

Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo el estudio de la reducción biológica de sulfatos. La realización técnica es dirigida por la empresa AYESA (Agua y Estructuras, S.A.), y forma parte del "Programa de Investigación para el tratamiento de aguas ácidas, en el río Tinto" de la Consejería del Medio Ambiente (Junta de Andalucía).

Las aguas ácidas de minería constituyen uno de los problemas medioambientales más serios a los que se enfrentan las regiones mineras. Este tipo de agua se origina cuando se produce una oxidación química y biológica de los sulfuros metálicos (fundamentalmente pirita), y están caracterizadas por valores bajos de pH y altas concentraciones de sulfato y metales en solución.

En el presente trabajo, se pretende estimular la reducción de los sulfatos por las bacterias sulfato-reductoras, en condiciones anaerobias, con el fin de mejorar la calidad del agua. Las experiencias se realizaron a escala de laboratorio, en discontinuo, y a la temperatura de 25°C.

Palabras clave:

Tratamiento Biológico, Aguas Ácidas, Sistema Anaerobio, Bacterias Sulfato-reductoras.

Abstract**Biological treatment of acid mine water: selection of a biomass population enriched in sulphate-reducing bacteria**

The purpose of this work is to study the biological sulphate reduction. AYESA (Agua y Estructuras, S.A.) is developing the technical attendance. This study is being demonstrated under the Acid Water Treatment Program, conducted by the Consejería del Medio Ambiente (Junta de Andalucía).

Acid mine drainage is one of the most serious environmental problems facing the metal mining industry. This wastewater is formed when sulphide ores undergo chemical and biological oxidation processes and is characterized by low pH-values and high levels of sulphate and metals.

The effect of stimulating bacteria sulphate reduction in such systems in order to improve water quality was examined in a laboratory scale experiment, in 250 mL, magnetically stirred, batch, anaerobic reactors, to 25°C.

Keywords:

Biological Treatment, Acid Water, Anaerobic System, Sulphate-reducing Bacteria.

Tratamiento biológico de aguas ácidas de minería: selección de una población bacteriana enriquecida en bacterias sulfatoreductoras

Por: M.M. Durán Barrantes*, A.M. Jiménez Rodríguez** y F.J. Martel Villagrán***

- (*) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química, Universidad de Sevilla, C/Profesor García González, s/n, 41012-Sevilla. E-mail: mmduran@cica.es
 (***) Departamento de I+D, MPmedioambiente, Parque industrial PISA, C/Fomento, 4, 41927 Mairena del Aljarafe-Sevilla.
 (***) Departamento de medio ambiente, Agua y Estructuras, S.A., Pabellón de Checoslovaquia, Isla de la Cartuja, 41092, Sevilla, España.

1. Introducción

La formación de drenaje ácido en las minas es un grave problema medioambiental muy frecuente en las regiones mineras. La mezcla de las aguas ácidas de las minas con las aguas de los ríos produce un deterioro en la calidad del agua natural, puesto que tanto el ácido como los metales disueltos son tóxicos para la vida acuática. Más aún, tales aguas contaminadas no son adecuadas para el consumo humano ni para la aplicación industrial.

Los desagués ácidos se originan por la oxidación microbiológica de los sulfuros metálicos por parte de las bacterias ferrooxidantes del azufre, fundamentalmente del género Thiobacillus, en cuyo proceso se liberan grandes cantidades de $\text{SO}_4^{=}$, H^+ y Fe^{2+} (Stumm and Morgan, 1981). Este fenómeno natural se ve extraordinariamente favorecido por las alteraciones provocadas por una explotación minera, ya que los minerales son expuestos al aire creándose así las condiciones ideales para la coloni-

zación y el desarrollo de estos microorganismos.

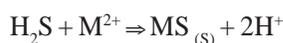
Se sabe que en condiciones anaerobias las BSR oxidan compuestos orgánicos simples (como el ácido láctico) y liberan H_2S y HCO_3^- en presencia de $\text{SO}_4^{=}$ y H^+ (Wakao et al., 1979). El sulfuro de hidrógeno reacciona con numerosos contaminantes metálicos, eliminándolos así de la solución como sulfuros metálicos. La existencia de este proceso es la base sobre la que se sustenta el presente estudio.

Se engloba con el nombre de bacterias reductoras de sulfato a un grupo heterogéneo de bacterias anaerobias, las cuales utilizan ácidos orgánicos, ácidos grasos, alcoholes y H_2 como donadores de electrones. Dado que el lactato es un sustrato utilizado por todos los géneros se podría generalizar:

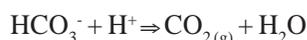


El sulfuro reacciona con los metales disueltos en el agua (hierro,

cinc, cobre, níquel, plomo, etc.) formando sulfuros insolubles según el pH del medio.

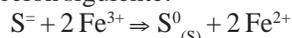


Los iones bicarbonato reaccionan con protones formando CO_2 y agua, eliminando la acidez del agua:



El desarrollo de este proceso de bajo costo es de gran importancia ya que de esta forma se eliminan los metales del agua, se sube el pH de ésta y la alcalinidad generada por las bacterias produce un efecto amortiguador de las variaciones del pH.

La reducción bacteriana del sulfato está limitada a ciertas condiciones ambientales como son la proporción de sulfato, concentraciones suficientes de materia orgánica (y equilibrada en composición) y ausencia de oxidantes como el propio oxígeno o el ión férrico. Dada la abundancia de hierro en este tipo de efluentes, suele ser necesario, por tanto, la eliminación del hierro antes del tratamiento biológico. Un alto contenido en hierro férrico provoca la oxidación del sulfuro según la reacción siguiente:



con la consiguiente disolución de los precipitados de sulfuros metálicos. Según esto, hay que reducir la abundancia de Fe^{3+} en este tipo de efluentes, previo al tratamiento biológico, para lo que se emplea el sulfhídrico generado por la actividad bacteriana al metabolizar el sulfato disuelto en el agua (Christensen et al., 1996; Jia et al., 1996; Lovley and Phillips, 1994; Visser, 1993; Dvorak et al., 1992; Reis et al., 1992).

El trabajo de investigación realizado consiste en observar el comportamiento de varios tipos de fangos anaerobios, en el proceso de reducción de SO_4^- , para producir

H_2S (g). Para ello, se siembran una serie de reactores de pequeño volumen, en régimen discontinuo, con fangos biológicos de distinta procedencia, conocidos por su actividad formadora de sulfuro de hidrógeno gaseoso, a fin de seleccionar aquel de mayor producción de H_2S . La temperatura de trabajo escogida es de 25°C debido a que la media ambiental en Andalucía es superior a 20°C .

Los distintos reactores son alimentados con un sustrato sintético compuesto por una determinada concentración de sulfatos, más un compuesto hidrocarbonatado (ácido láctico) de transformación inmediata a moléculas sencillas. Finalizado el proceso de digestión de la alimentación, se determina la producción de H_2S en el biogás obtenido. A mayor concentración de H_2S formado, mayor será la cantidad de BSR de la biomasa en cuestión.

2. Material y método

Equipo Experimental

El equipo en el que se realiza el proceso de fermentación anaerobia está constituido por: erlenmeyer esmerilado (hembra) de 250 ml de capacidad; tapón de vidrio esmerilado (macho) con abertura en tubo por el que es desplazado el biogás formado; y un gasómetro tipo Boyle-Mariotte de 1 l de capacidad, acoplado a cada reactor (erlenmeyer). Este último se encuentra lleno de agua de manera que, el biogás generado desplaza el agua de los depósitos, y conocido este volumen, se tiene la cantidad de gas producido. Los digestores se mantienen a una temperatura de 25°C , en cámara termostatzada, y agitados magnéticamente consiguiéndose un flujo tipo "mezcla completa".

Inóculos: Se emplean tres tipos de fangos:

1. Biomasa anaerobia generada en el proceso de adaptación para el tratamiento anaerobio de vinazas (residuo líquido, y estéril, de al-

coholeras de vino y remolacha). Su origen es un reactor anaerobio de 20 m^3 .

2. Residuo fermentado, semi líquido, de ganado porcino, recogido de una balsa de recepción de purines de cerdo, a 3-4 m de profundidad (condiciones anaerobias).

3. Residuo sólido de ganado vacuno, de una granja dedicada a la cría y engorde de ganado vacuno. Las características analíticas de los fangos utilizados se muestran en la **Tabla 1**.

Se inoculan 10 g SSV/l de cada tipo de fango y se añaden 100 ml de una disolución isotónica y de pH 7 (medio LB) que contiene peptona al 1%, extracto de levadura al 0.5% y NaCl al 0.5%, completándose a 200 ml con agua destilada el volumen del reactor. La mezcla, de pH 7,5, se lleva a pH 6,5-6,6 con disolución de H_3PO_4 , para favorecer el crecimiento de las BSR.

Alimentación: Se emplea una alimentación sintética constituida por SO_4^- , a partir de una disolución de Na_2SO_4 , y ácido láctico en solución con una sal sódica.

Se realiza el proceso de carga donde la relación SO_4^- : DQO se estudia en los rangos 1:0,6, 1:0,4 y 1:0,2. La misma carga se realiza dos veces, por lo que los datos expuestos representan la media. Además, cada tipo de biomasa se siembra por duplicado para confirmar la reproducibilidad del proceso en las condiciones de operación.

Cada 24 horas se mide la producción de biogás producido, hasta volumen cero.

Técnicas Analíticas

Los parámetros analíticos utilizados para la caracterización de los efluentes son: pH, Sulfatos, Alcalinidad total, Sólidos totales, minerales y volátiles, conforme a los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

El contenido de H_2S en el biogás se mide mediante tubos Dräger CH 29101 preparados para la medida de sulfuro de hidrógeno

Tabla 1			
Parámetros	Vinazas	Vacuno	Porcino
pH	7,5	7,8	7,2
Sólidos minerales	28%	37%	41%
Sólidos volátiles	72%	63%	59%

Tabla 1. Características de los fangos empleados para el estudio.

Tabla 2			
Parámetros	Vinaza	Vacuno	Porcino
pH	6,60	6,39	7,35
Alcalinidad (g CaCO ₃ /L)	2,83	2,00	3,46
SO ₄ ⁼ (g/L)	0,13	0,44	0,43

Tabla 2. Caracterización analítica de los efluentes obtenidos al finalizar la Fase de activación de los reactores.

100/a en el aire o en gases industriales. El tamaño de muestra que necesita para el análisis es de 100 mL y el error en la cuantificación es de un 5-15%.

3. Resultados y discusión

Activación de las biomasas

La fase de activación de los reactores se considera finalizada cuando no hay producción de biogás, momento en el cual se suponen degradados los sustratos metabolizables por vía anaerobia. Se analiza, entonces, el pH, alcalinidad y SO₄⁼ en los efluentes de cada reactor con el objeto de conocer los datos de partida en cada caso. Los resultados de los análisis se muestran en la **Tabla 2**.

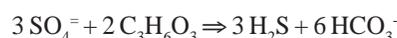
Los datos de pH y alcalinidad están dentro de los rangos esperados en un proceso de digestión anaerobia.

Optimización de la relación SO₄⁼: DQO

Una vez activadas las bacterias se procede a añadir a los reactores Na₂SO₄ como fuente de SO₄⁼ y lactato sódico (C₃H₅O₃Na) como fuente de carbono. Se ha escogido este sustrato por ser metabolizable por todos los géneros de BSR.

Se adiciona a los reactores una alimentación de 3,4 g/l como SO₄²⁻, más 2,1 g/l como lactato, para favorecer el crecimiento de las

BSR. Estas concentraciones se ajustan a la estequiometría de la reacción:



Los reactores han respondido todos a esta 1ª adición de SO₄²⁻ y lactato, con la siguiente producción de biogás, **Tabla 3**.

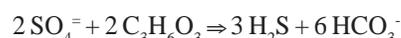
La producción de biogás obtenida es considerablemente mayor en los reactores con purines de cerdo, mientras que los de vacuno y vinazas resultaron con una formación similar de gas. Ello es debido a la materia residual que posee el purín, utilizada también por los microorganismos en su proceso degradativo.

Hay que destacar que se produjo un oscurecimiento de todos los reactores debido a la formación de sulfuros metálicos en general.

El balance de HCO₃⁻ producido en el reactor con biomasa de porcino, se calcula según la siguiente reacción:

Tabla 3			
Día	Vinaza	Vacuno	Porcino
1	26	36	108
2	27	40	160
3	29	40	205
4	33	40	245
5	38	40	283

Tabla 3. Volumen de biogás acumulado (mL) correspondiente a la carga de 3,4 g/L de SO₄²⁻ (1:0,6).



A partir de 3.83 g SO₄⁼/l se deben producir, estequiométricamente, 4.84 gHCO₃⁻/l. Como se ve en la **Tabla 4** la alcalinidad en el reactor de porcino es de 11.47 gCaCO₃/l. Se observa un incremento de 8.01 gCaCO₃/l desde las condiciones de partida (3.46 gCaCO₃/l, ver **Tabla 2**), lo que convertido a bicarbonato suponen 4.88 gHCO₃⁻/l. Por lo tanto, la conversión ha sido total.

En la carga anterior se aplicó la relación 1:0.6 a los reactores con una concentración de 3.4 g/l como SO₄⁼. Para ver cómo afecta un aumento de la concentración de SO₄⁼ en la población microbiana, a continuación se incrementa la misma a 4.2 g SO₄⁼/l, manteniéndose la relación. La producción de biogás obtenida se muestra en la **Tabla 5**.

Si comparamos estos volúmenes de biogás con los de la carga anterior (**Tabla 3**), se observa una disminución significativa al aumentar la concentración de sulfato. Esto puede ser debido, fundamentalmente, a un desplazamiento

Tabla 4			
Parámetros	Vinaza	Vacuno	Porcino
pH	7,3	7,4	7,8
Alcalinidad (g CaCO ₃ /L)	5,47	4,66	11,47
H ₂ S	No se detecta	No se detecta	3%

Tabla 4. Caracterización analítica de los efluentes y del biogás obtenidos al finalizar la carga de 3,4 gSO₄⁼/L (1:0,6).

de las bacterias metanogénicas por las BSR, así como a un agotamiento del sustrato propio de los fangos residuales de cerdo. En la bibliografía existen datos en este sentido, así Li et al. (1996), vieron una disminución considerable en el volumen de biogás cuando la población bacteriana era fundamentalmente BSR, así como un aumento de la concentración de H₂S en el biogás.

Los datos analíticos de los efluentes obtenidos al finalizar dicha carga así como la concentración de H₂S del biogás se muestran en la **Tabla 6**.

Todas estas medidas están referidas al estado final de la carga, una vez agotada la carga añadida. En este momento se aprecia un aumento significativo en todos los parámetros respecto a la carga anterior (3.4 g SO₄⁼/l) (**Tabla 4**). La producción de H₂S aumentó de forma considerable, lo cual confirma el proceso referido anteriormente del desplazamiento de las bacterias metanogénicas en favor de las BSR. Así mismo se aprecia un incremento de los valores de pH relacionado con el aumento de la alcalinidad.

Puesto que se persigue añadir la menor cantidad posible de materia

orgánica, se obliga al sistema a trabajar en las condiciones límites de 11.6 g/l de SO₄⁼ y 4.7 g/l de lactato, lo que corresponde a una relación 1:0.4. Los volúmenes de biogás obtenidos se muestran en la **Tabla 7**, y las características analíticas de los efluentes en la **Tabla 8**.

De nuevo, se aprecia un aumento significativo en la alcalinidad y en la producción de H₂S, además de un leve incremento en el pH, lo que se relaciona con lo dicho anteriormente.

En la última experiencia realizada se aplica la relación 1:0.2, en la que se lleva al sistema a trabajar en unas concentraciones de 11.6 g SO₄⁼/l y de 2.3 g/l de lactato. Los resultados de biogás se presentan en la **Tabla 9**.

En esta carga la producción de biogás ha disminuido respecto a la proporción 1:0.4 previa, si bien la máxima producción se da en el primer día, lo que indica que en el proceso en continuo cabe esperar velocidades del proceso altas. A su vez, la concentración de H₂S sigue aumentando, **Tabla 10**.

Estos datos confirman todo lo anteriormente dicho y constatado por la bibliografía.

La comunidad de microorganismos anaerobios que coexiste en los fangos es muy importante, puesto que la interrelación metabólica entre las bacterias metanogénicas, sulfatoreductoras, acidogénicas, acetogénicas e hidrolíticas es lo que conduce a la degradación final de la materia orgánica, como de los distintos componentes inorgánicos contenidos en el agua residual. Es decir, una vez

conseguidas las condiciones reductoras óptimas dentro del reactor, se trata de obtener un máximo rendimiento de las BSR, teniendo en cuenta que el flujo de electrones y protones que requieren para reducir SO₄⁼ a H₂S (S⁼) procede de la actuación progresiva del resto de la población bacteriana del fango, sobre los distintos constituyentes químicos del agua residual a tratar.

A la vista de estos datos se obtiene que los fangos procedentes de purines de cerdo son los que mejores resultados dieron en cuanto a producción de biogás y generación de H₂S se refiere. Además, conforme menor es la concentración de lactato respecto a la de sulfato (a elevada concentración de este último) mejor es el rendimiento en H₂S.

Los fangos de cerdo son ricos en bacterias hidrolíticas debido a las características del agua residual (contenido alto en lignina, celulosa y hemicelulosa), las cuales producen más ácidos hidrocarbonados de cadena corta, fáciles de transformar a CO₂ y CH₄. Estas poblaciones son menos estrictas respecto a la temperatura y pueden crecer bien a 25°C.

En el caso de los fangos de vinazas, la flora mayoritaria es de tipo metanogénico y la producción de gas por estas bacterias es más selectiva con la temperatura, cuyo rango óptimo es de 35-37°C.

4. Conclusiones

1. La biomasa anaerobia de porcino es la más adecuada para producir H₂S a partir de aguas residuales de altas concentraciones de sulfato, el cual convierte hasta en un 25% como H₂S gas, con una relación SO₄⁼:DQO de 1:0,2.

2. El aumento en la concentración de SO₄⁼, en los rangos estudiados, no afecta negativamente a la actividad de los microorganismos, si bien hay un desplazamiento de las bacterias metanogénicas respecto a las BSR. Esto

Día	Vinaza	Vacuno	Porcino
1	18	20	27
2	27	30	29

Tabla 5. Volumen de biogás acumulado (mL) correspondiente a la carga de 4,2 g/L de SO₄²⁻ (1:0,6).

Parámetros	Vinaza	Vacuno	Porcino
pH	8,24	8,28	8,26
Alcalinidad (g CaCO ₃ /L)	12,3	10,6	14,1
H ₂ S	1%	7.5%	12%

Tabla 6. Caracterización analítica de los efluentes y del biogás obtenidos al finalizar la carga de 4,2 gSO₄⁼/L (1:0,6).

Tabla 7			
Día	Vinaza	Vacuno	Porcino
1	15	20	19
2	20	26	28
3	29	30	32
4	29	30	40

Tabla 7. Volumen de biogás acumulado (ml) correspondiente a la carga de 11,6 g/l de SO_4^{2-} (1:0,4).

se explica sobre la base de la menor cantidad de biogás frente a la mayor riqueza en H_2S producidos, constatados estos datos con la bibliografía.

3. El aumento de la alcalinidad junto al incremento de la producción de H_2S demuestra un desarrollo de las BSR frente a otro tipo de bacterias (Kuyucak & St-Germain, 1994).

5. Agradecimientos

El presente trabajo se ha llevado a cabo con la financiación de la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. Los autores quieren mostrar su agradecimiento a la granja "El Cerro", de la zona denominada Los Alcores (Sevilla), por su colaboración desinteresada.

6. Bibliografía

[1] APHA - AWWA - WPCF (1992). Métodos Normalizados para el análisis de Aguas Potables y Residuales. 17th Ed., Díaz de Santos, S. A., Madrid (España).

[2] CHRISTENSEN, B.; LAAKE, M. & LIEN, T. (1.996). "Treatment of acid mine water by sulphate-reducing bacteria; results from a bench scale experiment". *Wat.Res.* 30(7):1.617-1.624.

[3] DVORAK, D.H.; HEDIN, R.S.; EDENBORN, H.M. & MCINTIRE, P.E. (1.992). "Treatment of Metal-Contaminated Water Using Bacterial Sulfate Reduction: Results from Pilot-Scale Reactors". *Biotechn. and Bioengin.*, 40:609-616.

Tabla 8			
Parámetros	Vinaza	Vacuno	Porcino
pH	8,31	8,30	8,23
Alcalinidad (g $CaCO_3$ /l)	13,8	12,7	18,8
H_2S	1.3%	9.1%	16%

Tabla 8. Caracterización analítica de los efluentes y del biogás obtenidos al finalizar la carga de 11,6 gSO_4^{2-} /L (1:0,4).

[4] JIA, X.S.; FURUMAI, H. & FANG, H.H.P. (1.996). "Extracellular Polymers of Hydrogen-Utilizing Methanogenic and Sulfate-Reducing Sludges". *Wat. Res.*, 30(6):1.439-1.444.

[5] KUYUCAK, N. & ST-GERMAIN, P. (1994). "In situ treatment of acid mine drainage by sulphate reducing bacteria in open pits: scale-up experiences." 3rd Int. Conf. Abatement of Acid Drainage, Pittsburg, PA, 303-310.

[6] LI, Y.; LAM, S. & FANG, H.H.P. (1.996). "Interactions Between Methanogenic, Sulfate-Reducing and Syntrophic Acetogenic Bacteriz in the anaerobic Degradation of Benzoate". *Wat. Res.*, 30(7):1.555-1.562.

[7] LOVLEY, D.R. & PHILLIPS, E.I.P. (1.994). "Novel Processes for Anaerobic Sulfate Production from Elemental Sulfur by Sulfate-Reducing Bacteria". *App. Environ. Microbiology*, 60(7):2.394-2.399.

[8] REIS, A.M.; ALMEIDA, J.S.; LEMOS, P.C. & CARRONDO M.J.T. (1.992). "Effect of Hy-

drogen Sulfide on Growth of Sulfate Reducing Bacteria". *Biotechn. and Bioengin.*, 40:593-600.

[9] STUMM, W. & MORGAN, J.J. (1.981). *Aquatic Chemistry. An Introduction Emphasizing chemical Equilibrio in Natural Waters..* 2nd Edition. J. Wiley and Sons. Inc. New York.

[10] VISSER, A. (1.993). "Tratamiento anaeróbico de los sulfatos contenidos en las aguas residuales". 5ª Seminario de Depuración Anaerobia de Aguas Residuales, Valladolid, Mayo.

[11] WAKAO, N.; TAKAHASHI, T.; SAKURAI, Y. & SHIOTA, M. (1.979). "The Treatment of Acid Mine Water using Sulphate-reducing Bacteria". *J. Ferment. Technol.*, 57(5): 445-452.

Tabla 9			
Día	Vinaza	Vacuno	Porcino
1	18	20	27
2	27	30	29

Tabla 9. Volumen de biogás acumulado (ml) correspondiente a la carga de 11,6 g/l de SO_4^{2-} (1:0,2).

Tabla 10			
Parámetros	Vinaza	Vacuno	Porcino
pH	8,3	8,3	8,3
Alcalinidad (g $CaCO_3$ /l)	14,2	13,2	20,1
H_2S	2,3%	14,3%	25%

Tabla 10. Caracterización analítica del contenido en H_2S e el biogás obtenido al finalizar la carga de 11,6 gSO_4^{2-} /L (1:0,2).