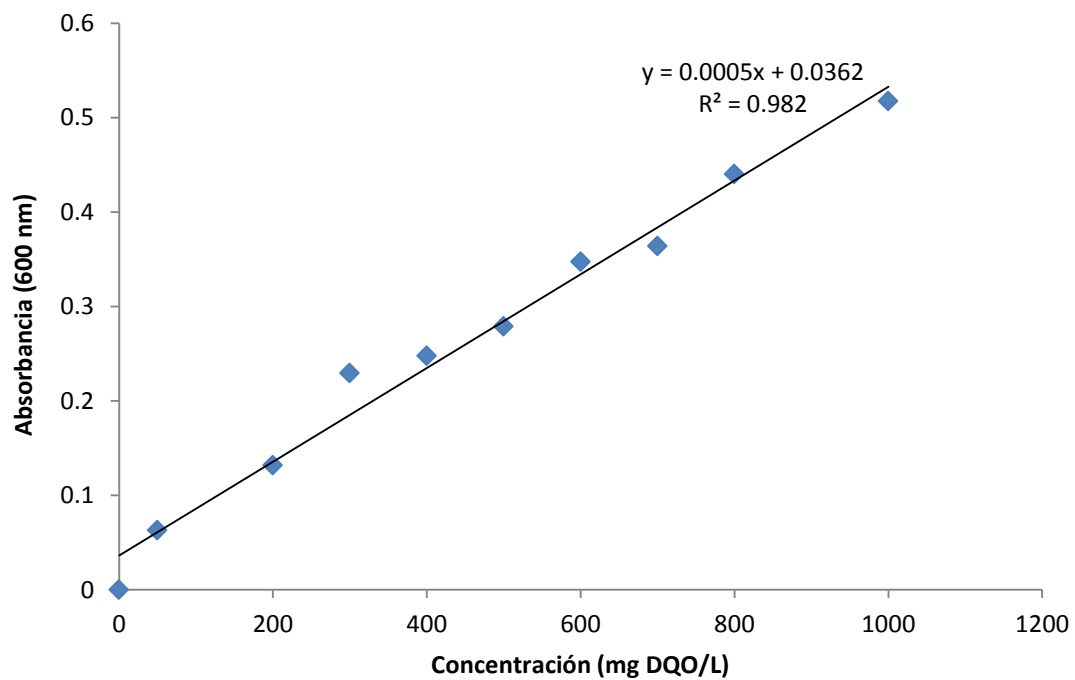
b)



Figura B. a) Curva de calibración para la determinación de sulfatos, b) imagen de la reacción de precipitación (APHA, 2005).

C. Curva de calibración para la determinación de DQO

a)



b)

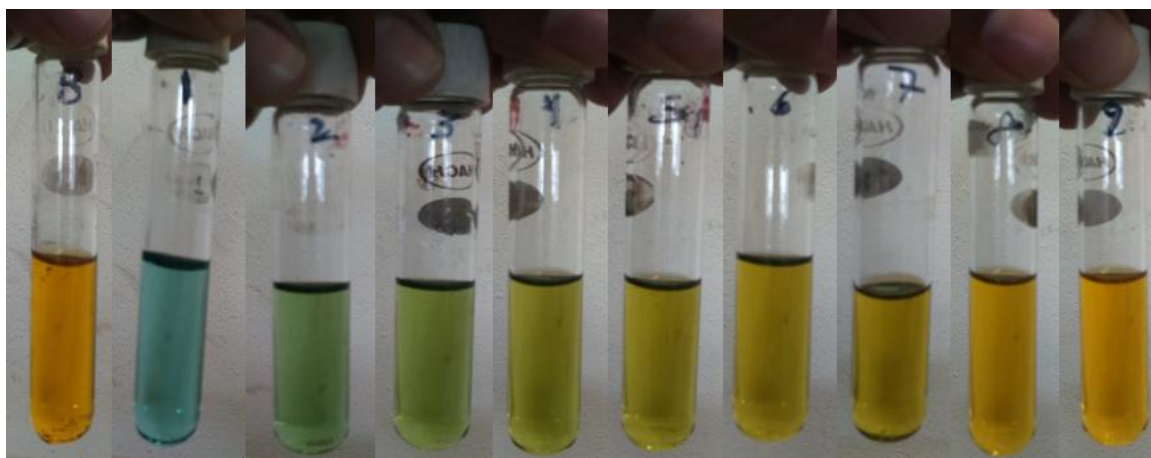


Figura C. a) Curva de calibración para determinar DQO, b) imagen de la oxidación de la materia orgánica (APHA, 2005).

D. Curva de calibración para la determinación de la actividad sulfato reductora (ASR)

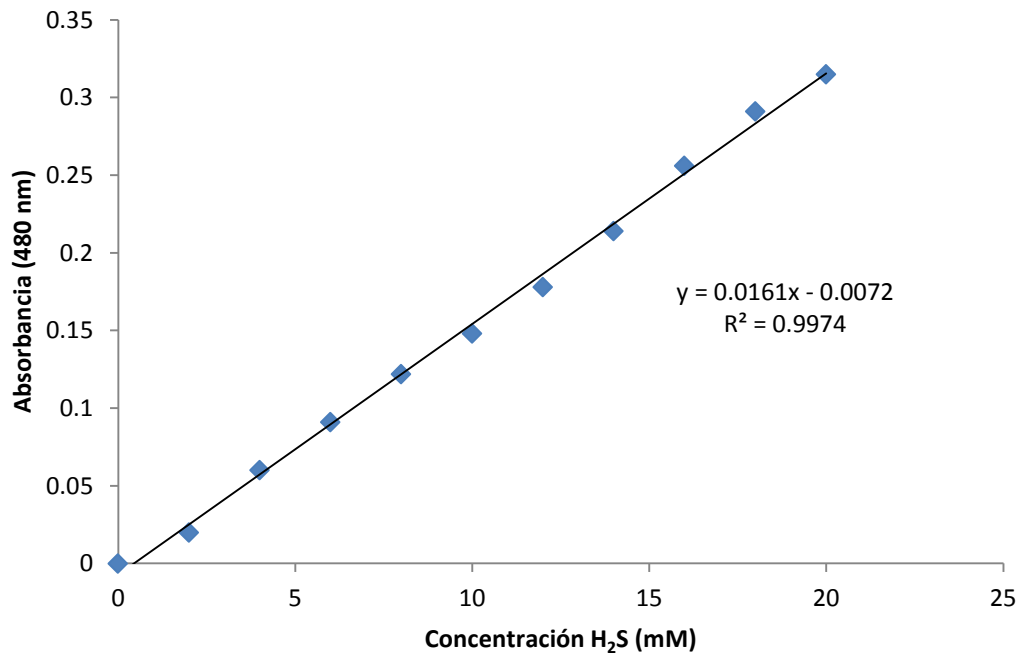


Figura D. Curva de calibración de la actividad sulfato reductora (ASR).

E. Soporte

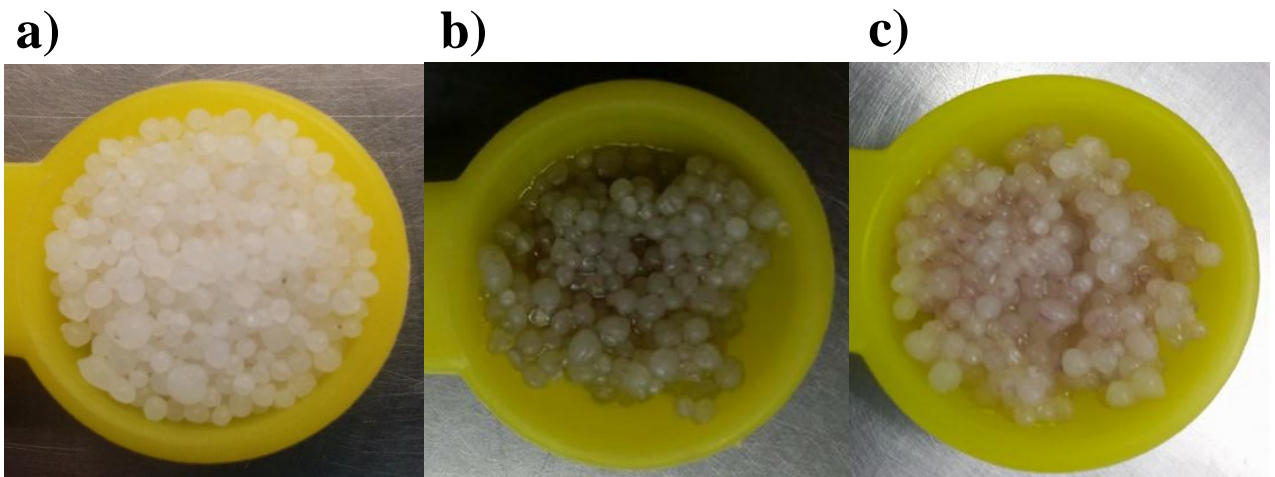


Figura E. Soporte de polietileno de baja densidad. a) Soporte limpio, b) con biopelícula, c) biopelícula expuesta a Zn.