



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

**Precipitación bioquímica de cromo hexavalente mediante
bacterias anaerobias para el saneamiento de aguas residuales**

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Maestría en Tecnología y Gestión del Agua

Presenta:

Ing. José Isabel Rivera Benítez

Asesora:

Dra. Marisol Gallegos García

San Luis Potosí, S. L. P.

Agosto de 2024



20 de junio de 2024

ING. JOSÉ ISABEL RIVERA BENÍTEZ
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 junio del presente, fue aprobado el Temario propuesto:

TEMARIO:

"Precipitación bioquímica de cromo hexavalente mediante bacterias anaerobias para el saneamiento de aguas residuales"

Introducción.

1. Antecedentes del cromo (VI) y su toxicidad: Proceso biológico para el saneamiento de aguas residuales.
2. Materiales y métodos para la remoción de cromo (VI) en pruebas en lote y en continuo con bacterias anaerobias.
3. Comportamiento de bacterias anaerobias expuestas a distintas concentraciones de cromo (VI) en pruebas en lote.
4. Remoción de Cr (VI) a partir de una biopelícula anaerobia en un reactor de lecho fluidificado inverso.

Conclusiones.

Referencias.

"MODOS ET CUNCTARUM RERUM MENSURAS AUDEBO"

A T E N T A M E N T E



DR. EMILIO JORGE GONZÁLEZ GALVÁN
DIRECTOR.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE INGENIERÍA
DIRECCION

Tabla de contenido

Introducción	1
1. Antecedentes del cromo (VI) y su toxicidad: Proceso biológico para el saneamiento de aguas residuales	3
1.1. Generalidades del cromo.....	3
1.1.1. Compuestos de cromo	4
1.2. Usos en la industria y concentraciones de Cr (VI).....	5
1.3. Toxicidad del cromo	5
1.4. Límites máximos permisibles del cromo en el agua	6
1.5. Procesos para el tratamiento de aguas residuales	9
1.5.1. Procesos fisicoquímicos	9
1.5.2. Procesos biológicos	9
1.6. Digestión anaerobia	10
1.7. Reactor LFI	15
1.8. Biopelícula.....	15
1.9. Justificación.....	16
1.10. Objetivos.....	17
1.10.1. Objetivo General.....	17
1.10.2. Objetivos específicos.....	17
2. Materiales y métodos para la remoción de cromo (VI) en pruebas en lote y en continuo con bacterias anaerobias	19
2.1. Actividad metanogénica específica expuesta a cromo	19
2.2. Inóculo.....	20
2.3. Solución de elementos traza	20
2.4. Solución stock 10x para actividad metanogénica	21
2.5. Cinética Química	21
2.6. Pruebas en lote con lodo metanogénico sin exposición a Cr (VI).....	22
2.7. Reactor de lecho fluidificado inverso	22
2.7.1. Material de soporte	23
2.7.2. Inoculo y sustrato orgánico para el reactor LFI.....	23
2.7.3. Parámetros operacionales del reactor LFI	23
2.8. Medios para cultivo	25
2.8.1. Solución stock 10x para reactor	25
2.9. Métodos	25
2.9.1. Análisis de pH.....	25

2.9.2	<i>Análisis de ORP</i>	25
2.9.3	<i>Análisis de alcalinidad</i>	26
2.9.4	<i>Análisis de DQO por método de reflujo cerrado</i>	26
2.9.5	<i>Análisis de Cr (VI) por método colorimétrico</i>	27
2.9.6	<i>Análisis de Cr total por método colorimétrico</i>	27
2.9.7	<i>Análisis mineralógico del precipitado recuperado</i>	28
2.9.8	<i>Análisis de Sólidos Volátiles, Fijos y Totales</i>	28
2.9.9	<i>Análisis de Sólidos Volátiles Inmovilizados</i>	29
2.9.10	<i>Análisis por Espectroscopía Infrarroja (IR)</i>	30
2.10	<i>Cálculos</i>	30
2.10.1	<i>Estequiometrías</i>	30
2.10.2	<i>Cálculo de sólidos totales, fijos y volátiles:</i>	30
2.10.3	<i>Cálculo de sólidos volátiles inmovilizados</i>	31
2.10.4	<i>Eficiencia de remoción de DQO</i>	31
2.10.5	<i>Determinación de alcalinidad</i>	32
2.10.6	<i>Determinación de Cr (III)</i>	32
2.10.7	<i>Eficiencia de remoción de Cr (VI)</i>	32
3.	<i>Comportamiento de bacterias anaerobias expuestas a distintas concentraciones de cromo (VI) en pruebas en lote</i>	34
3.1	<i>Pruebas en lote con lodo metanogénico expuesto a concentraciones incrementales de Cr (VI) ..</i>	34
3.1.2	<i>Determinación de Cr (VI), Cr (III) y Cr total</i>	42
3.1.2	<i>Caracterización del precipitado</i>	46
3.2	<i>Pruebas en lote con sustrato orgánico expuesto a Cr (VI)</i>	48
3.2.1	<i>Cinética química: producción de metano</i>	49
3.2.2	<i>Determinación del ORP y pH</i>	50
3.3	<i>Pruebas en lote con lodo metanogénico sin exposición a Cr (VI)</i>	53
3.3.1	<i>Determinación de ORP, pH y DQO</i>	54
4.	<i>Remoción de Cr (VI) a partir de una biopelícula anaerobia en un reactor de lecho fluidificado inverso</i>	57
4.1	<i>Operación del reactor LFI</i>	57
4.1.1	<i>Desempeño del reactor LFI</i>	57
4.2	<i>Cinética con biopelícula</i>	65
4.2.1	<i>Cinética con biopelícula a diferentes tiempos de operación del reactor</i>	65
	<i>Conclusiones</i>	69
	<i>Referencias</i>	72

Anexos	76
<i>A. Evidencia fotográfica de pruebas</i>	<i>76</i>
<i>B. Curva de calibración de DQO</i>	<i>80</i>
<i>C. Curva de calibración de Cr (VI)</i>	<i>81</i>
<i>D. Análisis en IR de medio de botellas con biopelícula</i>	<i>82</i>

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1	Propiedades químicas del cromo. Fuente: Lenntech, (2023)	3
Tabla 1.2	Especificaciones sanitarias de metales por la NOM-127-SSA1-2021. Fuente: SSA, (2022)	6
Tabla 1.3	Especificaciones sanitarias de metales por la NOM-201-SSA1-2015. Fuente: SSA, (2015)	6
Tabla 1.4	Límites máximos permisibles para metales en aguas residuales que se descargan a cuerpos receptores. Fuente: SEMARNAT, (2022)	8
Tabla 1.5	Límites máximos permisibles para metales en aguas residuales que se descargan al alcantarillado urbano o municipal. Fuente: SEMARNAT, (1998)	8
Tabla 2.1	Reacciones metanogénicas (Ruiz Castillo et al., 2016)	20
Tabla 2.2	Compuestos necesarios para la preparación de solución 10x para actividad metanogénica. Fuente: Montalvo et al. (2013).	21
Tabla 2.3	Condiciones de operación del reactor LFI en continuo	24
Tabla 2.4	Composición del medio de cultivo para reactor 10x. Fuente: Montalvo et al. (2013)	25
Tabla 2.5	Condiciones iniciales para la prueba de actividad metanogénica específica	27
Tabla 2.6	Condiciones iniciales de operación del reactor LFI	27
Tabla 3.1	Resultados de las pruebas en lote con y sin bacterias anaerobias expuestas a diferentes concentraciones de Cr (VI)	45
Tabla 4.1	Resumen del desempeño del reactor LFI bajo condiciones metanogénicas	64
Tabla 4.2	Desempeño de la biopelícula extraída del reactor LFI al estar expuesta a diferentes concentraciones de Cr (VI)	67
Tabla 1.1	Propiedades químicas del cromo. Fuente: (Lenntech, 2023)	3
Tabla 1.2	Especificaciones sanitarias de metales por la NOM-127-SSA1-2021. Fuente: (SSA, 2022)	6
Tabla 1.3	Especificaciones sanitarias de metales por la NOM-201-SSA1-2015. Fuente: (SSA, 2015)	6

Tabla 1.4	Límites máximos permisibles para metales en aguas residuales que se descargan a cuerpos receptores. Fuente: (SEMARNAT, 2022)	8
Tabla 1.5	Límites máximos permisibles para metales en aguas residuales que se descargan al alcantarillado urbano o municipal. Fuente: (SEMARNAT, 1998)	8
Tabla 2.1	Reacciones metanogénicas (Ruiz Castillo et al., 2016)	20
Tabla 2.2	Composición del medio de cultivo para reactor 10x. Fuente: Montalvo et al. (2013)	20
Tabla 2.3	Compuestos para preparación de elementos traza. Fuente: Montalvo et al. (2013)	21
Tabla 2.4	Compuestos necesarios para la preparación de solución 10x para actividad metanogénica. Fuente: Montalvo et al. (2013)	21
Tabla 2.5	Condiciones iniciales para la prueba de actividad metanogénica específica	27
Tabla 2.6	Condiciones iniciales de operación del reactor LFI	27
Tabla 3.1	Resultados de las pruebas en lote con y sin bacterias anaerobias expuestas a diferentes concentraciones de Cr (VI)	42
Tabla 4.1	Resumen del desempeño del reactor LFI bajo condiciones metanogénicas	61
Tabla 4.2	Desempeño de la biopelícula extraída del reactor LFI al estar expuesta a diferentes concentraciones de Cr (VI)	66

ÍNDICE DE IMÁGENES

Figura 1.1	Diagrama de Pourbaix del cromo, donde a partir de los +1.33 V el Cr (VI) se puede reducir a Cr (III). Fuente: (Montalvo-Espinoza et al., 2013)	4
Figura 1.2	Diagrama de la digestión anaerobia. Fuente: López-Vázquez et al. (2017)	11
Figura 3.1	Producción de CH ₄ en pruebas en lote con lodo granular metanogénico expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (◆), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x)	36
Figura 3.2	Determinación de a) Potencial oxido-reducción; b) pH; c) DQO remanente en pruebas en lote con lodo granular metanogénico expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (◆), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x)	38
Figura 3.3	Diagrama de Pourbaix de cromo en solución acuosa (Eh-pH) (Outokumpu, Research Oy, Finlandia)	42
Figura 3.4	a) Reducción de Cr(VI) y b) Producción de Cr(III) en pruebas en lote con lodo granular metanogénico expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (◆), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x)	44
Figura 3.5	Caracterización del precipitado. a: Micrografía y análisis por microscopía electrónica de barrido (MEB-EDAX) del mineral metálico recuperado, b: Diagrama del precipitado analizado por difracción de rayos-X	47
Figura 3.6	Cinética química para evaluar la producción de CH ₄ en pruebas en lote con etanol expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (◆), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L	50

Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (●), 450 mg/L Cr(VI) (●), 500 mg/L Cr(VI) (x)

Figura 3.7 Cinética química para la determinación del a) Potencial oxido-reducción; b) pH en pruebas en lote con etanol expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (●), 50 mg/L Cr(VI) (●), 100 mg/L Cr(VI) (●), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (●), 450 mg/L Cr(VI) (●), 500 mg/L Cr(VI) (x)

52

Figura 3.8 Producción de CH₄ en pruebas en lote con lodo granular metanogénico sin metal para evaluar su recuperación al estar expuestas a: 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (●), 50 mg/L Cr(VI) (●), 100 mg/L Cr(VI) (●), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (●), 450 mg/L Cr(VI) (●), 500 mg/L Cr(VI) (x)

54

Figura 3.9 Determinación de a) Potencial oxido reducción y b) pH, de las pruebas en lote con lodo granular metanogénico sin metal para evaluar su recuperación al estar expuestas a: 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (●), 50 mg/L Cr(VI) (●), 100 mg/L Cr(VI) (●), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (●), 450 mg/L Cr(VI) (●), 500 mg/L Cr(VI) (x)

56

Figura 4.1 Resultados de la operación del reactor. Donde (●) % Remoción de DQO, (●) DQO inicial (mg/L); (●) pH inicial, (●) pH de salida, (●) Alcalinidad (mg CaCO₃/L); (X) ORP (mV); (●) %eficiencia de remoción Cr (VI), (●) Cr (VI) entrada (mg/L), (●) Cr (VI) salida (mg/L). En la parte superior se indican los periodos en que se dividió la operación del reactor

63

Figura 4.2 Producción de metano al estar expuesta la biopelícula con 5 mg/L de Cr(VI) (●). Biopelícula expuesta a 100 mg/L de Cr(VI) (●) en un reactor LFI

67

Figura A.1 Valoración ácido-base del HCl con NaOH empleando fenoftaleína como indicador

76

Figura A.2	Configuración de reactor LFI	76
Figura A.3	Pesado de lodo para prueba de actividad metanogénica específica	77
Figura A.4	Preparación de soluciones para actividad metanogénica específica expuesta a concentraciones incrementales de Cr (VI)	77
Figura A.5	Medición de metano por método volumétrico	78
Figura A.6	Medición de metano a botellas expuestas a concentraciones incrementales de Cr (VI), se observa cambio en la coloración de la botella que indica reducción de Cr (VI)	78
Figura A.7	Botellas al final de las pruebas de actividad metanogénica específica de recuperación	79
Figura A.8	Medición de metano en cinética química	79
Figura B.1	Celdas para curva de calibración de DQO	80
Figura C.1	Preparación de curva de calibración de Cr (VI)	81
Figura D.1	Análisis de muestra de medio contenido en botellas con biopelícula. Se demuestra la presencia del grupo carboxilo del acetato	82

NOMENCLATURA

AME	Actividad Metanogénica Específica
AGV	Ácidos Grasos Volátiles
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades)
BM	Bacterias Metanogénicas
CaCO ₃	Carbonato de Calcio
CH ₄	Metano
CH ₃ CH ₂ OH	Etanol
CH ₃ COO ⁻	Acetato
CO ₂	Dióxido de Carbono
Cr	Cromo
Cr (0)	Cromo Elemental
Cr (III)	Cromo Trivalente
Cr (VI)	Cromo Hexavalente
CrO ₄ ²⁻	Cromato
Cr(OH) ₃	Hidróxido de Cromo
DQO	Demanda Química de Oxígeno
DRX	Difracción de Rayos X
EPA	Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental)
FDA	Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos)
HCl	Ácido Clorhídrico
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
HCrO ₄ ⁻	Ácido Crómico
K ₂ Cr ₂ O ₇	Dicromato de Potasio
LFI	Lecho Fluidificado Inverso
LMP	Límite Máximo Permisible
MEB	Microscopio Electrónico de Barrido
NaHCO ₃	Bicarbonato de Sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NOM	Norma Oficial Mexicana
OEHHA	Office of Environmental Health Hazard Assessment (Oficina de Evaluación de Peligros para la Salud Ambiental)
ORP	Oxidation Reduction Potential (Potencial óxido-reducción)
OSHA	Occupational Safety and Health Administration (Administración de Seguridad y Salud Ocupacional)
PD	Promedio Diario
PM	Promedio Mensual
SSA	Secretaría de Salud
SEMARNAT	Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales
SSF	Sólidos Suspendidos Fijos
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles
SVI	Sólidos Volátiles Inmovilizados
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente)
VI	Valor Instantáneo

DEDICATORIA

*A mi madre, que siempre me ha demostrado que no existen metas imposibles de alcanzar. Siempre me has guiado y apoyado en todo momento de mi vida. Me motivas diario a seguir luchando por superarme. No me alcanza la vida para agradecerte todo lo que has hecho por mí.
Te amo con todo mi corazón.*

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, porque a pesar de pasar momentos difíciles siempre tiene una actitud positiva para enfrentar los problemas. Has sido un ejemplo para mí.

A mi asesora, la Dra. Marisol Gallegos García que confió en mí y me brindó la oportunidad para la realización de este proyecto. Muchas gracias por guiarme y compartir su conocimiento, así como siempre estar al pendiente del proyecto y proporcionarme las facilidades para llevarlo a cabo. Admiro su dedicación y pasión por la enseñanza e investigación, ha sido una fuente de motivación para mí.

Agradezco profundamente a la M.C. Erika Judith Victorino, encargada del laboratorio de ciencias ambientales, y a la Ing. Edisa Correa Márquez por su profesionalismo, dedicación y su constante disposición de ayudar y de asegurarse que siempre tuviera lo necesario para llevar a cabo mis experimentos.

A la L.Q. Angélica Bear de la Torre, tus palabras de aliento y tu fe en mí, me ayudaron a seguir adelante. Gracias por ser mi refugio en los momentos más difíciles.

A mi perrita Mika, tu amor incondicional y tu presencia silenciosa convirtieron los días más difíciles en más llevaderos. Eres más que una mascota, eres mi compañera de vida.

Gracias al CONAHCYT por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

RESUMEN

El cromo es un metal pesado y sus formas más estables son el Cr (III) y Cr (VI) siendo este último la forma más tóxica que causa cáncer al ingerirlo. El Cr (VI) es empleado en procesos de metalurgia, electropintado, curtido y teñido que generan aguas residuales con altas concentraciones de Cr (VI).

El objetivo de este proyecto fue evaluar la reducción y precipitación de Cr (VI) contenido en aguas residuales mediante una biopelícula anaerobia en un reactor de lecho fluidificado inverso, para la reutilización del agua proveniente de efluentes industriales.

Primero se realizaron pruebas en lote donde se estudió el efecto tóxico del Cr (VI) sobre las bacterias anaerobias, las concentraciones fueron de 10 mg/L a 500 mg/L de Cr (VI). Los resultados obtenidos de la producción de metano mostraron a concentraciones de 10 mg/L a 350 mg/L Cr (VI) las bacterias anaerobias fueron capaces de degradar la materia orgánica ya que las botellas con lodo granular expuesto a estas concentraciones de Cr (VI) se posicionaron por encima de la botella con lodo granular sin Cr (VI) en el medio lo que nos indicó que no sufrieron de inhibición y, por el contrario, favoreció su metabolismo. Para las botellas con lodo granular con 400 mg/L a 500 mg/L de Cr (VI) se posicionaron por debajo de la botella con bacterias anaerobias sin Cr (VI) lo que nos indicó que para estas altas concentraciones de Cr (VI) resulta inhibitorio para ciertos grupos de bacterias anaerobias. Se obtuvo un porcentaje de eficiencia de remoción de DQO de 85%, el lodo granular redujo el ORP a valores de -350 mV y se mantuvo el pH entre 6.5 y 7.5 que, bajo estas condiciones, el Cr (VI) se redujo a Cr (III) y se precipitó como $\text{Cr}(\text{OH})_3$, se comprobó la existencia del precipitado por medio de su caracterización con MEB y DRX.

Después se estudió la reacción de oxidación entre el Cr (VI) y el sustrato orgánico donde el medio solo contenía etanol y Cr (VI) ya que éste último es un agente oxidante fuerte. Se emplearon las mismas concentraciones de Cr (VI) que, en la actividad metanogénica, se comprobó que el Cr (VI) oxidó al etanol y hubo producción de metano, pero fue solo el 1% del sustrato y, con ayuda de un balance entre cinéticas, el 99% fue por acción bacteriana, el pH registró valores entre 7.1 y 8.6 y el ORP entre 176 mV y -80 mV. Además, se realizó prueba de alcalinidad y se comprobó que, a mayor concentración de Cr (VI), mayor era la alcalinidad en el medio por la reacción de oxidación. Posteriormente, se evaluó la capacidad de recuperación de las bacterias anaerobias después de estar expuestas a Cr (VI) en el medio, para estas pruebas a las botellas con bacterias anaerobias se les añadió medio fresco sin Cr (VI). Se observó que las botellas con lodo granular que fueron expuestas a concentraciones de 10 mg/L a 250 mg/L de Cr (VI) estuvieron por encima de la botella sin Cr (VI) lo que nos indicó que las bacterias anaerobias en el lodo granular fueron capaces de recuperar la actividad de su metabolismo. Para las botellas con lodo granular que fue expuesto de 300 mg/L a 500 mg/L se posicionaron por debajo de la botella sin Cr (VI), lo que nos comprobó que el Cr (VI) causa inhibición en el metabolismo de las bacterias anaerobias.

Para finalizar, el reactor LFI se operó por 161 días, las concentraciones de Cr (VI) fueron de 5 mg/L a 100 mg/L y el TRH de 1d a 2d. Cuando el TRH se modificó a 1.5d y con una concentración de 35 mg/L de Cr (VI) se obtuvo una eficiencia de remoción de DQO de 62%, una eficiencia de reducción de Cr (VI) del 93% y un 98% de precipitado como $\text{Cr}(\text{OH})_3$, lo que nos indica que el TRH es un parámetro que influye en el reactor LFI. Se realizaron pruebas de actividad metanogénica con biopelícula formada en el reactor LFI cuando fue expuesta a 5 mg/L y 100 mg/L de Cr (VI) donde se obtuvieron resultados de 0.6% y 0.7% de degradación de sustrato por bacterias y 0.5 g SSV/L soporte y 0.43 g SSV/L soporte lo que nos indicó que solo una pequeña parte de las bacterias adheridas se desprendió del soporte esto por el aumento en la concentración de Cr (VI).

Este trabajo es el primero en evaluar la oxidación de la materia orgánica por la acción bacteriana y de manera química mediante el Cr (VI), así como la oxidación realizada por cada uno en pruebas en lote.

Introducción

El crecimiento acelerado de la población exige un eficiente aprovechamiento de los recursos naturales, dentro de éstos, destaca el agua por su vital importancia en la necesidad para la subsistencia de la sociedad. Sin embargo, la producción de bienes y productos destinados a satisfacer las necesidades de las personas ha ido generando impactos ambientales que afectan la salud de la comunidad, siendo la generación de efluentes con altas concentraciones de contaminantes entre los que podemos encontrar a los metales pesados.

La contaminación por el vertimiento de metales pesados es un tema de preocupación debido a su toxicidad ya que produce efectos negativos en el medio ambiente y salud humana. Entre estos metales se encuentra el cromo (Cr), que posee cinco estados de oxidación que van desde el Cr (II) a Cr (VI), siendo el cromo hexavalente [Cr (VI)] el más tóxico para los seres vivos.

Algunos de los procesos donde aún se emplea el Cr (VI) son: electropintado, textiles y teñido, recubrimiento anticorrosión y fabricación de aleaciones (Abd El-Monaem et al., 2024; Chandra et al., 1997; Li et al., 2024; Zahakifar et al., 2024). Su demanda como materia prima en múltiples sectores industriales genera altas concentraciones de Cr (VI) que, según Chandra et al. (1997), las aguas residuales provenientes de efluentes de estos procesos industriales pueden contener concentraciones de Cr que usualmente oscila entre el rango de los 2000 a 5000 µg/L; los daños a la salud que puede generar si se inhala o ingiere el Cr (VI) pueden ser el desarrollo de cáncer de pulmón y cáncer de estómago, esto a largo plazo; mientras que a corto plazo se puede sufrir anemia, úlceras, irritación tanto en el estómago como en las vías respiratorias, asma, falta de aliento, entre otros (ATSDR, 2012). Convirtiéndolo así, considerando su concentración y exposición, en un punto de atención inmediato.

Entre los procesos empleados para el tratamiento de aguas residuales según Foglia et al., (2022); Guan et al., (2023); Xu et al., (2024); Chan et al. (2009), podemos encontrar 2 tipos: los fisicoquímicos y los biológicos. Dentro de los procesos fisicoquímicos destaca el intercambio iónico y ósmosis inversa; los procesos biológicos son, por tanto, una alternativa económica prometedora al reducir la cantidad de lodos producidos. La ventaja de utilizar bacterias anaerobias, además de la producción de biogás, es que pueden disminuir el potencial de oxidación-reducción

(ORP) a condiciones reductoras, en las cuales diversos metales solubles pueden ser reducidos por la acción bacteriana, como sería el caso del cromo (VI) que puede llegar a ser reducido a cromo (III) y precipitado como un hidróxido metálico para posteriormente ser confinado o reutilizado para diversos procesos.

Las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) regulan los límites máximos permisibles (LMP) en aguas residuales que se vierten a bienes nacionales y/o al alcantarillado público, para el caso del cromo (VI), establece este límite entre los 0.5 a 1.5 mg/L, esto en sus normas NOM-001-SEMARNAT-2021, NOM-002-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997. Para el caso del agua para uso y consumo humano, la Secretaría de Salud (SSA) nos establece un LMP de 0.05 mg/L de cromo total, esto por la toxicidad y efectos del contaminante al que se hace mención anteriormente.

1. Antecedentes del cromo (VI) y su toxicidad: Proceso biológico para el saneamiento de aguas residuales

1.1. Generalidades del cromo

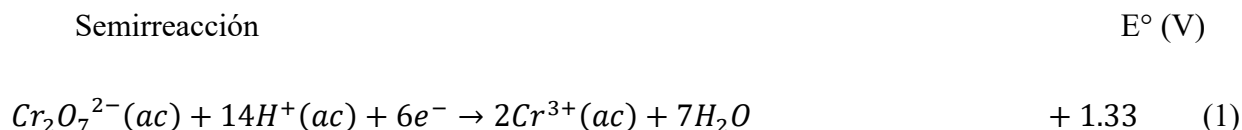
Dentro de los metales pesados destaca el cromo, el cuál es el tercer elemento más duro en la escala de Mohs; su nombre proviene del griego *chroma* que significa “color” y fue el químico francés Louis Nicolas Vauquelin, en 1797 en Siberia, quien le da su nombre, esto por los distintos colores que puede ser encontrado (Martínez-Reina, 2022). Cuenta con cinco estados de oxidación que van desde el Cr (II) hasta el Cr (VI) siendo este último, el cromo hexavalente, el más tóxico para los seres vivos y junto con el Cr (III) son las formas más estables que presenta el metal. El cromo es el elemento número 24 de la tabla periódica con un peso atómico de $51.996 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, su símbolo es Cr y pertenece al grupo 6, a continuación, en la tabla 1.1 se desglosan las propiedades químicas de este metal.

Tabla 1.1. Propiedades químicas del cromo. Fuente: (Lenntech, 2023)

Nombre y abreviatura del elemento	Cromo (Cr)
Número atómico	24
Masa atómica	$51.996 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Densidad	$7.19 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ a 20°C
Electronegatividad	1.6
Punto de fusión	1907°C
Punto de ebullición	2672°C
Radio de van der Waals	0.127 nm
Configuración electrónica	$[\text{Ar}] 3d^5 4s^1$
Potencial estándar	$-0.71 \text{ V (Cr}^{3+}/\text{Cr)}$

1.1.1. Compuestos de cromo

El diagrama de Pourbaix es una representación de las distintas especies que se pueden presentar a distintos voltajes y pH. Según Chang (2013), el cromo (VI) se puede reducir fácilmente a cromo (III) a partir de los +1.33V dándonos la siguiente reacción:



En la figura 1.1, podemos ver en la parte superior los estados de oxidación de cromo hexavalente, el compuesto HCrO_4^- corresponde al ácido crómico y CrO_4^{2-} es el ion cromato; debajo de estos tenemos al cromo trivalente representado por el ion Cr^{3+} y el hidróxido de cromo $\text{Cr}(\text{OH})_3$ y en la parte inferior está el cromo elemental o cromo cero $\text{Cr}(0)$. Para llegar a este último, de acuerdo con Chang (2013), el potencial necesario para pasar de cromo trivalente a cromo cero es de -740 mV por lo que las bacterias no son capaces de llevarlo a ese estado ya que su ORP óptimo llega hasta los -350 mV.

A continuación, se presenta la semirreacción química de Cr (III) a Cr (0) según Chang (2013):

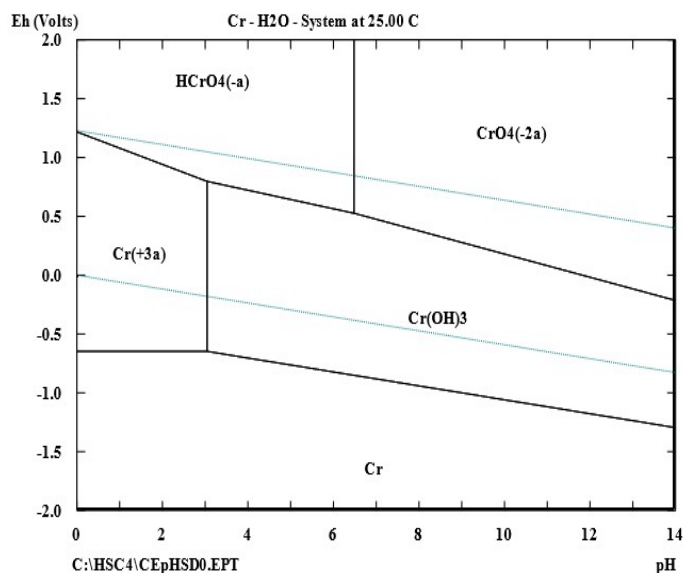


Figura 1.1. Diagrama de Pourbaix del cromo, donde a partir de los +1.33 V el Cr (VI) se puede reducir a Cr (III). Fuente: Montalvo-Espinoza et al., (2013)

1.2 Usos en la industria y concentraciones de Cr (VI)

El cromo es un elemento ampliamente utilizado en diversas industrias debido a sus propiedades únicas, como su resistencia a la corrosión y su capacidad para mejorar características mecánicas de los materiales. Entre los procesos industriales que emplean el cromo, se encuentra la galvanoplastia, que consiste en recubrir objetos metálicos con una fina capa de cromo mediante la aplicación de corriente eléctrica, lo que otorga un acabado brillante y resistente a la oxidación. En los procesos metalúrgicos, el cromo es empleado en la producción de acero inoxidable y aleaciones que mejoran resistencia y durabilidad al material. En la fabricación de pinturas, el cromo se utiliza en la producción de pigmentos como el amarillo cromo. Para la industria del papel, los compuestos de cromo son utilizados para el blanqueo del papel. En la industria del curtido de cueros, el cromo trivalente se emplea para consolidar las fibras de cuero, logrando que sean más resistentes y flexibles (Abd El-Monaem et al., 2024; Kumar & Riyazuddin, 2010; Li et al., 2024; Zahakifar et al., 2024), estos procesos generan grandes cantidades de aguas residuales con Cr (VI) que presentan un riesgo a la salud y al ambiente. En suelos hay una concentración promedio de Cr (VI) de 11 mg/L a 22 mg/L mientras que en aguas subterráneas es de 0.1 mg/L (American Public Health Association et al., 2017), estas concentraciones pueden llegar a afectar la productividad de suelos y las propiedades del agua potable.

1.3 Toxicidad del cromo

Las principales formas del cromo son Cr (0), Cr (III) y Cr (VI). El Cr (III) en pequeñas cantidades es necesario para mantener buena salud. En general, el cromo puede ser encontrado en el aire, suelo y agua, pero no permanece en la atmósfera, sino que se deposita en el suelo y agua pudiendo cambiar su forma dependiendo de las condiciones presentes. Los trabajadores que se desempeñan en la industria metalúrgica y del curtido de cueros son quienes están más expuestos a altas concentraciones de Cr (VI) en el aire, el cuál sus compuestos son carcinógenos. Las 3 principales maneras de estar en contacto con el cromo es mediante la inhalación, ingestión y/o contacto cutáneo. En caso de inhalación, los efectos a corto plazo que presentan las personas son secreción nasal, irritación de las vías respiratorias y problemas para poder respirar; para efectos a largo plazo

se puede presentar asma, alergias a compuestos de cromo y cáncer de pulmón. Si se ingesta el Cr (VI) daña el estómago y el intestino delgado produciéndose irritación y úlceras, también puede afectar la sangre desarrollando anemia, así como tumores de estómago e intestino (ATSDR, 2012; OEHHA, 2016).

1.4 Límites máximos permisibles del cromo en el agua

Las normas oficiales mexicanas (NOM) que establecen los límites máximos permisibles (LMP) en agua para su consumo son establecidas por la Secretaría de Salud (SSA), cuenta con 2 normas siendo una de ellas la “Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-2021, Agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad del agua” estableciendo el LMP para cromo total que debe cumplir la calidad de agua para uso y consumo humano como se indica a continuación en la tabla 1.2:

Tabla 1.2. Especificaciones sanitarias de metales por la NOM-127-SSA1-2021. Fuente: SSA, (2022)

Parámetro	Límite Permisible	Unidades
Cromo total	0.05	mg/L

La segunda norma de la SSA es la “Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias” que tiene por objetivo las especificaciones sanitarias que deben cumplir el hielo y agua que se comercializa para el consumo, para el LMP de cromo total lo fija como sigue:

Tabla 1.3. Especificaciones sanitarias de metales por la NOM-201-SSA1-2015. Fuente: SSA, (2015)

Parámetro	Límite Permisible	Unidades
Cromo total	0.05	mg/L

Para las aguas residuales, las normas son 3 y son instauradas por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT); la primera norma es “Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación”, los cuerpos receptores y el LMP se especifican en el encabezado de las columnas de la tabla 1.4.

La segunda norma es “Norma Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal.” esta NOM tiene el fin de prevenir y controlar la contaminación de agua hacia los bienes nacionales, a su vez indica que no es aplicable a la descarga de aguas residuales domésticas ni pluviales; esta NOM establece un LMP para el cromo hexavalente según la tabla 1.5.

La última norma es “Norma Oficial Mexicana NOM-003-ECOL-1997, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público.”, que considera tanto el contacto directo como indirecto del público con los espacios donde se emplearon estas aguas residuales tratadas, para los LMP de metales pesados hace referencia a la NOM-001-ECOL-1996 que fue actualizada a la NOM-001-SEMARNAT-2021 por lo cual se tomarían los LMP de la tabla 1.4.

Lo descrito anteriormente es aplicable para los Estados Unidos Mexicanos; para los Estados Unidos de América la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés) establece un LMP de 0.1 mg/L para agua potable, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) determina que para agua embotellada no debe exceder una concentración de 0.1 mg/L de cromo y la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) establece los LMP del aire en el lugar de trabajo de 0.005 mg/m³ para Cr (VI), 0.5 mg/m³ para Cr (III) y 1.0 mg/m³ para Cr (0) expuestos a una jornada de 8 horas (ATSDR, 2012).

Tabla 1.4. Límites máximos permisibles para metales en aguas residuales que se descargan a cuerpos receptores. Fuente: SEMARNAT, (2022)

Parámetro (mg/L)	Ríos, arroyos, canales, drenes			Embalses, lagos y lagunas			Zonas marinas mexicanas			Suelo								
										Riegos de áreas verdes			Infiltración y otros riegos			Cárstico		
	PM	PD	VI	PM	PD	VI	PM	PD	VI	PM	PD	VI	PM	PD	VI	PM	PD	VI
Cromo	1.0	1.25	1.5	0.5	0.75	1.0	1.0	1.25	1.5	0.5	0.75	1.0	0.5	0.75	1.0	0.5	0.75	1.0

Tabla 1.5. Límites máximos permisibles para metales en aguas residuales que se descargan al alcantarillado urbano o municipal. Fuente: SEMARNAT, (1998)

Parámetro (mg/L)	Promedio Mensual	Promedio Diario	Instantáneo
Cromo hexavalente	0.5	0.75	1.0

Promedio Diario (PD): Valor que resulta del análisis de una muestra compuesta o el resultado del promedio ponderado en función del caudal o de la media geométrica del promedio aritmético.

Promedio Mensual (PM): Es el valor que resulta de calcular el promedio ponderado en función del caudal de los valores que resulten del análisis de al menos dos muestras compuestas (Promedio Diario) colectadas en un mismo mes de los caudales de las muestras simples que conforman cada una de las muestras compuestas.

Valor Instantáneo (VI): Es el resultado obtenido del análisis de laboratorio a una muestra simple de agua residual colectada en la descarga, con motivo de una verificación realizada por la Comisión o la Procuraduría del cumplimiento de los parámetros de calidad.

1.5 Procesos para el tratamiento de aguas residuales

1.5.1 Procesos fisicoquímicos

Entre estos procesos podemos encontrar los siguientes:

Ósmosis inversa: éste es un proceso de separación que usa presión para pasar una solución a través de una membrana que retiene el soluto en un lado y deja pasar al solvente del otro lado (Bakalár et al., 2009).

Precipitación química: para este método se utilizan agentes químicos que demandan altas cantidades de dosis entre los que podemos encontrar metildietilcarbamato y tricarbonato de sodio (Soto et al., 2006).

Intercambio iónico: aquí se emplean resinas de intercambio iónico, así los iones disueltos en el agua pueden ser retenidos selectivamente. Como ejemplo los iones de Ca^{2+} pueden ser reemplazados por Na^+ de una resina para reducir la dureza presente en el agua (Nuria García-Mancha Delgado-Ureña, 2016).

1.5.2 Procesos biológicos

Para este caso destacan los siguientes:

Tratamiento con bacterias aerobias: Las bacterias aerobias son microorganismos que pueden desarrollarse en presencia de oxígeno. La limitante es que la degradación de la materia orgánica se fija en una concentración de hasta 1000 mg/L (Chan et al., 2009).

Tratamiento con bacterias anaerobias: Caso contrario a las bacterias aerobias, las bacterias anaerobias se desarrollan en ausencia de oxígeno y pueden degradar concentraciones mayores a los 1000 mg/L que soportan las aerobias, así como la diferencia entre la generación de lodos residuales es menor con las bacterias anaerobias (Chan et al., 2009).

Fitorremediación: El aprovechamiento de plantas seleccionadas para absorber, acumular y metabolizar metales pesados u otros contaminantes presentes en el suelo, agua y aire (Delgadillo-López et al., 2011).

Por lo descrito anteriormente, el presente trabajo se centrará en el tratamiento de aguas residuales empleando bacterias anaerobias y Cr (VI) como contaminante para su reducción y reutilización del agua.

1.6 Digestión anaerobia

En el proceso de la digestión anaerobia se degradan moléculas complejas, como lo son los carbohidratos o lípidos, hasta obtener moléculas más sencillas como el dióxido de carbono o metano, éste es un proceso bioquímico de degradación en serie y/o paralelo donde se involucran distintos tipos de bacterias; en la figura 1.2 se presenta un diagrama donde se esquematizan las etapas de la digestión anaerobia.

Para llegar hasta las moléculas más sencillas la digestión anaerobia pasa por distintas etapas como son la hidrólisis, fermentación alcohólica, acetogénesis y metanogénesis. La hidrólisis es la primera etapa del proceso donde los polímeros complejos presentes en la materia orgánica, como carbohidratos, grasas y proteínas, se descomponen en moléculas más simples, como azúcares, ácidos grasos y aminoácidos, a través de reacciones de hidrólisis; después de la hidrólisis, las bacterias fermentativas puedan transformar las moléculas en alcoholes y ácidos grasos, obteniendo como resultado hidrógeno y dióxido de carbono; la acetogénesis la cual tiene como producto el ácido acético a partir de la oxidación de ácidos grasos o alcoholes, así como la producción de hidrógeno y dióxido de carbono; el último paso es la metanogénesis que convierten los productos de la acetogénesis, principalmente el ácido acético y el hidrógeno, en metano y dióxido de carbono. (Costanza-Corrales et al., 2015).

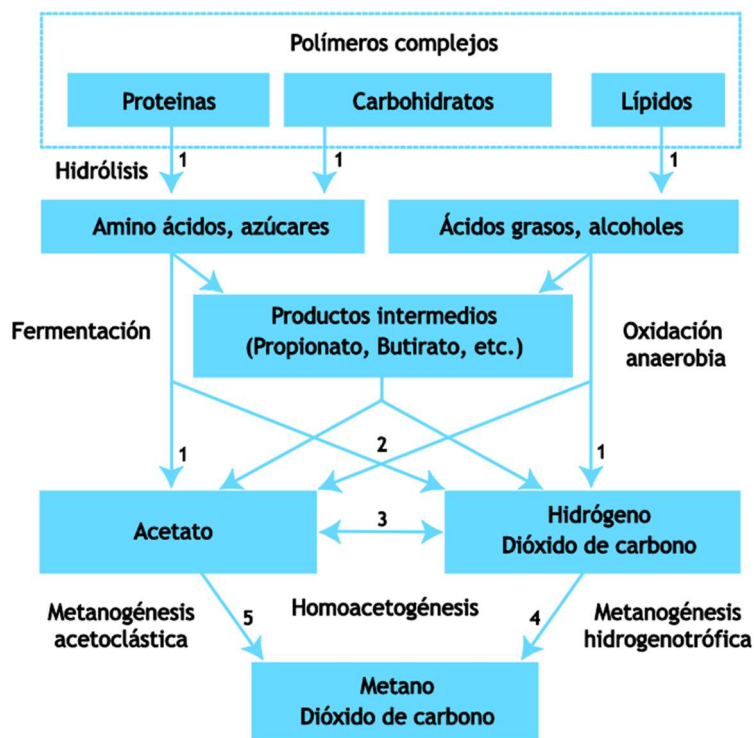


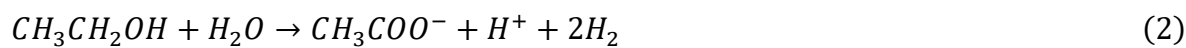
Figura 1.2. Diagrama de la digestión anaerobia. Fuente: (López-Vázquez et al. 2017)

A continuación, se presentan las reacciones químicas que están involucradas durante la digestión anaerobia de acuerdo con Costanza-Corrales et al., (2015):

Fermentación alcohólica o acidogénesis



Acetogénesis



Metanogénesis

Las bacterias metanogénicas pertenecen al grupo Archaea siendo anaerobias estrictas, el metano es el principal producto de su metabolismo energético. El pertenecer a este grupo las hace resistentes a diversos antibióticos comunes. La actividad metanogénica es mayor en ecosistemas

de aguas dulces y terrestres, en los océanos la actividad es menor debido a la alta concentración de sulfatos que favorece el crecimiento de las bacterias sulfatoreductoras.

Los metanógenos convierten un rango relativamente angosto de sustratos simples a metano (CH_4), por lo tanto, en ecosistemas que contienen sustratos orgánicos complejos, deben interactuar con otros anaerobios que sean capaces de transformar dichos sustratos en otros más simples que las bacterias metanogénicas puedan degradar. Algunos donadores de electrones pueden ser utilizados por los metanógenos para reducir el CO_2 a CH_4 . Casi todos los metanógenos pueden utilizar H_2 , otros pueden utilizar alcoholes de cadena corta. La decarboxilación de acetato, se lleva a cabo por dos géneros de bacterias metanogénicas, *Methanosarcina* y *Methanotrix*, las cuales son responsables de aproximadamente dos tercios del metano producido en sedimentos de agua dulce y bioreactores anaerobios. La fermentación del metanol se lleva a cabo por un número limitado de metanógenos metilotróficos. Los requerimientos nutricionales de los microorganismos metanogénicos son muy variados. Algunos de ellos son autótrofos, y otros, en cambio, necesitan factores de crecimiento muy complejos o trazas minerales muy concretas.

Como ya se mencionó las bacterias anaerobias son capaces de degradar diversos tipos de sustratos orgánicos, por ejemplo, las bacterias metanogénicas (BM) son capaces de degradar etanol como sustrato orgánico. Sin embargo, las BM no son capaces de degradarlo completamente teniendo como producto final acetato (reacción 3), el cual puede ser degradado por una segunda reacción por las bacterias metanogénicas afines acetato o hidrogeno (reacción 4 y 5).



Oxidación del acetato por metanogénesis:



Cabe mencionar que en un consorcio microbiano pueden existir más de un tipo de bacterias anaerobias que pueden trabajar en sintrofia para llevar a cabo la degradación de un sustrato orgánico en especial como podría ser el etanol. Este sustrato puede ser degradado por una primera reacción por bacterias acetogénicas consumidoras de etanol, dejando como residuo el ion acetato,

el cual es degradado completamente por una segunda reacción en cadena por bacterias metanogénicas (ver reacción 2 y 4)

Las reacciones oxido-reducción durante este proceso permiten la descomposición de los sustratos orgánicos mediante su oxidación, esta liberación de electrones proporciona al medio mineral potenciales oxido-reducción del orden de -350 a -400 mV (Lorenzo-Acosta y Obaya-Abreu, 2005). El potencial oxido-reducción es una medida de la actividad de los electrones, indicando la presencia de especies oxidantes y reductoras, a menor cantidad de agente oxidante menor será el potencial. El ORP indica la actividad de los electrones liberados por las reacciones de oxidación y reducción de compuestos a través del proceso, además de ser un indicador de la presencia o ausencia de oxígeno en el medio. Si bien las bacterias metanogénicas son estrictamente anaerobias, normalmente el ORP evoluciona de un estado oxidado, al reducido, por cooperación de bacterias como las acetogénicas, encargadas de consumir el oxígeno existente (Varnero-Moreno, 2011). Cuando en el medio está presente el oxígeno, este suele ser el último aceptor de electrones durante la respiración aerobia; en el momento en el que este se agota, los procesos de reducción pasan a aquellos compuestos que estén disponibles y que sean más oxidantes.

Las bacterias anaerobias se desarrollan en ambientes libre de oxígeno y en condiciones de potencial reducidos. Las bacterias metanogénicas son anaerobios estrictos que trabajan ORP menores de -250 mV (McBride y Walfe, 1971). Bajo estas condiciones de ORP las BM son capaces de reducir metales de su estado soluble a metálico. Distintos autores reportan la reducción de plata soluble a plata metálica en pruebas en lote con bacterias anaerobias y reactores de lecho fluidificado o fluidizado inverso de biopelícula con bacterias metanogénicas las cuales fueron capaces de reducir el ORP del medio y reducir el metal (García-Titla, 2021, García -Torres, 2019).

Fude et al., (1994) utilizaron un consorcio de BSR obtenido de aguas residuales provenientes de acabados metálicos para reducir Cr^{6+} a Cr^{3+} mediante pruebas en lote, obteniendo eficiencias de remoción de Cr^{6+} de 80-95% a partir de concentraciones iniciales de 50 y 2000 mg/L, lo cual resulto de la disminución del ORP del medio que atribuye a la actividad y crecimiento activo de las bacterias. Pat- Espadas et al., (2016) realizaron pruebas en lote con lodo granular metanogénico para reducir Pd^{2+} a Pd^0 , sus resultados indican que la remoción de Pd^{2+} pudo deberse no solo a la reducción del potencial sino también a su adsorción enzimática.

Es importante mencionar que la oxidación del sustrato orgánico por las bacterias anaerobias con lleva a la producción de alcalinidad. Sin embargo, si la cantidad de H^+ del medio está en exceso el equilibrio se favorecerá hacia la formación de $CO_{2(g)}$ con la consecuente ausencia de alcalinidad. Por otro lado si existe la cantidad suficiente de cationes en el medio el equilibrio se desplaza hacia la formación de bicarbonatos $HCO_3^- + H^+ \leftrightarrow CO_{2(g)} + H_2O$.

Entre las diversas experimentaciones que se han realizado para la biorreducción de contaminación por metales pesados, destacan las bacterias sulfatorreductoras que han empleado los investigadores tales como Battaglia et al., (2002), usa bacterias sulfatorreductoras para la reducción del cromo hexavalente, pero él cambia el donador de electrones a hidrógeno, reportando un porcentaje de efectividad que oscila entre el 80% al 100%. Chardin et al., (2002) realizan pruebas en lote con bacterias sulfatorreductoras reduciendo Cr (VI), en este estudio se emplea el ácido láctico como donador de electrones y fuente de carbono, obteniendo así un porcentaje de reducción de Cr (VI) a una concentración de 250 μM . Sahinkaya et al., quien en 2012 publicó 2 artículos acerca de reducción de Cr (VI) por medio de reactores anaerobios empleando dichas bacterias; para el primero obtuvo una eficiencia de reducción del 90% empleando etanol como sustrato, para el segundo artículo obtiene el 95% de eficiencia de reducción del contaminante bajo las mismas condiciones que el primero pero la diferencia es que no solo emplea etanol sino que añade acetato al sustrato, obteniendo esa diferencia del 5% respecto al primer artículo. En el caso de Montalvo et al. (2013), en su tesis de maestría, reporta del 82% al 100% de reducción del Cr (VI) a Cr (III) con un reactor UASB con bacterias sulfatorreductoras y lactato como DQO. López-Almaguer et al., (2014) realizan un experimento para determinar a qué concentraciones incrementales de cromo hexavalente las bacterias comienzan a inhibirse, reportando que a partir de 250 mg/L de cromo (VI) las bacterias se inhibían por las altas concentraciones del contaminante. Qian et al., (2016), evalúa la eficiencia de un reactor anaerobio de flujo ascendente igualmente con bacterias sulfatorreductoras, obteniendo porcentajes de eficiencia de remoción del 100% con glucosa y levadura como donadores de electrones. F. Xu et al., (2016) emplean un reactor de lecho fluidificado con Cr (VI) como contaminante, para concentraciones de 100 mg/L a 500 mg/L reporta eficiencias de remoción de Cr (VI) de 75% a 48%. Marcela et al., (2017) aíslan grupos de microorganismos para después exponerlos a medios ricos en Cr (VI), con una concentración de 102 mg/L obtuvo 90% de eficiencia de reducción de Cr (VI), cuando cambian a 199 mg/L baja a

70% de reducción de Cr^{6+} y con una concentración de 298 mg/L obtiene entre 42% y 66% de reducción del metal, estas pruebas son realizadas en lote. Jin et al., (2017) en un reactor en lote emplean un lodo anaerobio, con una carga de DQO de 500 mg/L obtienen eficiencias de remoción de DQO que varían de 65% a 90%, emplean Cr (VI) como contaminante y la concentración va de los 2.5 mg/L a los 120 mg/L de Cr (VI), obteniendo eficiencias de remoción de Cr (VI) del 70% al 100%, el TRH que emplean es de 1d.

1.7 Reactor LFI

El reactor de lecho fluidizado inverso consta de una columna de poliacrílico con un volumen de 120 mL y tomando en cuenta las mangueras y el recirculador sería un total de 200 mL, una bomba de alimentación y una más de recirculación; el influente entra por la parte superior y sale por la parte inferior, posteriormente, de ese efluente una parte sale completamente del sistema y la otra parte se recircula.

Este reactor también es llamado reactor de lecho expandido o reactor de lecho circulante. Las partículas en su interior a menudo son llamadas portador de biopelícula. La velocidad del fluido debe ser suficiente para que el soporte se mantenga en suspensión y, a su vez, también depende de la densidad del soporte respecto del agua, el diámetro y su forma (Rittmann & McCarty, 2003).

1.8 Biopelícula

Se le conoce como biopelícula a la formación de colonias bacterianas alrededor de un soporte que sea de material inerte y de baja densidad.

Para la formación de la biopelícula, el soporte deberá ser lijado para que la superficie se vuelva rugosa, esto favorece el crecimiento de las bacterias en las cavidades, por lo que, una vez que el soporte esté cubierto por su totalidad de microorganismos, estará formada la biopelícula. Villa-Gómez, (2006), reporta tiempos de 90 días que tardó en formación de la biopelícula. Entre los

materiales más comunes con baja densidad para utilización de soporte de la biopelícula está el polietileno, polipropileno y poliestireno. Para su formación tomaremos en cuenta 3 factores: las bacterias, la superficie del soporte y el medio que les rodea. La presencia de flagelos es de gran ayuda para que las bacterias puedan formar la biopelícula. Para la superficie del soporte es necesario considerar la rugosidad, hidrofobicidad, entre otros, así podemos seleccionar el tipo de material a emplear; la hidrofobicidad hace referencia a la energía libre superficial, así la hidrofobicidad de una superficie disminuye al aumentar su energía libre superficial, de manera que materiales como el vidrio o el acero inoxidable tienen una energía libre superficial elevada, mientras que el teflón o poliestireno poseen una energía libre superficial pequeña. El medio en el que se encuentren es de gran importancia, influyen factores como la temperatura, los nutrientes o el pH. El proceso consta de los siguientes pasos: 1. Contacto de las bacterias con el soporte, 2. Creación de colonias bacterianas, 3. Comunicación entre células y 4. Maduración (Betelgeux, 2013).

Según Rittman & McCarty (2003), las suposiciones por las que las bacterias prefieren ser parte de una biopelícula podrían ser las siguientes:

- Las biopelículas están continuamente expuestas a sustrato fresco debido a que la biopelícula está cerca de su suministro.
- Diferentes cepas de bacterias están obligadas a vivir en conjunto para transportar sustrato o para más sinergia.
- Las biopelículas son capaces de crear un microambiente interno para beneficiar a las células.

1.9 Justificación

Actualmente hay efluentes industriales con Cr (VI) y materia orgánica proveniente de cafeterías y baños, para remediar esta contaminación son empleados procesos fisicoquímicos que pueden causar daños al ambiente por la alta cantidad de lodos residuales. Una alternativa, que es amigable

con el ambiente, es el empleo de un proceso biológico como el de digestión anaerobia donde los microorganismos son capaces de reducir el ORP a valores reductores favoreciendo así la reducción de metales y también degradar la materia orgánica en una sola etapa en un reactor LFI, gracias a la configuración del reactor LFI no hay pérdida de microorganismos ya que están adheridos en un soporte de baja densidad que flota en la parte superior y los metales precipitados que se generan se recuperan del fondo del reactor. Se tiene así un proceso de tratamiento de aguas residuales que es económicamente viable y amigable con el ambiente para su reúso en el riego.

1.10 Objetivos

1.10.1 Objetivo General

Evaluar la reducción y precipitación de cromo (VI) contenido en aguas residuales mediante una biopelícula anaerobia en un reactor de lecho fluidificado inverso, para la reutilización del agua proveniente de efluentes industriales.

1.10.2 Objetivos específicos

- Evaluar la capacidad de las bacterias anaerobias para reducir el ORP en pruebas en lote expuestas a concentraciones de 10 a 500 mg/L de Cr (VI), mediante el análisis de CH₄, ORP, DQO, pH, Alcalinidad, Cr⁶⁺ y Cr³⁺ y caracterizar el Cr(OH)₃ mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) y difracción de rayos X (DRX).
- Determinar de manera química la producción de metano a partir de la oxidación de etanol con Cr (VI) en pruebas en lote.
- Valorar la capacidad de recuperación de las bacterias anaerobias, en un medio solo con etanol, después de estar expuestas al Cr (VI).

- Evaluar la eficiencia del reactor LFI para reducir el Cr (VI) a Cr (III) y precipitarlo el Cr(OH)_3 , mediante concentraciones incrementales de cromo, a partir del análisis de DQO, pH, ORP, alcalinidad y remoción del cromo.

2. Materiales y métodos para la remoción de cromo (VI) en pruebas en lote y en continuo con bacterias anaerobias

2.1 Actividad metanogénica específica expuesta a cromo

Para la realización de esta prueba se requirió previamente la cantidad de sólidos volátiles (SV) del lodo metanogénico. De acuerdo con la cantidad de volumen de la botella serológica a emplear, se determinó el volumen de medio mineral que se adicionó a la botella. Se utilizaron botellas serológicas de 60 mL y dependiendo del volumen agregado a cada botella, se calculó la cantidad de lodo metanogénico para tener una concentración de 2 g SV/L, se adicionó 1 g DQO/L como etanol, se agregó el volumen necesario de solución stock 10 veces concentrada (10x) que se preparó de acuerdo con la tabla 2.2 y 1 mL de elementos traza que indica la tabla 2.1, las concentraciones de Cr (VI) se prepararon a partir de una solución estándar de 1000 mg/L ($K_2Cr_2O_7$) para cada botella y fueron de 0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L, 250 mg/L, 300 mg/L, 350 mg/L, 400 mg/L, 450 mg/L y 500 mg/L de Cr (VI) se ajustó el pH a 7.0 con bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$). Las botellas se sellaron con tapones de hule y anillos de aluminio, se intercambió la atmósfera y el equilibrio de la presión del sistema se logró con ayuda de una manguera con 2 agujas, una punta va a la botella y el otro extremo a un vaso con agua, se incubaron a 30°C y 100 rpm. Los experimentos se realizaron por cuatuplicado. El ensayo control consistió en una botella con la misma concentración de SSV, el mismo volumen de medio mineral basal, pero sin sustrato. El control se utilizó para corregir la producción de metano debida a la producción endógena. El volumen de metano producido se cuantificó dos veces al día, por medio del desplazamiento de una solución de NaOH al 3%. Se analizó DQO, pH, ORP, Cr (VI), Cr(total) y Cr (III), por MEB y DRX el precipitado formado en el fondo de las botellas. Además, se analizó una muestra líquida por IR para determinar grupos funcionales. Con esta prueba se comprobó la completa mineralización del sustrato orgánico a compuestos simples como CH_4 y CO_2 .

En este proyecto se trabajó con una solución sintética de Cr (VI) y etanol como sustrato orgánico con la finalidad de simular un efluente real que contenga metal proveniente de un proceso industrial y un efluente que contenga materia orgánica proveniente de baños y cafeterías.

2.2 Inóculo

Se utilizó como inóculo un lodo granular de origen metanogénico proveniente de la planta de tratamiento de la empresa Ricolino, S.A. de C.V. de la ciudad de San Luis Potosí. El lodo estuvo almacenado a 4°C hasta el momento de inocular el reactor.

El lodo granular contenía 0.048 g de sólidos suspendidos volátiles (SSV) por gramo en base húmeda.

2.3 Solución de elementos traza

Los elementos traza proporcionan los nutrientes necesarios para los microorganismos. En la tabla 2.1 se enlistan los compuestos para su preparación.

Tabla 2.1. *Compuestos para preparación de elementos traza. Fuente: Montalvo et al. (2013)*

Compuesto	Concentración (g/L)
FeCl ₂ •4H ₂ O	1.5
MnCl ₂ •4H ₂ O	0.1
EDTA	0.5
H ₃ BO ₃	0.062
ZnCl ₂	0.07
NaMoO ₄ •2H ₂ O	0.036
AlCl ₃ •6H ₂ O	0.04
NiCl ₃ •6H ₂ O	0.024
CoCl ₂ •6H ₂ O	0.07
CuCl ₂ •2H ₂ O	0.02
HCl 36%	1 mL
Na ₂ SeO ₃	0.1
Rezasurina	0.5

2.4 Solución stock 10x para actividad metanogénica

En todos los ensayos anaerobios, los nutrientes esenciales para el crecimiento y la actividad de las bacterias siempre deben suplementarse en cantidades adecuadas, se adicionan para asegurar que no exista limitación por nutrientes. Se enlistan en la tabla 2.2

Tabla 2.2. *Compuestos necesarios para la preparación de solución 10x para actividad metanogénica. Fuente: Montalvo et al. (2013).*

Compuesto	Concentración g/L
NaH ₂ PO ₄ •H ₂ O	7.03
K ₂ HPO ₄	6
NH ₄ Cl	2.8
MgSO ₄ •7H ₂ O	1.11
CaCl ₂ •2H ₂ O	0.06

Nota: Deberá disolver, en 500 mL, cada compuesto perfectamente y en el orden que se muestra antes de agregar el siguiente. Posteriormente aforar a 1 L, mantener en refrigeración para su estabilidad.

2.5 Cinética Química

Para la realización de la cinética química se utilizaron botellas serológicas de 60 mL a concentraciones de 0 mg/L, 10 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L, 250 mg/L, 300 mg/L, 350 mg/L, 400 mg/L, 450 mg/L y 500 mg/L de Cr (VI), etanol como sustrato orgánico y agua, no se añadieron microorganismos para verificar la producción de metano de manera química. El volumen de metano producido se cuantificó dos veces al día, por medio del desplazamiento de una solución de NaOH al 3%. Además, se analizó DQO, pH, ORP, Cr (VI), Cr(total) y Cr (III).

2.6 Pruebas en lote con lodo metanogénico sin exposición a Cr (VI)

Al final de las pruebas en lote con lodo granular expuesto a diferentes concentraciones de Cr (VI), la solución fue retirada y se repuso con medio fresco sin cromo, de acuerdo a lo descrito en la sección 2.1.

Esto con la finalidad de determinar el grado de recuperación de los microorganismos y el efecto tóxico del cromo sobre las BM. Se analizó producción de CH₄, DQO, pH y ORP.

2.7 Reactor de lecho fluidificado inverso

El reactor de lecho fluidificado inverso (LFI) constó de una columna de poliacrílico con fondo cónico, el volumen es de 130 mL Las medidas del reactor son las siguientes: diámetro interior de 2.5 cm, diámetro exterior de 3 cm, altura de 30 cm. Adicionalmente contó con un recirculador que nos ayudó a mantener el nivel del medio dentro del reactor, este cambio en el nivel se debió principalmente a la producción de metano que iba desplazando el volumen del medio hacia abajo, pero se mantenía un nivel fijo con ayuda del recirculador; las medidas de este último eran de 4 cm al interior y 5 cm de altura. También se contabilizó el volumen que contenían las mangueras del reactor con un diámetro interno de 0.6 cm y un largo de 2 m. El volumen total de todo el reactor, contabilizando columna, recirculador y mangueras, fue de 200 mL.

Inicialmente el tiempo de retención hidráulico (TRH) se estableció en 1 día. Este parámetro es de vital importancia en la operación de reactores anaerobios, según (Caldera et al., 2003), el lavado, así como la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) y la disminución del porcentaje de remoción de sustrato orgánico son ocasionados por el corto tiempo de interacción entre las bacterias anaerobias y la materia orgánica fruto de tener un TRH pequeño. Para un TRH de 1 día el flujo de alimentación fue de 0.138 mL/min.

Como se mencionó al inicio, el reactor contó con un recirculador así una parte del agua que salió del reactor se recirculó y la otra salió por completo del sistema, este flujo de recirculado se alimentó directamente en el reactor junto con el flujo que alimentó la bomba de alimentación. La temperatura de operación del reactor LFI fue a temperatura ambiente (20 – 25 °C)

2.7.1 Material de soporte

Como material de soporte para el desarrollo de la biopelícula se empleó polietileno de baja densidad e inerte para que no se provoquen reacciones químicas. Se le realizaron pruebas hidrodinámicas para conocer las condiciones de desarrollo de la biopelícula.

Se le adicionaron 15 mL de soporte, posteriormente se le realizaron pruebas para expandirlo hasta el 50% del volumen del reactor. Para preparar el soporte se mantuvo por 4 días en agitación en un matraz que contenía 800 mL de agua destilada, 0.5 g de peptona de caseína y 0.5 g de extracto de levadura, esto de manera que se facilitara la incorporación del lodo granular con el soporte.

2.7.2 Inoculo y sustrato orgánico para el reactor LFI

El reactor LFI se inoculó con bacterias metanogénicas de la planta de tratamiento de Ricolino S.A. de C.V. de San Luis Potosí. El volumen con el que se inoculó el reactor. Para asegurar la adhesión el reactor se mantuvo en recirculación durante 24 h.

Como sustrato orgánico se utilizó etanol y una mezcla de etanol- acetato en diferentes periodos de operación del reactor.

2.7.3 Parámetros operacionales del reactor LFI

El arranque del reactor se inició con un TRH de 1 día, el sustrato orgánico fue etanol, el medio de cultivo contenía elementos traza y solución stock 10 veces concentrada según tabla 2.4. En la tabla 2.3 se indican las condiciones iniciales de operación del reactor.

Tabla 2.3. *Condiciones de operación del reactor LFI en continuo*

Parámetro	Periodos experimentales						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
Días de operación	1 – 25	26 – 84	85 – 98	99 – 109	110 – 123	124 – 140	141 – 161
DQO (mg/L)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Etanol – Ác. Acético	100-0	100 :0/ 50:50 / 80:20	80:20	80:20 / 90:10	90:10	90:10	90:10
pH _{afluente}	7	7	7	7	7	7	7
ORP (mV)	12.4	19.5	20.8	35.2	23.1	24.7	41.3
TRH (días)	1	1 – 1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5 – 2
Cr (VI) (mg/L)	5	10	15 – 19	21	25 – 30	35 – 80	100

2.8 Medios para cultivo

2.8.1 Solución stock 10x para reactor

Esta es una solución 10 veces concentrada con la que se prepara el medio de cultivo en el reactor. A continuación, se enlistan en la tabla 2.4:

Tabla 2.4. Composición del medio de cultivo para reactor 10x. Fuente: Montalvo et al. (2013)

Compuesto	g/L
NH ₄ CL	3
CaCL ₂ •2H ₂ O	0.15
KH ₂ PO ₄	2
MgCL ₂ •6H ₂ O	1.2
KCl	2.5

2.9 Métodos

2.9.1 Análisis de pH

Para esta medición se usó un potenciómetro marca Thermo Scientific modelo Orion 3 Star y un electrodo de pH de la marca Thermo Scientific. En este parámetro, las bacterias anaerobias lo mantienen en un rango óptimo de 6.5 a 7.5 (Costanza-Corrales et al., 2015).

Al monitorear este parámetro podemos constatar que el medio no se vuelva alcalino ni ácido afectando a las bacterias inhibiendo su actividad por los cambios en el pH.

2.9.2 Análisis de ORP

Para este factor se realizó la medición con un potenciómetro marca Thermo Scientific modelo Orion 3 Star y un electrodo de potencial marca Thermo Scientific. El ORP óptimo al que trabajan las bacterias anaerobias oscila entre los -150 mV a -300 mV (Neculita et al., 2007).

Este parámetro es conocido por que influye en el desarrollo bacteriano. Si cuenta con valores positivos se inhibe el desarrollo de las bacterias anaerobias, esto por el oxígeno disuelto en el medio en que se encuentran. Algunos microorganismos, cuando mantienen el potencial de óxido reducción en ciertos valores se logra bloquear la transferencia de O_2 desde su fase gaseosa a la líquida (Martinez et al., 2005).

2.9.3 Análisis de alcalinidad

Para este análisis se preparó una solución de HCl a 0.1N y se valoró con NaOH igualmente a 0.1N. Una vez valorado, se emplea el HCl titulando una muestra de 10 o 20 mL tomada de las bacterias alimentadas con Cr (VI), se añade el HCl y con ayuda de un potenciómetro se mide el pH hasta llegar a 5.8, se registra el volumen gastado y esa es la alcalinidad del bicarbonato, se expresará en equivalencia de $CaCO_3$; sigue la titulación hasta llegar a un pH de 4.3 y se registra el volumen total gastado y se calculará la alcalinidad total expresada también en equivalencia de $CaCO_3$ (American Public Health Association et al., 2017). Este análisis nos ayuda a conocer la capacidad buffer del sistema ya que, con la posible producción de ácidos grasos volátiles (AGV), puede haber una disminución del pH que cause inhibición en las bacterias anaerobias.

2.9.4 Análisis de DQO por método de reflujo cerrado

Para medir este parámetro, primero se realizó la curva de calibración que va de los 50 mg/L a 1000 mg/L (Ver Anexo B). Esta curva se forma a partir de biftalato de potasio que tiene una DQO teórica de 1.176 mg O_2 /mg de biftalato, se toman diferentes volúmenes de muestra y se complementa con agua desionizada para llegar a un volumen de 2 mL. Una vez que se agrega la muestra a los tubos, se procede a añadir 1.2 mL de la solución 1 que se denomina “de digestión”, la cual está compuesta de sulfato mercurico, ácido sulfúrico concentrado y dicromato de potasio. Después se añaden 2.8 mL de la solución 2 que se denomina “reactivo de sulfato de plata” que contiene sulfato de plata y ácido sulfúrico. Se tapa y se mezcla el tubo para llevarlo al digestor previamente calentado a 150°C y digerir por 2 horas. Una vez pasado el tiempo, se retiran y se dejan enfriar a

temperatura ambiente, esto ayuda a sedimentar los precipitados. Al final se mide la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro usando agua destilada como referencia (American Public Health Association, 2017. Secretaría de Economía, 2001). La solución 1 nos ayuda a oxidar la materia orgánica y la solución 2 es un catalizador que ayuda a acelerar la reacción.

2.9.5 Análisis de Cr (VI) por método colorimétrico

Para la determinación de la concentración del cromo hexavalente se utilizó un método colorimétrico. Para este análisis se empleó una curva de calibración a distintas concentraciones de cromo que va de 0.1 mg/L a 1.0 mg/L (Ver Anexo C); para preparar el reactivo de difenilcarbazida que le da el color al experimento se utilizó 0.2 g del reactivo 1.5-difenilcarbazida en 100 mL de etanol y 40 mL de ácido sulfúrico en 36 mL de agua destilada; antes de añadir este reactivo, a la muestra tomada con cromo se le añadirá 0.5 mL de ácido sulfúrico (1:1) y 0.15 mL de ácido fosfórico al 85% de pureza para después aforar el matraz a 50 mL con agua destilada; al matraz con muestra de cromo se le añade 1 mL del reactivo de difenilcarbazida y se deja reposar por 10 minutos para que desarrolle el color. Después se lleva al espectrofotómetro y se mide la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm usando agua como referencia (American Public Health Association et al., 2017).

2.9.6 Análisis de Cr total por método colorimétrico

Para determinar la cantidad de cromo total se toma una muestra con cromo que se adecúe a la curva de calibración y se afora con agua destilada en un matraz para que el volumen sea de 15 mL, se le añaden 2 gotas de solución anaranjado de metilo para que funcione como indicador. Después se le añade gota a gota hidróxido de amonio para que la solución sea básica, luego se le añade ácido sulfúrico (1:1) para volver ácida la solución y se le añade 1 mL más en exceso. La solución se lleva a ebullición para añadirle 2 gotas de permanganato de potasio, la solución tomará un color rojo oscuro. Por espacio de 2 minutos más se deja a ebullición y se le añade 1 mL de solución de azida de sodio hasta que la solución se vuelva transparente, en caso de que la muestra no se torne

transparente se le añade 1 mL más. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se le añadieron 0.25 mL de ácido fosfórico. La determinación de este parámetro se realiza con el mismo procedimiento del Cr (VI) (American Public Health Association et al., 2017).

2.9.7 Análisis mineralógico del precipitado recuperado

Para este análisis emplearemos la difracción de rayos X (DRX) y la microscopía electrónica de barrido (MEB), con estas dos técnicas podemos conocer con exactitud la composición del mineral. La difracción nos ayuda a conocer de que material se trata basándose en la ley de Bragg, esta técnica es muy certera en la obtención de compuestos, pero se pueden producir picos que se empalmen lo que provocaría el que no se contemple un compuesto totalmente distinto por estar en el mismo lugar que el pico del mineral de interés. Si llegara a suceder esta situación debemos recurrir al MEB que por medio de un microanálisis nos proporciona los porcentajes exactos de material que hay en la muestra.

Las bacterias se someterán a distintas concentraciones de cromo (VI) para hacerlas resistentes al contaminante, estas concentraciones irán en aumento para lograr que las bacterias desarrollen resistencia y no se inhiban fácilmente cuando estén en el reactor a concentraciones altas de Cr (VI).

2.9.8 Análisis de Sólidos Volátiles, Fijos y Totales

Para la preparación de las cápsulas: llevar las cápsulas a la mufla a 550°C por 1 hora, una vez pasado ese tiempo se introducen a un desecador para su enfriamiento, pesarlas y registrar el peso “A” y mantenerlas en el desecador para su posterior uso. Para la muestra del lodo granular: tomar una muestra de entre 2 g y 3 g en una cápsula previamente preparada y registrar el peso “X” en gramos de lodo. Después meter a secar en el horno a 105°C por 12 horas, ya que pasó ese tiempo se debe poner a secar en el desecador para luego pesarlas y registrar el peso “B”. Para finalizar, esta muestra se ingresa a la mufla a 550°C durante 1 hora, después que transcurre ese tiempo se

mete al desecador a enfriar y, una vez fría la muestra, se registra el peso “C”. La determinación de este parámetro nos ayuda a conocer la cantidad de gramos de sólidos volátiles (SV) por gramo de lodo (g SV/g lodo), así podemos saber la cantidad de inóculo para cierta carga orgánica a degradar y viceversa (American Public Health Association et al., 2017).

2.9.9 Análisis de Sólidos Volátiles Inmovilizados

Para realizar esta prueba primeramente se deben preparar los filtros gooch. Al crisol se le introduce un filtro de fibra de vidrio colocando la cara rugosa hacia arriba, para ayudar a la adherencia entre estos 2, se moja el filtro con agua destilada. Se introducen los crisoles a la mufla previamente calentada a 550°C por 20 minutos. Se sacan de la mufla y se trasladan al horno a una temperatura de 105°C por 20 minutos. Transcurrido el tiempo se retiran del horno y se introducen a un desecador para que se enfríen. Después se pesan y se registra ese primer peso como “G1”.

La biopelícula se desprende del soporte con ayuda de un sonicador, primero a la botella serológica se le retira el arillo de aluminio y posteriormente se introduce en el baño sónico por 5 minutos, pasado el tiempo se extrae el líquido de la botella serológica para pasarlo por el filtro gooch que se preparó en un inicio y empleando una bomba de vacío el líquido se separa del lodo. Se añade un volumen de agua conocido y se repite el proceso del baño sónico, esto debe repetirse cuando menos 5 veces. Una vez que se dificulta la extracción del agua con la bomba de vacío se cambia el filtro por uno nuevo.

Al finalizar la filtración, las muestras se introducen al horno a 105°C por una hora, después de ese tiempo se retiran y se dejan enfriar en un desecador, se pesa el filtro y se registra como “G2”. Se introduce el filtro a la mufla a 550°C por 15 minutos, se extrae, se deja secar en desecador y se anota el peso como “G3” (Montalvo et al., 2013).

2.9.10 Análisis por Espectroscopía Infrarroja (IR)

El análisis de las muestras por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier FT-IR se llevó a cabo en un equipo marca Thermo Scientific modelo Nicolet iS10, para la determinación de la existencia del grupo funcional del acetato presente en pruebas en lote y en el efluente del reactor LFI.

2.10 Cálculos

2.10.1 Estequiometrías

Equivalencia de DQO teórica para el etanol:

$$\begin{aligned} 184 \text{ g etanol} &- 384 \text{ g DQO} \\ 240 \text{ g acetato} &- 256 \text{ g DQO} \end{aligned}$$

A partir de la estequiometría anterior tenemos:

$$\begin{aligned} 0.48 \text{ g etanol/g DQO} \\ 0.94 \text{ g acetato/g DQO} \end{aligned}$$

2.10.2 Cálculo de sólidos totales, fijos y volátiles:

$$\% \text{ Sólidos Volátiles (SV)} = \frac{(B - C) * 100}{X}$$

$$\% \text{ Sólidos fijos (SF)} = (C - A) * 100$$

$$\% \text{ Sólidos totales (ST)} = \frac{(B - A) * 100}{X}$$

Donde:

A = Peso de la cápsula, en g.

B = Peso de la cápsula + muestra seca, en g.

C = Peso de la cápsula + calcinados, en g.

X = Peso de lodo, en g.

2.10.3 Cálculo de sólidos volátiles inmovilizados

$$SVI = \frac{G2 - G3}{V} * 1000$$

Donde:

SVI = sólidos volátiles inmovilizados (mg/L)

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

G3 = peso del crisol con filtro y residuo calcinado (mg)

V = volumen de la muestra (mL)

2.10.4 Eficiencia de remoción de DQO

$$\text{Eficiencia de remoción DQO (\%)} = \frac{DQO_{\text{inicial}} - DQO_{\text{final}}}{DQO_{\text{inicial}}} * 100$$

2.10.5 Determinación de alcalinidad

$$\text{Alcalinidad (mg CaCO}_3\text{)} = \frac{\text{Vol.} * \text{EQ} * \text{N}}{\text{Vol. Muestra}}$$

Donde:

Vol. = mL gastados de HCl a 0.1N

EQ = Peso equivalente de CaCO₃ (50000 equivalencia)

N = Normalidad de la solución de HCl

Vol.Muestra = Volumen de la muestra analizada (mL)

2.10.6 Determinación de Cr (III)

$$\text{Cr (III)} = \text{Cr(total)} - \text{Cr(VI)inicial}$$

Donde:

Cr (III) = Concentración de cromo trivalente (mg/L)

Cr(total) = Concentración de cromo total (mg/L)

Cr (VI) inicial = Concentración de cromo hexavalente en el afluente (mg/L)

2.10.7 Eficiencia de remoción de Cr (VI)

$$\text{Eficiencia de remoción Cr (VI) (\%)} = \frac{\text{Cr (VI)inicial} - \text{Cr (VI)final}}{\text{Cr (VI)inicial}} * 100$$

Donde:

Cr (VI) inicial = Concentración de cromo hexavalente en el afluente (mg/L)

Cr (VI) final = Concentración de cromo hexavalente en el efluente (mg/L)

RESULTADOS

3. Comportamiento de bacterias anaerobias expuestas a distintas concentraciones de cromo (VI) en pruebas en lote

3.1 *Pruebas en lote con lodo metanogénico expuesto a concentraciones incrementales de Cr (VI)*

Las pruebas de ABM con lodo granular y el análisis de sólidos volátiles fueron realizados de acuerdo con lo indicado en la sección 2.1. En la Figura 3.1 y la Tabla 3.1 se muestran los resultados de las pruebas en lote con lodo granular expuesto a diferentes concentraciones de Cr (VI). Esta prueba se realizó para estudiar la afectación del Cr (VI) sobre las bacterias anaerobias.

Los resultados obtenidos del análisis del lodo granular anaerobio nos indican que la cantidad de sólidos suspendidos volátiles fue de 0.048 g SSV/g de lodo, valor con el que se calculó la cantidad de microorganismos que se utilizó en cada botella para las pruebas en lote.

Los resultados obtenidos de las pruebas en lote muestran que durante las primeras 21 h las botellas expuestas a 10 mg/L y 50 mg/L de Cr (VI), fueron las primeras en producir CH₄ por encima de la concentración de 0 mg/L de Cr (VI) y las demás concentraciones, esto puede ser debido a que al inicio de las pruebas la presencia del metal favoreció la actividad de los microorganismos (Fig. 3.1). Diversos autores reportan que muchas sustancias causan inhibición/toxicidad en los microorganismos pero las variaciones dependen de factores como el sinergismo, aclimatación y complejidad del proceso anaerobio empleado; sin embargo, según la literatura, los metales pesados en pequeñas concentraciones pueden servir como estimulantes para las bacterias anaerobias (Utgikar et al., 2002; Van Hullebusch et al., 2003). Diversos autores reportan el efecto que tiene el hierro, níquel y cobalto, a una concentración de 5 mM, en la actividad de las bacterias anaerobias mediante pruebas en lote, y encontraron que mientras el hierro estimula la actividad de las bacterias metanogénicas, el níquel y el cobalto las inhiben (Sai Ram et al., 2000).

A partir de las 200 h todas las botellas empezaron a producir CH₄ de manera exponencial, la producción de este gas nos indicó que las BM estaban activas. Las botellas de 500 mg/L y 450

mg/L de Cr (VI) fueron las que menos gas produjeron alcanzando los 3.8 mL y 2.5 mL de CH₄, respectivamente. La botella de 0 mg/L produjo 5.7 mL de CH₄ ubicándose por encima de la mitad de pruebas en lote que, si contenían cromo, lo que podría atribuirse a un posible efecto inhibitorio sobre los microorganismos metanogénicos por la presencia de altas concentraciones del metal.

Si ordenamos la cantidad de CH₄ de mayor a menor productor sería como sigue: 10, 50, 100, 200, 250, 350, 0, 150, 300, 400, 500 y 450 mg/L de Cr (VI); según Metcalf & Eddy (2003) la concentración fuertemente inhibitoria para las bacterias anaerobias es de hasta los 200 mg/L a 250 mg/L, si tomamos como referencia la prueba con 0 mg/L, por encima de ella se ubicaron las pruebas con concentraciones de hasta 350 mg/L de Cr (VI), exceptuando las que contenían 150 mg/L y 300 mg/L de Cr (VI), rebasando así la concentración inhibitoria marcada anteriormente; para el caso de las botellas de 150 mg/L y 300 mg/L de Cr (VI) se especula que, al momento de realizar la homogeneización del lodo metanogénico para inocular las botellas, se pudo haber tomado una parte de lodo metanogénico que contenía un grupo de bacterias anaerobias que no son afines al metal inhibiéndose en la producción de metano. Finalmente, las botellas de 400 mg/L a 500 mg/L de Cr (VI) fueron las que menos produjeron biogás, posiblemente en la actividad metabólica de las BM expuestas a estas concentraciones del metal.

La producción de metano tuvo periodos donde no hubo producción del mismo, en el rango de 669 horas a 789 horas se aprecia, en la figura 3.1, una meseta en ese tiempo, esto podría ser debido a que existe otro grupo de bacterias anaerobias las cuáles son denominadas acetogénicas que son capaces de oxidar el etanol a acetato, éste último es el compuesto al que mayormente son afines las bacterias metanogénicas por lo que en este periodo estacionario sin producción de metano, podríamos decir que no había producción de acetato para que las bacterias metanogénicas lo pudieran oxidar a metano. En base a lo anterior podríamos asumir que en nuestras pruebas en lote había dos grupos de bacterias metanogénicas: 1) las que son afines al etanol que lo degradan hasta metano; y 2) las que son afines al acetato y esperan a que este compuesto esté presente en el medio para poder oxidarlo a metano (acetato generado por bacterias acetogénicas consumidoras de etanol (ver reacciones 6 y 7), siguiendo así la cadena de degradación de sustrato orgánico de la Figura 1.2 que nos indica cada tipo de bacteria involucrada en cada etapa de la digestión anaerobia.

Otra posible explicación es que el cromo a altas concentraciones puede causar un efecto inhibitorio a cierto tipo de bacterias anaerobias, por ello no son capaces de producir metano durante las

primeras horas, sin embargo, el cromo es un agente oxidante en presencia de etanol, lo que causa su reducción disminuyendo la concentración de Cr (VI) que está afectando a las bacterias. Al haber una reducción de Cr (VI) algunas bacterias son capaces de recuperar su actividad metabólica, lo que conlleva a la producción de metano.

La producción final de metano se presentó alrededor de las 1200 horas, donde la curva se mantuvo en estado estacionario. Se detuvo la cinética para evitar el decaimiento endógeno que, según Rittmann & Mccarty (2003), hay una necesidad de las bacterias anaerobias por cubrir demandas celulares de motilidad, reparación, transporte y pérdida de calor, por lo tanto, para este requerimiento de energía y de electrones requeridos para mantenimiento, las células se oxidan para cubrir la necesidad de energía para la preservación de las demás bacterias anaerobias. También se señala que no toda la oxidación de biomasa activa es empleada para la generación de energía, sino que un pequeño fragmento se acumula como biomasa inerte. En otras palabras, el decaimiento endógeno es la pérdida de biomasa activa lo que se traduce en la reducción de la cantidad del porcentaje de solidos suspendidos volátiles por cada gramo de lodo anaerobio (% SV/g lodo metanogénico).

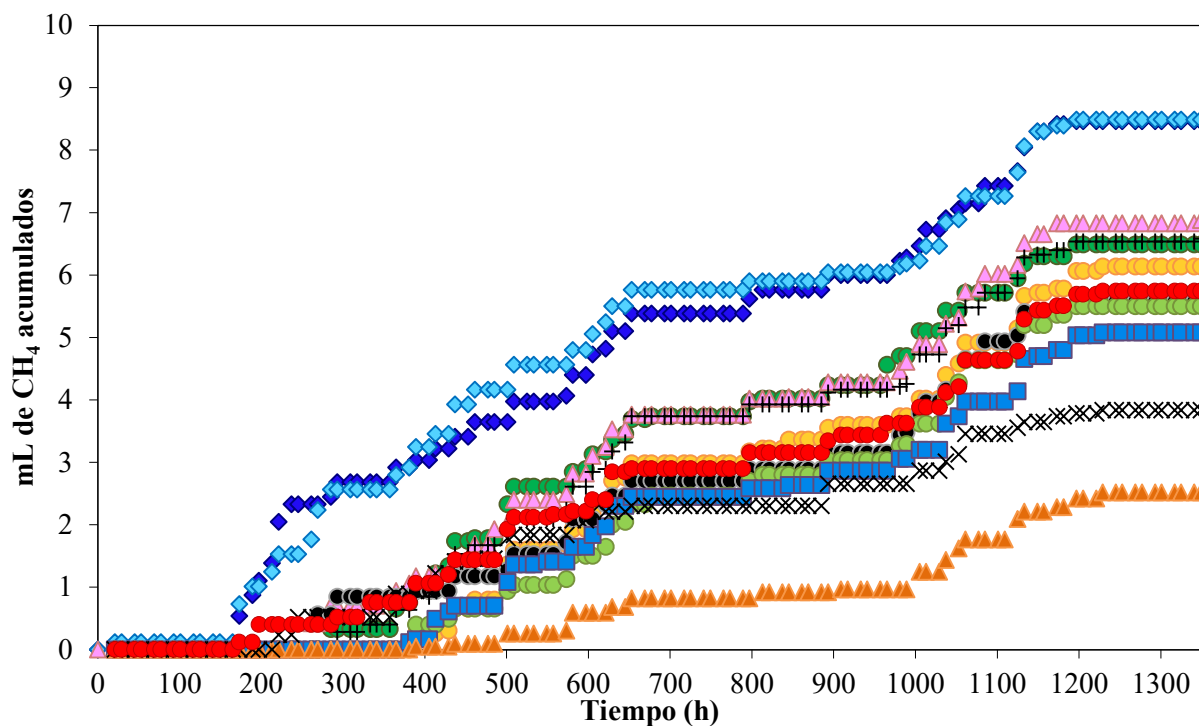


Figura 3.1. Producción de CH_4 en pruebas en lote con lodo granular metanogénico expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (♦), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x).

3.1.1 Desempeño del ORP, pH y DQO

En la Figura 3.2a se muestra el potencial de oxidación reducción durante las 1300 h que duro la cinética microbiana. Al inicio de la cinética las bacterias están en etapa de adaptación por lo que se tardan en disminuir el ORP que fue oxidativo, alrededor de 50 mV, sin embargo, las bacterias metanogénicas fueron capaces de disminuir el potencial a condiciones reductoras. Arias Arce et al., (2021) reportan que los potenciales positivos son indicadores de ambientes con presencia de oxígeno por lo tanto las condiciones iniciales no fueron anaerobias y las propias bacterias generaron estas condiciones para poder estar en un medio con ausencia de oxígeno al cual ellas son afines.

A pesar de que las botellas de 10 mg/L y 50 mg/L fueron las primeras en producir CH₄, la reducción del ORP se observa hasta las 101 horas (-5.2 mV), sin embargo, esto puede ser debido a dos cosas: 1) el ORP disminuye al haber una reducción biológica del etanol lo que produce metano, pero aumenta debido a la presencia del K₂Cr₂O₇, como es bien sabido, es un oxidante fuerte del etanol; 2) al haber una oxidación química del etanol por la presencia del K₂Cr₂O₇, el etanol es transformado a metano. Sin embargo, la concentración del Cr (VI) es pequeña y no afecta a las BM, por el contrario, favorece la producción de CH₄.

Las botellas expuestas a mayores concentraciones del metal presentaron mayor tiempo de adaptación (fase de retardo) esto puede estar relacionado con su efecto inhibitorio sobre los microorganismos y al aumento en el valor de ORP que provocan en el medio, lo cual requiere mayor cantidad de energía por parte de las bacterias anaerobias para adaptarse a las condiciones del medio y poder utilizar la energía del sustrato para disminuir el ORP y producir CH₄. Además, al ir en aumento la concentración del metal, este consume más etanol de manera química aumentando el ORP y retardando la producción de CH₄ de manera biológica.

Cabe mencionar que los valores de ORP en todas las pruebas fueron de reductores a oxidativos y viceversa, esto debido a que todas las botellas fueron abiertas dos veces al día para la medición de diversos parámetros, lo que ocasionaba la entrada de oxígeno a las botellas provocando aumento en el ORP, sin embargo después de un periodo de tiempo este volvía a ser reductor, esto podría estar asociado al establecimiento del equilibrio entre el oxígeno presente en la cabeza de aire de la botella y el sustrato orgánico (etanol) presente en el medio. Debido a que la solubilidad del oxígeno

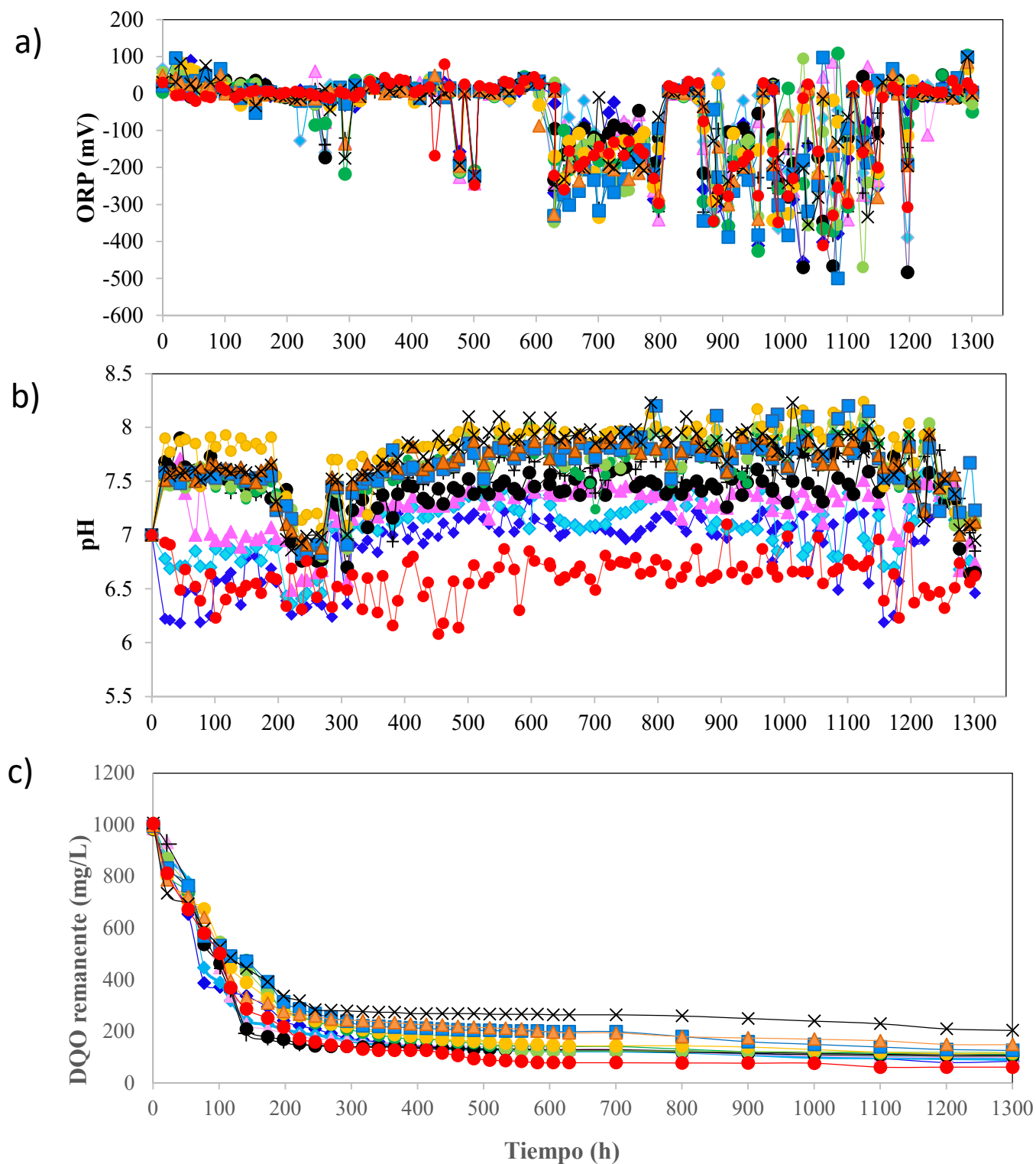


Figura 3.2. Determinación de a) Potencial oxido-reducción; b) pH; c) DQO remanente en pruebas en lote con lodo granular metanogénico expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (♦), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x)

en el agua es baja (8.2 mg/L a 25°C), basta con pequeñas cantidades de materia orgánica para eliminar y consumir el oxígeno presente ($\text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{bacterias}} \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$). En ausencia de oxígeno los microorganismos anaerobios utilizan los aceptores de electrones con mayor poder oxidante (Wang et al., 2010), por lo que si más de un aceptor de electrones está presente en el sistema como el ion dicromato, se utilizaría primero el que proporcione mayor energía a las bacterias, conforme se agota este aceptor de electrones comienza a disminuir y se utiliza el siguiente aceptor de electrones disponible; por lo que después del agotamiento de oxígeno y oxianiones, la sulfatorreducción y metanogénesis tienden a ocurrir en secuencia (Strevett et al., 2002).

Las bacterias metanogénicas son anaerobios estrictos que trabajan en valores de potencial redox entre los -200 mV a -400 mV; se ha observado en algunos trabajos (Brioukhanov et al., 2006) que estas bacterias son sensibles ante la presencia de oxígeno molecular pues el potencial de oxidación-reducción incrementa inhibiendo su actividad y la producción de metano (Fetzer & Conrad, 1993). La botella con 0 mg/L de Cr (VI) fue la primera en reducir el ORP a valores reductores a las 21 hrs con un ORP de -5.1 mv, seguida de la botella con 10, 50 y 100 mg/L.

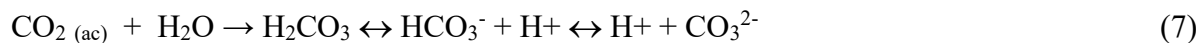
El valor máximo de ORP fue de -499 mV en las botellas con una concentración de 400 mg/L de Cr (VI) a las 1085 horas. En el periodo de tiempo en el que no hubo producción de metano, los potenciales registrados muestran valores reductores de hasta -348 mV, esto es un indicador que no solamente se cuenta con bacterias metanogénicas y acetogénicas, sino que existen más grupos de bacterias anaerobias que estuvieron ayudando a la generación de las condiciones óptimas para que se dé la degradación de la materia orgánica. A partir de las 1200 horas podemos observar que ya no existen condiciones anaerobias ya que los potenciales fueron oxidativos, esto concuerda con el final de la AME (Figura 3.1).

De manera general podemos decir que el ORP se comporta de manera similar a la producción de CH_4 (Figura 3.1), cuando empieza a haber producción de CH_4 a las 200 horas hay una reducción del ORP. La máxima reducción de ORP fue a partir de las 700 h coincidiendo con la producción exponencial de CH_4 . Alrededor de la 1200 h podemos ver como el ORP aumenta a valores oxidativos que es cuando termina la cinética microbiana.

En la Figura 3.2b podemos observar que el pH se mantuvo por arriba de 6.0 sin rebasar un valor de 8.0. En promedio, el valor de pH estuvo entre 6.5 y 7.8, estos valores se apegan de acuerdo con Costanza-Corrales et al., (2015) que indica que el rango óptimo de pH al que las bacterias anaerobias trabajan mejor está entre 6.5 y 7.5. La botella con concentración de 0 mg/L de Cr (VI) fue la que se mantuvo por debajo de un pH de 7.0 llegando a tener un pH de 6.08 a las 453 horas, mientras que la botella con concentración de 500 mg/L de Cr (VI) fue la que registró el valor más alto, un pH de 8.23 a las 789 horas.

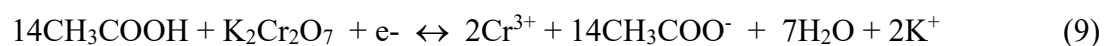
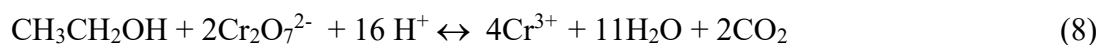
Con ayuda de este ensayo se constató la capacidad buffer del medio al impedir que el pH bajara a valores ácidos. Esta acidez puede producirse en el momento de la degradación de etanol a acetato por parte de las bacterias metanogénicas y acetogénicas y, con los H^+ del medio formarse ácido acético (Ver reacciones 2 y 3); o por la presencia de las bacterias acidogénicas que generan compuestos como los ácidos grasos volátiles (AGV), esta capacidad buffer se debe principalmente a la generación del anión bicarbonato (HCO_3^-) de acuerdo con la reacción de oxidación del acetato por metanogénesis descrita en el apartado 1.6.

En la figura 3.2b podemos ver que entre mayor era la concentración del metal en las botellas el pH fue en aumento, lo que nos indica que la alcalinidad también estaba aumentando, Esto puede ser debido a que: 1) A mayor concentración del metal, las bacterias que podrían estar en mayor proporción en el lodo granular por ser afines al cromo serían las bacterias metanogénicas que oxidan acetato a bicarbonato (Ver reacción 4). Además, de la producción de alcalinidad por oxidación biológica de la materia orgánica, de manera química el cromo puede oxidar el etanol y lo transforma en $CO_{2(g)}$, y al ser un sistema cerrado este es disuelto en el medio acuoso formando ácido carbónico, el cual reacciona con los cationes disueltos en el medio, formando bicarbonato.



La determinación de remoción de DQO es un parámetro decisivo en los ensayos con bacterias anaerobias, es un indicativo que las bacterias están activas y están degradando la materia orgánica según el diagrama de la digestión anaerobia. En la Figura 3.2c podemos observar como la DQO fue disminuyendo con respecto al tiempo, obteniendo la máxima remoción de la materia orgánica alrededor de los 200 h, lo que coincide con el inicio en la producción de metano y la reducción del ORP. En las botellas de 10 mg/L y 50 mg/L Cr (VI) podemos observar que se obtuvo una mayor oxidación de la materia orgánica alrededor de las 200 horas, sin embargo, las botellas con 0 mg/L Cr (VI) fueron las que oxidaron mayor cantidad de materia orgánica con una eficiencia de remoción de DQO de 93.8% al final de la cinética microbiana. Conforme se incrementó la concentración del metal en las botellas la eficiencia de remoción fue disminuyendo hasta un 80% de remoción de DQO para las botellas con 500 mg/L Cr (VI), lo cual nos indica un posible efecto adverso del metal sobre el metabolismo de las bacterias anaerobias. Como ya se había mencionado al trabajar con un lodo granular es posible que la oxidación de la DQO sea debido a la presencia de diversos tipos de bacterias anaerobias presentes en el consorcio microbiano (Ver reacciones 1, 2, 3 y 4). Para corroborar la existencia de diversos tipos de bacteria anaerobias presentes en las botellas, se realizó un balance partiendo de la relación estequiométrica por cada 1g de DQO se producen 0.35 L de CH₄, y con los mililitros de CH₄ producidos en las botellas y la eficiencia de remoción de DQO, se estableció la cantidad de materia orgánica que se removió por BM y cuanto por otro tipo de bacteria anaerobias como las acetogénicas y acidogénicas (Ver tabla 3.1), que ayudan a la degradación de la materia orgánica, reducción del ORP y la producción de bicarbonato para mantener la capacidad buffer del sistema.

Una vez que la DQO es oxidada el flujo de electrones de la oxidación de etanol como acetato contribuye a la reducción química del metal, en este caso Cr (VI) a Cr (III). Algunas de las reacciones involucradas en estos sistemas complejos de consorcios microbianos que podrían generar la reducción del cromo en el medio son:



Con los resultados obtenidos de ORP, pH y la degradación de la DQO podríamos decir que existen las condiciones adecuadas para que se llevara a cabo la reducción del metal y su precipitación como un hidróxido metálico.

En la Figura 3.3 se presenta el diagrama de Pourbaix donde podemos observar, que con los valores de ORP y pH obtenidos en las pruebas en lote a diferentes concentraciones del metal (Ver tabla 3.1), el Cr (VI) es reducido a Cr (III) y con los OH^- del medio el cromo es precipitado como un $\text{Cr}(\text{OH})_3$, este es un precipitado verde que a un pH entre 6.8 a 11.8 es insoluble.

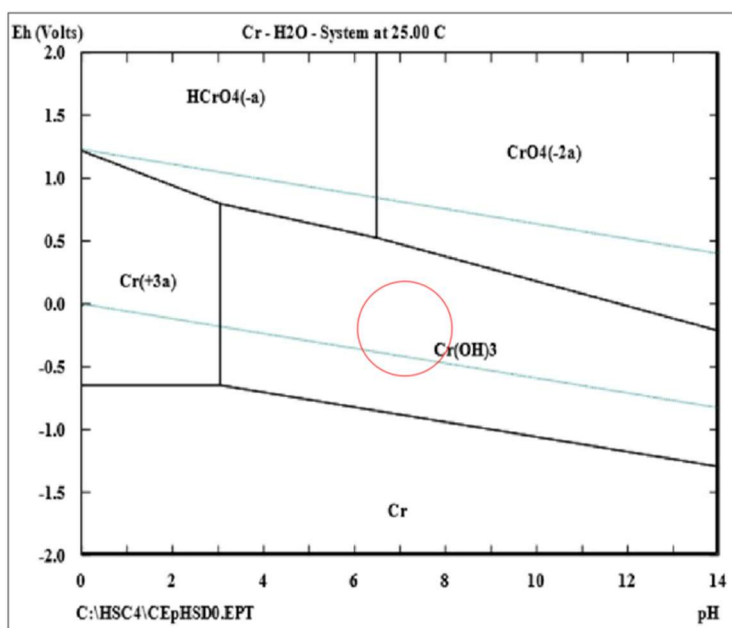


Figura 3.3. Diagrama de Pourbaix de cromo en solución acuosa (Eh-pH) (Outokumpu, Research Oy, Finlandia)

3.1.2 Determinación de Cr (VI), Cr (III) y Cr total

Para corroborar la reducción del cromo y su precipitación como $\text{Cr}(\text{OH})_3$, se realizó la medición del Cr (VI), Cr (III) y Cr total como se describe en la sección 2.9.5 y 2.9.6, así como las concentraciones iniciales experimentales del cromo se presentan en la tabla 2.5.

En la Figura 3.4 se presenta la reducción de Cr (VI) y producción Cr (III) conforme el tiempo, así como en la Tabla 3.1 se presentan los resultados iniciales, finales y la eficiencia de remoción del Cr (VI) para este experimento.

En la Figura 3.4a podemos observar que cerca de las 100 horas las botellas con 10 mg/L a 50 mg/L de concentración de Cr (VI), removieron el 50% del metal (lo que coincide con la reducción del ORP, el inicio en la producción de CH_4 y la remoción de DQO), mientras que para que las botellas con 200 mg/L a 300 mg/L de Cr (VI) llegar a ese porcentaje de remoción les tomó cerca de 300 horas por el incremento en la concentración. Las botellas con concentración de 350 mg/L a 500 mg/L de Cr (VI) les llevó más de 400 horas para alcanzar el mismo porcentaje de remoción, esto por la acción inhibitoria del metal en el medio, ya que fueron las botellas que menos metano produjeron.

Sin embargo, las botellas que más porcentaje de remoción de Cr (VI) tuvieron fueron las de 300 mg/L y 350 mg/L ambas con un 96% y, la botella con menor porcentaje de remoción fue la de 500 mg/L con un 66% (Tabla 3.1). De manera general la máxima reducción de Cr (VI) es a las 600 h para casi todas las botellas.

El análisis de Cr (III) se realizó con el procedimiento descrito en el apartado 2.9.6 y se determinó de la misma manera que el Cr (VI) descrito en el apartado 2.9.5. En la Figura 3.4b podemos observar un aumento de Cr (III) conforme va pasando el tiempo aunque existen variaciones donde decrece esta concentración de Cr (III), tal es el caso de la botella con 500 mg/L de Cr (VI) que, a las 437 horas presenta 195 mg/L de Cr (III) y a las 461 horas disminuye a 158 mg/L de Cr (III), estos puntos que presentan una disminución pueden ser debido a que el Cr (III) reducido reaccione con los hidroxilos del medio y precipite como $\text{Cr}(\text{OH})_3$ en el fondo de la botella. En la Tabla 3.1 se presenta la concentración de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ que pudo ser precipitado en cada botella (Ver reacción 11).

Otro indicador que se pudo tener en la reducción del Cr (VI) fue la reducción del color en el medio de la botella, al inicio se notaba un color amarillo por el $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ pero con el pasar del tiempo se redujo este color hasta desaparecer en las botellas con concentraciones más bajas (Ver Anexo A Figuras A.4, A.6 y A.7).

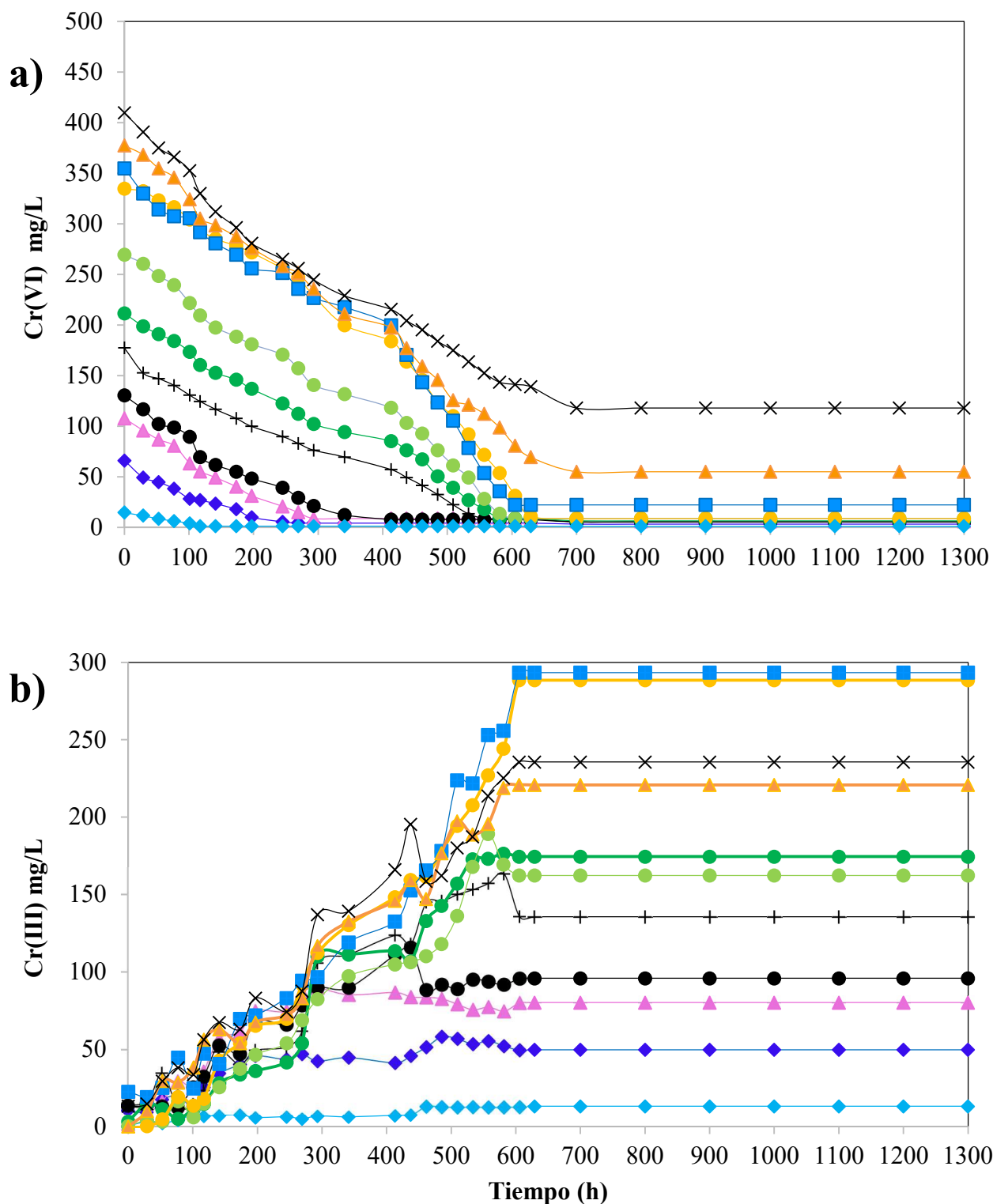


Figura 3.4. a) Reducción de Cr(VI) y b) Producción de Cr(III) en pruebas en lote con lodo granular metanogénico expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (◇), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x).

Tabla 3.1. Resultados de las pruebas en lote con y sin bacterias anaerobias expuestas a diferentes concentraciones de Cr (VI).

Cr(VI) inicial teórico	Cr (VI) inicial exp	Cr(VI) final	Cr(III)	Cr(OH) ₃	Cr(VI) Remoción	DQO inicial	DQO remoción Total	DQO por BM	DQO por otros <i>Moo</i>	DQO por Cr(VI)	ORP inicial	ORP final	pH	pH	CH ₄ por BM	CH ₄ por Cr(VI)
(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(%)	(mg/L)	%	%	%	%	(mV)	(mV)	inicial	final	(mL)	(mL)
0	0	-	-	-	-	1000	83	1.6	81	0	16	-250	7.0	6.6	5.7	0
10	15	1.3	13	0.3	91	1000	88	1.9	85	0.5	12	-245	7.0	7.1	6.7	1.8
50	66	44	50	12	93	1000	88	0.6	85	1.8	20	-130	7.0	7.3	2.2	6.3
100	108	8.8	80	19	92	1000	87	1.6	85	0.3	15	-160	7.0	7.4	5.7	1.2
150	130	7.7	96	27	94	1000	87	1.3	85	0.3	13	-156	7.0	7.2	4.7	0.9
200	177	8.9	136	33	95	1000	87	1.6	85	0.3	6	-185	7.0	7.4	5.7	0.9
250	212	8.9	174	28	96	1000	87	1.5	85	0.3	17	-145	7.0	7.5	5.3	1.2
300	270	8.8	162	99	97	1000	86	1.3	84	0.3	28	-188	7.0	7.8	4.5	1
350	335	11	289	35	97	1000	86	1.4	84	0.4	19	-232	7.0	7.8	4.8	1.3
400	355	22	294	39	94	1000	85	1	83	0.4	10	-251	7.0	7.9	3.6	1.5
450	377	69	221	87	82	1000	82	0.2	81	0.5	21	-163	7.0	7.8	0.6	1.9
500	410	139	236	35	66	1000	80	1.1	79	0	15	-234	7.0	7.8	3.8	0

DQO por BM: % de DQO removida por bacterias metanogénicas, calculada a partir de la producción de CH₄ y la DQO total

DQO por *Moo*: % de DQO removida por otros microorganismos anaerobios, Calculada de la resta de la DQO total y la DQO por BM y DQO por Cr(VI).

DQO por Cr (VI): % de DQO removida en la cinética química.

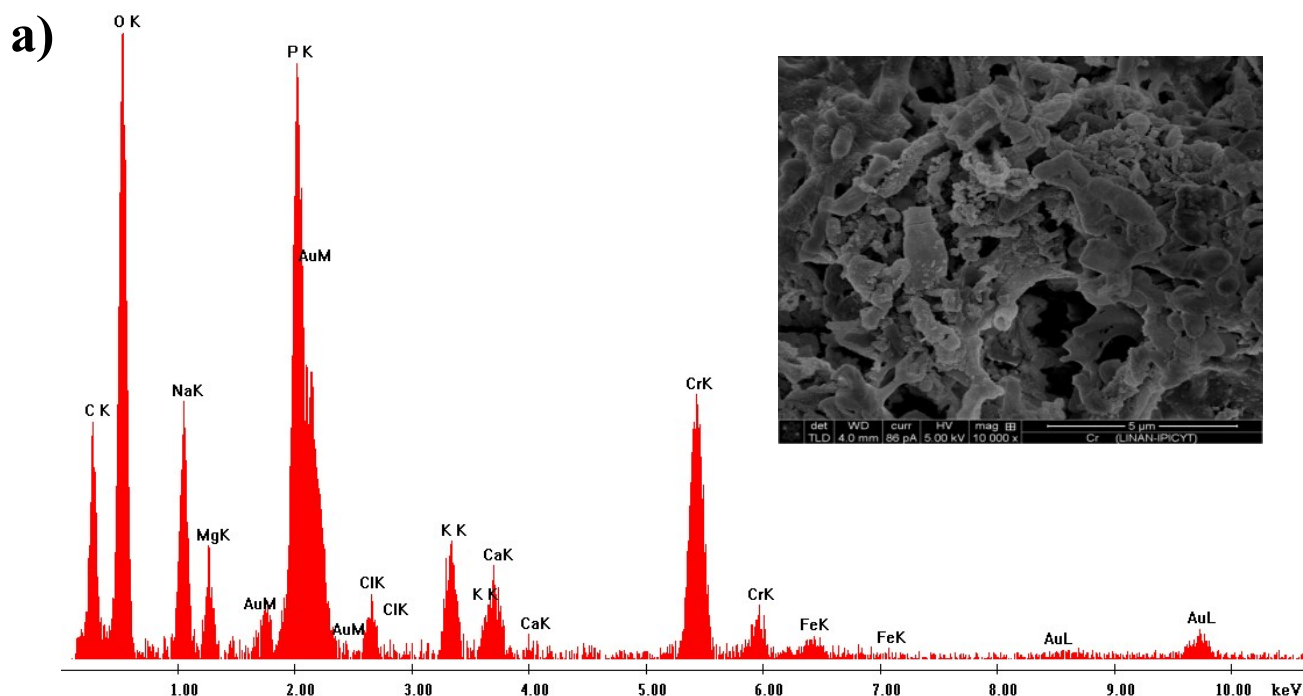
CH₄ por BM: Metano producido en las pruebas en lote con BM

CH₄ por Cr (VI): Metano producido en la cinética química.

3.1.2 Caracterización del precipitado

El análisis del precipitado metálico recuperado de las pruebas en lote con lodo granular se presenta en las imágenes y los diagramas de MEB-EDAX, y DRX, lo que permitió verificar la composición química del hidróxido metálico precipitado y recuperado (Ver Figura 3.5a). De acuerdo al análisis elemental obtenido por MEB-EDAX de las muestras, el contenido promedio de Cr fue de 2.38% en peso. Lo que confirmó la precipitación de cromo. Smith y Gadd (2000) reportaron a partir de un análisis de MEB-EDAX la presencia de un material insoluble precipitado, y comprobaron que se trataba de cromo. De igual manera Sahinkaya, Altun, et al., (2012) confirmaron por medio de análisis de DRX la formación de un precipitado de cromo, y mediante imágenes de MEB verificaron la presencia de fases amorfas de cromo en los precipitados.

El análisis de DRX (Ver Figura 3.5b) realizado a los sólidos suspendidos fijos (SSF) obtenidos de la calcinación del lodo expuesto a 400 mg/L de Cr (VI), confirmó la formación de un precipitado de cromo.



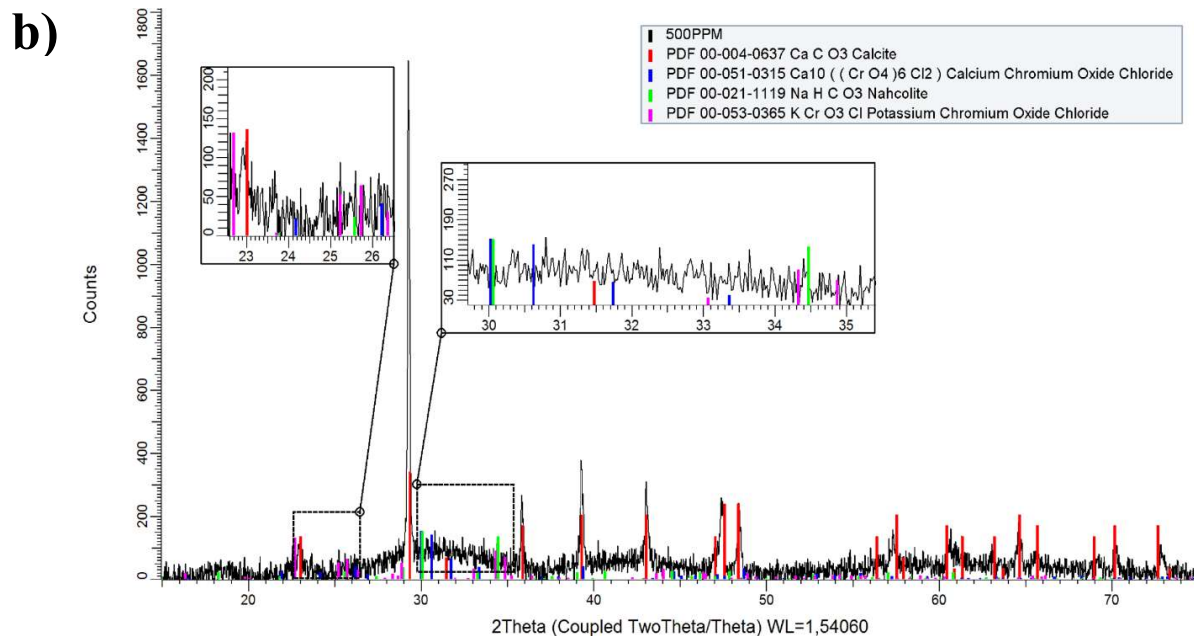
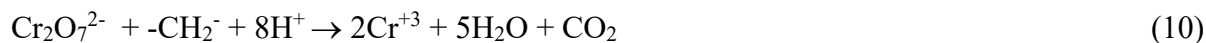


Figura 3.5. Caracterización del precipitado. **a:** Micrografía y análisis por microscopía electrónica de barrido (MEB-EDAX) del mineral metálico recuperado, **b:** Diagrama del precipitado analizado por difracción de rayos-X.

Los resultados de las pruebas en lote nos indican que el Cr (VI) fue reducido a Cr (III) y además, de la obtención de un precipitado como $\text{Cr}(\text{OH})_3$. El Cr (VI) puede ser reducido de tres diversas maneras: 1) mediante reducción química ya que el Cr (VI) actúa como un agente oxidante del etanol (Ver reacción 9) por la reducción de ORP del medio, reduciendo el Cr (VI) a Cr (III) y 3) reducción enzimática directa por las bacterias anaerobias que utilizan el cromo como aceptor de electrones reduciéndolo de Cr (VI) a Cr (III) y precipitando como hidróxido de cromo (Ver reacciones 10 y 11);

Reducción enzimática por las BSR:



Precipitación del cromo como un hidróxido metálico:



Cheung & Gu, (2003) reportan la reducción enzimática de Cr (VI) a Cr (III) por BSR obtenidas de sedimentos marinos, las cuales son capaces de utilizar el Cr como aceptor de electrones. En

ausencia de oxígeno, el Cr (VI) puede servir como aceptor terminal de electrones en la cadena respiratoria para una gran variedad de donantes de electrones, incluidos carbohidratos, proteínas, grasas, hidrógeno, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NAD(P)H) y reservas endógenas de electrones. Tanto las enzimas solubles como las asociadas a la membrana median en el proceso de reducción de Cr (VI) en condiciones anaeróbicas (Barrera-Díaz et al., 2012).

Mientras que otros autores reportan la reducción de plata soluble a plata metálica en pruebas en lote con bacterias metanogénicas las cuales fueron capaces de reducir el ORP del medio y reducir el metal (García Titla, 2021; García Torres, 2019). Pat-Espadas et al., (2016) realizaron pruebas en lote con lodo granular metanogénico para reducir Pd^{2+} a Pd^0 , sus resultados indican que la remoción de Pd^{2+} pudo deberse no solo a la reducción del potencial sino también a su adsorción enzimática. Fude et al., (1994) utilizaron un consorcio de BSR obtenido de aguas residuales provenientes de acabados metálicos para reducir Cr (VI) a Cr (III) mediante pruebas en lote, obteniendo eficiencias de remoción de Cr^{6+} de 80-95% a partir de concentraciones iniciales de 50 mg/L y 2000 mg/L, lo cual resultó de la disminución del ORP del medio que atribuye a la actividad y crecimiento activo de las bacterias.

3.2 Pruebas en lote con sustrato orgánico expuesto a Cr (VI).

Se realizaron pruebas en lote solo con etanol y Cr (VI) a las mismas concentraciones que las pruebas anteriores (Tabla 3.1), sin la presencia de bacterias anaerobias, esto con la finalidad de comprobar si el Cr (VI) era capaz de oxidar el etanol hasta CH_4 (ya que es bien sabido que el cromo es un agente oxidante fuerte Kitchen Fabre, (2005)) o si era producido por la acción de las bacterias anaerobias en las pruebas en lote anteriores. Además, de cuantificar la cantidad de etanol (DQO) que era oxidado de manera química y cuanto, de manera biológica, la reducción de ORP y el aumento del pH por la producción de alcalinidad de manera química. Las pruebas se llevaron a cabo en botellas serológicas como se describe en la sección 2.5.

3.2.1 Cinética química: producción de metano

En la Figura 3.6 se presenta un gráfico de la producción de metano de manera química con respecto al tiempo. En este caso se puede observar que en la botella de 50 mg/L de Cr (VI) se produjo la máxima cantidad de CH₄ con 5.1 mL, seguido por la botella de 450 mg/L de Cr (VI) alcanzando una producción de CH₄ de 19 mL, el orden subsecuente queda de la siguiente manera: 400, 350, 150, 300, 200, 250 100 mg/L de Cr (VI); las botellas de 10 mg/L y 500 mg/L de Cr (VI) no presentaron producción de CH₄ en esta primera medición. A las 9 horas se realizó la segunda medición de CH₄ siendo únicamente las botellas de 50 mg/L y 250 mg/L las que produjeron el gas alcanzando 5.4 mL y 1 mL de CH₄ respectivamente.

Posteriormente no hubo cambios en la medición de este parámetro, hasta las 169 horas, donde la botella con 10 mg/L de Cr (VI) registró una producción de 1.7 mL de CH₄, Las botellas que contenían 50, 250 y 100 mg/L de Cr (VI) llegaron a producir hasta los 6.2, 1.2 y 0.8 mL de CH₄ respectivamente. Después de este punto no se volvió a registrar la presencia del gas terminando el experimento a las 321 horas. La botella de 500 mg/L fue la única que no registró producción de metano en ningún momento de la cinética química (Ver Tabla 3.1).

Con los resultados obtenidos en esta prueba se pudo comprobar que el Cr (VI) si es capaz de oxidar el etanol hasta CH₄ pero en una pequeña cantidad, por lo que la mayor producción de CH₄ es atribuido a la oxidación del etanol por parte de las bacterias anaerobias.

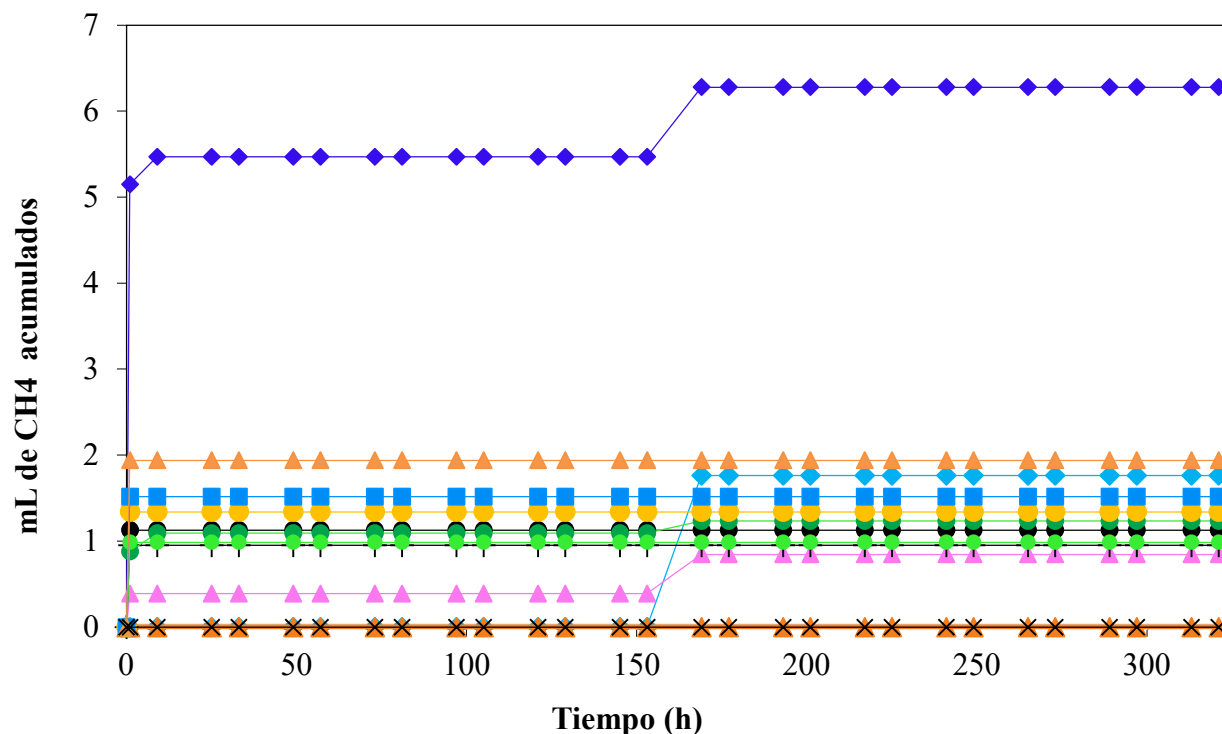


Figura 3.6. Cinética química para evaluar la producción de CH_4 en pruebas en lote con etanol expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (◆), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250 mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x).

3.2.2 Determinación del ORP y pH

En la Figura 3.7a se presenta la reducción del ORP con respecto al tiempo. Donde podemos ver que durante las primeras 169 horas el ORP fue oxidativo estando entre 176.5 mV y 1.6 mV que corresponde al periodo de producción de metano; posterior a este tiempo se registraron potenciales reductores a excepción de la botella con 10 mg/L de Cr (VI) que siempre registró potenciales oxidantes. Esto podría indicar que el Cr (VI) se redujo después de las 169 horas por eso se registraron potenciales negativos y la botella con 10 mg/L, al ser una concentración pequeña, se redujo el Cr (VI) por completo, es por esto que no se presentaron valores reductores. Como ya se había mencionado la reducción del ORP puede atribuirse a que la solubilidad del oxígeno en el agua es baja (8.2 mg/L a 25°C), basta con pequeñas cantidades de materia orgánica para eliminar y consumir el oxígeno presente.

Otro parámetro medido fue el pH que, como se menciona anteriormente, de manera inicial se ajustó a 7.0 para simular las mismas condiciones que las botellas con microorganismos. En la Figura 3.7b podemos ver que el pH de las botellas se mantuvo por encima de 7.0 en todo momento a excepción de la botella de 10 mg/L de Cr (VI), el cual contrasta con el gráfico de ORP y la producción de CH₄.

Esta cinética nos da un panorama de la oxidación del etanol de manera química. Cuando hubo producción de metano el potencial estuvo en valores oxidantes por la acción de Cr (VI) y el oxígeno que contenía la botella, el pH aumentó a 7.5, una vez que se detuvo la producción de CH₄ el ORP cambió a valores reductores y el pH aumentó llegando por encima de 8.0.

La botella de 10 mg/L de Cr (VI) puede ser un indicio más visual de lo que sucede en la cinética, después de la producción de CH₄ el pH cayó. Esto puede ser debido a que el Cr (VI) se redujo en su totalidad, ya que la concentración del metal presente en el medio es muy pequeña, por lo tanto, no hubo más agente oxidante y la capacidad buffer del sistema cayó por la falta de generación de bicarbonato.

Para determinar el aumento de pH se analizó la alcalinidad en algunas de las botellas. Para la prueba de 50, 300 y 500 mg/L de Cr (VI), la alcalinidad fue de 1566, 1,296 y 3,672 mgCaCO₃/L respectivamente. Esto puede ser atribuido a la reacción entre el etanol y el Cr (VI) que produce CO₂ (Ver reacción 10) y al estar en un sistema cerrado este se transforma en HCO₃⁻ (Ver reacción 6 y 7), por lo tanto, entre mayor sea la oxidación del etanol mayor será la alcalinidad y el pH.

En la Tabla 3.1 se presentan los resultados de la remoción de DQO al finalizar la cinética, en donde podemos observar que la remoción de DQO por su oxidación con Cr (VI) fue mínima en cada botella. Por lo que podemos decir que la degradación del etanol en las pruebas en lote con microorganismos fue, en su mayoría, debido a la acción de las bacterias anaerobias y no de manera química.

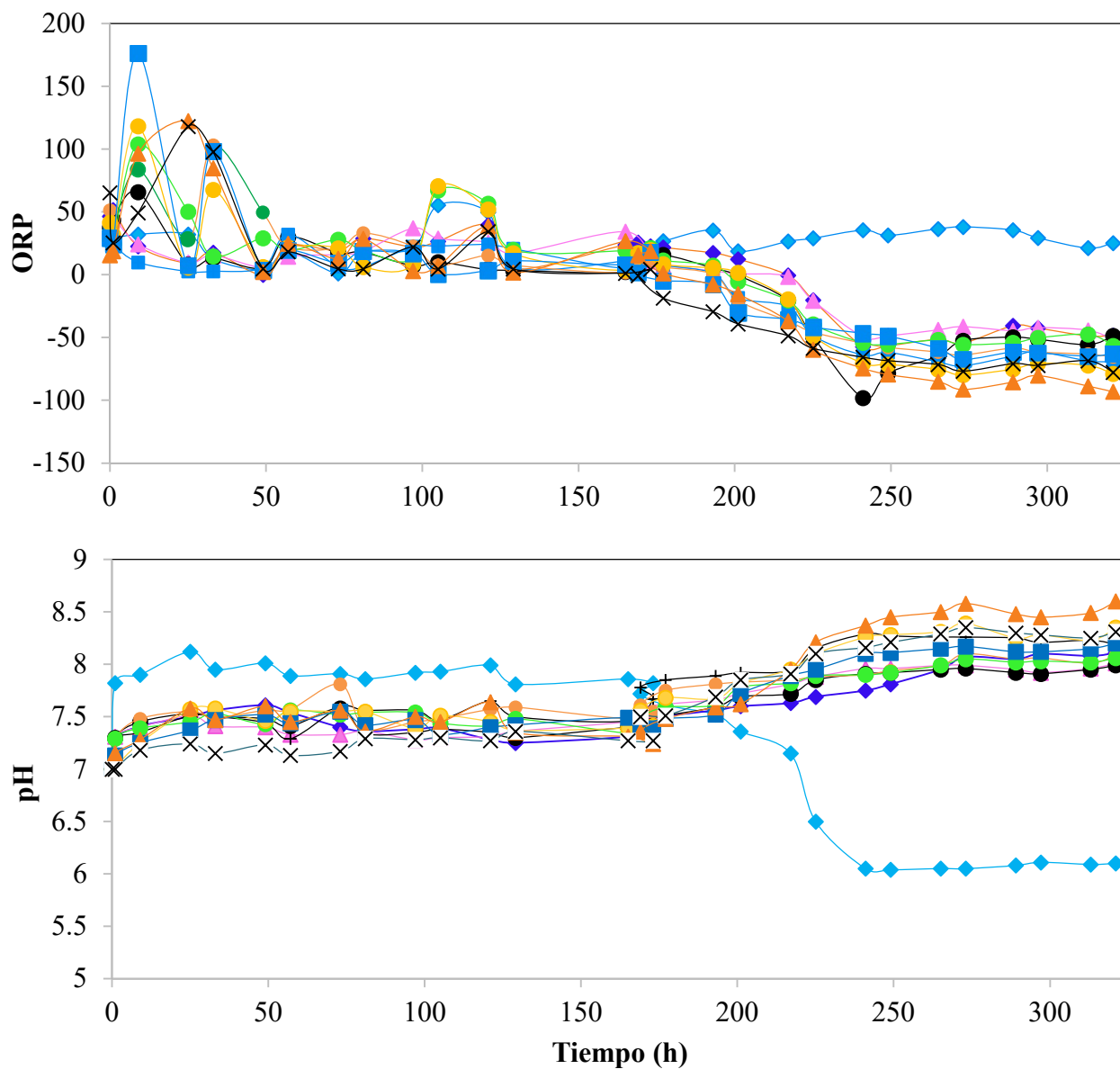


Figura 3.7. Cinética química para la determinación del a) Potencial oxido-reducción; b) pH en pruebas en lote con etanol expuesto a diferentes concentraciones de cromo. 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (♦), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x).

3.3 *Pruebas en lote con lodo metanogénico sin exposición a Cr (VI)*

Al final de las pruebas en lote con lodo granular expuesto a diferentes concentraciones de Cr (VI), 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 BM.

Se realizaron pruebas en lote en ausencia de Cr (VI) al lodo granular, de acuerdo a lo descrito en la sección 2.1. En la Figura 3.8 se presenta la producción de CH₄ con respecto al tiempo durante las pruebas de AME. Donde podemos ver que las botellas que contenían 10 mg/L y 50 mg/L de Cr (VI) se comportaron de manera similar a la cinética anterior que, con metal, produciendo casi la misma cantidad de CH₄, esto debido a que la concentración de Cr (VI) fue muy pequeña que no causó un efecto adverso sobre los microorganismos.

La botella con mayor producción de CH₄ fue la que tenían 100 mg/L de Cr (VI) y las que menos producción de CH₄ tuvieron fueron las de 350, 400, 450 y 500 mg/L de Cr (VI). Esto podría confirmar que se tienen dos grupos de bacterias anaerobias: 1) las que son afines al Cr (VI) y 2) las que no son afines al Cr (VI).

A partir de estas aseveraciones podemos decir, que en las pruebas en lote las bacterias que son afines al metal fueron las que se encargaron de la remoción de DQO y para este segundo ensayo al estar en ausencia del Cr (VI), no tenían el metal para activar su metabolismo siendo incapaces de degradar DQO. Para el segundo grupo de bacterias que no son afines al metal podríamos decir que se inhibió por completo su metabolismo por la toxicidad del Cr (VI) ya que aún en ausencia del metal, no fueron capaces de producir CH₄.

Cabe mencionar que las botellas de 10 mg/L a 250 mg/L de Cr (VI) estuvieron por arriba en la producción de metano comparado con la botella con 0 mg/L de Cr (VI) que produjo 3 mL de CH₄ y las botellas que tuvieron de 300 a 500 mg/L de Cr (VI) se colocaron por debajo de la de 0 mg/L, por lo que podríamos decir que los metales en pequeñas cantidades pueden llegar a favorecer la actividad metabólica de los microorganismos aumentando la producción de metano; así mismo, se tuvo una mayor resistencia a la reportada por Metcalf & Eddy (2003) donde se menciona que la concentración de 250 mg/L es fuertemente inhibitoria.

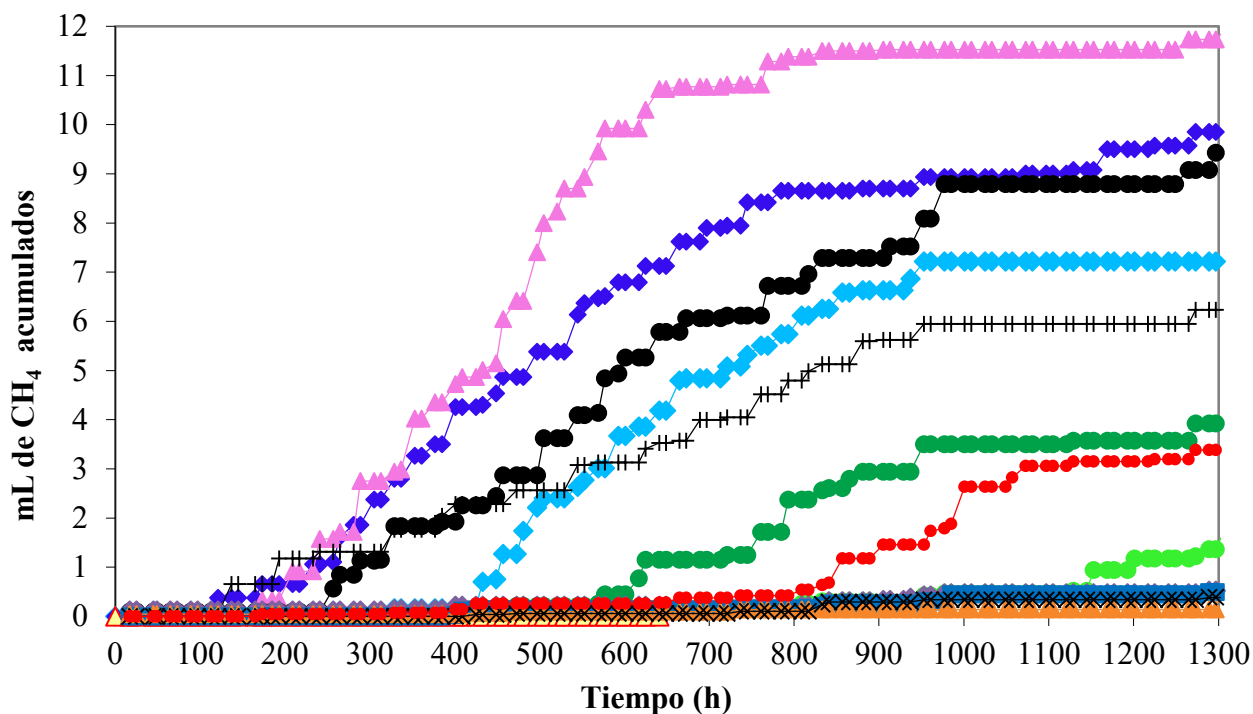


Figura 3.8. Producción de CH_4 en pruebas en lote con lodo granular metanogénico sin metal para evaluar su recuperación al estar expuestas a: 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (◆), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250 mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x).

3.3.1 Determinación de ORP, pH y DQO

En esta determinación es importante mencionar que en ninguna de las pruebas realizadas se tuvieron condiciones iniciales totalmente anaerobias, por lo que los microorganismos tuvieron que generarlas. Esto con la finalidad de conocer si los microorganismos serían capaces de disminuir el ORP del medio y generar las condiciones reductoras, de manera que fuera posible llevar a cabo la reducción del Cr (VI) a Cr (III) sin la necesidad de utilizar un agente reductor.

En la Figura 3.9a podemos observar que les tomó 145 horas a las bacterias en llevar el ORP por debajo de -100 mV que es reportado como el óptimo para las bacterias anaerobias. En las pruebas expuestas al metal le tomó a las bacterias anaerobias 600 horas en que todas tuvieran valores por debajo del ideal mencionado anteriormente contra las 200 horas donde no se tuvo el metal en el medio. Se puede observar que después de las 1000 horas, que es donde la mayoría presentó una ausencia en la producción de metano, el ORP varió a valores oxidantes por encima de cero, una

observación acorde a lo visto en la primera AME, esto puede ser debido a que las botellas eran abiertas para medir diversos parámetros, lo que ocasionaba que aumentara el oxígeno del medio.

En el intervalo de las 200 horas a las 400 horas es donde más se observa la reducción del ORP, en este caso alcanzó casi los -350 mV, esto indica que las bacterias llevaron el ORP hasta esos valores para generar las condiciones anaerobias. Este periodo donde el ORP es óptimo concuerda con lo que nos muestra la Figura 3.8 donde se tienen repuntes en la producción de metano.

Para el caso del pH, se tuvo un promedio de entre 6.5 a 7.5 gracias a la producción de HCO_3^- por la oxidación de la materia orgánica (Figura 3.8b).

El pH que más alto se registró fue para el caso del lodo con concentración de 450 mg/L de Cr (VI) alcanzando un valor de 7.9 a las 626 horas y el que más bajo se tuvo fue de 5.7 a las 25 horas para el caso del lodo que contenía 100 mg/L de Cr (VI).

La eficiencia de remoción de DQO para las pruebas de 10, 50, 100, 150, 200, 250 mg/L de Cr (VI) alcanzaron valores de 89, 88, 89, 40, 91, 90 y 86% respectivamente, por arriba de la remoción de 0 mg/L de Cr (VI) alcanzando una remoción del 85% de DQO, lo que indicó que al retirar el cromo de la solución las BM y cualquier otro tipo de bacterias anaerobias que están presentes en el lodo granular fueron capaces de recuperar la actividad de su metabolismo.

Para los lodos en las botellas de 300, 350, 400, 450 y 500 mg/L de Cr (VI) tuvieron una eficiencia de remoción de DQO de 88, 86, 83, 77 y 72% respectivamente, sin embargo, a pesar de que la remoción de DQO fue alta estos lodos fueron los que menos producción de CH_4 tuvieron, lo que nos indica que la mayor remoción de DQO es debido a otros tipos de bacterias anaerobias presentes en el lodo granular y una mínima cantidad por BM, puesto que, el cromo si causa una inhibición en el metabolismo de estas bacterias.

Cabe mencionar que a pesar de que las BM son inhibidas por el metal, la eficiencia del proceso es buena, ya que al estar presentes diversos tipos de bacterias anaerobia en el lodo granular ayudan a la remoción de la DQO, reducción del ORP y aumento del pH del medio, favoreciendo de esta manera la reducción del Cr (VI) a Cr (III).

Después del término de la cinética se midió metano a los 2 meses y las botellas que antes tuvieron concentraciones de 200, 300, 450 y 500 mg/L de Cr (VI) produjeron una pequeña cantidad de CH_4 , lo que nos indica que sí estuvieron inhibidas un tiempo por el metal.

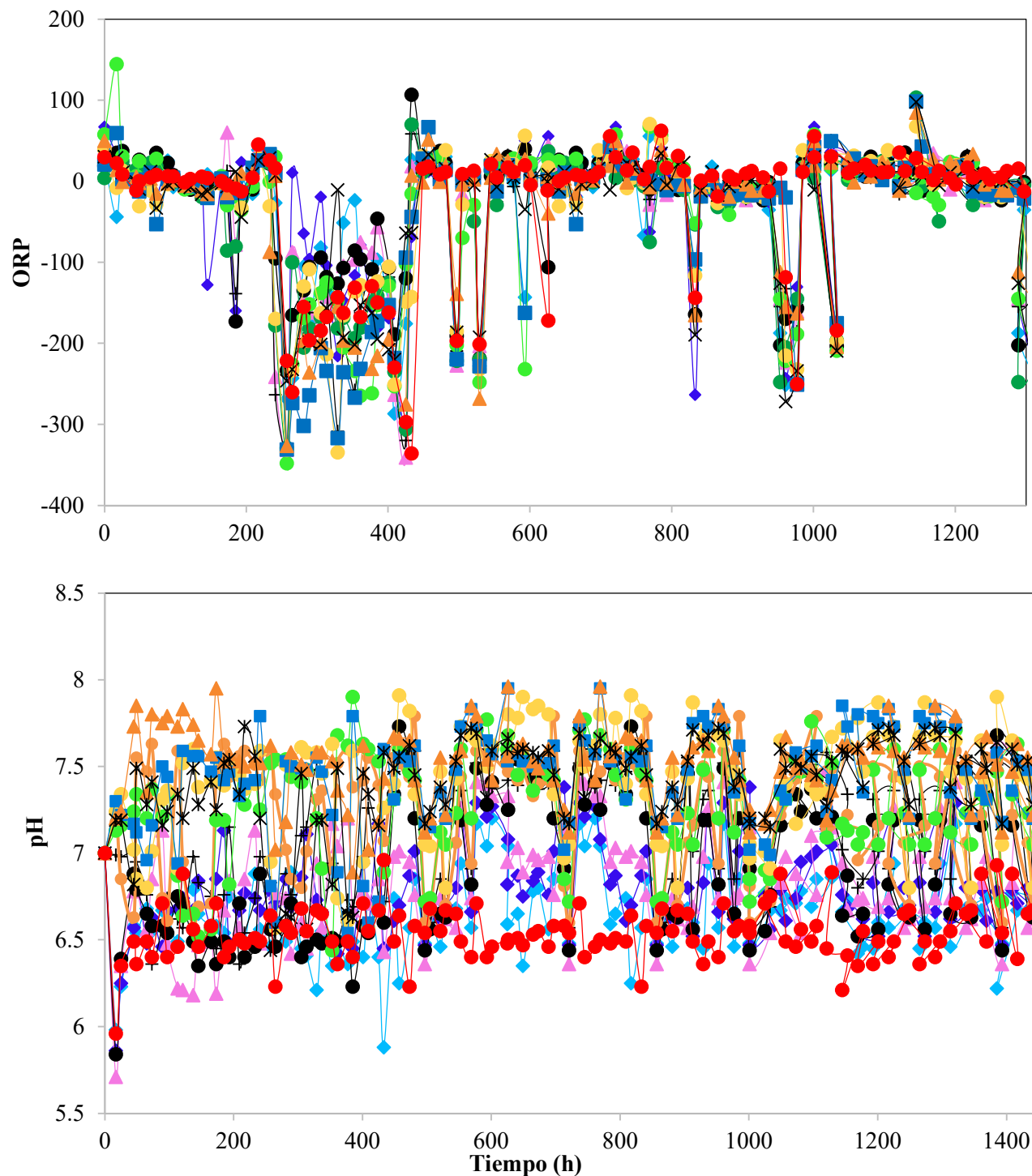


Figura 3.9. Determinación de a) Potencial oxido reducción y b) pH, de las pruebas en lote con lodo granular metanogénico sin metal para evaluar su recuperación al estar expuestas a: 0 mg/L Cr(VI) (●), 10 mg/L Cr(VI) (◆), 50 mg/L Cr(VI) (◇), 100 mg/L Cr(VI) (▲), 150 mg/L Cr(VI) (●), 200 mg/L Cr(VI) (+), 250mg/L Cr(VI) (●), 300 mg/L Cr(VI) (●), 350 mg/L Cr(VI) (●), 400 mg/L Cr(VI) (■), 450 mg/L Cr(VI) (▲), 500 mg/L Cr(VI) (x).

4. Remoción de Cr (VI) a partir de una biopelícula anaerobia en un reactor de lecho fluidificado inverso

4.1 Operación del reactor LFI

Como se mencionó en el apartado 1.7 el reactor está conformado por una columna de poliacrílico, un recirculador, una bomba de alimentación y una de recirculación; el volumen total, tomando en cuenta la columna, recirculador y mangueras, es de 200 mL. El reactor LFI estuvo en funcionamiento por 161 días en continuo y, para medir su rendimiento, se analizaron parámetros de pH, ORP, DQO, alcalinidad y cromo (VI) y total en el efluente, se inició con un TRH de 1 día, en la tabla 2.3 se indican las condiciones iniciales de operación del reactor.

4.1.1 Desempeño del reactor LFI

El reactor LFI fue operado en continuo por 161 días bajo siete diferentes periodos presentados en la Tabla 4.1. La Figura 4.1 muestra el desempeño del reactor LFI con respecto al tiempo, donde se presentan líneas azules punteadas que indican cambio en la concentración del reactor y las líneas negras punteadas señalan cambio en el sustrato. En la Tabla 4.1 se presentan las eficiencias de remoción de DQO y Cr (VI) en el reactor LFI, estos resultados se describen a continuación. El reactor fue operado en lote por 12 h para iniciar la formación de la biopelícula, y posteriormente en continuo para eliminar a los microorganismos que permanecieron en suspensión y de esta manera favorecer su adhesión sobre el soporte.

Durante el periodo I (0-25 días) de operación del reactor en continuo, las bacterias anaerobias fueron expuestas a una concentración de 5 mg/L de Cr (VI) para la adaptación y resistencia de las bacterias anaerobias de la biopelícula, donde podemos observar que la eficiencia de remoción de DQO tuvo valores oscilantes debido a que las bacterias se estaban adaptando al medio con Cr (VI) y a que se abrió el reactor para retirar el lodo en exceso que no fue adherido al soporte el cual

estaba contribuyendo a la remoción de DQO. Al final del periodo la eficiencia de remoción de DQO fue de 65%, lo que indicó que las bacterias que formaron la biopelícula desarrollaron resistencia al medio.

El aumento del pH y la alcalinidad dentro del reactor fueron de 7.3 mg CaCO_3/L y 324 mg CaCO_3/L , respectivamente, esto debido a la oxidación del etanol, y producción de bicarbonato, lo que favoreció el incremento en la capacidad buffer del sistema (Dvorak et al., 1992); en este punto el ORP registra un valor de -35.9 mV el cual está en valores reductores necesarios para la reducción del Cr (VI) a Cr (III). La eficiencia de remoción del Cr (VI) se mantuvo alrededor del 96% pero no hubo precipitación como $\text{Cr}(\text{OH})_3$.

A los 25 días de operación del reactor (periodo II) se aumentó la concentración de Cr (VI) a 10 mg/L, donde se pudo observar que la eficiencia de remoción de DQO oscilaba entre el 25% y 35%, en la disminución del pH a un valor de 6.0 y alcalinidad de 270 mg CaCO_3/L (65 días). La disminución en el pH puede ser debido a la presencia de bacterias acetogénicas y metanogénicas en la biopelícula que producen acetato (Ver reacción 2 y 3) el cual causa una acidez en el pH ya que se transforma en ácido acético por los H^+ presentes en el medio. Es por ello que los valores de alcalinidad son bajos en este periodo ya que el HCO_3^- producido se consumió al neutralizar el ácido acético. Sin embargo, el pH volvió a aumentar debido a la degradación del acetato por las bacterias metanogénicas afines a este sustrato orgánico, produciendo HCO_3^- y neutralizando la acidez del medio (Ver reacción 4). El ORP registró valores tanto oxidativos como reductores desde +35.8 hasta -26.3 mV. El Cr (VI) mantuvo porcentajes de reducción de 97%, este pudo haberse reducido de manera biológica ya que existen condiciones anaerobias en el sistema y de manera química debido a los potenciales oxidativos del medio, donde el etanol actúa como un agente reductor del Cr (VI) a Cr (III). Para este periodo la producción de Cr (III) fue entre los 9.5 mg/L a 10 mg/L pero no hubo precipitación como $\text{Cr}(\text{OH})_3$.

Sin embargo, para los 65 días de operación del reactor podemos observar una disminución en la remoción de DQO, pH, alcalinidad y un aumento en el ORP, lo que podría indicar que las bacterias anaerobias afines a etanol estaban siendo inhibidas por el cromo. Ante esta situación, a los 66 días se cambió la concentración del sustrato orgánico a 50% etanol y 50% ácido acético, con la finalidad de favorecer la degradación de la materia orgánica por la presencia de bacterias anaerobias tanto

metanogénicas afines a estos dos sustratos orgánicos. A partir de este cambio se pudo observar un aumento en la remoción de materia orgánica hasta del 50%; la alcalinidad aumentó hasta 2754 mg CaCO_3/L y el pH incrementó hasta 8.31, esto pudo deberse a que las bacterias metanogénicas afines a acetato estaban participando en la degradación de la DQO y la producción de HCO_3^- (Ver reacción 4). El ORP llega hasta -86.8 mV y el Cr (VI) presenta porcentajes de reducción desde el 97%. La producción de Cr (III) se mantuvo en 10 mg/L sin producción de $\text{Cr}(\text{OH})_3$.

A los 74 días pudimos observar un decremento en la remoción de DQO, esto pudo deberse al incremento de la alcalinidad y pH que afectaron el desempeño de las bacterias, ya que los valores óptimos a los que deben trabajar las bacterias es de 6.5 a 7.5, así un pH muy ácido o muy básico afecta a las bacterias, así como valores de 2900 mg CaCO_3/L es un valor alto según HANNA instruments, (2020).

Por lo que a los 77 días se cambió la relación del sustrato orgánico a 80% etanol y 20% ácido acético para disminuir la concentración de HCO_3^- generado por las bacterias afines al acetato. Además, se modificó TRH de 1 día a 1.5 días, esto para que el líquido estuviera más tiempo dentro del reactor y darles oportunidad a que las bacterias pudieran remover más sustrato orgánico. A partir de este cambio se mantuvo la eficiencia de remoción de DQO, el pH se mantuvo y la alcalinidad disminuyó hasta 2214 mg CaCO_3/L , el ORP fue de -91.1 mV, esto pudo ser debido a que al disminuir la concentración del ácido acético las bacterias afines a este sustrato dejaron de producir HCO_3^- . La eficiencia de remoción del Cr (VI) se mantuvo a 97% de reducción y de Cr (III) se produjo 10.5 mg/L, es en este punto donde comienza la producción de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ con 1%.

En el periodo III (85-98 días) se incrementó la concentración de Cr (VI) de manera conservadora de dos en dos unidades para evitar que la biopelícula fuera afectada por el incremento del cromo. El incremento fue de 15, 17 y 19 mg/L de Cr (VI), donde podemos ver que la eficiencia de remoción de DQO se mantuvo alrededor de 35% al 40%, debido a que la concentración de Cr(VI) se incrementó constantemente, el pH se mantuvo en 8.5, mientras que la alcalinidad tuvo un incremento de hasta 2930 mg CaCO_3/L , a pesar de la disminución del acético en el medio, lo que indicó que no generó una gran desestabilización en el grupo de bacterias afines al metal y activó su metabolismo para la generación de HCO_3^- , el ORP y Cr(VI) mantuvieron valores de -100 mV y 97% de remoción, respectivamente.

Para el periodo IV se incrementó la concentración de Cr (VI) a 21 mg/L. Donde podemos ver en la figura 4.1 una caída en la eficiencia de remoción de DQO de hasta 24%, por lo que se decidió cambiar las concentraciones de los sustratos orgánicos 90% etanol y 10% ácido acético, esto para poder disminuir el pH del medio ya que posiblemente afectó a la biopelícula. Con el cambio de sustrato, la remoción de DQO aumentó de manera gradual hasta 74%, el pH se mantuvo en 8.6 y la alcalinidad disminuyó hasta los 1134 mg CaCO_3/L , como el ácido acético bajó en su concentración no hubo una producción alta de bicarbonato, el ORP aumentó hasta los -34.9 mV y por último la reducción de Cr(VI) fue de 95% de eficiencia. Estos resultados indicaron que la reducción de cromo pudo deberse a diversos factores: 1) La disminución de la alcalinidad atribuido a que se disminuyó la concentración de ácido acético en el medio, ya que las bacterias afines a este sustrato no estuvieron trabajando para producir HCO_3^- ; 2) El aumento en el ORP fue debido a que parte del cromo probablemente pudo estar siendo reducido por el etanol de manera química lo que incrementó el potencial del medio.

En periodo V (112 a 116 días) se incrementó la concentración de Cr (VI) de 25 a 30 mg/L, bajo estas condiciones de concentraciones se pudo observar que el comportamiento típico de la DQO que se vio antes en cuanto a cambios en el medio. La alcalinidad estuvo por debajo de los 906 mg CaCO_3/L , el pH por debajo de 8.5, el ORP hasta de -38.4 mV y el parámetro que si se vio afectado fue el de Cr (VI) obteniendo una eficiencia del 89.9%.

Se modificó la concentración a 30 mg/L de Cr (VI) y comprendió los días 119 a 123. En este lapso se observó la caída típica pero se añade un punto extra de caída de remoción de DQO como se observó en el periodo II; la alcalinidad, pH y ORP mostró una coincidencia notoria de caída de pH, alcalinidad y DQO y aumento de ORP esto puede ser un indicador de que las bacterias acetogénicas y acidogénicas degradaron la materia orgánica y se produjeron ácidos grasos volátiles que provocaron esos cambios, el Cr (VI) registró una eficiencia del 91% que, con los electrones que se liberaron en la remoción de DQO, se redujo el contaminante.

El periodo VI inicia con la concentración de 35 mg/L de Cr (VI) y ésta última duró los días 126 a 128, disminuyó la eficiencia de degradación de la materia orgánica a 27% y posteriormente subió a 62% cuando las bacterias desarrollaron resistencia al medio. El pH se obtuvo de 8.36 y 8.41 que son valores que no variaron significativamente, la alcalinidad también fue muy similar entre 1080

y 1134 mg CaCO₃/L. El ORP estuvo en -38.8 y -45.5 mV que, como se mencionó anteriormente, son valores reductores. Por último, el Cr (VI) aumentó su eficiencia de reducción en 93%, es en esta concentración y a este TRH que se presenta el 98% de producción de Cr(OH)₃ que sería el valor máximo alcanzado.

La concentración se cambió a 45 mg/L de Cr (VI) para los 130 días y, en este lapso, se comportó de la misma manera que a 35 mg/L, por lo tanto se decidió modificar la concentración a 50 mg/L de Cr (VI) a los 133 días, se mantuvieron resultados similares en este periodo y se determinó cambiar concentraciones si los valores obtenidos de eficiencia de remoción de DQO fueran semejantes, por lo que las concentraciones de 60 mg/L de Cr (VI) (135 días), 70 mg/L de Cr (VI) (137 días) y 80 mg/L de Cr (VI) (140 días) solo duraron dos días, este factor se tomó por que nos determinó que las bacterias en el reactor estuvieron activas y removieron el sustrato orgánico que libera electrones y los acepta el Cr (VI) reduciéndolo a Cr (III). El porcentaje de eficiencia de reducción de Cr (VI) más bajo que se registró fue de 42% y la producción de Cr (III) fue de 34.7 mg/L para la concentración de 80 mg/L de Cr (VI) con un TRH de 1.5 días y la reducción más alta fue para los 35 mg/L de Cr (VI) con 91% que produjo 33.4 mg/L de Cr (III) y 38% de Cr(OH)₃.

El último periodo (VII) correspondió a la concentración de 100 mg/L y comprendió de los 142 a 161 días. El aumento de 20 mg/L se notó en la remoción del sustrato orgánico que cayó hasta el 29%, se recuperó después de 2 días y subió hasta 79% probablemente por el incremento de resistencia al metal, a los 147 días se extrajo parte de la biopelícula para una segunda cinética microbiana y se verificó el comportamiento de las bacterias. Posteriormente se registró una breve caída de eficiencia de remoción de DQO pero, para los 156 días, se modificó el TRH a 2 días para influir en el medio al que estuvieron expuestas las bacterias y se reflejó inmediatamente en la medición de la degradación de DQO que alcanzó hasta un 88%. Con el cambio del TRH el pH bajó hasta 8.21, la alcalinidad cambió a 1080 mg CaCO₃/L, el ORP se mantuvo inferior a los -40 mV y el Cr (VI) registró una eficiencia de reducción por arriba del 39%, el Cr (III) se estuvo produciendo en promedio de 40 mg/L durante este último periodo y 25% de Cr(OH)₃.

Con los datos obtenidos del funcionamiento del reactor se comprobó que las bacterias requirieron de cierto tiempo de adaptación para que desarrollaran resistencia al contaminante al que fueron expuestas y que, cuando se cambió la concentración de manera abrupta, si les causó un cierto grado

de inhibición del cuál se recuperaron después de un tiempo y pudieron seguir activas removiendo la materia orgánica del medio que influye directamente en la reducción de contaminantes. Esto se observó en el cambio de concentración de Cr (VI) de 5 mg/L a 10 mg/L, se alimentó con el doble de Cr (VI) y les tomó tiempo para que desarrollaran resistencia al Cr (VI). También se observó en el cambio de concentración de Cr (VI) de 80 mg/L a 100 mg/L que le tomó 2 días recuperarse y, a pesar de que la población bacteriana se redujo con la extracción de soporte para realización de la cinética microbiana, después se lograron porcentajes altos de remoción de DQO en lo que desarrollaban resistencia al medio.

El cambio de la relación de sustrato orgánico nos ayudó a verificar que se lleva a cabo la remoción de DQO por parte de las bacterias metanogénicas produciendo grandes cantidades de bicarbonato que elevaron el pH y la alcalinidad del medio, esto también favoreció para que dentro del reactor LFI se mantuvieran las condiciones anaerobias que requieren las bacterias llevando el ORP hasta los -100 mV. La presencia de Cr (VI) también hizo que el pH y alcalinidad aumentaran por ser un agente oxidante fuerte y se observó en la cinética química que, a mayor presencia de Cr (VI), el pH aumentó pero las bacterias fueron las principales degradadoras de la materia orgánica.

Para los primeros 2 periodos el Cr (III) producido salió completamente del sistema, fue hasta el final del periodo II donde empezó la formación de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ cuando se modificó el TRH a 1.5d, a lo largo de la operación del reactor LFI se logró la máxima precipitación del Cr (III) con 98% para las concentración de 35 mg/L de Cr (VI), seguido por 96% para la concentración de 30 mg/L de Cr (VI), las producciones más bajas fueron para las concentraciones de 5 mg/L y 10 mg/L de Cr (VI) con 0% debido a que el TRH era bajo y no había suficiente tiempo de interacción entre bacterias anaerobias y el medio, autores como Chirwa & Wang, (1997) emplearon un reactor de lecho empacado con concentraciones de 10 mg/L a 200 mg/L de Cr (VI) y un TRH de 1d, sus resultados fueron la reducción cercana al 100% de Cr (VI) pero 0% de $\text{Cr}(\text{OH})_3$, esto indica que todo el Cr (III) estaba saliendo del sistema; otro autor como Sahinkaya et al., (2012) empleó un reactor de lecho empacado en condiciones sulfatorreductoras, añadió concentraciones de 5 mg/L a 50 mg/L con un TRH de 1d obteniendo cerca del 100% de reducción de Cr (VI) y una precipitación de 85% a 95% de $\text{Cr}(\text{OH})_3$. El TRH es un parámetro que influye en la operación de los reactores, cuando aumenta las bacterias tienen más tiempo para interactuar con el medio y así se pueden obtener mejores resultados de remoción de contaminantes.

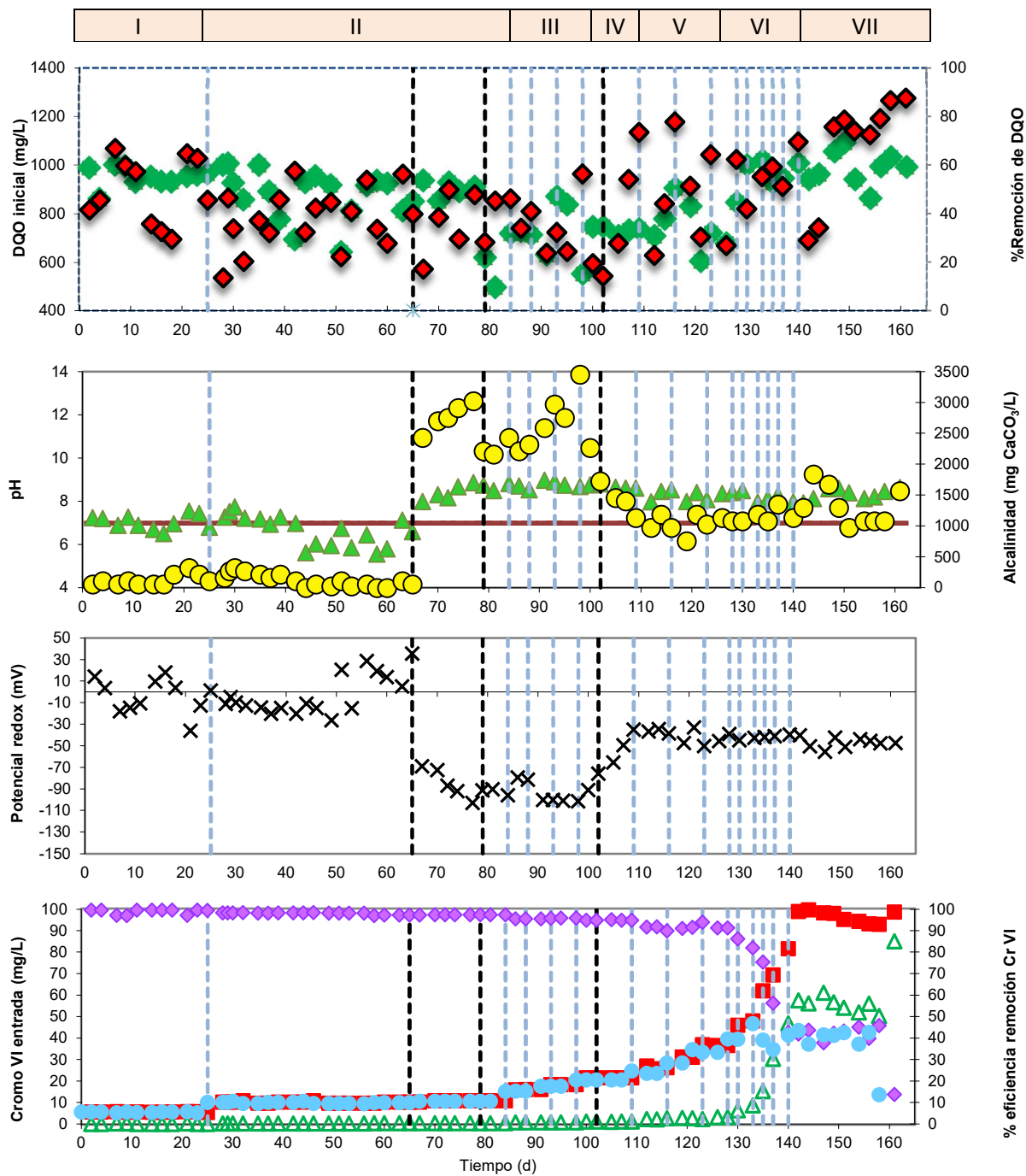


Figura 4.1. Resultados de la operación del reactor. Donde % remoción de DQO (♦), DQO inicial (mg/L) (◆); pH inicial (—), pH final (▲), Alcalinidad (mg CaCO₃/L) (●); ORP final (mV) (X); %eficiencia de remoción Cr (VI) (◆), Cr (VI) inicial (mg/L) (■), Cr (VI) final (mg/L) (△), Cr (III) final (mg/L) (●). En la parte superior se indican los periodos en que se dividió la operación del reactor.

Tabla 4.1. Resumen del desempeño del reactor LFI bajo condiciones metanogénicas

Parámetro	Periodos experimentales						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
Días de operación	1 – 25	26 – 84	85 – 98	99 – 109	110 – 123	124 – 140	141 – 161
Eficiencia de remoción de DQO (%)	46 ± 12	39 ± 11.5	33 ± 11	28 ± 22.5	48 ± 18.8	55 ± 13	76 ± 20.4
Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)	108 ± 86	189 ± 1149	2673 ± 415.5	1458 ± 384	999 ± 147.6	1134 ± 90	1296 ± 288
pH _{efluente}	6.97 ± 0.3	7.2 ± 1	8.73 ± 0.14	8.65 ± 0.1	8.25 ± 0.2	8.29 ± 0.2	8.4 ± 0.2
ORP (mV)	1.5 ± 15.3	-14.8 ± 42.3	-100.1 ± 9.6	-65.3 ± 19.6	-37.5 ± 6.5	-41.7 ± 2.3	-47.2 ± 4.5
Eficiencia de remoción de Cr (VI) (%)	99 ± 1	98 ± 1	95.6 ± 0.1	94.8 ± 0.1	91.6 ± 1.2	82 ± 17.3	42.3 ± 9.3
Producción de Cr (III) (%)	99 ± 1	98 ± 0.5	95.6 ± 0.1	94.8 ± 0.1	91.6 ± 1.2	82 ± 17.3	42.3 ± 9.3

4.2 Cinética con biopelícula

4.2.1 Cinética con biopelícula a diferentes tiempos de operación del reactor

Como se mencionó en el subcapítulo 4.1.1 se realizaron dos cinéticas con biopelícula del reactor LFI que se tomó al inicio de su operación expuesta a 5 mg/L de Cr (VI) y al final expuesta a 100 mg/L de Cr (VI). Las pruebas se realizaron sin Cr (VI), solo con medio mineral y sustrato orgánico (Etanol). En la figura 4.2 se representó el gráfico de la producción de CH₄ con la biopelícula del reactor LFI que estuvo expuesta a 5 mg/L y 100 mg/L de Cr (VI).

En la figura 4.2 se observó que para la biopelícula que tenía 5 mg/L de Cr (VI) la concentración de Cr (VI) no afectó la actividad de las BM que produjo CH₄ desde las 2 h, toda la cinética duró alrededor de 300h con una producción de CH₄ de alrededor de 1.2 mL. La concentración de bacterias adheridas al soporte fue de 0.5 g SSV/L soporte.

A los 161 días de operación del reactor LFI (con 100 mg/L de Cr (VI)) se observó que la producción de CH₄ fue mayor que en la cinética inicial, sin embargo, tardó alrededor de 300 h en producir CH₄, con una duración de casi el triple que la cinética con menor concentración de Cr (VI). La razón por la que las bacterias tardaron tanto tiempo en la producción de metano pudo deberse al cambio de medio ya que, recordemos, estuvieron expuestas a una concentración de 100 mg/L de Cr (VI) y la cinética se realizó en ausencia del metal. Lo que nos indica que la mayoría de las bacterias adheridas al soporte son afines solo a cromo y al retirarlo dejan de producir metano, sin embargo, también podemos decir que existen otro tipo de bacterias metanogénicas adheridas al soporte que no son afines al cromo, ya que al retirar el metal estas bacterias empezaron producir CH₄.

La cantidad de microorganismos adheridos al soporte es de 0.43 SSV/L soporte para esta segunda cinética, esta cantidad de SSV adheridos al soporte es menor que la que tenía al inicio de la operación del reactor, lo que nos indicó que una mínima parte de las bacterias adheridas al soporte y que no son afines al cromo se podrían estar desprendiendo del soporte y saliendo del reactor.

De acuerdo con Montalvo et al., (2013) reportó una concentración de 1.02 g SVI/L soporte contenidos en un reactor LFI y un soporte de polietileno de baja densidad. Según Ruiz Castillo et al., (2016) utilizó un reactor LFI y como soporte partículas finas de polietileno de baja densidad, reportó una concentración de 1.15 g SVI/L soporte, estos resultados se duplican respecto a este trabajo, esto puede a que desde el arranque del reactor LFI se añadió el Cr (VI) al medio con una concentración de 5 mg/L de Cr (VI) y, según Zabochnicka-Swiatek & Krzywonos, (2014) debe de transcurrir una cantidad de tiempo considerable entre el inicio de operación del reactor y la incorporación del metal al medio, ya que las propiedades de la pared celular son decisivas para la adsorción de metales,

En la tabla 4.2 podemos observar que en ambas pruebas las bacterias fueron capaces de reducir el ORP y mantener la capacidad buffer del sistema. En cuanto a la eficiencia de remoción de DQO podemos decir que las bacterias fueron capaces de degradar el etanol casi en su totalidad removiendo hasta 80% de etanol. Sin embargo, al realizar el balance de la cantidad de DQO removido por las BM ($1\text{ g DQO} \rightarrow 0.35\text{ L CH}_4$) fue muy poco en comparación con la remoción de DQO por otro tipo de microorganismos, por lo que podemos decir que la mayoría de las bacterias que están en la biopelícula pueden ser bacterias acetogénicas u otro tipo de microorganismos anaerobios. El análisis por IR (Ver Anexo D) nos demostró la presencia del grupo carboxilo del acetato lo que nos confirma la presencia de bacterias acetogénicas (resistentes a cromo) presentes en la biopelícula.

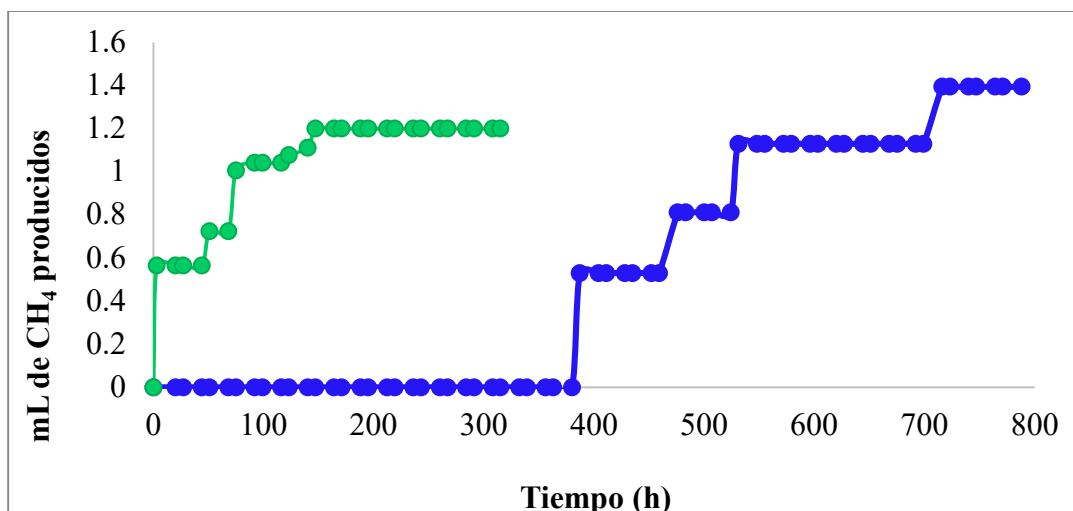


Figura 4.2. Producción de metano al estar expuesta la biopelícula con 5 mg/L de Cr(VI) (●). Biopelícula expuesta a 100 mg/L de Cr (VI) (●) en un reactor LFI.

Tabla 4.2. Desempeño de la biopelícula extraída de reactor LFI al estar expuesta a diferentes concentraciones de Cr (VI)

Parámetro	Biopelícula 5 mg/L Cr (VI)	Biopelícula 100 mg/L Cr (VI)
ORP (mV)	-45.3	-51.6
pH	6.71	6.74
% DQO _{total}	80	80
% DQO _{BM}	0.6	0.7
% DQO _{otras bacterias}	99	99
SVI/Lsoporte	0.5	0.43

DQO total: % DQO por BM + %DQO por otros microorganismos.

DQO por BM: % de DQO removida por bacterias metanogénicas, calculada a partir de la producción de CH₄ y la DQO total

DQO por *Moo*: % de DQO removida por otros microorganismos anaerobios, Calculada de la resta de la

De los resultados obtenidos de esta prueba de manera general podemos concluir que en la biopelícula del reactor LFI existen diversos tipos de poblaciones de bacterias anaerobias adheridas al soporte como son: las BM que son capaces de sobrevivir a concentraciones de 5 hasta 100 ppm de Cr(VI) y las BM que no son afines a cromo, pero al retirar este contaminante son capaces de reactivar su metabolismo y producir metano (Ver fig 4.2). Además, de la presencia de bacterias acetogénicas afines y no a cromo, la cuales contribuyen a la disminución de ORP y degradación del sustrato orgánico.

Conclusiones

En base a los resultados obtenidos en este trabajo podemos concluir lo siguiente: Al realizar una comparativa entre la actividad metanogénica específica con exposición a Cr (VI) y posteriormente sin él, se obtuvo un cambio en el comportamiento de las bacterias. En las pruebas realizadas se obtuvo que las botellas con lodo granular expuesto a 500 mg/L de Cr (VI) estuvo activo en la producción de metano, lo que indica que las bacterias no sufrieron una inhibición fuerte y fueron capaz de degradar la materia orgánica; para el caso de la segunda cinética las botellas con lodo granular que anteriormente estuvo con concentraciones desde los 300 mg/L a los 500 mg/L de Cr (VI) produjeron una cantidad de metano que fue mínima tomando como referencia la botella con 0 mg/L de Cr (VI) pero si hubo degradación de la materia, por lo tanto se infiere que las bacterias no fueron afectadas en su totalidad por el Cr (VI). Según Metcalf & Eddy, (2003), las concentraciones que son tóxicas para los microorganismos son a partir de los 200 mg/L a los 250 mg/L de Cr (VI).

En el caso de la degradación de DQO podemos decir que cuando estuvieron expuestas a concentraciones de 10 mg/L a 500 mg/L Cr (VI) se degradó más rápido el sustrato orgánico porque las bacterias pueden tomar los metales como un nutriente y activar su metabolismo más rápido (Utgikar et al., 2002; Van Hullebusch et al., 2003). Así mismo, al emplear etanol como sustrato, podemos encontrar 2 grupos de bacterias metanogénicas: uno que es afín al etanol y otro que es afín al acetato por lo que debe esperar a que las bacterias acetogénicas degraden el etanol a acetato para poder producir metano, esto lo podemos observar en los gráficos de producción de metano donde hay periodos donde hay ausencia de producción del biogás y en el análisis de IR que nos indicó la presencia de acetato en el medio líquido al final de las pruebas en lote. También hay 2 grupos de bacterias anaerobias: las que son afines al Cr (VI) y las que se inhibieron en presencia del metal.

Se obtuvo que las bacterias fueron capaces de disminuir el ORP y aumentar el pH a valores óptimos para la actividad bacteriana y para llevar a cabo la reducción de Cr (VI) a Cr (III) y precipitarlo como $\text{Cr}(\text{OH})_3$. Esto fue corroborado con el diagrama de Pourbaix y con los resultados del análisis del precipitado por MEB y DRX.

Con los resultados obtenidos de la cinética bacteriana expuesta a cromo y la cinética química se comprobó que existen diversos mecanismos de reducción del cromo como son: 1) reducción del

cromo por la reducción del ORP debido a la acción bacteriana; 2) reducción química del cromo al reaccionar con el etanol el cual actúa como un agente reductor y 3) reducción enzimática debido a que las bacterias pueden llegar a incorporar el cromo a su metabolismo y excretarlo como Cr (III). La combinación de estos mecanismos en un solo sistema puede llegar a hacer favorables para la aplicación de un proceso económicamente viable y amigable con el ambiente, ya que no requiere de la adición de reactivos químicos que reduzcan el metal y su precipitado pueda quedar en el medio causando así efectos negativos al ambiente o que, en su defecto, se deban tratar o confinar grandes masas del precipitado.

Durante el tiempo de operación del reactor LFI (161 días), para un TRH de 1 día y una concentración de Cr (VI) de 10 mg/L el reactor alcanzó porcentajes de eficiencia de remoción de DQO del 57% mientras que en pruebas en lote en ese mismo tiempo se registró un porcentaje de 16% de remoción de DQO, el Cr (VI) se redujo en un 97% en el reactor LFI contra 20% de pruebas en lote pero el porcentaje de eficiencia de precipitación de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ fue de 0%. Con la modificación del TRH a 1.5 es cuando se observó que se favoreció la precipitación de $\text{Cr}(\text{OH})_3$. Para un TRH de 2 días y una concentración de 100 mg/L el reactor alcanzó un porcentaje de eficiencia de remoción de DQO de 88% contra 22% en pruebas en lote; el Cr (VI) se redujo en el reactor en un 82% contra un 25% en pruebas en lote y el porcentaje de eficiencia de precipitación de $\text{Cr}(\text{OH})_3$ fue de máximo un 26%. Según Marcela et al., (2017) realizó el estudio de la reducción de Cr (VI) con microorganismos adaptados al metal en pruebas en lote, las concentraciones fueron de 102 mg/L a 487 mg/L obteniendo porcentajes de eficiencia de reducción de Cr (VI) de 54% hasta 83%. Otro estudio realizado en un reactor LFI es publicado por Cirik et al., (2013) que emplean bacterias sulfato reductoras, registra porcentajes de eficiencia de remoción de DQO del 50%, la concentración de Cr (VI) en el afluente fue de 45 mg/L y en el efluente obtuvo concentraciones de Cr (VI) menores a 0.5 mg/L.

El estudio desarrollado en un reactor LFI, mostró que para desarrollar una biopelícula anaerobia capaz de reducir Cr (VI) a Cr (III) sin afectar de manera significativa el metabolismo de las BSR, es necesario alimentar el reactor bajo cargas graduales de 5 a 100 mg/L-d de Cr (VI) para que las bacterias vayan creando resistencia y adaptación al cromo. Cuando la carga se fue incrementando el TRH se fue modificando hasta 2 días para darle oportunidad al sistema a reducir esta concentración de cromo alcanzando una remoción de cromo de hasta 46%. Los resultados de las pruebas en lote con biopelícula nos demostraron la existencia de diversos grupos de bacteria

anaerobias afines y no afines a cromo como son BM, acetogenicas, entre otras bacterias anaerobias, lo que es benéfico para el sistema ya que este conjunto de bacterias contribuye a la reducción del ORP, reducción del cromo y degradación de la materia orgánica.

De manera general podemos decir que la biopelícula fue capaz de adaptarse a la presencia del metal y desarrollar resistencia ante los efectos de inhibición causados por el metal, lo que confirmo que el sistema fue capaz de reducir el Cr (VI) a Cr (III) y su precipitación como un posible Cr(OH)_3 por la acción de la biopelícula anaerobia en una sola etapa. Sin embargo es necesario realizar más estudios con el fin de asegurar la completa remoción del Cr del sistema y su precipitación como Cr(OH)_3 .

Los procesos biológicos son una alternativa al tratamiento de aguas residuales ya que se obtienen resultados beneficiosos en la reducción de la materia orgánica, pueden remover distintos contaminantes y solo requieren adaptarse al medio con contaminante, los sustratos orgánicos son de bajo costo como el etanol o efluentes de cafeterías y baños lo que no representa un gasto fuerte en este rubro y, por último, con el empleo de bacterias metanogénicas, se puede aprovechar el biogás para la generación de energía eléctrica para operación del mismo reactor, ahorrando así en gastos de operación.

El empleo de procesos biológicos para el saneamiento de aguas residuales resulta en una opción para el tratamiento de aguas residuales que debe ser aprovechada. Como se reporta en este estudio, las bacterias anaerobias pudieron remover parte del contaminante, degradaron materia orgánica y no sufrieron cambios significativos en cuanto a pH que señale que el medio se volvió ácido el cuál inhibe por completo a los microorganismos, por lo que inferimos que la alcalinidad del medio es alta y no permite estos cambios por la producción de bicarbonato en la metanogénesis.

Referencias

- Abd El-Monaem, E. M., Omer, A. M., Hamad, H. A., & Eltaweil, A. S. (2024a). Construction of attapulgite decorated cetylpyridinium bromide/cellulose acetate composite beads for removal of Cr (VI) ions with emphasis on mechanistic insights. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62378-4>
- Abd El-Monaem, E. M., Omer, A. M., Hamad, H. A., & Eltaweil, A. S. (2024b). Construction of attapulgite decorated cetylpyridinium bromide/cellulose acetate composite beads for removal of Cr (VI) ions with emphasis on mechanistic insights. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-62378-4>
- American Public Health Association, American Water Works Association, & Water Environment Federation. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (23rd ed.).
- Arias Arce, V. A., Lovera Dávila, D. F., Flores Paucarima, A., & Sánchez Rojas, T. L. (2021). Correlación del potencial óxido reducción y la población bacteriana durante el estudio de biolixiviación de sulfuros de cobre. *Revista Del Instituto de Investigación de La Facultad de Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 24(47), 19–28. <https://doi.org/10.15381/iigeo.v24i47.20639>
- ATSDR. (2012). *Resumen de Salud Pública Cromo*. Recuperado de www.atsdr.cdc.gov/es
- Bakalár, T., Búgel, M., & Gajdošová, L. (2009). Heavy metal removal using reverse osmosis. In *Acta Montanistica Slovaca Ročník* (Vol. 14).
- Barrera-Díaz, C. E., Lugo-Lugo, V., & Bilyeu, B. (2012). A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous Cr(VI) reduction. *Journal of Hazardous Materials*, 223–224, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.054>
- Betelgeux. (2013). *Formación de biofilms*.
- Brioukhanov, A. L., Netrusov, A. I., & Eggen, R. I. L. (2006). The catalase and superoxide dismutase genes are transcriptionally up-regulated upon oxidative stress in the strictly anaerobic archaeon *Methanosarcina barkeri*. *Microbiology*, 152(6), 1671–1677. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28542-0>
- Caldera, Y. A., Madue, P. I., Griborio, A. G., Gutiérrez, C., & Fernández, N. M. (2003). *Efecto del tiempo de retención hidráulica en el funcionamiento de un reactor UASB tratando efluentes cárnicos*.
- Chan, Y. J., Chong, M. F., Law, C. L., & Hassell, D. G. (2009). A review on anaerobic-aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. In *Chemical Engineering Journal* (Vol. 155, Issues 1–2, pp. 1–18). <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.06.041>
- Chandra, P., Sinha, S., & Rai, U. N. (1997). *Bioremediation of Chromium from Water and Soil by Vascular Aquatic Plants* (pp. 274–282). <https://doi.org/10.1021/bk-1997-0664.ch020>
- Chang, I. S., & Kim, B. H. (2007). Effect of sulfate reduction activity on biological treatment of hexavalent chromium [Cr(VI)] contaminated electroplating wastewater under sulfate-rich condition. *Chemosphere*, 68(2), 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.01.031>
- Chardin, B., Dolla, A., Chaspoul, F., Fardeau, M., Gallice, P., & Bruschi, M. (2002). Bioremediation of chromate: Thermodynamic analysis of the effects of Cr(VI) on sulfate-reducing bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60(3), 352–360. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1091-8>
- Cheung, K. H., & Gu, J.-D. (2003). Reduction of chromate (CrO₄²⁻) by an enrichment consortium and an isolate of marine sulfate-reducing bacteria. *Chemosphere*, 52(9), 1523–1529. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00491-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00491-0)
- Chirwa, E., & Wang, Y. T. (1997). *Hexavalent Chromium Reduction by Bacillus sp. in a Packed-Bed Bioreactor*.

- Cirik, K., Dursun, N., Sahinkaya, E., & Çinar, Ö. (2013). Effect of electron donor source on the treatment of Cr(VI)-containing textile wastewater using sulfate-reducing fluidized bed reactors (FBRs). *Bioresource Technology*, 133, 414–420. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.064>
- Costanza-Corrales, L., Antolinez-Romero, D., Bohorquez-Macias, J., & Corredor-Vargas, A. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *NOVA*, 13, 55–81.
- Delgadillo-Lopez, A., Gonzalez-Ramirez, C., Prieto-Garcia, F., Villagomez-Ibarra, J., & Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación: Una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14, 597–612.
- Dvorak, D. H., Hedin, R. S., Edenborn, H. M., & McIntire, P. E. (1992). Treatment of metal-contaminated water using bacterial sulfate reduction: Results from pilot-scale reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 40(5), 609–616. <https://doi.org/10.1002/bit.260400508>
- Fetzer, S., & Conrad, R. (1993). Effect of redox potential on methanogenesis by *Methanosarcina barkeri*. *Archives of Microbiology*, 160(2), 108–113. <https://doi.org/10.1007/BF00288711>
- Foglia, F., Clancy, A., Miller, T. S., & Brett, D. J. L. (2022). Disentangling water, ion and polymer dynamics in an anion exchange membrane. *Nature Materials*, 21, 555–563. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-106476/v1>
- Fude, L., Harris, B., Urrutia, M., & Beveridge, T. (1994). Reduction of Cr(VI) by a Consortium of Sulfate-Reducing Bacteria (SRB III). *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 1525–1531.
- García Titla, A. (2021). *Desarrollo de una geomembrana polimérica impregnada con nanopartículas de plata sintetizadas a partir de bacterias anaerobias para la desinfección de agua contaminada con Escherichia coli*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- García Torres, J. (2019). *Tratamiento de aguas residuales a partir de bacterias anaerobias para la recuperación de nanopartículas de plata y su efecto sobre Escherichia coli*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Guan, K., Guo, Y., Li, Z., Jia, Y., Shen, Q., Nakagawa, K., Yoshioka, T., Liu, G., Jin, W., & Matsuyama, H. (2023). Deformation constraints of graphene oxide nanochannels under reverse osmosis. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36716-5>
- HANNA instruments. (2020, September 3). *¿Por qué medir la alcalinidad en el agua potable?* <https://h.hannainst.com.mx/blog/por-que-medir-la-alcalinidad-en-el-agua-potable/>
- Jin, R., Liu, Y., Liu, G., Tian, T., Qiao, S., & Zhou, J. (2017). Characterization of Product and Potential Mechanism of Cr(VI) Reduction by Anaerobic Activated Sludge in a Sequencing Batch Reactor. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01885-z>
- Kitchen Fabre, M. C. (2005). *Evaluación Técnica preliminar de la reducción de cromo hexavalente por medio de un proceso electrolítico*. Universidad de los Andes.
- Kumar, A. R., & Riyazuddin, P. (2010). Chromium speciation in groundwater of a tannery polluted area of Chennai City, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160(1–4), 579–591. <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0720-9>
- Li, Z. Y., Dong, J. J., Azi, F., Feng, X., Ge, Z. W., Yang, S., Sun, Y. X., Guan, X. Q., & Dong, M. S. (2024a). Mechanism of Cr(VI) removal by polyphenols-rich bacterial cellulose gel produced from fermented wine pomace. *Npj Clean Water*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41545-024-00318-5>
- Li, Z. Y., Dong, J. J., Azi, F., Feng, X., Ge, Z. W., Yang, S., Sun, Y. X., Guan, X. Q., & Dong, M. S. (2024b). Mechanism of Cr(VI) removal by polyphenols-rich bacterial cellulose gel produced from fermented wine pomace. *Npj Clean Water*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41545-024-00318-5>
- López-Almaguer, S., Gallegos-García, M., & Escoto-Chávez, S. (n.d.). *Reducción de Cromo (VI) a Cromo metálico de un agua residual sintética a partir de bacterias anaerobias*.
- Marcela, E., Rueda¹, S., Landazuri², P., & Loango, N. (2017). REMOCIÓN DE CROMO HEXAVALENTE DE AGUAS RESIDUALES CON MICROORGANISMOS ADAPTADOS A MEDIOS RICOS EN CROMO REMOVAL

- OF HEXAVALENT CHROMIUM FROM WASTEWATER USING MICROORGANISMS ADAPTED TO CHROMIUM-RICH MEDIA. In *Rev. Asoc. Col. Cienc.(Col)* (Vol. 29).
- Martínez, R. A.-G. S. A.-M. H. F. (2005). Efecto del potencial redox sobre los parámetros del cultivo de *Trypanosoma cruzi* desarrollado en medio líquido agitado. *Revista Argentina de Microbiología*, 37, 165–168.
- Martínez-Reina, M. D. (2022). Filatelia, historia y química: siglo XIX. *Educación Química*, 33(2), 119. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2022.2.79939>
- Metcalf & Eddy, Inc. (2003). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse* (4th ed.). McGraw-Hill.
- Neculita, C., Zagury, G. J., & Bussière, B. (2007). Passive Treatment of Acid Mine Drainage in Bioreactors using Sulfate-Reducing Bacteria. *Journal of Environmental Quality*, 36(1), 1–16. <https://doi.org/10.2134/jeq2006.0066>
- Nuria García-Mancha Delgado-Ureña. (2016). *Tratamiento biológico de aguas residuales industriales mediante reactores anaerobios de alta eficacia*.
- OEHA. (2016). *Efectos del cromo hexavalente sobre la salud*.
- Pat-Espadas, A. M., Field, J. A., Otero-Gonzalez, L., Razo-Flores, E., Cervantes, F. J., & Sierra-Alvarez, R. (2016). Recovery of palladium(II) by methanogenic granular sludge. *Chemosphere*, 144, 745–753. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.09.035>
- Qian, J., Wei, L., Liu, R., Jiang, F., Hao, X., & Chen, G. H. (2016). An exploratory study on the pathways of Cr (VI) reduction in sulfate-reducing Up-flow Anaerobic Sludge Bed (UASB) reactor. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep23694>
- Rittmann, B. E., & Mccarty, P. L. (2001). *Environmental Biotechnology: Principles and Applications* (1st ed.). McGraw-Hill.
- Ruiz Castillo, A. L., Gallegos García, M., Briones Gallardo, R., Razo Soto, I., & Sánchez Loredo, M. G. (2016). *RECUPERACIÓN DE PARTÍCULAS Y NANOPARTÍCULAS DE PLATA CON SISTEMAS BIOLÓGICOS ANAEROBIOS DE LODO GRANULAR Y BIOPELÍCULA*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Sahinkaya, E., Altun, M., Bektas, S., & Komnitsas, K. (2012). Bioreduction of Cr(VI) from acidic wastewaters in a sulfidogenic ABR. *Minerals Engineering*, 32, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2012.03.014>
- Sahinkaya, E., Kilic, A., Altun, M., Komnitsas, K., & Lens, P. N. L. (2012). Hexavalent chromium reduction in a sulfur reducing packed-bed bioreactor. *Journal of Hazardous Materials*, 219–220, 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.002>
- Sai Ram, M., Singh, L., Suryanarayana, M. V. S., & Alam, S. I. (2000). Effect of Iron, Nickel and Cobalt on Bacterial Activity and Dynamics During Anaerobic Oxidation of Organic Matter. *Water, Air, and Soil Pollution*, 117(1/4), 305–312. <https://doi.org/10.1023/A:1005100924609>
- SEMARNAT. (1998). *Norma Oficial Mexicana NOM-002-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal*.
- SEMARNAT. (2022). *Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021, Que establece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en cuerpos receptores propiedad de la nación*.
- Soto, E., Miranda, R. del C., Sosa, C. A., & Loredo, J. A. (2006). Optimización del Proceso de Remoción de Metales Pesados de Agua Residual de la Industria Galvánica por Precipitación Química. *Información Tecnológica*, 17(2). <https://doi.org/10.4067/S0718-07642006000200006>
- SSA. (2015). *Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2015, Productos y servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias*.
- SSA. (2022). *Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-2021, Agua para uso y consumo humano. Límites máximos permisibles de la calidad del agua*.

- Strevett, K., Davidova, I., & Suflita, J. M. (2002). A comprehensive review of the screening methodology for anaerobic biodegradability of surfactants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 1(2), 143–167. <https://doi.org/10.1023/A:1020881616757>
- Utgikar, V. P., Harmon, S. M., Chaudhary, N., Tabak, H. H., Govind, R., & Haines, J. R. (2002). Inhibition of sulfate-reducing bacteria by metal sulfide formation in bioremediation of acid mine drainage. *Environmental Toxicology*, 17(1), 40–48. <https://doi.org/10.1002/tox.10031>
- Van Hullebusch, E. D., Zandvoort, M. H., & Lens, P. N. L. (2003). Metal immobilisation by biofilms: Mechanisms and analytical tools. In *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology* (Vol. 2).
- Varnero-Moreno, M. T. (2011). Manual de Biogás. *Physiological Research*, 64(6), 883–890. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>
- Villa-Gómez, D. (2006). *Arranque de un reactor de lecho fluidificado inverso (LFI) para la producción biológica de H₂S*. IPICYT.
- Wang, L., Ivanov, V., Tay, J.-H., & Hung, Y.-T. (2010). *Environmental Biotechnology*. Humana Press. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-140-0>
- Xu, F., Liu, X., Chen, Y., Zhang, K., & Xu, H. (2016). Self-assembly modified-mushroom nanocomposite for rapid removal of hexavalent chromium from aqueous solution with bubbling fluidized bed. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep26201>
- Xu, H., Wei, S., Li, G., & Guo, B. (2024). Advanced removal of phosphorus from urban sewage using chemical precipitation by Fe-Al composite coagulants. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55713-2>
- Zabochnicka-Swiatek, M., & Krzywonos, M. (2014). *Potentials of Biosorption and Bioaccumulation Processes for Heavy Metal Removal*. <https://www.researchgate.net/publication/261511372>
- Zahakifar, F., Dashtinejad, M., Sepehrian, H., Samadfam, M., Fasihi, J., & Yadollahi, A. (2024a). Intensification of Cr(VI) adsorption using activated carbon adsorbent modified with ammonium persulfate. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-68105-3>
- Zahakifar, F., Dashtinejad, M., Sepehrian, H., Samadfam, M., Fasihi, J., & Yadollahi, A. (2024b). Intensification of Cr(VI) adsorption using activated carbon adsorbent modified with ammonium persulfate. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-68105-3>

Anexos

A. Evidencia fotográfica de pruebas



Figura A.1. Valoración ácido-base del HCl con NaOH empleando fenoftaleína como indicador.



Figura A.2. Configuración de reactor LFI.

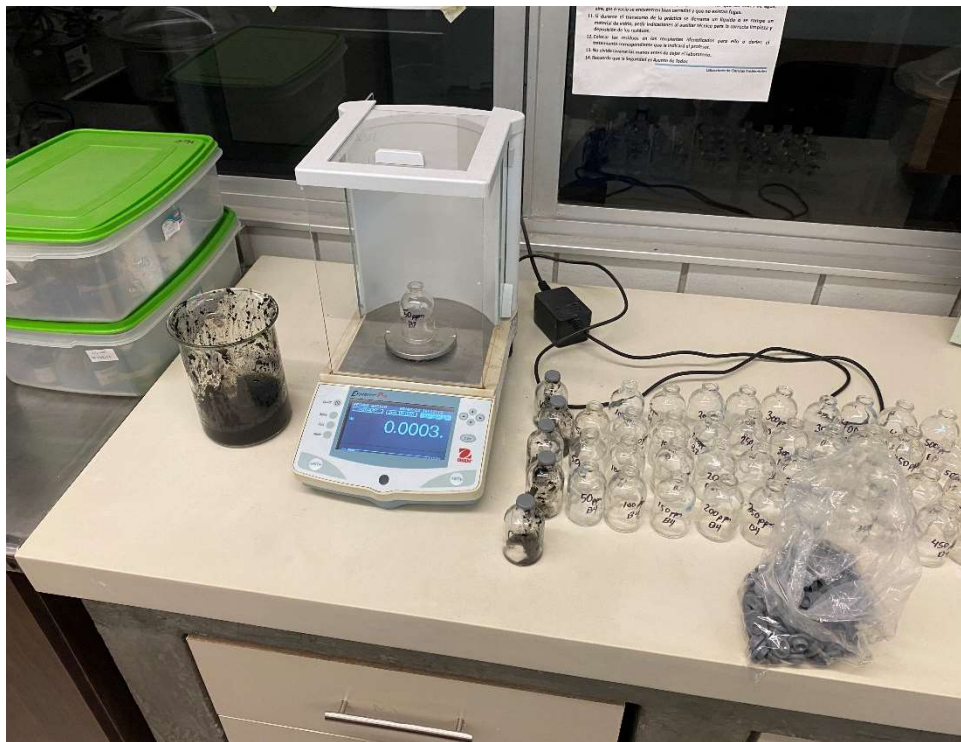


Figura A.3. Pesado de lodo para prueba de actividad metanogénica específica.



Figura A.4. Preparación de soluciones para actividad metanogénica específica expuesta a concentraciones incrementales de Cr (VI).



Figura A.5. Medición de metano por método volumétrico.



Figura A.6. Medición de metano a botellas expuestas a concentraciones incrementales de Cr (VI), se observa cambio en la coloración de la botella que indica reducción de Cr (VI).

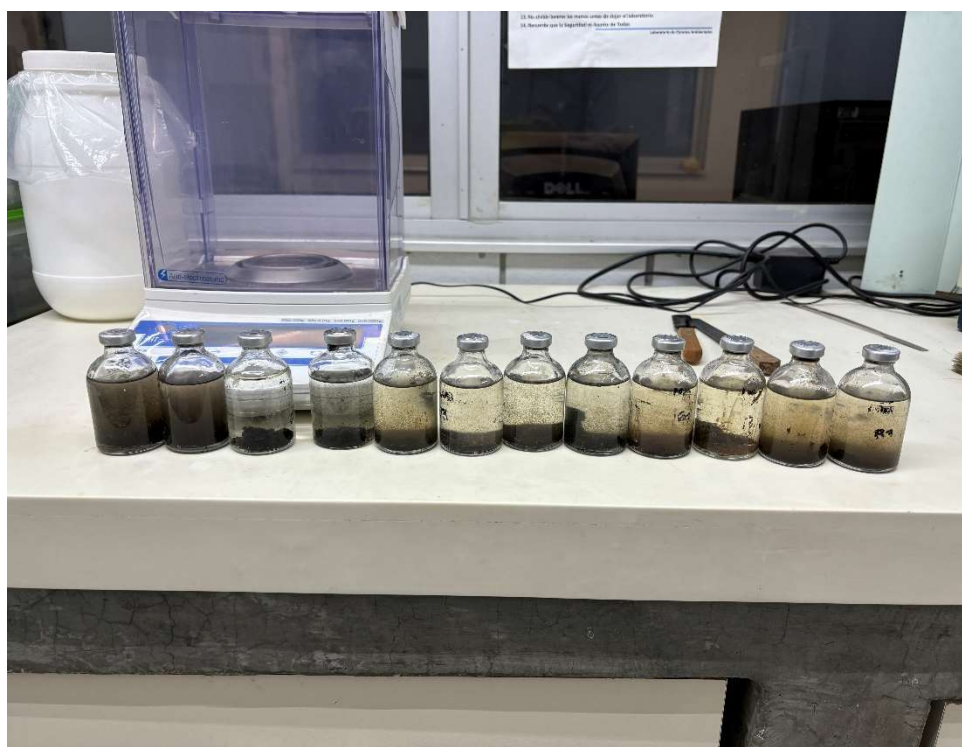


Figura A.7. Botellas al final de las pruebas de actividad metanogénica específica de recuperación.



Figura A.8. Medición de metano en cinética química.

B. Curva de calibración de DQO

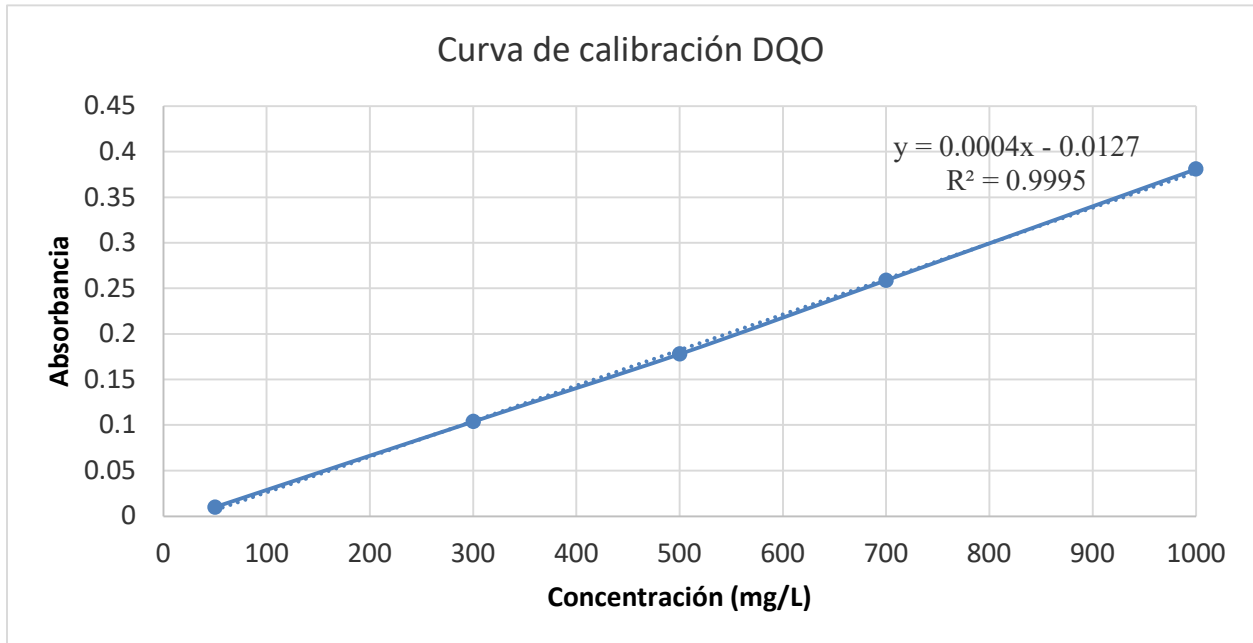


Figura B.1. Celdas para curva de calibración de DQO.

C. Curva de calibración de Cr (VI)

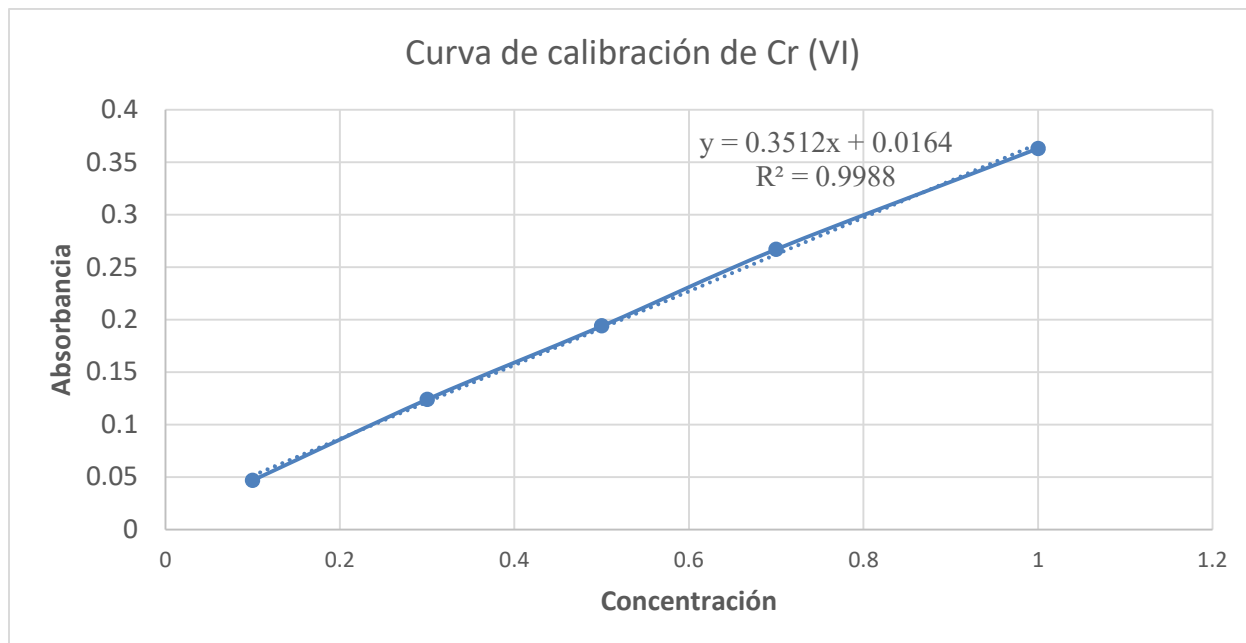


Figura C.1. Preparación de curva de calibración de Cr (VI).

D. Análisis en IR de medio de botellas con biopelícula

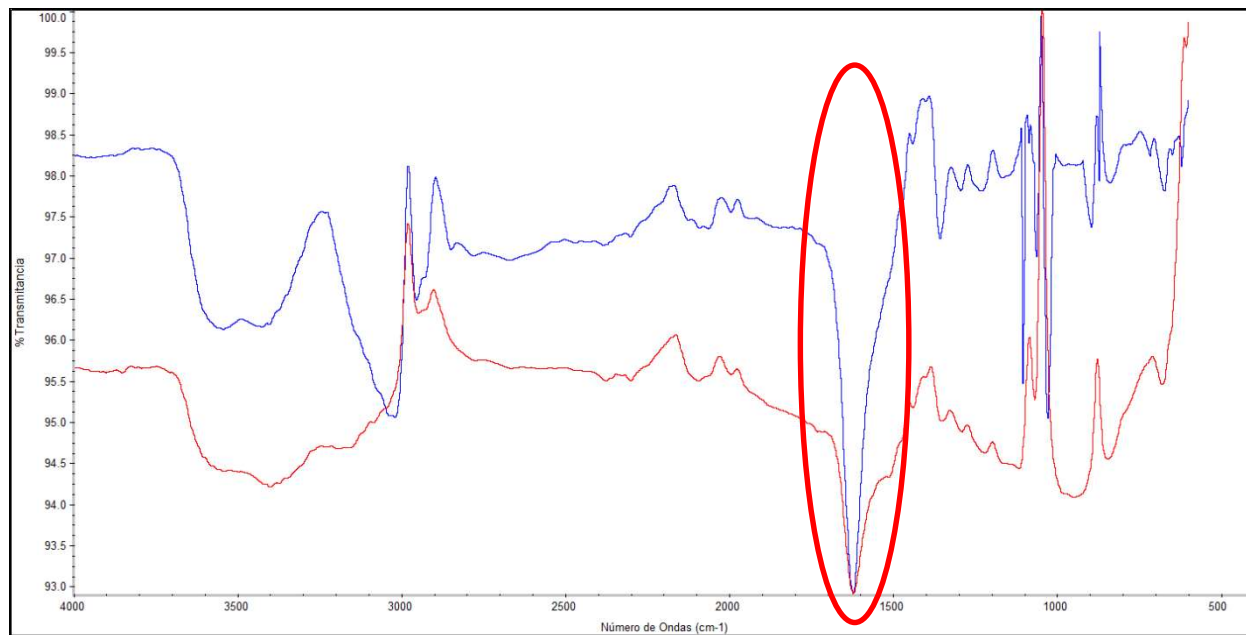


Figura D.1. Análisis de muestra de medio contenido en botellas con biopelícula. Se demuestra la presencia del grupo carboxilo del acetato.