

INHIBICIÓN DE LA DIGESTION ANAEROBIA POR EL ACIDO TEREFTALICO Y SUS SUBPRODUCTOS AROMATICOS

Fajardo C., Guyot J.P*, Macarie H* y Monroy O.

Depto. Biotecnología, UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA,

A.P. 55-532, 09340, Iztapalapa, D.F., MEXICO

*Investigadores invitados de ORSTOM, Francia

RESUMEN

Con 14 millones de toneladas producidas en 1993, el ácido tereftálico y el dimetiltereftalato son los principales monómeros empleados para la fabricación de poliésteres en el mundo. Aunque hay diez reactores industriales tratando los efluentes de ambos productos, se conoce poco la influencia que sus diversos subproductos pueden tener sobre la metanogénesis. Se sabe que hay una represión catabólica de los ácidos acético y benzoico sobre la degradación del tereftálico. Sin embargo aún se desconoce como otros subproductos de esta industria afectan a la metanogénesis acetoclasta e hidrogenotrofa. En este estudio se puede concluir que con las concentraciones de ácido tereftálico (ATF), 15 mM; ácido para-toluico (ApT), 5 mM y 4-carboxibenzaldehído (4CBA), 0.15 mM que se encuentran en las aguas residuales de la industria del tereftalato; la actividad hidrogenotrofa se inhibe 6.5, 6 y 1.25% respectivamente. Para el caso del las aguas del DMT, el ApT puede reducir la actividad hasta un 30%. Las concentraciones necesarias para lograr 50% de inhibición son de más de 100 mM para el ATF, 34 mM para el ApT y 5.4 mM para el 4CBA. La inhibición de la metanogénesis acetoclasta por estos tres compuestos es menos severa que para la hidrogenotrofa. A las concentraciones mencionadas, no hay inhibición ni por 4CBA ni por el ApT y solamente hay 10% de inhibición con 10 mM de ATF. Bajo las condiciones de este experimento no se obtuvieron las concentraciones para causar 50% de inhibición.

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que es posible tratar por vía anaerobia los compuestos fácilmente degradables de este tipo de efluentes (ácidos acético, benzoico, fórmico) dado que su degradación no se verá inhibida de manera importante por el ATF, el ApT y el 4CBA.

INTRODUCCION

Después de un lento arranque, a principio de la década de los años ochenta, la digestión anaerobia, hoy por hoy, se emplea cada vez más en el tratamiento de efluentes de las industrias química y petroquímica. Por lo menos 42 digestores están operando mundialmente sobre éste tipo de desechos (Macarie 1996). En los casos del ácido tereftálico (ATF) y del dimetiltereftalato (DMT), la digestión anaerobia está por volverse el modo de tratamiento convencional.

El ácido tereftálico (ácido 1,4-benzenodicarboxílico) junto con el DMT corresponden a los principales monómeros empleados para la fabricación de fibras y películas poliéster. En 1993 su producción llegó a 14 millones de toneladas por año (Savostianoff y Didier, 1993). Ambas moléculas son obtenidas por oxidación del p-xileno con aire. El ATF mediante una simple oxidación seguida de una purificación por hidrogenación, mientras que el DMT a través de una sucesión de oxidaciones y esterificaciones con metanol y una purificación por destilación (Bemis *et al.* 1982). El cuadro 1 muestra las características de cada efluente.

A pesar de que actualmente diez reactores industriales están tratando estos dos tipos de efluentes, se dispone de muy poca información respecto al impacto que pudieran tener sus componentes orgánicos sobre la metanogénesis. En el caso del ATF por ejemplo, las concentraciones de pulso pueden llegar al doble de la concentración normal según se muestra en el cuadro 1 (Lau 1978, Pereboom *et al.* 1994). Se sabe que altas concentraciones de ácido acético inhiben la degradación del ácido p-toluico (Macarie y Guyot, 1992) y que los ácidos acético y benzoico inhiben la degradación del ácido tereftálico (Kleerebezem *et al.* 1996). Excepto en los casos del ácido



benzoico y del ATF que, estudiados hasta altas concentraciones no mostraron toxicidad (hasta 7 g/l de benzoico por Sierra-Alvarez y Lettinga, 1990 y hasta 5 g/l de ATF por Pereboom *et al.* 1994, Kleerebezem *et al.* 1996), se desconoce totalmente como los demás aromáticos afectan a las bacterias metanogénicas acetoclásticas e hidrogenotróficas. Además se han encontrado resultados diferentes respecto a la toxicidad del ATF (tóxico a partir de

2.16 g/l, Macarie 1992; 0.5 g/l, Kuang y Wang, 1994).

Por tanto, nos proponemos determinar el efecto inhibitorio de algunos de los compuestos aromáticos presentes en los efluentes de ATF y DMT (ATF, ApT y 4CBA) sobre las reacciones metanogénicas. Nos proponemos también aclarar la aparente contradicción en las concentraciones inhibitorias del ácido tereftálico.

CUADRO 1. Características del agua residual de la producción de ATF y (DMT).

	pH	DQO (g/l)	DBO ₅ (g/l)	DBO ₅ DQO	SST (g/l)
Intervalo	4.5 (2-4)	4.4 - 9.5 (17-53)	5.5	4.4 - 9.5	2.22
pulso máximo		13.0	7.5		
	PM	Intervalo (g/l)		pulso máximo	% DQO
ATF	166	1.1 - 2.2 (0.5)		5.0	31-39 (1.36-3.8)
ApT	136	0.3 - 0.68 (1-2)		0.75	10-19 (8-13.9)
AB	122.12	0.05 - 0.45 (0.054 - 1.5)		1.3	1 - 13 (0.61 - 5.59)
4CBA	150	0.003 - 0.020		0.18	0 - 3
AA	60	0.50 - 2.0 (9.3 - 24.5)			25 - 33 (49 - 60)
Metanol	32.05	(0.5 - 1)			(2.8 - 6.5)
Ac. Fórmico	46.03	(3.1 - 12.8)			(3.5 - 9.1)
Formaldehido	45.04	(1.8 - 7.6)			(11 - 21)

Datos de: Leenheer *et al.* 1976, Reule 1990, Liangming *et al.* 1991, Macarie 1992, Pereboom *et al.* 1994, Frankin *et al.* 1994, ATF= Acido tereftálico, ApT= Acido p-Toluico, AB= Acido benzoico, 4CBA= 4-Carboxibenzaldehido, AA= Acido acético. Las cifras en paréntesis son la concentraciones encontradas en los efluentes del DMT.

METODOLOGIA

Para ambas pruebas se trabajó bajo condiciones anaerobias usando el medio de cultivo de Balch *et al.* (1979) al que se le adicionaron los compuestos aromáticos.

a) Prueba de hidrogenotrofia.

Las pruebas se realizaron en botellas serológicas de 120 ml a las que se añadieron las concentraciones de aromáticos probadas de 0 a 100 mM. Se inocularon con 0.55 ml de un lodo de 15.7 gSSV/l proveniente de un reactor que trata aguas de la industria quesera en un volumen líquido final de 10 ml (0.8635 gSSV/l). Se usó una

atmósfera formada por una mezcla de H₂:CO₂ (80:20) a 0.8 atm de presión. Las botellas se incubaron a 36°C y 300 rpm en un agitador orbital para promover una vigorosa transferencia de H₂ del gas al líquido. La actividad se determinó por la producción de metano, el cual se midió en un cromatógrafo de gases Gow-Mac 550, con detector de conductividad térmica, columna de acero inoxidable empacada con Carbosphere (80/100) de 2 m de longitud. La temperatura de la columna fue de 140°C, la del detector, 160°C y la del inyector, 150°C. La corriente en el detector fue de 140 mA, el gas acarreador fue helio a un flujo de 45 ml/min. El volumen de inyección fue de 50 ml. La curva de metano se hizo bajo las mismas condiciones de

presión y volumen del experimento.

b) Prueba de acetoclastia.

En botellas serológicas de 60 ml con 20 ml de una solución formada por 12 mM de acetato como sustrato y los aromáticos como inhibidores (de 0 a 10 mM) se inocularon 4 ml de un lodo de 17.4 g SSV/l adaptado con una mezcla de glucosa:acetato y se incubaron a 36°C y 100 rpm. La actividad acetoclasta se midió siguiendo el consumo de acético en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890, con detector de ionización de flama, columna capilar Superox II FFA y nitrógeno como gas acarreador. La temperatura del detector fue de 220°C, la del inyector, 200°C y la de la columna, 130°C. El volumen de inyección fue de 0.2 ml.

Para ambas pruebas se determinó el efecto de los inhibidores en la actividad metanogénica mediante la siguiente ecuación:

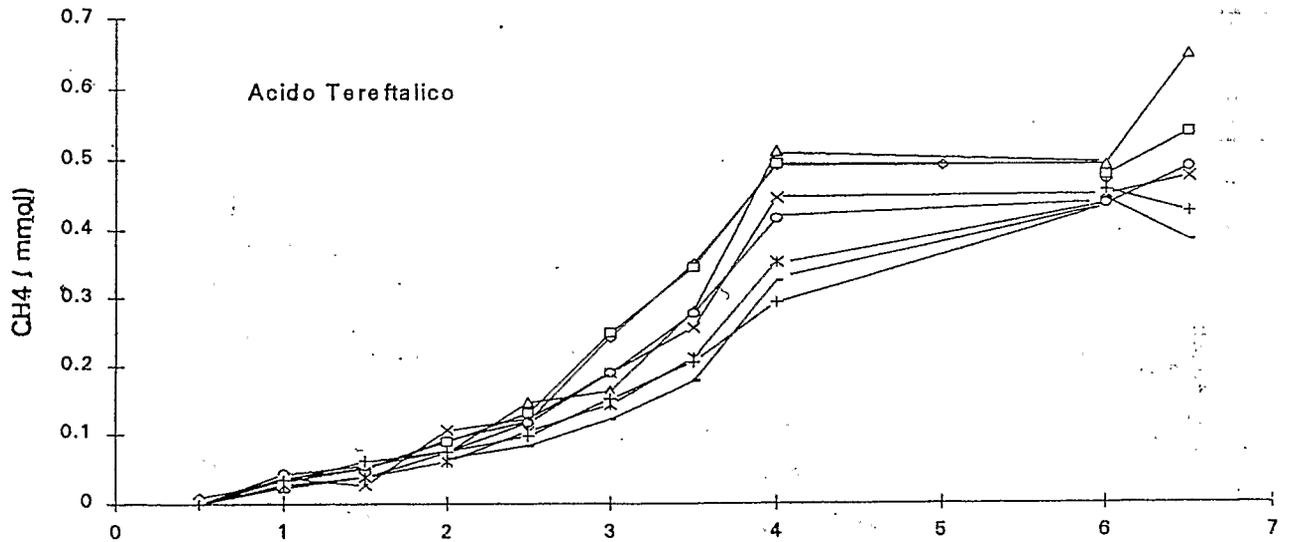
$$\%I = \frac{K_o - K_I}{K_o} \times 100 \quad (1)$$

en donde K es la actividad metanogénica específica (mmol/gSSV.d) subíndices o para el testigo e I para las botellas con inhibidor.

RESULTADOS

Metanogénesis hidrogenotrofa

La figura 1 muestra el efecto de los tres compuestos aromáticos sobre la cinética y la producción total



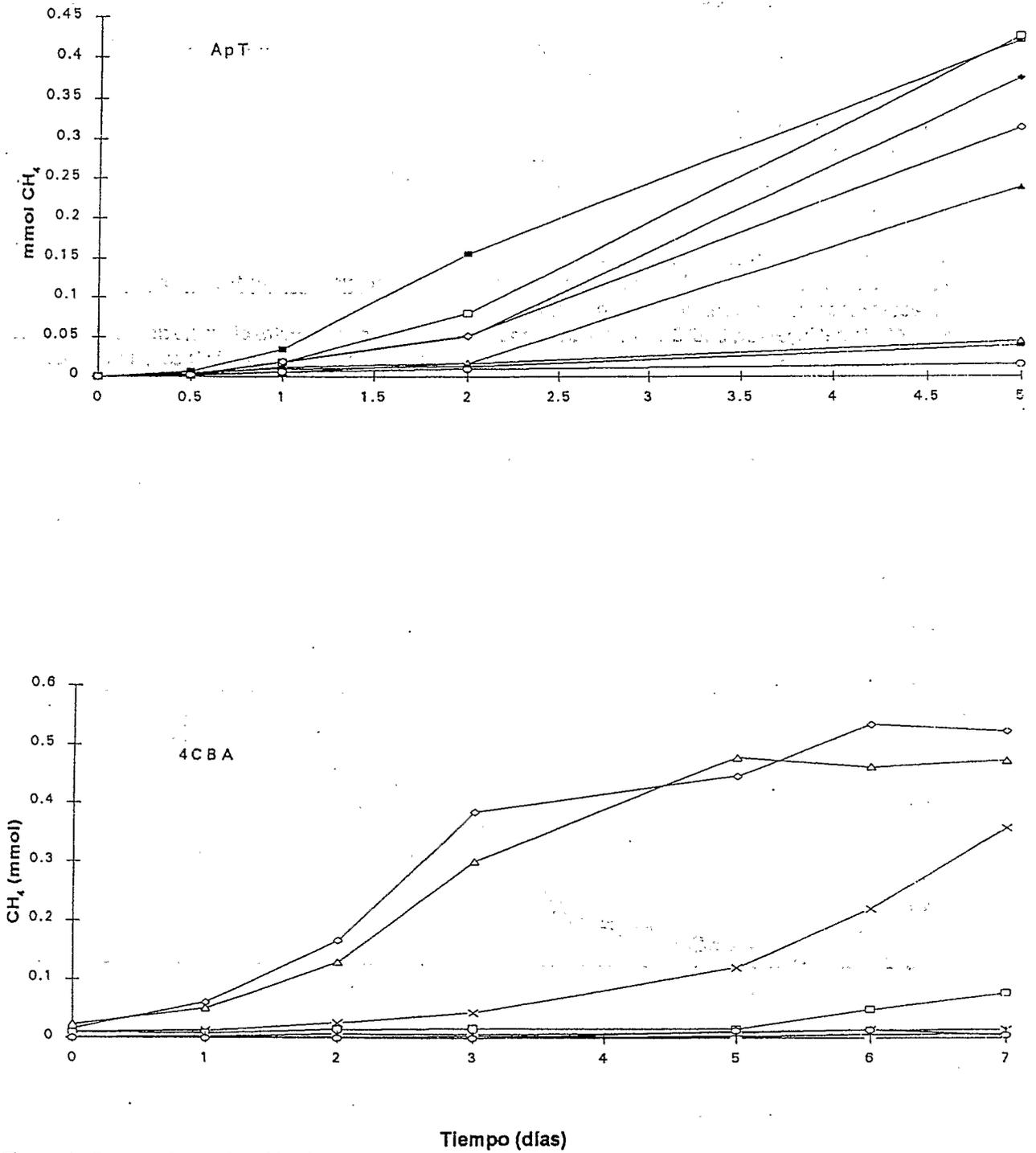


Figura 1. Curvas de producción de metano en presencia de aromáticos. à)0, D)1, X)5, y)10, *)30, O)50, +)70 y -)100 mM

de metano proveniente de la reacción hidrogenotrofa.

En la gráfica superior se observa que el ATF no impide la inmediata formación de metano alcanzando la producción máxima a los 4 días. El ApT retrasa un día el inicio de la producción de metano. Únicamente las concentraciones de 1 y 5 mM alcanzan la producción máxima, aunque mas lentamente. Con 30 mM la producción de metano se reduce en un 45% y con concentraciones mayores practicamente no se lleva a cabo la reacción. El 4-CBA inhibe la metanogénesis a todas las concentraciones, excepto con 1 mM. Con 5 mM se llega aproximadamente al 50 % de la producción máxima de metano aunque con una cinética mas lenta.

Se analizaron las curvas de producción con cinéticas de Monod (Ecuación 2), de 1er orden y de orden cero. Encontrándose el mejor ajuste con esta última.

$$r_{CH4} = \frac{k_{max} \times [H2]}{KH + [H2]} \quad (2)$$

en donde:

r_{CH4} = velocidad de producción de metano [mol CH₄/l.d]

k_{max} = velocidad específica máxima de producción de CH₄ [mol CH₄/gSSV.d]

X = concentración de biomasa = 0.8635 g SSV/l

$[H_2]$ = concentración de hidrógeno en el líquido [mM]

KH = coeficiente de saturación de Monod para hidrógeno [mM]

No es de sorprender este orden de reacción si consideramos que dado el equilibrio de H₂ entre las fases líquida y gaseosa, la concentración disuelta de H₂, se mantiene entre 0.5 y 0.203 mM durante el transcurso del experimento (ver cálculo en apéndice). Esta concentración es de uno a cinco órdenes de magnitud mayor que la KH reportada (entre 0.08 y 7.6 x 10⁻⁶ mM, Giraldo-G *et al.* 1992). Por lo tanto, se puede tomar a r_{CH4} como una constante $K = k_{max} \times [H_2]/([H_2] + KH)$ de orden cero durante todo el tiempo del experimento. De acuerdo a esta simplificación, es posible graficar en la figura 2 las K en función de las

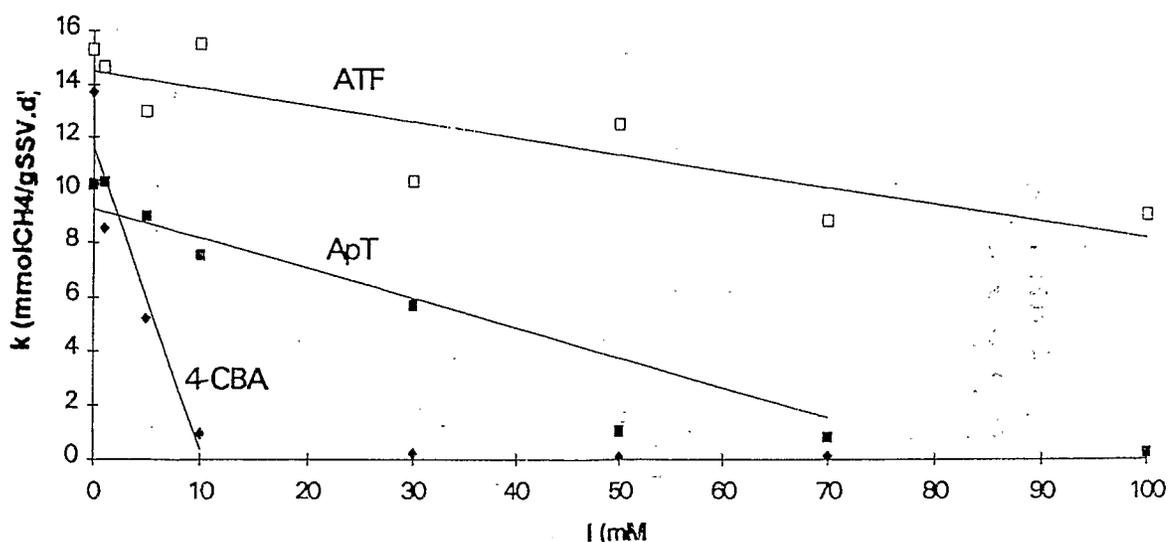


Figura 2. Inhibición de la metanogénesis hidrogenotrofa por ATF, ApT y 4-CBA considerando una cinética de orden cero. Las líneas rectas son un ajuste lineal con $r^2 = 0.738, 0.888$ y 0.896 respectivamente.

concentraciones de los inhibidores (I) y así evaluar el carácter inhibitorio relativo de las tres sustancias.

METANOGENESIS ACETOCLASTA

La figura 3 muestra la cinética de consumo de acetato con distintas concentraciones de los inhibidores.

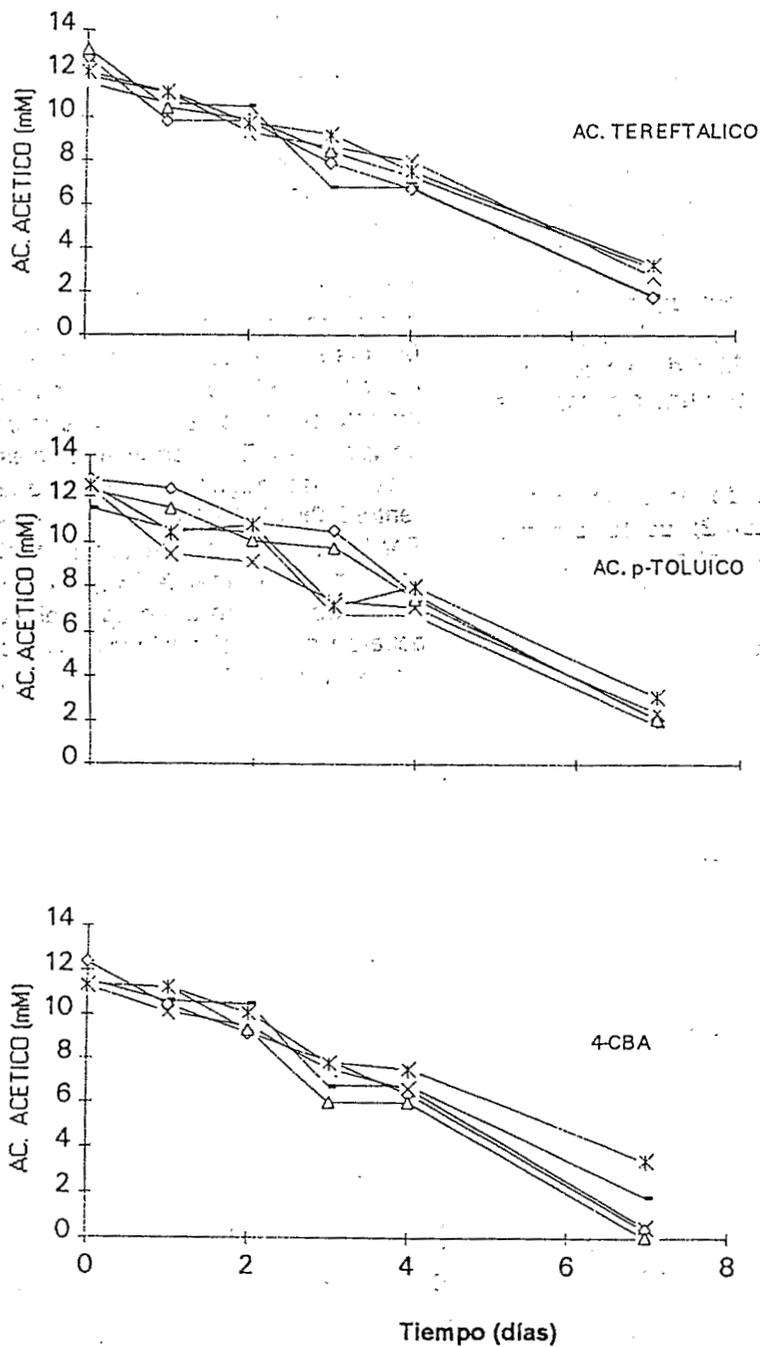


Figura 3. Cinéticas acetoclastas en presencia de aromáticos. -)0, X)0.5 , à)1.0 , D)5 , *)10 mM.

En las concentraciones de compuesto inhibitorio usadas se puede apreciar que el consumo de acetato sufre inhibición menos severa que la hidrogenotrofia. La cinética de consumo que mejor se ajusta es la de orden cero. En la figura 4 se muestra el valor de la actividad acetoclasta específica en función de la concentración del

inhibidor. Se aprecia que a bajas concentraciones el 4CBA es estimulante de la acetoclastia y a concentraciones en la que ya no se encuentra en el agua residual, es fuertemente inhibitorio. El ApT y ATF en bajas concentraciones son fuertemente inhibitorios aunque después de 1 mM la inhibición se hace lineal y mas tenue.

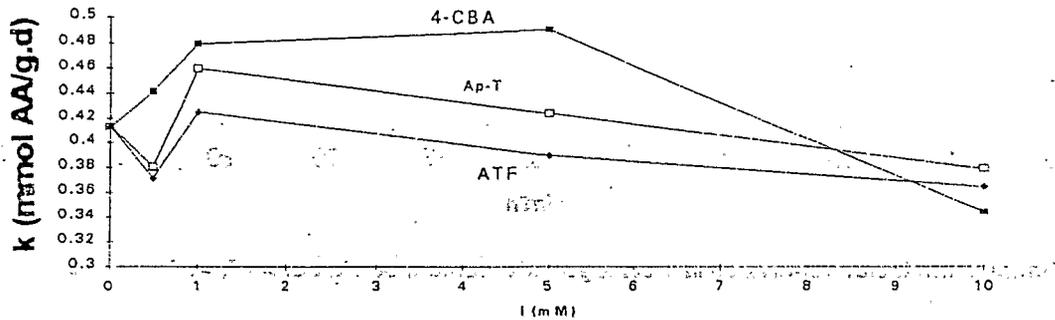


Figura 4. Efecto del ATF, ApT y 4CBA en la acetoclastia en función de la concentración del inhibidor

DISCUSION

La figura 5 muestra la influencia relativa de los tres compuestos sobre la actividad metanogénica hidrogenotrofa. Las concentraciones necesarias para lograr 50% de inhibición son de mas de 100 mM, 34 mM y 5.4 mM para el ATF, ApT y 4CBA respectivamente. A las concentraciones normalmente encontradas en el agua residual del ATF, 15 mM ATF, 5 mM ApT, 0.15 mM 4CBA, la actividad hidrogenotrofa se inhibe 6.5, 6 y 1.25% respectivamente. En las aguas del DMT se puede causar inhibición hasta un 30% por la presencia

del ApT. El ATF por encontrarse en bajas concentraciones no inhibiría de manera importante.

La figura 6 muestra que la inhibición de la metanogénesis acetoclasta por estos tres compuestos es menos severa que para la hidrogenotrofa. A las concentraciones existentes en los efluentes de ATF, no se obtiene inhibición ni por 4CBA ni por el ApT y 10% de inhibición a 10 mM de ATF. Nuevamente el ApT podría causar mas del 10% de inhibición en las aguas del DMT. Bajo las condiciones de este

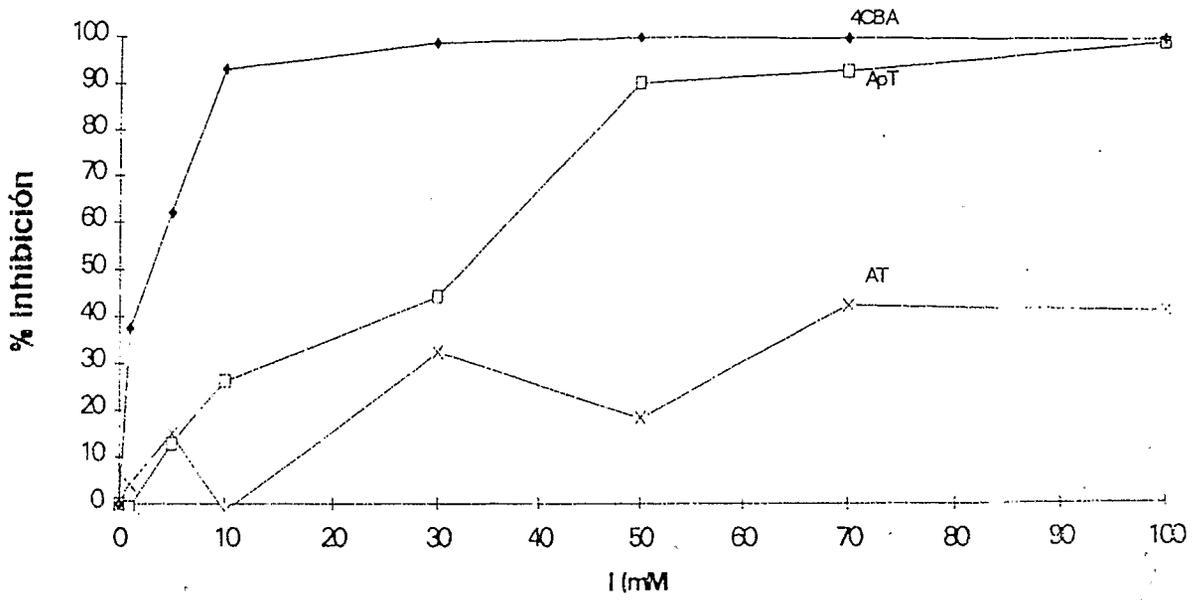


Figura 5. Inhibición relativa de la metanogénesis hidrogenotrofa por ATF, ApT y 4CBA..

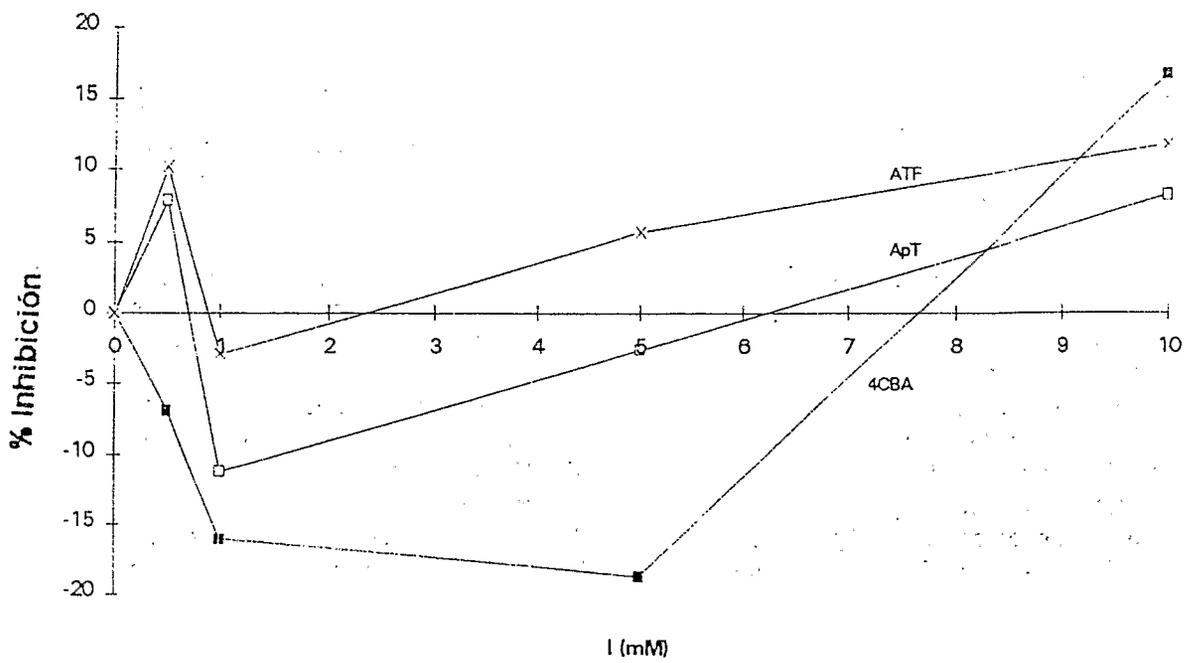


Figura 6. Inhibición relativa de la metanogénesis acetoclasta por ATF, ApT y 4CBA.

experimento, no se obtuvieron las concentraciones para causar un 50% de inhibición.

El ApT se puede considerar un compuesto inhibitorio pues a las concentraciones normales del ATF causa menos del 10% de inhibición en la hidrogenotrofia y aparentemente nada en la acetoclasta. Sin embargo para las aguas del DMT causa 30% inhibición en la hidrogenotrofia y mas del 10% en la acetoclasta. El 4CBA es un compuesto altamente inhibitorio para las bacterias metanogénicas hidrogenotrofas y a partir de 8 mM es inhibitorio para las acetoclastas pero a las concentraciones en que se le encuentra, no causa problemas de inhibición.

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que es posible aplicar un proceso anaerobio para el tratamiento de este tipo de aguas residuales pues los compuestos fácilmente degradables (ácidos acético, benzoico, fórmico) no se verán inhibidos de manera importante por el ATF, el ApT y el 4CBA. Después de quitar la represión catabólica causada por estos compuestos, se podrán degradar mas fácilmente los compuestos aromáticos estudiados aquí (Kleerebezem, 1996).

APENDICE

La limitación de la velocidad de reacción debido a la transferencia de hidrógeno a la fase líquida puede separarse del efecto de los inhibidores gracias al matraz testigo. Así, se tiene que al inicio de experimento:

a) Hay 2.88 mmol H_2 ($n = PV/RT = 0.8 \text{ mol } H_2 / \text{mol gas} \times 0.11 \text{ l} \times 0.8 \text{ atm} / (0.082 \text{ atm.l/mol} \cdot \text{K} \cdot 298 \text{ }^\circ\text{K})$) y 0.702 mmoles de CO_2 en todos los matraces.

b) La concentración de H_2 en el líquido en equilibrio con el gas, está dado por la ley de Henry:

$$[H_2]^* \text{ (concentración de equilibrio)} = p_{H_2} / H_e$$

$$p_{H_2} \text{ (presión parcial de hidrógeno)} = 0.8 \text{ mol } H_2 / \text{mol gas} \times 0.8 \text{ atm} = 0.64 \text{ atm}$$

$$H_e = \text{Constante de Henry} = 1.27 \text{ atm/mM a } 36^\circ\text{C}$$

$$[H_2]^* = 0.5 \text{ mM}$$

c) Cantidad de hidrógeno disuelto en las botellas: $0.5 \text{ mmol/l} \times 0.011 = 0.005 \text{ mmol } H_2$ que representa un 0.17% del hidrógeno total.

d) Al finalizar, en el matraz testigo se producen 0.429 mmol CH_4 .

e) Restando de (a) la cantidad de hidrógeno usado para producir el metano, tenemos la cantidad de H_2 que no reacciona. Esta cantidad es igual a:

$$2.88 \text{ mmol } H_2 - 4 \text{ mol } H_2 / \text{mol } CH_4 \cdot 0.429 \text{ mmol } CH_4 = 1.164 \text{ mmol } H_2 \text{ que no reaccionan} \\ \text{mmol } H_2 \text{ en la fase gaseosa } (1.164 \times (1 - 0.0017)) = 1.162 \text{ mmol}$$

f) Al finalizar el experimento; la cantidad total de gas en la fase gaseosa es:

$$n_t = \text{moles de } H_2 + \text{moles } CH_4 + \text{moles de } CO_2 \\ \text{masa } H_2 = 1.162 \text{ mmol} \\ \text{masa } CH_4 = 0.429 \text{ mmol} \\ \text{masa } CO_2 = 0.720 - 0.429 = 0.291 \text{ mmol } CO_2 \\ \text{que no reaccionan } n_t = 1.882 \text{ mmol}$$

En estas condiciones, la presión total P a 36°C (nRT/V) es 0.433 atm. A partir de las masas se puede calcular las fracciones molares ($y_i = n_i/n_t$) de cada gas. Sabiendo que $n_i/n_t = p_i/P$, se puede calcular la presión parcial de cada gas:

$$y_{CH_4} = 0.228, \quad p_{CH_4} = 0.0987 \text{ atm} \\ y_{CO_2} = 0.1547, \quad p_{CO_2} = 0.0669 \text{ atm} \\ y_{H_2} = 0.6172, \quad p_{H_2} = 0.2672 \text{ atm}$$

Y usando la Ley de Henry, se obtienen las concentraciones de gas solubles en el equilibrio:

$$[CO_2]^* = p_{CO_2} / H_e = 1.75 \text{ mM}$$

$$\text{en donde } H_e = 36.9 \text{ atm l/mol}$$

y

$$[H_2]^* = p_{H_2} / H_e = 0.20 \text{ mM}$$

AGRADECIMIENTOS

A Robbert Kleerebezem por proporcionarnos sus resultados antes de publicación y a Roman Jimenez Morales por su ayuda en el trabajo experimental. A CONACYT, a ORSTOM y a la Comunidad Europea quienes aportaron los fondos para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- Balch W. E., Fox, G. E., Magrum, L. J., Woese C. R. Wolfe R. S. 1979. Methanogens: reevaluation of a unique biological group. *Microbiol. Rev.* 43,2: 260-296.
- Bemis, A. G., Dindorf, J. A., Horwood B., Samans C. 1982. Phthalic acids and other benzene polycarboxylic acids. In Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. Mark H. F., Othmer D.F., Overberg C.G., Seaborg G.T., Grayson M. and Eckroth D. (eds), Vol 17, John Wiley and Sons, New York. pp 732-777.
- Frankin R.J., Koevoets W.A.A. Versprille A.I. 1994. Application of the Biobed System for Formaldehyde Containing Dimethylterephthalate (DMT) Wastewater. In: *Poster Papers, VII International Symposium on Anaerobic Digestion*. 23-27 January 1994, Cape Town, South Africa, pp. 244-247.
- Giraldo-Gómez E., Goodwin S., Switzenbaum M. 1992. Influence of Mass Transfer Limitations on Determination of the Half Saturation Constant for Hydrogen Uptake in a Mixed Culture CH₄-Producing Enrichment, *Biotechnol. & Bioeng* 40,7:768-776
- Kleerebezem R., Mortier J., Hulshoff Pol L.W. and Lettinga G. 1996. Anaerobic Pre-Treatment Of Petrochemical Effluents: Terephthalic Acid Wastewater. In *Proceedings of 2nd Specialized Conference on Pretreatment of Industrial Wastewaters*. In Press
- Kuang X. and Wang J. 1994. Anaerobic Biodegradability of Terephthalic Acid and its Inhibitory Effect on Anaerobic Digestion. *J. Environ Sci.* 6,2:180-188.
- Lau C. 1978. Staging Aeration for High Efficiency Treatment of Aromatic Acids Plant Wastewater. *Proc. Ind. Waste Conf. Purdue University* 32, 63-74.
- Leenheer J.A., Malcolm R.L., White W.R., 1976. Investigation of the Reactivity And Fate of Certain Organic Components of an Industrial Waste after Deep Well Injection. *Env. Sci. Technol.* 10,5:445-451
- Liangming X., Yuxiang Ch. and Xiangdong Z. 1991. The Anaerobic Biological Treatment of High Strength Petrochemical Wastewater by Hybrid Reactor. In: *Proceeding of the International Conference on Petroleum Refining and Petrochemical Processing*: September 11-15, Beijing, China. H. Xianglin (ed) Int. Acad. Pub. pp. 120.126.
- Macarie H. and Guyot J.P. 1992. Inhibition of Methanogenic Fermentation of p-Toluic Acid (4-Methylbenzoic Acid) by Acetate. *Appl. Microbiol. Biotech.* 38:398-402.
- Macarie H. 1996. La Digestión Anaerobia Una Tecnología Adecuada para el Tratamiento de las Aguas Residuales de Algunas Industrias Químicas y Petroquímicas. En *Memorias del IV Taller Latinoamericano Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales*. 19-22 de Noviembre en Bucaramanga, Colombia.
- Macarie H. 1992. Traitement Anaérobie des Effluents d'une Usine Pétrochimique Produisant un Composé Aromatique, l'acide Téréphtalique (Acide Benzène-1,4 Dicarboxylique). Tesis de Doctorado, Universidad de Provenza, FRANCIA. 158 paginas
- Pereboom J.H.F., De Man G. and Su I.T. 1994. Start-Up of Full Scale UASB-Reactor for the Treatment of Terephthalic Acid Wastewater. In: *Poster papers VII International Symposium on Anaerobic Digestion*. 23-27 January. Cape Town, South Africa. pp. 307-312
- Sierra-Alvarez R. and Lettinga G. 1991. The Effect of Aromatic Structure on the Inhibition of Acetoclastic Methanogenesis in Granular Sludge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 34,544-550.
- Reule W. 1990. Methane from chemical industry wastewater. *Chem. Ind. (Duesseldorf)*. 113,9:20,22, 24 (en Alemán)
- Savostianoff D. and Didier R. 1993. DMT-TPA. Asia advances towards a crushing domination. *Informations chimie*. No. 352:119-129.

TRATAMIENTO ANAEROBIO

**IV SEMINARIO-TALLER LATINOAMERICANO
SOBRE TRATAMIENTO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES**

19-22 de Noviembre de 1996

Bucaramanga

Colombia

Comité Editorial

**Olga Rojas Ch.
Universidad del Valle**

**Leonardo Acevedo D.
Universidad Industrial de Santander**

**RED COLOMBIANA DE BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL
UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**