



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

IZTAPALAPA

Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Biotecnología

DEGRADACION ANAEROBIA DE SURFACTANTES



COORDINACION DE SERVICIOS
DOCUMENTALES - BIBLIOTECA

T E S I S

Que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN BIOTECNOLOGIA

P r e s e n t a

BEATRIZ PEREZ ARMENDARIZ

DICIEMBRE 1994

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
IZTAPALAPA**

**CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA**

222251

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA

CON EL TEMA:

DEGRADACION ANAEROBIA DE SURFACTANTES

Presentada por:

BEATRIZ PEREZ ARMENDARIZ

Jurado formado por:

M. en C. Oscar Monroy Hermosillo	Presidente
M. en B. Florina Ramírez Vives	Secretario
M. en C. R. Obdulia González Robles	Vocal.

DICIEMBRE DE 1994

1994

A Juan José motivación y felicidad en mi vida, a quien debo la realización personal y profesional.

A mis padres: Pastor y Remedios quienes con su amor y sacrificios me enseñaron a respetarme y valorarme, para fortalecerme en los momentos más difíciles de mi vida.

A Mary, Tere, Ely y Caty con las que he compartido desde que nací mis juegos, tristezas, alegrías, fracasos y triunfos y siempre han estado a mi lado para apoyarme.

A Arnoldo porque eres el concepto de la amistad en el sentido más amplio: solidaridad, comprensión, respeto, incondicionalidad y amor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco muy especial a mis asesores: M. en C. Oscar Monroy y Dr. Jean Pierre Guyot el apoyo y motivación que nunca me faltó durante mi estancia en el grupo de Digestión Anaerobia, desde el inicio hasta el final de esta tesis.

A los profesores M. en C. Obdulia González y Dr. Alberto Castillo agradezco el apoyo proporcionado en los análisis estadísticos, a los cuales se invirtió un gran número de horas en las asesorías de manera paciente y entusiasta.

A la M. en B. Florina Ramírez su disposición en ayudarme y el tiempo proporcionado para las revisiones de mi tesis.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio de los que siempre obtuve una respuesta positiva cuando requeri su ayuda, en especial a Paty, Flor, Maribel y Agustín.

Agradezco al CONACyT el financiamiento proporcionado para realizar mis estudios de Maestría.

DEGRADACION ANAEROBIA DE SURFACTANTES

INDICE

Resumen	1
Objetivos	2
CAPITULO 1 INTRODUCCION	
1.1. Antecedentes.....	3
1.2. Justificación	4
1.3. Fundamentos Bibliográficos	
1.3.1 Digestión Anaerobia	
1.3.1.1 Microbiología de la digestión anaerobia.....	5
1.3.1.1.1 Primera etapa: de hidrólisis y fermentación.....	5
1.3.1.1.2 Segunda etapa: acetogénesis.....	7
1.3.1.1.3 Tercera etapa: metanogénesis.....	10
1.3.2 Química de los Detergentes.....	14
1.3.2.1 Síntesis y manufactura del LSS.....	16
1.3.2.2 Síntesis y manufactura del DBSS	17
1.3.2.3 Síntesis y manufactura del CTMA	18
1.3.3 Efectos Tóxicos de los Detergentes.....	19
CAPITULO 2 MATERIALES Y METODOS	
2.1 Diseño Experimental	23
2.2 Materiales	23
2.2.1 Inóculos.....	23
2.2.2 Medios de cultivo	24
2.2.2.1 Solución nutritiva	24
2.2.2.2 Solución de detergente	24
2.2.2.3 Solución de acetato de sodio	25
2.3 Métodos	
2.3.1 Preparación de los recipientes de recepción en condiciones anaerobias.	25
2.3.2 Incubación y muestreo.....	26
2.3.3 Métodos analíticos.....	27
2.3.4 Análisis de datos.....	27

CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Lodos de Origen Industrial (Alta Actividad Metanogénica)	
3.1.1 Pruebas de biodegradación.....	29
3.1.1.1 Lauril sulfato de sodio	29
3.1.1.2 Dodecil bencen sulfonato de sodio.....	30
3.1.1.3 Cloruro de trialquil metil amonio	31
3.1.2 Prueba de inhibición	34
3.1.1.1 Lauril sulfato de sodio	34
3.1.1.2 Dodecil bencen sulfonato de sodio.....	35
3.1.1.3 Cloruro de trialquil metil amonio	36
3.2 Lodos de la UAM-I (Baja Actividad Metanogénica)	39
3.2.1 Pruebas de biodegradación.....	39
3.2.1.1 Lauril sulfato de sodio	39
3.2.1.2 Dodecil bencen sulfonato de sodio.....	40
3.2.1.3 Cloruro de trialquil metil amonio	41
3.2.2 Prueba de inhibición	44
3.2.2.1 Lauril sulfato de sodio	44
3.2.2.2 Dodecil bencen sulfonato de sodio.....	45
3.2.2.3 Cloruro de trialquil metil amonio	46
3.3 Discusiones para lodos industriales	49
3.4 Discusiones para lodos de la UAM-I.....	50
3.5 Discusiones de comparación entre lodos.....	51
3.6 Conclusiones.....	54
BIBLIOGRAFIA	56

APENDICE

	Página
Apéndice 2.1. Medio RAMM.....	60
Apéndice 2.2. Curva Patrón de metano.....	62
Apéndice 2.3. Prueba de hipótesis.....	63
Apéndice 3.1. Modelo ajustado, Biodegradación LSS lodos industriales.....	68
Apéndice 3.2. Estimación de F.Biodegradación LSS lodos industriales.....	69
Apéndice 3.3. Estimación del modelo para LSS lodos industriales prueba de inhibición	70
Apéndice 3.4. Modelo ajustado, Biodegradación DBSS lodos industriales.....	76
Apéndice 3.5. Estimación de F.Biodegradación DBSS lodos industriales.....	76
Apéndice 3.6. Modelo ajustado, Biodegradación CTMA lodos industriales.....	77
Apéndice 3.7. Estimación de F.Biodegradación CTMA lodos industriales.....	77
Apéndice 3.8. Modelo ajustado, Inhibición LSS lodos industriales.....	78
Apéndice 3.9. Estimación de F.Inhibición LSS lodos industriales.....	78
Apéndice 3.10. Modelo ajustado, Inhibición DBSS lodos industriales.....	79
Apéndice 3.11. Estimación de F.Inhibición DBSS lodos industriales.....	79
Apéndice 3.12. Modelo ajustado, Inhibición CTMA lodos industriales.....	80
Apéndice 3.13. Estimación de F.Inhibición CTMA lodos industriales.....	80
Apéndice 3.14. Modelo ajustado, Biodegradación LSS lodos de la UAM-I.....	81
Apéndice 3.15. Estimación de F Biodegradación LSS lodos de la UAM-I.....	81

Apéndice 3.16. Modelo ajustado, Biodegradación DBSS lodos de la UAM-I.....	82
Apéndice 3.17. Estimación de F.Biodegradación DBSS lodos de la UAM-I.....	82
Apéndice 3.18. Modelo ajustado, Biodegradación CTMA lodos de la UAM-I.....	83
Apéndice 3.19. Estimación de F.Biodegradación CTMA lodos de la UAM-I.....	83
Apéndice 3.20. Modelo ajustado, Inhibición LSS lodos de la UAM-I.....	84
Apéndice 3.21. Estimación de F.Inhibición LSS lodos de la UAM-I.....	84
Apéndice 3.22. Modelo ajustado, Inhibición DBSS lodos de la UAM-I.....	85
Apéndice 3.23. Estimación de F.Inhibición DBSS lodos de la UAM-I.....	85
Apéndice 3.24. Modelo ajustado, Inhibición CTMA lodos de la UAM-I.....	86
Apéndice 3.25. Estimación de F.Inhibición CTMA lodos de la UAM-I.....	86

RESUMEN

En este trabajo se estudió la biodegradabilidad anaerobia y el efecto que sobre la reacción acetoclástica ejercen los surfactantes. Se experimentó con dos surfactantes aniónicos el lauril sulfato de sodio (LSS) y el dodecil bencen sulfonato de sodio (DBSS) y uno catiónico el cloruro de trialquil metil amonio (CTMA). Se utilizaron dos tipos de lodos anaerobios: uno granular con 104 g SSV/l y 109 gSST/l y otro floculento con 24.1 g SSV/l y 39.5 g SST/l.

La variable de respuesta fue la producción de metano. Los resultados mostraron que a dosis de 100 y 250 mg/l el LSS fue biodegradado en ambos lodos. A 100 mg/l se obtuvo 100% de eficiencia de biodegradación en ambos lodos. El DBSS sólo fue parcialmente biodegradado con lodos granulares a 250 mg/l con un 36% en la eficiencia de biodegradación. El CTMA sólo fue biodegradado con los lodos granulares a dosis de 100, 250 y 500 mg/l con las siguientes eficiencias de biodegradación: 100, 80.76 y 60.66%.

La producción de metano a partir del acetato fue inhibida por los surfactantes aniónicos. Los lodos granulares fueron inhibidos por 500 mg de LSS/l con una producción de gas del 165% por abajo de la esperada y con 250 mg de DBSS/l con 60%. Los lodos floculentos presentaron mayor sensibilidad a la acción del detergente pues con 250 mg de LSS/l se obtuvo una reducción de gas del 169% abajo de la esperada y con 250 mg de DBSS/l con 159%. El CTMA no presentó inhibición.

De los tres detergentes estudiados el DBSS fue el que presentó efectos más negativos sobre la digestión anaerobia ya que es parcialmente biodegradado y su acumulación inhibe a las bacterias metanogénicas.

OBJETIVOS

Objetivo General.

- 1.- Estudiar el efecto de tres tipos de agentes surfactantes en la actividad metanogénica de lodos anaerobios.

Objetivos específicos.

- 1.- Estudiar la biodegradabilidad anaerobia del lauril sulfato de sodio, del dodecil bencen sulfonato de sodio y del cloruro de trialquil metil amonio.
- 2.- Estudiar el efecto inhibitorio del lauril sulfato de sodio, del dodecil bencen sulfonato de sodio y del cloruro de trialquil metil amonio en la metanogénesis del acetato.

CAPITULO 1

INTRODUCCION

1.1 Antecedentes.

El tema de compuestos recalcitrantes en el tratamiento de aguas residuales ha sido muy estudiado en estos últimos años. Los detergentes son considerados como recalcitrantes debido a su estructura molecular que les permite permanecer en el medio ambiente por un tiempo indefinidamente largo. (Speece 1990).

Los surfactantes aniónicos tales como el lauril sulfato de sodio (LSS) y el dodecil bencen sulfonato de sodio (DBSS) se utilizan ampliamente como agentes activos en los limpiadores (detergentes, shampoos y pastas de dientes). Los surfactantes catiónicos y no iónicos que se utilizan en menor proporción que los anteriores, también se emplean como base de limpiadores.

El amplio uso de estos detergentes genera problemas en el medio ambiente, tales como la toxicidad en el mar que afecta a los peces debido a que dificultan la transferencia de oxígeno en el agua y aceleran la eutricación en los cuerpos receptores (Hashim and Kulandia, 1989). Actualmente los mares y los estuarios se han convertido en receptores de los detergentes. Bressan y col. (1991) encontraron que dosis de 30 ppm inducen la inhibición de organismos costeros.

Existe muy poca literatura acerca de la degradación de estos compuestos por vía anaerobia. Khalil y col. (1989) demostraron el efecto inhibitorio de detergentes aniónicos sobre una cepa pura de *Methanosarcina barkerii* a dosis de 20 ppm. Sin embargo Wagener y Schink (1987) encontraron una degradación parcial del DBSS a dosis menores de 100 ppm utilizando un reactor de filtro anaerobio. Federle y col. (1992) encontraron degradación anaerobia con surfactantes

1.2 Justificación

En México como en el mundo la producción de detergentes sigue considerándose muy elevada. México produce 1/3 del volumen total de detergentes en América latina (Hidalgo, 1987). En el mundo se estima que se producen alrededor de 4 mil toneladas de surfactantes aniónicos anualmente (Groot, 1991), aunado a esto, el reemplazo de éstos por detergentes biológicos se ve todavía muy lejano (Berna y col. 1990)

La selección de los detergentes para este trabajo se debió básicamente a su importancia en la producción: el DBSS es un alquilbencen lineal usado como agente activo en los detergentes comunes en México (Hidalgo, 1987). El LSS es un detergente alquil sulfonato lineal usado en la producción de shampoos y pastas de dientes (Pattersson, 1968) y el CTMA es un detergente catiónico con menor uso comercial comparado con los otros dos pero de importancia en la limpieza antiséptica en los hospitales.

Con la experiencia del grupo de trabajo de la UAM-I en la degradación de compuestos recalcitrantes y el conocimiento de las necesidades industriales y municipales por tratar aguas con altas cargas de surfactantes, llevó a tomar la decisión de estudiar los efectos de detergentes en la digestión anaerobia.

1.3 Fundamentos Bibliográficos.

1.3.1 Digestión Anaerobia

1.3.1.1 Microbiología de la digestión anaerobia.

La digestión anaerobia puede definirse como una secuencia de procesos metabólicos que originan la degradación de sustancias orgánicas en ausencia de oxígeno molecular para dar productos tales como el dióxido de carbono y el metano (Moreno, 1990).

La formación de metano por los microorganismos toma lugar en ausencia de oxígeno en una variedad de medios acuosos, los cuales pueden contener metales oxidantes tales como el Fe o el Mn, compuestos nitrogenados o sulfurados. La metanogénesis es extremadamente especializada, requiere de acetato, metanol, metilaminas, o H₂ y CO₂ para formar metano, estos substratos deben estar presentes ya sea como resultado de una degradación microbiana o a partir de una actividad geotérmica. Los habitats más importantes en los cuales se realiza la biometanización son los pantanos, las ciénagas, el tracto digestivo del hombre y de animales como rumiantes e insectos; sedimentos de lagos y ríos, así como también los microambientes anóxicos del suelo.

Básicamente la degradación anaerobia de la materia orgánica se divide en tres etapas de acuerdo a McInerney y Bryant en Guyot (1988):

- a) Etapa de hidrólisis y fermentación.
- b) Etapa de acetogénesis.
- c) Etapa de metanogénesis.

1.3.1.1 Primera etapa: de hidrólisis y fermentación.

En esta etapa se hidrolizan polímeros tales como la celulosa, la pectina, las proteínas y se fermentan sus monómeros y algunos compuestos aromáticos (Guyot, 1992). Estos son transformados en ácidos carboxílicos, alcoholes, hidrógeno y dióxido de carbono. Entre los ácidos carboxílicos producidos están los ácidos grasos volátiles como el acético, propiónico, butírico y valérico.

Cuando se está tratando con compuestos de fácil hidrólisis será necesario controlar esta etapa para evitar una acidificación rápida del reactor. Si esto pasara provocaría una desestabilización del proceso entero debido a la sobreproducción de ácidos que bajan el pH hasta niveles inhibitorios.

Existen compuestos que, debido a su estructura química, difícilmente son hidrolizados por lo que esta etapa puede resultar limitante. Es por ello que a este tipo de compuestos se les denomina recalcitrantes. En la actualidad el aislamiento de bacterias capaces de degradar estos compuestos resulta un tema con gran interés. En el Cuadro 1.1 aparecen algunas de las bacterias hidrolíticas que participan en la digestión anaerobia y el tipo de sustrato que utilizan.

Cuadro 1.1
Bacterias hidrolíticas que participan en la digestión anaerobia
(García,1991).

Sustrato	Especies mesofílicas
Celulosa	<i>Acetovibrio cellulolyticus</i> <i>A. cellulosolvens</i> <i>Bacteroides succinogenes</i> <i>B. cellulosolvens</i> <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> <i>Cillobacterium cellulosolvens</i> <i>Ruminococcus albus</i> <i>R. flavifaciens</i> <i>Clostridium aldrichii</i> <i>C. celerecrescens</i> <i>C. cellobioparum</i> <i>C. cellulolyticum</i> <i>C. lochheadii</i> <i>C. Chartatabidium</i> <i>C. papyrosolvens</i> <i>C. longisporum</i> <i>C. populeti</i> <i>C. polysaccharolyticum</i> .
Hemicelulosa	<i>Bacteroides ruminocola</i>
Pectinasas	<i>Clostridium butyricum</i> <i>C. felsimeum</i> <i>C. multif fermentans</i> <i>Lachnospira multiparus</i>
Almidón	<i>Bacillus</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Clostridium butyricum</i> <i>C. spp.</i> <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Micrococcus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Succinomonas amylolytica</i> .
Lípidos	<i>Anaerovibrio lipolytica</i> <i>Bacillus</i> spp. <i>Syntrophomonas</i> spp.
Proteínas	<i>Bacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp <i>Clostridium</i> spp. <i>Peptococcus anaerobius</i> <i>Staphylococcus</i> spp.
Compuestos nitrogenados	<i>Clostridium acidurici</i> <i>C. cylindrospermum</i> <i>Micrococcus aerogenes</i> <i>Micrococcus lactilyticus</i>
	Especies termofílicas
Celulosa	<i>Clostridium thermocellum</i> <i>C. stercorarium</i>
Hemicelulosa	<i>C. thermocellum</i>
Pectinasas	<i>C. thermocellum</i> <i>C. thermosaccharolyticum</i> <i>C. thermosulfurigenes</i>
Almidón	<i>C. termohydrosulfuricum</i>
Proteínas	<i>Thermobacteroides proteolyticus</i>

La transferencia de hidrógeno interespecies es importante en esta etapa ya que las bacterias fermentativas son capaces de transferir electrones vía hidrógeno a

bacterias hidrogenofílicas, en lugar de reducir normalmente un compuesto orgánico intermediario. Esto produce un aumento en acetato, en relación con los AGV, representando una ventaja para todo el sistema porque el acetato es el principal precursor del CH₄.

1.3.1.2 Segunda etapa: acetogénesis.

1.3.1.2.1 Bacterias OHPA

En esta etapa los productos de fermentación son convertidos en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por un grupo de bacterias denominadas "bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno" OHPA (Cuadro 1.2). Estas bacterias tienen la particularidad de inhibirse con la presencia de hidrógeno, por lo que es necesario que éste no se acumule en el medio. Existe una estrecha relación entre las bacterias hidrogenofílicas (consumidoras de hidrógeno) y las OHPA. Esta relación sintrófica que se da se denomina transferencia de hidrógeno interespecies. El fenómeno se refiere a que las bacterias OHPA y ciertas bacterias sulfato reductoras en ausencia de sulfatos efectúan una reacción acetogénica a partir de los ácidos grasos volátiles, gracias a ésta sintrófia es posible mantener un equilibrio favorable para realizar las reacciones de acetogénesis que de otra manera no se realizaría ya que el equilibrio termodinámico ($\Delta G > 0$) no lo favorece. Si las presiones parciales de hidrógeno exceden de 10⁻¹ atm para el etanol, 10⁻³ para el propionato y el 10⁻⁴ para el butirato, la acetogénesis no ocurre con la cosecuente acumulación de AGV.

Para el etanol, bacterias OHPA:



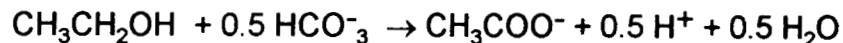
$$\Delta G^\circ = +9.6 \text{ KJ/reacción}$$

Bacterias metanogénicas



$$\Delta G^\circ = -67.5 \text{ KJ/reacción}$$

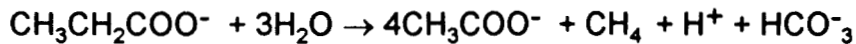
Bacterias metanogénicas y OHPA.



$$\Delta G^\circ = -57.9 \text{ KJ/reacción}$$

Para el propionato

Con OHPA



$$\Delta G^\circ = +76.1 \text{ KJ/reacción}$$

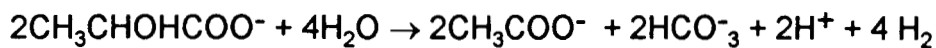
Con OHPA y bacterias metanogénicas



$$\Delta G^\circ = -102.4 \text{ KJ/reacción}$$

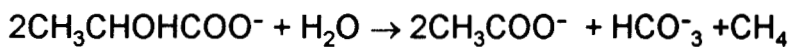
Lactato

Con bacterias sulfato reductoras:



$$\Delta G^\circ = +8 \text{ KJ/reacción}$$

Con bacterias sulfato reductoras y bacterias metanogénicas



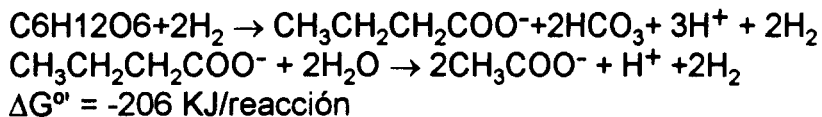
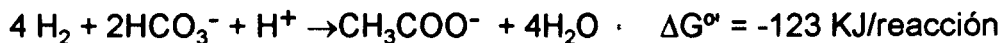
$$\Delta G^\circ = -123 \text{ KJ/reacción}$$

Cuadro 1. 2
Bacterias (OHPA).
(García, 1991)

Bacteria	Reacción
Organismo "S"	Etanol + H ₂ O → acetato + 2H ₂
<i>Syntrophobacter wolinii</i>	Propionato + 3H ₂ O → acetato + 3H ₂ + CO ₂
<i>Syntrophomonas bryantii</i>	
<i>Syntrophomonas sapovorans</i>	
<i>Syntrophomonas wolfei</i> sub. <i>saponavida</i>	
<i>Syntrophomonas wolfei</i> sub. <i>wolfei</i>	
<i>Syntrophomonas bryantii</i>	Butirato + 2H ₂ O → 2 acetato + 2H ₂
<i>Syntrophomonas bushewelli</i>	Benzoato + 7H ₂ O → 3 acetato + 3H ₂ + CO ₂

1.1.2.2 Bacterias Homoacetogénicas

Estas bacterias son capaces de transformar una mezcla de H₂-CO₂ y algunos sacáridos (glucosa y fructosa) en acetato únicamente. En el Cuadro 1.3 se mencionan algunas especies de este tipo de bacterias (Guyot, 1992):



Cuadro 1.3
Bacterias Homoacetogénicas. (García, 1991)

Grupo 1: H + reducción de un compuesto carbonado + CO ₂ → acetato
<i>Butyribacterium rettgeri</i>
<i>Clostridium acidurici</i>
<i>Clostridium cylindrospermum</i>
<i>Clostridium formicoaceticum</i>
<i>Clostridium ljundahlii</i>
<i>Clostridium magnum</i>
<i>Clostridium thermoaceticum</i>
<i>Peptococcus glycinophilus</i>
Grupo 2: H ₂ + CO ₂ → acetato
<i>Acetoanaerobium noterae</i>
<i>Acetobacterium carbinolicum</i>
<i>Acetobacterium wieringae</i>
<i>Acetobacterium Woodii</i>
<i>Acetogenium kivui</i>
<i>Acetofilamentum rigidum</i>
<i>Acetomicrobium flavidum</i>
<i>Acetothermus paucivorans</i>
<i>Acetitomaculum ruminis</i>
<i>Clostridium aceticum</i>
<i>Clostridium thermoautotrophicum</i>
<i>Eubacterium limosum</i>
<i>Sporomusa acidovorans</i>
<i>Sporomusa malonica</i>
<i>Sporomusa ovata</i>
<i>Sporomusa paucivorans</i>
<i>Sporomusa sphaeroides</i>
<i>Sporomusa termitida</i>

1.1.1.3 Tercera etapa: metanogénesis.

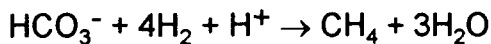
Las bacterias metanogénicas pertenecen al reino de las arqueobacterias. En éste se localizan también las bacterias hiperhalofílicas y las hipertermofílicas. Las metanogénicas obtienen su energía metabólica a partir de la formación de metano en habitats con anaerobiosis estricta.

Las condiciones necesarias para que se realice la metanogénesis son:

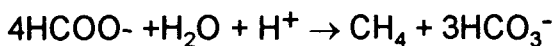
- a) Anaerobiosis estricta.
- b) Medio reductor.
- c) Ausencia de aceptores finales de electrones capaces de competir con la metanogénesis como NO_3^- y SO_4^{2-} que desvían la metanogénesis hacia la sulfatorreducción.

Básicamente en los digestores anaerobios las metanogénicas se pueden dividir en dos grupos tróficos (Guyot, 1992)

1) Bacterias hidrogenofílicas no acetoclásticas. Este tipo de bacterias obtienen su energía a partir de la oxidación del hidrógeno en presencia del dióxido de carbono como aceptor de electrones. En general, estas bacterias pueden utilizar al formiato, pero no utilizan acetato como fuente de energía.

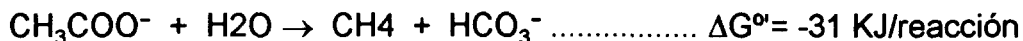


$$\Delta G^\circ = -135 \text{ KJ/reacción}$$



$$\Delta G^\circ = -130 \text{ KJ/reacción}$$

2) Bacterias metanogénicas acetoclásticas. Este grupo de bacterias producen metano a partir del grupo metilo del acetato, de acuerdo con la siguiente ecuación:



Esta reacción es fundamental ya que el 73% del metano en los digestores proviene del acetato.

Pueden subdividirse en dos géneros: *Methanosarcinas* y *Methanosaetas* (*Methanotrix*). El Cuadro 1.4 resume las características de ambos géneros.

Cuadro No. 1.4
Características generales de las metanogénicas

Características	<i>Methanosarcinas</i>	<i>Methanosaetas</i>
Ks (mM)	0.5	1.2
t de generación (h)	30	70
Son inhibidas	Formiato e H ₂	Formiato e H ₂
Otros sustratos	Metionina y metanol	no
Morfología	Pseudosarcina	bacilos de cadena larga

Nutrición y fisiología.

Las bacterias metanogénicas son fisiológicamente activas en el intervalo de pH entre 6.0 y 8.0 con una óptima actividad en 7. Los requerimientos anaerobios de las metanogénicas son los siguientes: crecen en cultivos puros sólo cuando el oxígeno ha sido rigurosamente excluido y el potencial rédox ha sido ajustado a menos de 330 mV, por adición de sulfuro de sodio, cisteína o citrato de titanio (III). El amonio y el sulfuro o la cisteína son las principales fuentes de nitrógeno y de sulfuro para la biosíntesis. La mayoría de las cepas metanogénicas son estimuladas por una adición pequeña de ácido acético, aminoácidos, algunos ácidos grasos, vitaminas o extracto de levaduras. El acetato puede proveer cerca del 60% del total del carbón celular en *Methanobacterium ruminantium* cepa m1, en *Methanococcus voltae* el carbón celular se deriva a partir del 31% de acetato, 22% de isoleucina, 25% de leucina y 23% de CO₂; el 2-metilbutirato y el isovalérico pueden substituir a la isoleucina y a la leucina respectivamente. *M. ruminantium* requiere también la coenzima M.

La composición mineral del medio puede ser crucial, así, por ejemplo la adición de sólo 1 µmol de cloruro de níquel por litro a un medio de cultivo para *Methanobacterium thermoautotrophicum* baja el tiempo de duplicación celular de 6 h a 1.6 h además se incrementa la concentración celular de 0.4g en peso seco a 2g. Esto se debe a que el níquel es el átomo central de la coenzima F₄₃₀.

Las características más importantes de las bacterias metanogénicas según Shobert (1983) son las siguientes:

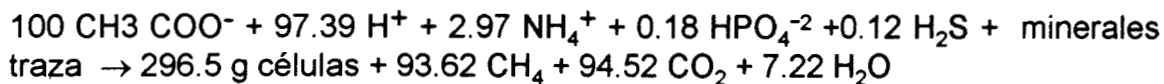
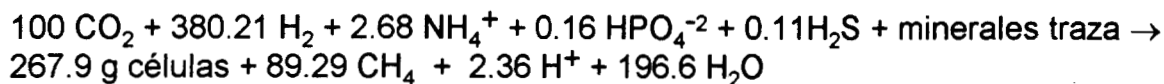
1. Poseen la habilidad para formar metano a partir de un rango de sustrato muy restringido de: hidrógeno, dióxido de carbono, ácido fórmico, monóxido de carbono, metanol, metilaminas y acetato.
2. En contraste con las eubacterias la pared celular no tiene mureina y su composición inusual que difiere según los grupos. En general contiene

lípidos polares no saponificables éteres de glicerol y lípidos neutrales que contienen el escualeno.

3. Contienen 6 coenzimas y factores de crecimiento tales como la coenzima M (ác. sulfónico mercaptoetano), F₄₂₀, F₄₃₀ (un componente tetrapirrol con Ni), la metanopterina y otros.
4. Secuencias atípicas en el tRNA.
5. Las bacterias metanogénicas frente a los antibióticos responden de manera muy diferente en relación con las bacterias típicas. Las metanogénicas son insensibles a la penicilina, la vancomicina y fosfomicina.

Metabolismo de las bacterias metanogénicas.

Las metanogénicas, al igual que todas las bacterias requieren de nutrientes para poder desarrollarse. Algunas de las bacterias metanogénicas aparecen en el Cuadro 1.5. Un balance aproximado de materiales de dos de los sustratos más conocidos es de acuerdo a Schobert, (1983) :



Lo importante en estas reacciones es que sólo el 10 % en moles del sustrato es incorporado para la producción de células nuevas, el 90% es convertido a gas. Los rendimientos de producción de metano incluso pueden ser más alto, depende también del tipo de cepa utilizado.

Cuadro 1. 5
Bacterias Metanogénicas (García, 1991)

Organismo	Sustratos utilizados			
	H ₂ + CO ₂	Fórmico	Acetato	C.M. ⁽¹⁾
Methanobacterias				
Methanobacterium				
<i>alcaliphilum</i>	+	-	-	-
<i>bryantii</i>	+	-	-	-
<i>esponolae</i>	+	-	-	-
<i>formicum</i>	+	+	-	-
<i>ivanovii</i>	+	-	-	-
<i>palustre</i>	+	+	-	-
<i>thermoaggregans</i>	+	-	-	-
<i>thermoalcaliphilum</i>	+	-	-	-
<i>thermoautotrophicum</i>	+	-	-	-
<i>thermoformicum</i>	+	+	-	-
<i>uliginosum</i>	+	-	-	-
<i>wolfei</i>	+	-	-	-
Methanobrevibacter				
<i>arboriphilus</i>	+	-	-	-
<i>ruminantium</i>	+	+	-	-
<i>smithii</i>	+	+	-	-
Fam. <i>Methanothermaceae</i> .				
Methanothermus				
<i>fervidus</i>	+	-	-	-
<i>sociabilis</i>	+	-	-	-
Fam. no determinada				
Methanosphaera				
<i>cuniculi</i>	-	-	-	-
<i>stadtmanae</i>	-	-	-	-
Orden <i>Metanococcales</i>				
Fam. <i>Methanococcaceae</i>				
Methanococcus				
<i>aeolicus</i>	nd ⁽²⁾	nd	nd	nd
<i>deltae</i>	+	+	-	-
<i>halophilus</i>	-	-	-	+
<i>jannaschii</i>	+	-	-	-
<i>maripalidus</i>	+	+	-	-
<i>thermolithotrophicus</i>	+	+	-	-
<i>vanielii</i>	+	+	-	-
<i>voltae</i>	+	+	-	-

(1) Compuestos metilados

(2) No determinado.

1.3.2 Química de los Detergentes

Se reconocen como agentes de superficie aquellos elementos que rompen la tensión superficial. La tensión superficial se define como la fuerza que tiende a disminuir la superficie libre de un líquido. Esta se explica por el hecho de que la resultante de las atracciones sobre una molécula superficial ejercen las moléculas próximas dirigidas hacia el interior del líquido. (Considini, 1974).

Los surfactantes están caracterizados por una porción elongada de baja afinidad acuosa y una porción de alta afinidad acuosa. Químicamente los detergentes pueden ser clasificados en dos grandes clases de acuerdo con Schwart and Perry, (1949). los iónicos y los no iónicos. Los no iónicos tiene una cadena hidrofílica al final, que contiene grupos tales como el oxígeno, el nitrógeno o sulfuros.

El grupo de los iónicos se divide en dos: aniónicos si en la porción hidrofílica de la molécula está incluido un anión en solución acuosa. Catiónicos, si en la parte hidrofílica contienen un catión en solución acuosa.

En el Cuadro 1.6 aparece resumida la clasificación de los detergentes de acuerdo a la estructura química de la porción hidrofílica.

La síntesis en general de estos detergentes se encuentra modificada en la mayoría de los casos por las industrias dedicadas bajo las patentes de adquisición.

Para efecto de este trabajo sólo se describirá la síntesis de los detergentes utilizados.

Cuadro 1.6
Clasificación de Agentes Activos de Superficie
(Schwart, 1949)

I. Aniónicos	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ac. carboxílicos 2. Esteres sulfúricos 3. Acidos sulfonoalquílicos 4. Acidos sulfonalquilaromático 5. Miscelánea de grupos hidrofílicos
II. Catiónicos.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sales de amonio 2. Componentes amonio cuaternario 3. Otras bases nitrogenadas. 4. Bases no nitrogenadas.
III. No iónicos.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Esteres lineales para solubilizar gpos. 2. Esteres lineales. 3. Amidas lineales. 4. Misceláneas lineales. 5. Múltiples lineales.
IV. Amfolíticos.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Aminas y carboxilicos 2. Aminas-y estéres sulfúricos. 3. Aminas y ácidos sulfonoalquílicos 4. Aminas y ácidos sulfonoaromáticos 5. Miscelánea de combinación de bases y de grupos ácidos.

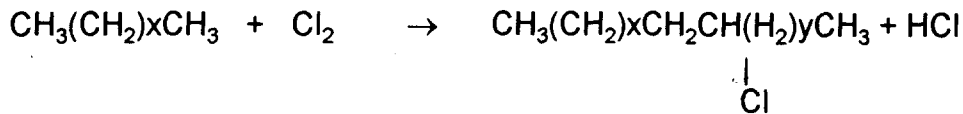
Dentro de la producción de los detergentes los alquilbencenos lineales son los de mayor importancia en el mundo. El Cuadro 1.7 resume la producción mundial de alquilbencenos.

Los detergentes alquilbencenos lineales mejor conocidos como LAB son producidos por la reacción del benceno con grupos que contienen de 10 a 14 átomos de carbono derivados a partir de parafinas normales o alfa oleofinas lineales. Las LAB pueden ser también llamados álcalis, detergentes alcalinos o dodecilbencenos.

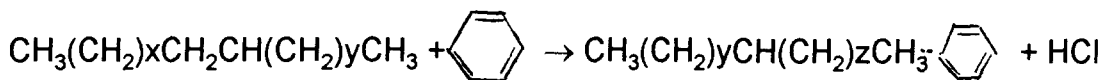
Cuadro 1.7
Producción de alquilbencenos lineales por región (Modler, 1989)

	USA	Europa occidental	Japón	Total
Alquilbencenos lineales				
Productores	2	8	4	14
Número de plantas	4	9	4	17
Producción total (10 ⁶ ton/año)	780	1590	320	2690
Alquilbencen sulfonatos				
Número de plantas	1	1	2	4
Producción total (10 ⁶ ton/año)	20	132	176	328

Muy cercanos a estas familias, los LAB son convertidos a alquilbencen sulfonatos lineales por sulfonación (LAS). En la siguiente reacción se puede resumir la síntesis de éstos :



parafina normal cloro monocloroparafina

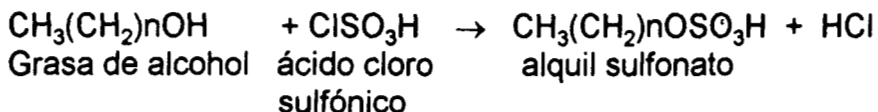


monocloroparafina (promedio C12) benceno alquilbencen lineal (C12 promedio alquil)

1.3.2.1 Síntesis y manufactura del lauril sulfato de sodio (LSS).

El LSS es un detergente aniónico clasificado dentro de los ésteres sulfónicos. Los alquil sulfatos van desde 8 a 18 átomos de carbono. El lauril está dentro de los alcoholes sulfatados. Las dos más importantes grasas de alcohol sulfatados se hacen a partir de alcohol oleico (9,10 octadecanol-L) y a partir de mezclas de grasa de alcohol hechas por reducción de mezclas de ácidos grasos de aceite de coco. Las grasas de alcohol posteriormente son sometidas a destilación para obtener 2 o 3 fracciones de C₁₀, C₁₂ y de C₁₄ a C₁₆.

Posteriormente las grasas de alcohol saturadas son sulfatadas con exceso de ácido sulfúrico concentrado. El producto es neutralizado y puede ser separado a partir del exceso de sulfato de sodio. Después el sulfato de sodio es eliminado y la mezcla completa es secada. El ácido clorosulfónico es utilizado como agente surfactante. La reacción es como sigue:



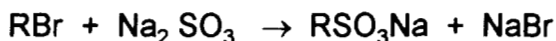
n=11 para el lauril

El ácido clorhídrico se elimina como gas. El ester sulfúrico resultante puede ser neutralizado directamente.

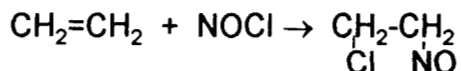
Además de este método existen muchos otros para obtener el mismo producto que varían en función de la patente en que se ha desarrollado por cada empresa.

1.3.2.2 Síntesis y manufactura del dodecil bencen sulfonato de sodio (DBSS).

El DBSS es un agente aniónico de superficie activa. El método clásico de preparación de los ácidos alquil sulfónicos tienen la reacción correspondientes a los haluros de alquilo. La reacción es como sigue:



La reacción puede ser llevada a cabo en solución acuosa de alcohol. Los alquilos altamente insaturados y los ácidos sulfónicos sustituidos son utilizados como detergentes. Dentro de los surfactantes más comunes se tiene a los que pueden ser clasificados con el nombre de alquil sulfonato, pero que sin embargo tienen una rara y compleja mezcla. Están hechos por la adición de cloruro de nitrosilo a una olefina y tratando el resultante con sulfito de sodio o bisulfito. Las olefinas usadas son derivadas del petróleo o pueden tener otras fuentes tales como la cetona, el éster oléico y las olefinas Fisher-Tropsch. La reacción del cloruro de nitrosilo con las olefinas puede observarse en la siguiente reacción:

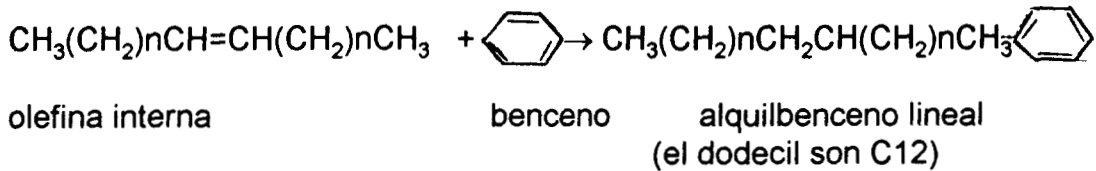
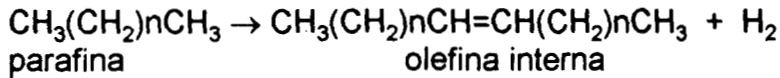


Se forma un haluro nitroso saturado. Este producto es tratado con una mezcla de alcohol con sulfito y bisulfito de sodio lo que da lugar a diferentes

reacciones. El cloruro puede ser reemplazado por un grupo NaSO_3 . El grupo nitroso puede ser parcialmente reducido e hidrolizado para producir un grupo ceto, ésto puede reducirse completamente para formar un grupo amino o podría bajo condiciones de reducción y sulfitación, un grupo de los ácidos sulfámicos.

Los surfactantes aniónicos de la serie alquilsulfonato no contienen un intermediario lineal pero tiene un anillo aromático en la cadena hidrofóbica.

Los pasos de la reacción son como sigue:



1.3.2.3 Síntesis y manufactura del cloruro de trialquil metil amonio (CTMA).

El CTMA es un surfactante catiónico clasificado dentro de éstos como componente amino cuaternario. La síntesis exacta de este surfactante es posible conocerla, al igual que en los otros dos casos, obteniendo la patente. Sin embargo pertenece a un grupo bien conocido. Los análogos se construyen en la mayoría de los casos de cadenas lineales de 8 a 18 átomos de carbono de sales cuaternarias de amonio. La mayoría de los compuestos de estos grupos se realizan haciendo, una metilación exhaustiva de aminas primarias de origen de aceite coco. Por lo regular se agregan grupos como cloro bromo o sulfato.

1.3.3 Efectos Tóxico de los Detergentes

Los detergentes debido a su estructura química representan problemas para ser biodegradable. En otros términos se reconocen como compuestos recalcitrantes. El concepto recalcitrante, persistente, está íntimamente relacionado a la noción de biodegradabilidad. Un concepto puede ser definido como recalcitrante en un medio en particular si mantiene su identidad en el medio ambiente por un tiempo arbitrariamente largo (Holliger, 1988).

Un compuesto puede ser recalcitrante en anaerobiosis cuando al paso del tiempo (puede ser días, horas o meses) la molécula permanece intacta en un reactor. La propiedad de ser recalcitrante se debe a:

- 1) Su estructura química. Por ejemplo los plásticos poseen una estructura química muy compleja impidiendo la acción de las bacterias.
- 2) Condiciones físicas del medio ambiente. tales como la temperatura, el potencial del agua o la disponibilidad del agua.
- 3) Condiciones químicas del medio ambiente. El pH, el potencial rédox, la concentración del componente recalcitrante, los efectos sinérgicos o antagónicos.

Existen otros compuestos que no solamente son recalcitrantes, sino que además interfieren en el proceso anaerobio provocando la muerte a la biomasa. Este concepto está definido como toxicidad (Speece, 1990). Un indicativo importante en los digestores anaerobios es el cese de la producción de biogás. Es decir hay una inhibición de la metanogénesis.

Speece (1990) indica que una sustancia es tóxica cuando a concentraciones normales o relativamente bajas exhiben un efecto bacteriostático sobre las metanogénicas. Sin embargo él señala que este efecto puede ser reversible. A diferencia de las inhibiciones por pH por ejemplo, en la cuales si el reactor se mantiene en buenas condiciones después de un período de tiempo la producción de metano continua.

Al igual que los compuestos recalcitrantes las causas de la toxicidad se deben principalmente a la estructura molecular tales como: dobles ligaduras, posición de grupos funcionales, longitud de la cadena de carbonos, estado de oxidación, o la configuración.

En la digestión anaerobia el efecto de un tóxico sobre las metanogénicas aún no está bien claro, dado que las rutas metabólicas en anaerobiosis son muy complejas. Los daños por moléculas tóxicas no se conocen aún. Esto implica que no se conozcan familias bien definidas de tóxicos. Además de esto existen

fenómenos de sinergismo y antagonismo que se presentan en algunos tóxicos como los detergentes, las cianidinas y el cloroformo, los cuales presentan un fenómeno diferente por separado.

La toxicidad de surfactantes en el medio ambiente ha sido estudiada en varias especies de aguas dulces y saladas desde 1950 (Lewis, 1992). Esta toxicidad se ha visto aumentada con el uso de mezclas químicas que incluyen a los surfactantes y otros compuestos: como dispersantes de aceites, en la formulación de pesticidas incluso los detergentes granulares y líquidos, que contienen aromas, enzimas estabilizadores y surfactantes.

Martínez y col. (1989) encontraron que los alquil bencen sulfonato lineales (LAS) tienen una correlación entre la longitud de la cadena y la toxicidad, probada en *Daphnia*.y comunidades bacterianas naturales.

La toxicidad de los detergentes aniónicos no es tan severa si se considera al surfactante sólo. Sin embargo si éstos se combinan con otros componentes orgánicos la toxicidad se acentúa. Estudio realizados por Potoczka y col. (1990) mostraron la toxicidad de los detergentes aniónicos a concentraciones de 20 mg/l. Lewis (1992) encontró que un detergente aniónico a concentraciones menores del 1% en un efluente de refinería de aceite era fatal para el zooplancton y el fitoplancton.

Además de lo anterior Lewis y Hamm (1986) señala que la presencia de surfactantes provoca el endurecimiento de las aguas dañando especies marinas menores. Bressan y col.(1990) describen el efecto de los alquil bencen sulfonato lineal sobre especies del zooplancton (*Paracentrotus lividus*) en el cual los surfactantes producen un efecto tóxico sobre el desarrollo del esqueleto, debido básicamente a la inhibición del transporte de Cl^- HCO_3^- .

Los efectos de los detergentes y de su interacción en mezclas con otros compuestos son resumidos en el Cuadro 1.8 (Lewis, 1992)

Cuadro 1. 8
Toxicidad de Detergentes Mezclado con Otros Compuestos
(Lewis, 1992)

Mezcla de compuestos	Especies probadas	Efecto	Tipo de toxicidad	Referencia
NTA ¹ - aclopado NTA-cd NTA-Zn NTA- Hg	Comunidad natural de fitoplankton	La fotosíntesis se inhibe in situ (20 h)	No es sinérgico con el Hg.	Hongve y col. (1980)
4 mezclas que contienen surfactantes aniónicos, no aniónicos y catiónicos.	<i>Daphnia magna</i>	Sobrevive de 48 a 96 h.	Aditivo y antagónico.	Lewis y Perry (1981)
LAS ² - aclopada LAS-Zn	<i>Gadus morhua</i>	La larva incubada sobrevive y se desarrolla arriba de 24h.	Antagónico	Swedmark and Granmo (1981).
Aminocarb (contiene nonylphenol y aceite)	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Retarda el crecimiento (14 días)	Sinérgico	Weinberger y Rea (1982)
LAS-Zn AS3-Zn	<i>Proterorhinus marmoratus</i>	Bioacumulación de 48 a 336 días	Sinérgico No sinérgico	Topcuoglu y Birol (1982)
NP ⁴ -aceite crudo	<i>Monodonta turbinata</i> M. <i>tubiformis</i>	Frecuencia enzimática de 1-14 días	Sinérgica	Lavie y col. (1984)
Diferentes tipos de Tritón X-100	<i>Chlorella fusca</i>	Reduce la velocidad de crecimiento	Sinérgico con metales y antagónico con orgánicos	Wong (1985)
DBS-NIP ⁵ DBS-CNP	<i>Gnathopogon caerulescens</i>	Se bioconcentra en 14 días	Sinérgico	Nakanishi (1985)
LAS-Cd NP-Cd	Trucha	Acumulación en branqueas	Sinérgico	Panigrahi y Konar (1986)

**Continuación 1.8
(Lewis, 1992)**

TMAC6 efluentes municipales	Comunidad natural	Mortandad en la comunidad	Sinérgico	Lewis y col. (1986)
Mezcla de compuestos	Especies probadas	Efecto	Tipo de toxicidad	Referencia
NTA-Cd NTA- Hg	<i>Dunaliella tertiolecta</i> e <i>Isochrysis galbana</i>	Crece en 5 días	Es no sinérgico	Bressan y Brunetti (1988)
LAS- efluentes municipales	Comunidad natural	Mortandad en la comunidad	Es no sinérgica	Lewis y col. (1991)
LAS-Ca	<i>Paracentrotus lividus</i>	Retarda el Desarrollo del esqueleto	Sinérgico	Bressan y col. (1990)

- 1 Nitril acetato de sodio (base de detergente)
- 2 Alquilbencen sulfonato lineal (aniónico)
- 3 Etoxilato nonilfenol (No iónico)
- 4 Dodecilbencen sulfonato-4-nitrofenol-2,4 diclorofenil éter (aniónico)
- 5 Dodecilbencen sulfonato-4-nitrofenol-2,4,6-triclorofenil éter (aniónico)
- 6 Trimetil cloruro de amonio (detergente catiónico)

CAPITULO 2

MATERIALES Y METODOS.

2.1 Diseño Experimental.

De acuerdo a los objetivos específicos de estudiar la biodegradabilidad y el efecto de inhibición sobre la metanogénesis del acetato se planteó el diseño experimental de la Fig. 2.1

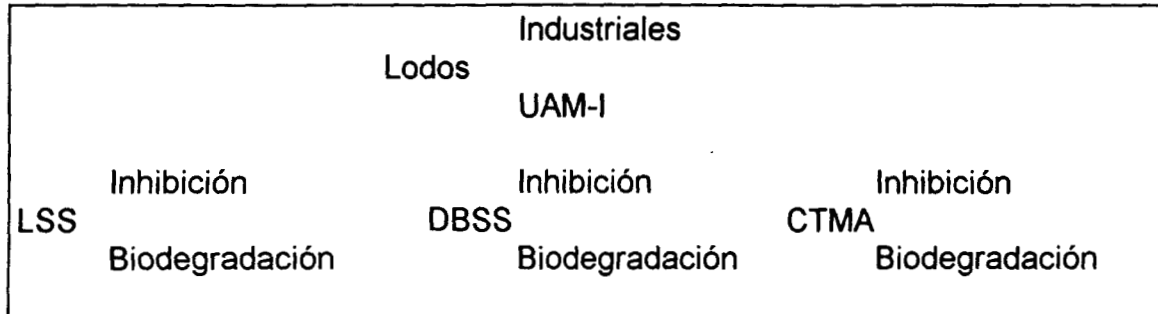


Fig. 2.1 Resumen del diseño experimental desarrollado.

Los experimentos se llevaron en botellas serológicas de 60 ml inoculados con lodos anaerobios, con medio nutritivo reducido e incubados a 36 °C en condiciones anaerobias. Todos los experimentos se hicieron por triplicado y se corrieron controles sin sustratos en todos los casos.

2.2 Material

2.2.1 Inóculos.

Se utilizaron dos diferentes tipos de inóculos procedente de reactores UASB: uno de aguas residuales de la industria de levaduras y el otro de la planta piloto de tratamiento de aguas residuales municipales de la Universidad Autónoma Metropolitana de Iztapalapa (UAM-I). La caracterización de estos lodos aparece en el Cuadro 2.1. Para la inoculación los lodos se dejaron al vacío dentro de la cámara anaerobia una noche para los lodos industriales y un fin de semana para los lodos de la UAM-I. Esta diferencia se debió a que éstos últimos se consideran menos estabilizados a las condiciones de anaerobiosis.

Cuadro 2.1
Caracterización de los lodos

	Lodos Industriales	Lodos de la UAM-I
Morfología	Granular	Floculenta
SST (mg/l)	109	39.5
SSV (mg/l)	104	24
SSF (mg/l)	4.6	15.4
V _{máx} (mmolCH ₄ /lh)	12	0.33
Actividad específica (mmol/gSSV h)	0.48	0.087

2.2.2 Medios de Cultivo.

2.2.2.1 Solución nutritiva.

La soluciones de los detergentes se prepararon en condiciones anaerobias. El medio de cultivo utilizado fue el RAMM (Shelton y Tiedje , 1984) adicionado con la solución de vitaminas de Balch y col. (1979). En el Apéndice 2.1 aparece la formulación del medio para 1 litro de medio.

Una vez preparado el medio RAMM (con la cantidad necesaria para preparar un cierto número de botellas) se calentó hasta ebullición bajo atmósfera de nitrógeno, hasta que se consumieran 100 ml de agua por cada litro de medio. Posteriormente el medio se dejó enfriar sin dejar de burbujear nitrógeno. El matraz se tapó y se introdujo a la cámara anaerobia junto con las botellas serológicas

2.2.2.2 Solución de detergentes.

Se utilizaron dos tipos de detergente aniónicos: el lauril sulfato de sodio (SIGMA de México), con PM de 288.38 g/mol, estado sólido, su fórmula es CH₃-(CH₂)₁₀-CH₂-SO₃-Na, el dodecil bencen sulfonato de sodio (SIGMA Co.) PM de 360 g/mol, grado reactivo, CH₃-(CH₂)₁₀-CH₂-C₆H₅-SO₃-Na y un detergente cuaternario el metil trialquil cloruro de amonio, el cual es una mezcla de cadenas de grupos alquilo con números de carbonos entre 8 y 10, su presentación es en estado líquido, [(CH₃-CH₂)_n]₃-NH₃-Cl. Las soluciones con detergentes se prepararon en condiciones anaerobias (Apartado 2.3.1)

Las concentraciones utilizadas para cada experimento aparecen en el Cuadro 2.2

Cuadro 2.2
Concentraciones de detergentes utilizadas

Detergente	Prueba inhibición (mg/l)	Prueba biodegradación (mg/l)
LSS	0, 1, 50, 100, 250 y 500	0, 1, 50, 100, 250 y 500
DBSS	0, 1, 50, 100, 250 y 500	0, 1, 5, 50, 100, 250 y 500
CTMA	0, 1, 50, 100, 250 y 500	0, 1, 5, 50, 100, 250 y 500

2.2.2.3 Solución de acetato de sodio.

Se usaron cristales de acetato de sodio trihidratado (Baker) PM 136.085 g/mol de 99.5% de pureza. La concentración inicial utilizada fue de 10 mmol/l. La solución de acetato de sodio se preparó en condiciones anaerobias (Apartado 2.3.1).

2.3 Métodos

2.3.1 Preparación de las recipientes de reacción en condiciones anaerobias.

Se agregaron 16 ml de solución nutritiva a cada botella serológica, se colocaron dentro de la cámara anaerobia y se taparon. Las soluciones de detergente y la solución de acetato de sodio se colocaron en botellas serológicas por separado. Las condiciones anaerobias se consiguieron de la siguiente manera:

- 1.- Afuera de la cámara anaerobia se taparon las botellas con sellos de aluminio.
- 2.- Se cambió la atmósfera dentro de la botella inyectándole una mezcla de nitrógeno y dióxido de carbono durante 2 minutos.
- 3.- Se esterilizaron a 15 psig durante 15 min.

Después de esto a las soluciones nutritivas, en condiciones estériles y con flujo de nitrógeno se les agregó 0.4 ml de solución de detergente y 0.4 ml de acetato de sodio. Para las pruebas de biodegradación se agregó agua reducida y estéril en lugar del acetato de sodio. Por último se inocularon con 4 ml de lodos anarobios y 0.2 ml de sulfuro de sodio al 2% como agente reductor.

2.3.2 Incubación y muestreo.

Las botellas se incubaron en agitación a 36 ° C. El tiempo de incubación fue variable, hasta el cese de la producción de gas. La toma de muestra se hizo aproximadamente 4 veces por semana. Se tomaron muestras de 5 µl de la fase gaseosa para cuantificación de metano y se inyectó a un cromatógrafo de gases (SRI) modelo 8600 con detector de inyección de flama. Las condiciones de los gases fueron las siguientes: gas vector Nitrógeno, presión 40 psi, flujo de aire 15 psi, flujo de hidrógeno 40 psi.

La curva patrón se realizó en botellas serológicas con un volumen de agua destilada de 20 ml; cerradas con tapón de hule y sellos de aluminio. El metano se inyectó con jeringas de 5 ml. Las concentraciones se resumen en el cuadro 2.3

Cuadro 2.3
Preparación de la curva patrón de CH₄ (*)

Volumen de CH ₄ inyectado (ml)	moles CH ₄ /ml fase gas (X 10 ⁻⁶)
1	1.5
2	3.16
3	4.74
4	6.32
5	7.9
6	9.48
7	11.0
8	12.6
9	14.2
10	158.0

(*) La curva patrón obtenida se presenta en el apéndice 2.2

2.3.3 Métodos Analíticos.

Se efectuaron los siguientes análisis para la caracterización de los lodos: cuantificación de sólidos suspendidos totales, fijos y volátiles, de acuerdo a Standard Methods (APHA 1989) con observaciones al microscopio de fluorescencia.

2.3.4 Análisis de datos.

2.3.4.1 Eficiencia de degradación.

La eficiencia de degradación se estimó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% = \frac{(\mu\text{molCH}_4 \text{ formado} - \mu\text{molCH}_4 \text{ control}) - (\mu\text{molCH}_4 \text{ teórico})}{\mu\text{mol CH}_4 \text{ teórico}} \times 100$$

En donde:

$\mu\text{mol CH}_4$ formado= corresponde al obtenido para cada concentración experimentada

$\mu\text{mol CH}_4$ control= corresponde al obtenido a la concentración 0 mg de detergente y 0 mg de acetato

$\mu\text{mol CH}_4$ teórico= se estima de acuerdo a la ecuación de Tervin y Buswell (1934) para cada detergente utilizado.

2.3.4.2 Grado de inhibición de la actividad acetoclástica.

El grado de inhibición se calculó como porcentaje de la producción total esperada a partir del acetato.

$$\% = \frac{(\mu\text{molCH}_4 \text{ formado} - \mu\text{molCH}_4 \text{ control}) - (\mu\text{molCH}_4 \text{ teórico})}{\mu\text{mol CH}_4 \text{ teórico}} \times 100$$

En donde:

$\mu\text{mol CH}_4$ formado= corresponde al obtenido para cada concentración experimentada

$\mu\text{mol CH}_4$ control= corresponde al obtenido a la concentración 0 mg de detergente y 0 mg de acetato

$\mu\text{mol CH}_4$ teórico= se estima de acuerdo a la ecuación de Tervin y Buswell (1934) para el acetato.

2.3.4.3 Análisis estadístico

Dado que los datos experimentales sólo describen el fenómeno, fue necesario, para fines de inferencia, involucrar una metodología que permitiera probar hipótesis.

Para la prueba de hipótesis se buscó un modelo matemático que describiera el comportamiento en el tiempo de la variable respuesta, de tal manera que al compararse los modelos se está comparando se está comparando el comportamiento de la variable en las distintas situaciones experimentales lográndose con las pruebas de hipótesis sobre los parámetros involucrados. Después de ajustar tentativamente varios modelos, se eligió el modelo de raíz cuadrada:

$$y = \alpha + \beta\sqrt{t} + \varepsilon$$

Por ser este modelo el que mejor se ajustó en los 41 casos de biodegradación (las 7 dosis experimentadas en cada uno de los 3 de tres detergentes usados en cada uno de los 2 lodos da un total de 42 pero con la concentración de 5 para el detergente LSS con lodos industriales no se experimentó por lo cual se obtuvieron $42-1 = 41$) y en los 36 casos de inhibición.

De esta manera, en una primera etapa se realizaron los ajustes del modelo aludido, obteniéndose los estimadores de las ordenadas al origen (estimadores de α) y de las pendientes (estimadores de β) representando estos últimos las velocidades estimadas de biodegradación e inhibición según el caso. Con todo esto se obtuvieron los modelos predictivos.

En una segunda etapa se compararon, para cada detergente y lodo, los modelos de las diferentes dosis (excepto la concentración 0) contra el modelo control, que para las pruebas de inhibición es 0 mg de detergente y 0 mg de sustrato y para las pruebas de biodegradación fue de 0 mg de detergente y 10 mM de acetato. La metodología utilizada en estos experimentos es la prueba de igualdad de modelos o igualdad de curvas, en donde para cada dosis $i \neq 0$ de un mismo detergente y lodo se prueban las hipótesis nula y la alterna. El planteamiento y la regla de aceptación o de rechazo se integra en el Apéndice 2.3

CAPITULO 3

RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Lodos de Origen industrial (Alta Actividad Metanogénica)

3.1.1 Prueba de biodegradación

3.1.1.1 Lauril sulfato de Sodio

En la Fig. 3.1 se observa que a las concentraciones de 1 y 50 mg/l se presenta una primera fase con mayor producción de metano que el control y posteriormente esta producción decrece. En el Apéndice 3.1 se observa que los modelos matemáticos estimados explican los datos experimentales con excelentes niveles de ajuste. Al hacer las pruebas estadísticas de igualdad de curva (misma pendiente y misma ordenada al origen) a estos datos se mostró que ambas concentraciones no tienen diferencias significativas con el control. (Cuadro 3.1)

Con concentraciones de 100 y 250 mg/l, desde el inicio de la cinética la producción de metano aumentó hasta el final (Fig. 3.1). Estos patrones observados resultaron ser significativamente diferentes con respecto al control (Cuadro 3.1). Siendo 100 mg/l la dosis con mayor velocidad de producción de metano. Los porcentajes de biodegradación con respecto a los valores teóricos estimados fueron de 100 y 68 % para 100 y 250 mg/l respectivamente.

A concentraciones de 500 mg/l a partir del día 5 se observó un efecto inhibitorio fuerte de la metanogénesis (Fig. 3.1).

Cuadro 3.1
Comparación entre los tratamientos
LSS, lodos industriales

Concentraciones finales comparadas	Diferencia significativa ($\alpha=0.01$)
Control - 5	No existe
Control - 50	No existe
Control - 100	Sí existe
Control - 250	Sí existe
Control - 500	Sí existe

(*) Los cálculos de la estimación aparecen en el Apéndice 3.2

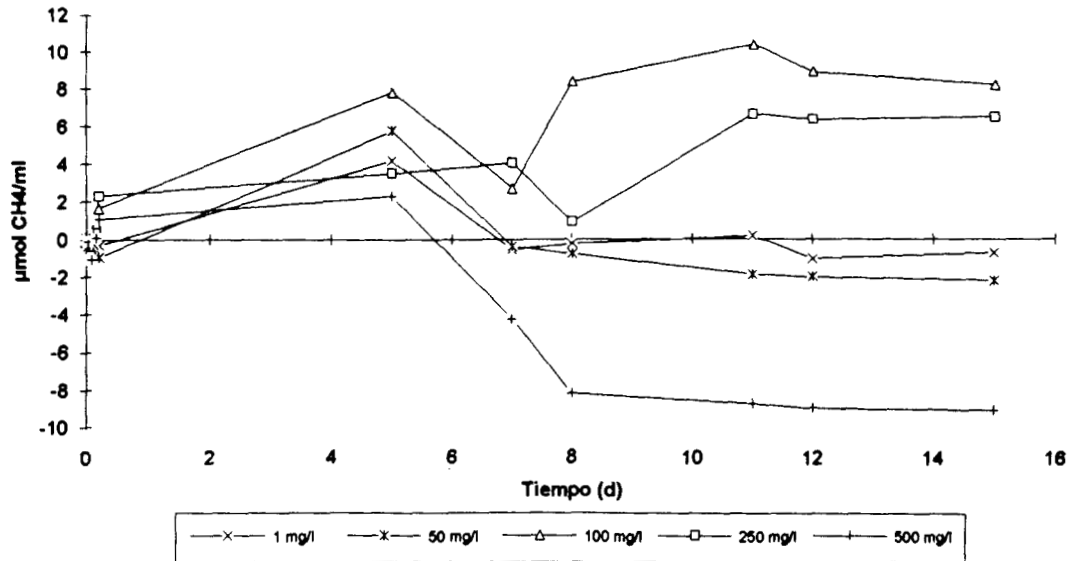


Fig. 3.1 Efecto del LSS en la producción de metano con lodos de Origen Industrial. Producción neta de metano acumulada restando el control (0 mg de detergente)

3.1.1.2 Dodecil Bencen Sulfonato de Sodio

Con concentraciones de 1, 5, 50 y 100 mg de DBSS/l los comportamientos de las curvas son muy similares al control (Fig. 3.2), Para la concentración 250 mg/l se observa una estimulación en la producción de metano que representa el 36 % de biodegradación con respecto al valor teórico esperado. En el Cuadro 3.2 se presentan las comparaciones entre las dosis experimentadas. En el Apéndice 3.4 se muestran los modelos estimados para este experimento.

Cuadro 3.2
Comparación entre los tratamientos
DBSS Lodos Industriales (*)

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa F ($\alpha=0.01$)
Control - 1	No existe
Control - 5	No existe
Control - 50	No existe
Control - 100	No existe
Control - 250	Sí existe
Control - 500	Sí existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.5

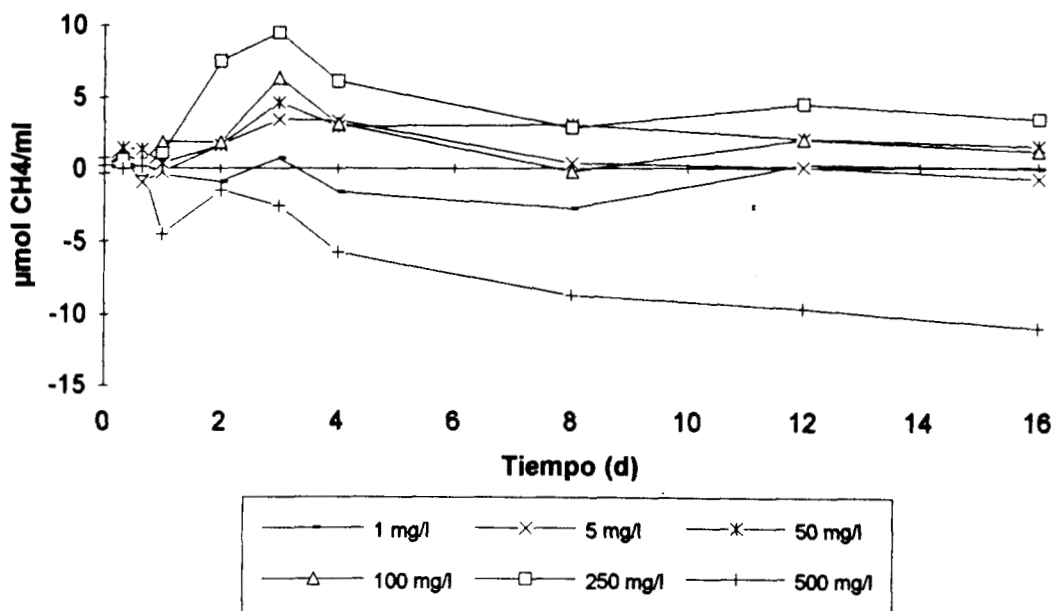


Fig. 3.2 Efecto del DBSS sobre la producción de metano con lodos de origen industrial. Producción de metano acumulada restando el control.

3.1.1.3 Cloruro de Trialquil Metil Amonio.

En la Fig. 3.3 se observa a 500 mg/l un aumento más notable en la producción de metano sobre las demás dosis. Se aprecia que el grupo de 1, 5 y 50 mg/l están muy cerca del control y para 100 mg/l tiene una fase de adaptación y posteriormente hay una biodegradación. Con 250 y 500 mg/l la fase de adaptación es menos drástica que para 100 mg/l.

Se encontró que con 250 mg/l y 500 mg/l hubo diferencias significativas con respecto al control. (Cuadro 3.3).. Por otro lado el grupo de dosis bajas (1, 5, 50 y 100 mg/l) la producción de metano no varía con respecto al control. Entre 100 y 250 mg/l no hubo diferencias significativas. Por lo que podemos concluir que con más de 100 mg/l se estimula la producción de metano.

Los resultados de eficiencia de degradación con respecto a los valores teóricos estimados para las concentraciones 100, 250 y 500 mg/l fueron 100, 80.76 y 60.66 % respectivamente (Cuadro 3.4). Es importante aclarar que para este caso esta estimación se hizo considerando 9 átomos de carbono por cadena de alquilo (Ver Capítulo II).

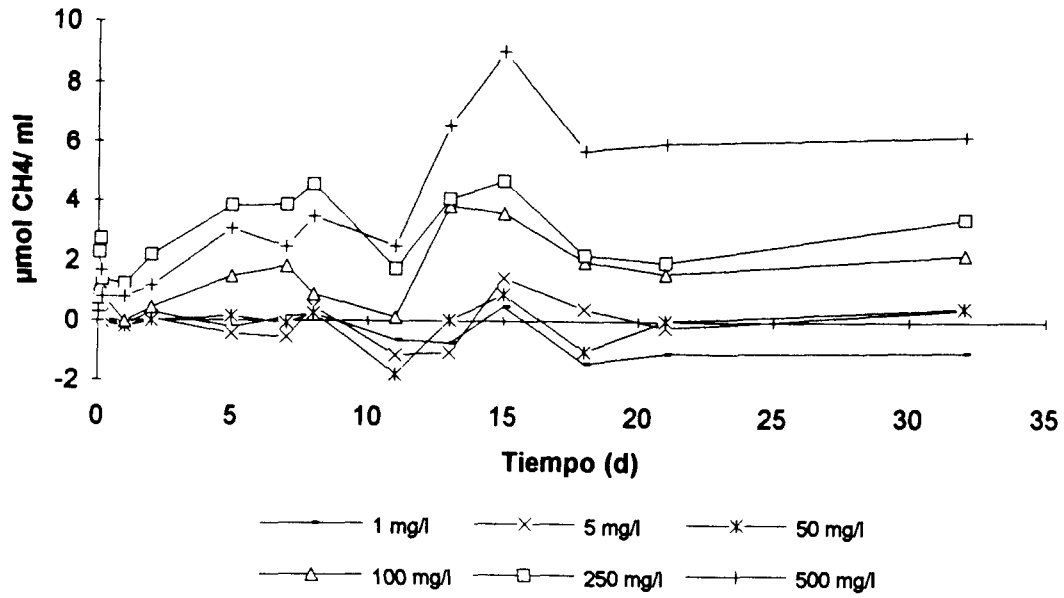


Fig. 3.3 Efecto del CTMA sobre la producción de metano con lodos de origen industrial. Producción de metano acumulada restando el control (0 mg CTMA/ml y sin acetato).

Cuadro 3.3
Comparación entre los tratamientos
CTMA Lodos Industriales (*)

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa F ($\alpha=0.01$)
0 - 1	No existe
0 - 5	No existe
0 - 50	No existe
0 - 100	No existe
100-250	No existe
0 - 250	Sí existe
0 - 500	Sí existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.1

Cuadro 3.7
Eficiencia de degradación en relación al valor teórico (*).
Lodos Industriales

Detergente (mg/l)	Valor Experimental ($\mu\text{mol CH}_4/\text{ml}$)	Biodegradación (%)
Lauril Sulfato de Sodio		
0	-	..a
1	0	0 ^a
50	0	0 ^a
100	3.50	100 ^b
250	5.92	68 ^b
500	-4.5	0 ^c
Dodecil Bencen Sulfonato de Sodio		
0	-	..a
1	0	0 ^a
5	0	0 ^a
50	0.43	25.35 ^a
100	1.08	31.83 ^a
250	3.05	36 ^b
500	-3.6	0 ^c
Cloruro de Trialquil Metil Amonio		
0	-	..a
1	0	0 ^a
5	0	0 ^a
50	0.02	1.42 ^a
100	2.94	100 ^b
250	5.71	80.76 ^b
500	8.57	60.60 ^b

(*) Los cálculos de los porcentajes de inhibición se estimaron de acuerdo al balance teórico proporcionado por la ecuación de Tervin y Buswell (1932). Las letras iguales no presentaron diferencias significativa.

3.1.2 Prueba de inhibición.

3.1.2.1 Lauril sulfato de sodio.

La Fig. 3.4 muestra que para las curvas de producción de metano a concentraciones de 0, 5, 50, 100 y 250 mg/l y 10 mmol de acetato/l presentaron un patrón de comportamiento muy similar. Los resultados estadísticos lo confirman (Cuadro 3.5) Esto implica que con las concentraciones experimentadas de $LSS \leq 250$ mg/l el consumo del acetato no se ve alterado.

Con 500 mg/l la producción de metano decae significativamente desde el inicio del monitoreo, incluso con menor producción de metano que el control. En el Apéndice 3.8 se observa la gran diferencia en pendientes de esta concentración con respecto al 0 mg de LSS y 10 mM de acetato, por lo que resultó ser inhibitoria para este lodo.

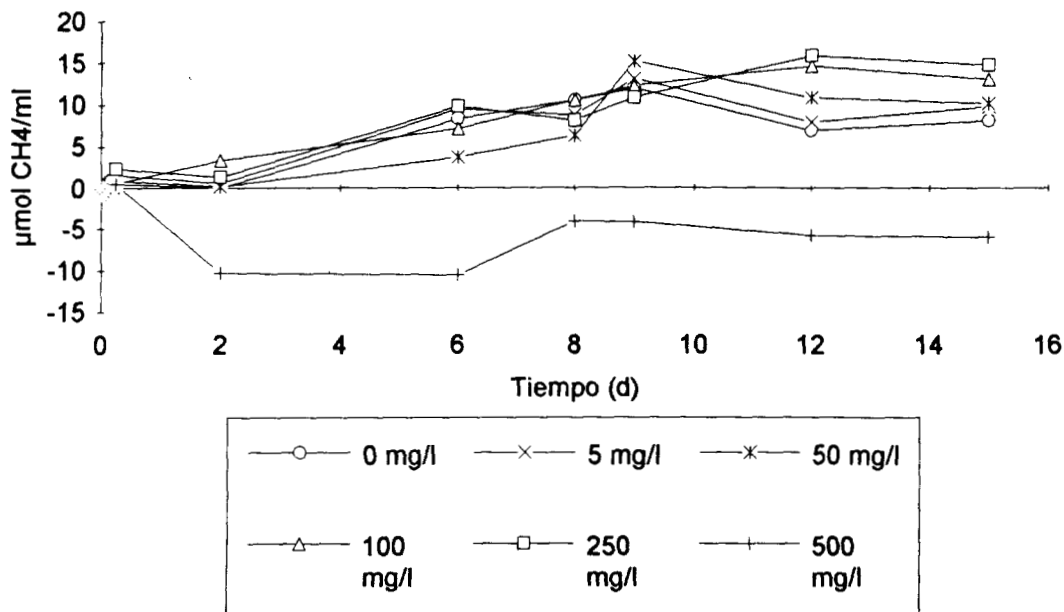


Fig. 3.4 Efecto del LSS sobre la metanogénesis a partir del acetato. Producción de metano acumulada con 10 mmol acetato/l sin el control (0 mg de detergente y 0 mg de acetato).

Cuadro 3.5 (*)
Comparación entre los tratamientos
LSS Lodos Industriales

Concentraciones comparadas	Diferencia significativa F ($\alpha=0.01$)
0 - 5	No existe diferencia
0 - 50	No existe diferencia
0 - 100	No existe diferencia
0 - 250	No existe diferencia
0 - 500	Sí existe diferencia

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.9

3.1.2.2 Dodecil bencen sulfonato de sodio.

Con concentraciones de 5, 50,100 y 250 mg/l las curvas de producción de metano siguen un mismo perfil (Fig. 3.6). Se observa que con 250 mg/l hay una fase de adaptación, en la que la producción de metano es menor que el control y posteriormente viene la degradación del acetato. Sin embargo cuando se compara con la dosis 0 mg de DBSS/l se observa que no hubo diferencias significativas. Al realizarse las pruebas estadísticas de comparación entre las curvas se aprecia, (Cuadro No. 3.5) que para las curvas 5, 50,100 y 250 mg/l no hubo diferencias significativas con el 0 mg/l. Esto implica que el acetato puede ser consumido por los lodos estando presente el detergente. A 500 mg/l desde el inicio se observa una evidente inhibición con 159% (Cuadro 3.8). En el Apéndice 3.10 se presentan los modelos estimados de este experimento.

Cuadro 3.6
Comparación entre los tratamientos
DBSS Lodos Industriales (*)

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa F ($\alpha=0.01$)
0 - 5	No existe
0 - 50	No existe
0 - 100	No existe
0 - 250	No existe
0 - 500	Sí existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.11

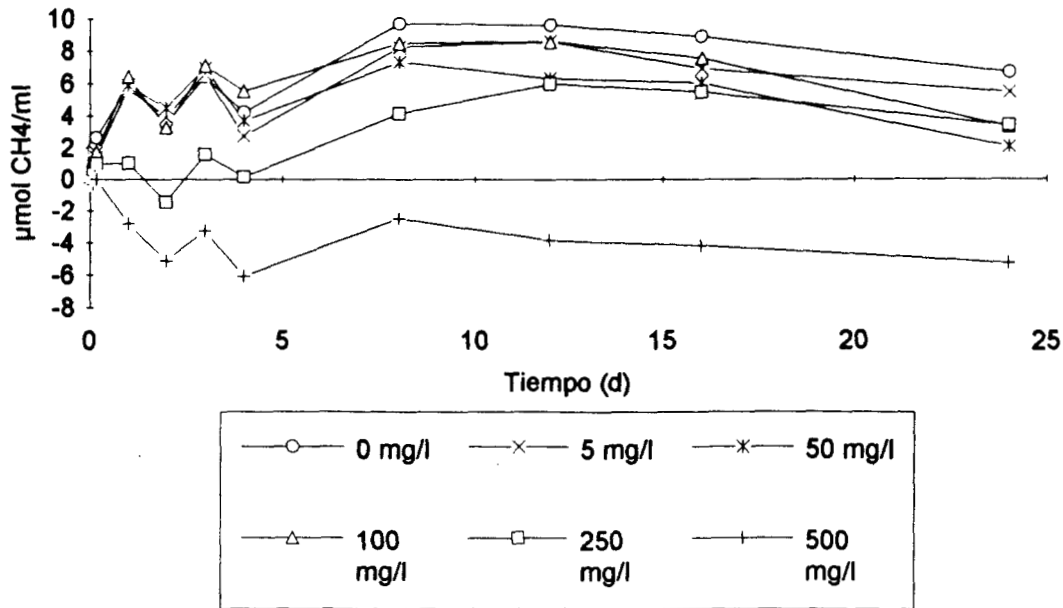


Fig. 3.8 No. Efecto del DBSS sobre la metanogénesis a partir del acetato con lodos de Origen Industrial. Producción de metano acumulada restando el control (0 mg de detergente y 0 mg de aceto)

3.1.2.3 Cloruro de trialquil metil amonio.

En la Fig. 3.6 se observa que sólo con 500 mg/l se presenta un patrón diferente al del 0 mg/l, sin embargo conforme transcurre el tiempo las diferencias se hacen menores. Todas las concentraciones desde el inicio comienzan a degradar el acetato, sin embargo a 500 mg/l los lodos presentan un periodo de inhibición y luego de recuperación en donde se da la degradación del acetato.

En lo que respecta a las pruebas de igualdad de curvas en los análisis estadísticos se observa que entre las curvas no hay diferencias significativas (Cuadro 3.7) aunque es evidente que el consumo del acetato por los lodos no es igual a concentraciones menores de 500 que a 500. El perfil general de la curva no es significativamente diferente, la velocidad se ve afectada pero no los valores finales. Esto se observa en los modelos matemáticos estimados (Apéndice 3.12), la ordenada al origen para 0 mg/l fue de 6.327 μ mol CH₄/ml día y para 500 mg/l fue de 1.395 μ mol ch₄/ml día esto es, que la velocidad de degradación del acetato inicia tardíamente, sin embargo conforme transcurre el tiempo la degradación del acetato se realiza.

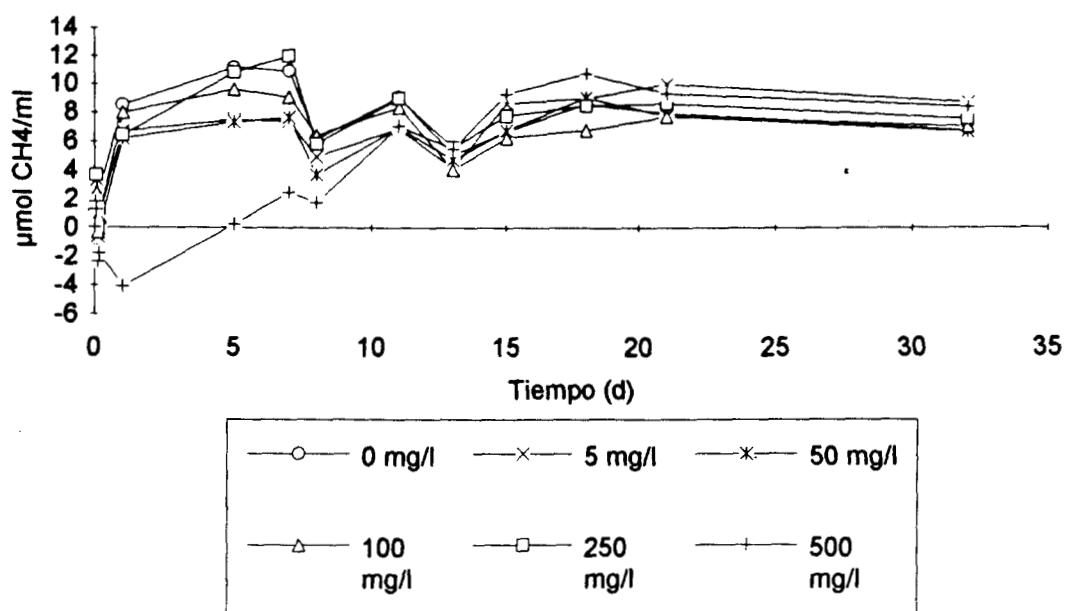


Fig. 3.6 Efecto del Cloruro de trialquil metil amonio sobre la metanogénesis a partir del acetato. Producción de metano acumulada restando el control (0 mg CTMA/l y 0 mg de acetato).

Cuadro 3.7
Comparación entre los tratamientos
CTMA Lodos Industriales Prueba de Inhibición (*)

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa F (α 0.01)
0 - 5	No existe
0 - 50	No existe
0 - 100	No existe
0 - 250	No existe
0 - 500	No existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.13

Cuadro 3.8
Porcentaje de Inhibición en Relación al Valor Teórico (*)
Lodos Industriales

Detergente (mg/l)	Valor Experimental ($\mu\text{mol CH}_4/\text{ml}$)	Inhibición (%)
Lauril Sulfato de Sodio		
0	9.08	0.00 ^a
1	9.69	0.00 ^a
50	10.14	0.00 ^a
100	12.24	0.00 ^a
250	14.70	0.00 ^a
500	-5.91	165.00 ^b
Dodecil Bencen Sulfonato de Sodio		
0	8.92	0.00 ^a
5	8.62	0.00 ^a
50	6.09	0.00 ^a
100	7.61	0.00 ^a
250	3.49	0.00 ^a
500	-5.29	159.00 ^b
Cloruro de Trialquil Metil Amonio		
0	8.61	0.00 ^a
5	9.98	0.00 ^a
50	9.06	0.00 ^a
100	7.75	0.00 ^a
250	8.63	0.00 ^a
500	9.35	0.00 ^a

(*) Los cálculos de los porcentajes de inhibición se estimaron de acuerdo al balance teórico proporcionado por la ecuación de Tervin y Buswell (1932). Las letras iguales no presentaron diferencias significativa.

3.2 Lodos de la UAM-I (Baja Actividad Metanogénica)

3.2.1 Pruebas de biodegradación.

3.2.2.1 Lauril sulfato de sodio

En la Fig. 3.7 se observa que las concentraciones de 0 a 250 mg/l tienen patrones de comportamiento similar: Con 1 y 5 mg/l la producción de metano es muy baja. Con 50 mg/l la producción de metano es mayor desde el inicio del experimento, la producción de metano con respecto a la teórica fue de 100% (Cuadro 3.14). A 100 y 250 mg/l se observa una etapa de adaptación al sustrato hasta presentar un patrón de biodegradación. Los porcentajes de producción de metano con respecto al teórico fueron de 100 y 68% respectivamente.

Con las pruebas estadísticas de igualdad de curvas (Apéndice 3.14) se encontró que a 1 y 5 mg/l no hubo diferencia significativa (Cuadro 3.9). Con 50 mg/l la velocidad de producción de metano fue significativamente mayor que el control, siendo además la mayor velocidad de todas las concentraciones probadas ($5.37 \mu\text{mol CH}_4/\text{ml día}$). Con 100 y 250 mg/l hubo diferencias significativas teniendo una producción de metano mayor que el control. A 500 mg/l se observa una evidente inhibición por el detergente, a tal grado que produce menos gas que el control.

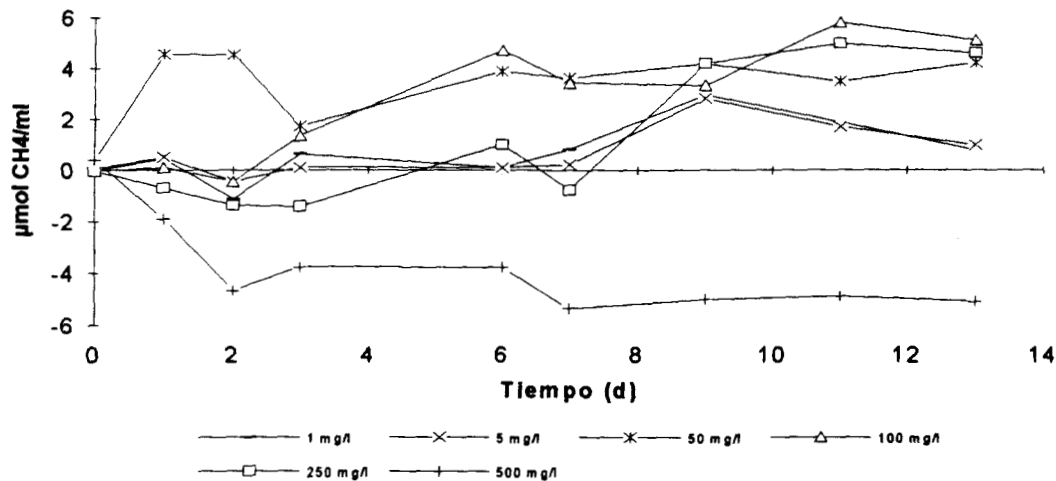


Fig. 3.8 Biodegradación del Lauril sulfato de Sodio sobre los lodos de la UAM-I. Producción de metano acumulado restando el control (0 mg DBSS/l y 0 mg de acetato de sodio).

Cuadro 3.9
Comparación entre los tratamientos
LSS Lodos UAM-I

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa F (α 0.01)
0 - 1	No existe
0 - 5	No existe
0 - 50	Sí existe
0 - 100	Sí existe
0 - 250	Sí existe
0 - 500	Sí existe

(*) Los cálculos de la estimación aparecen en el Apéndice 3.15

3.2.2.1 Dodecil bencen sulfonato de Sodio

Las concentraciones de 1, 50 y 100 mg/l presentaron una producción de metano similar al control. En la Fig. 3.8 se observa que no hubo biodegradación a estas concentraciones. Los análisis estadísticos (Apéndice 3.16) corroboraron que a estas concentraciones no hubo diferencias significativas con el control (Cuadro 3.10) Las concentraciones 250 y 500 mg/l resultaron ser inhibitorias durante todo el tiempo del experimento, incluso por debajo del control.

A 500 mg/l la velocidad de producción de metano fue la más baja. Con 250 y 500 mg/l hubo diferencias significativas con respecto al control, con lo que se concluye que se presentó inhibición (Cuadro 3.10).

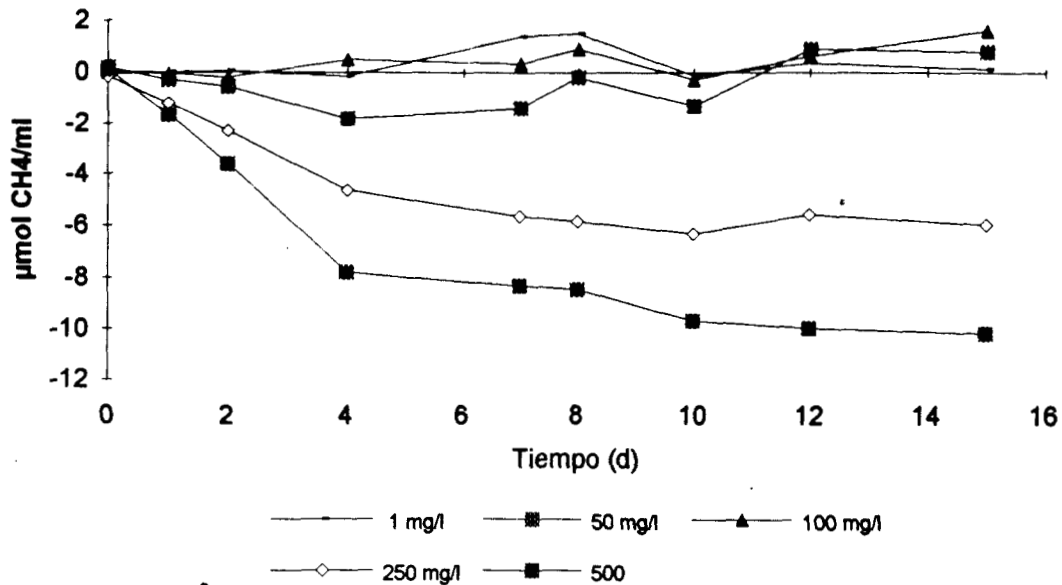


Fig. 3.8 Biodegradación del Dodecil Bencen Sulfonato de Sodio con los lodos de la UAM-I. Producción de metano acumulado restando el control (0 mg DBSS/l y 0 mg de acetato de sodio).

Cuadro 3.10 (*)
Comparación entre los tratamientos
DBSS Lodos UAM-I

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa F (α 0.01)
0 - 1	No existe
0 - 50	No existe
0 - 100	No existe
0 - 250	Sí existe
0 - 500	Sí existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.17

3.2.1.3. Cloruro de trialquil metil amonio

En este experimento se observó que al final de 20 días de experimentación todas las curvas siguen un comportamiento igual (Fig. 3.9). Se observa que ninguna curva (Apéndice 3.18) presenta un comportamiento definido de producción de gas, concluyendo que no hubo biodegradación (Cuadro 3.11).

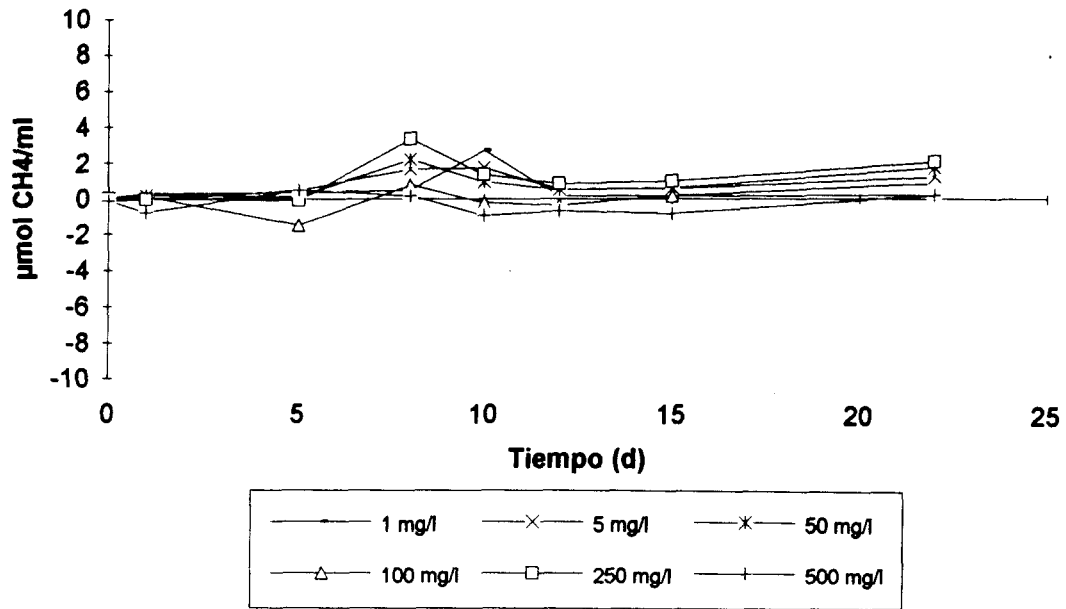


Fig. 3.9 Biodegradación del CTMA sobre la producción de metano con lodos de la UAM-I. Producción de metano acumulada restando el control (0 mg CTMA/l).

Cuadro 3.11 (*)
Comparación entre los tratamientos
CTMA Lodos UAM-I

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa F (α 0.01)
0 - 1	No existe
0 - 5	No existe
0 - 50	No existe
0 - 100	No existe
0 - 250	No existe
0 - 500	No existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.19

Cuadro 3.12 (*)
Eficiencia de biodegradación en relación al valor teórico.
Lodos UAM-I

Detergente (mg/l)	Valor Experimental ($\mu\text{mol CH}_4/\text{ml}$)	Biodegradación (%)
Lauril Sulfato de Sodio		
0	-	- ^a
1	0.76	100 ^b
50	3.16	100 ^b
100	5.07	100 ^b
250	5.92	68 ^b
500	-10	0 ^c
Dodecil Bencen Sulfonato de Sodio		
0	-	- ^a
1	0	0 ^a
5	0	0 ^a
50	0.8	47.1 ^a
100	1.61	47.4 ^a
250	-6.07	0 ^a
500	-10.24	0 ^a
Cloruro de Trialquil Metil Amonio		
0		
1	0	0 ^a
5	0	0 ^a
50	0.78	55 ^a
100	0.22	7.7 ^a
250	2.12	29.9 ^a
500	0.23	0 ^a

(*) Los cálculos se hicieron de acuerdo a la ecuación de Tervin y Buswell (1932). Las mismas letras no presentaron diferencias significativas.

3.2.2 Prueba de inhibición.

3.2.2.1 Lauril sulfato de sodio.

En la Fig. 3.10 se observa que las concentraciones de 0, 5, 50 y 100 mg/l presentan patrones de comportamiento similares. Con 250 y 500 mg/l se presentó una inhibición en el consumo del acetato por el detergente.

Se observa que para 50 y 100 mg/l se observa un período de adaptación en presencia del detergente (Fig. 3.10) en las pruebas de igualdad de curvas (Apéndice 3.20) con 0 y 100 mg/l no presentaron diferencias significativas (Cuadro 3.13). Con las dosis 5, 50 y 100 mg/l no hubo diferencias significativas con respecto al 0 mg/l. A 250 y 500 mg/l la producción de metano fue significativamente menor que con 0 mg/l.

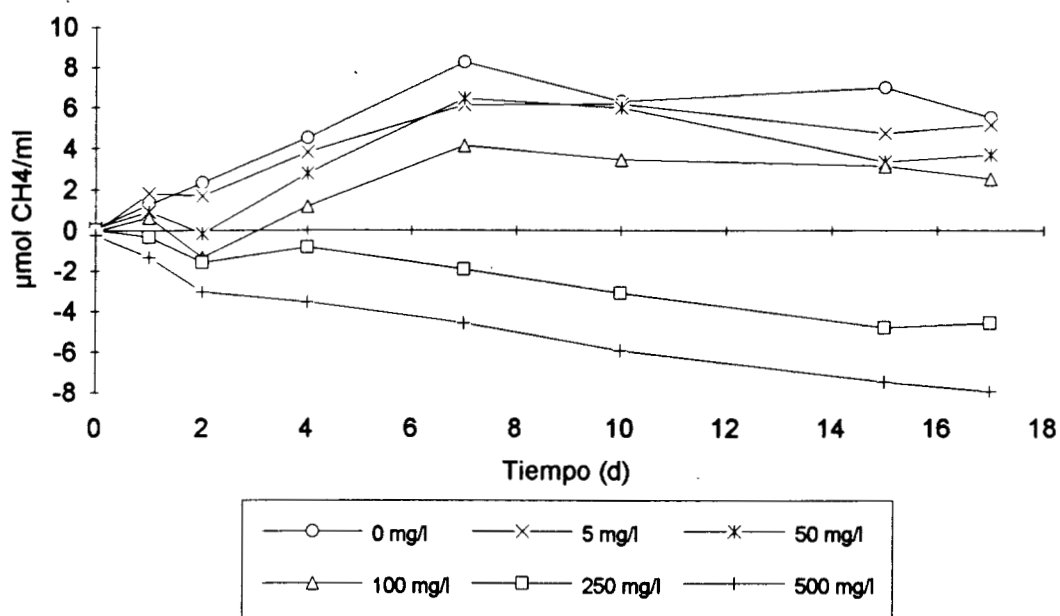


Fig. 3.10 Efecto del lauril sulfato de sodio sobre la metanogénesis a partir del acetato con lodos de la UAM-I. Producción de metano acumulada restando el control (0 mg de LSS y 0 mg de acetato).

Cuadro 3.13 (*)
Comparación entre los tratamientos
LSS Lodos UAM-I

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa (α 0.01)
0 - 5	No existe
0 - 50	No existe
0 - 100	No existe
0 - 250	Sí existe
0 - 500	Sí existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.21

3.2.2.2 Dodecil bencen sulfonato de sodio.

En la Fig. 3.11 se aprecia que con las concentraciones 5, 50 y 100 mg/l no hubo diferencia significativa con el 0 (Cuadro 3.13), . A 250 y 500 mg/l la curva de producción de metano está por debajo del 0 mg DBSS y 10 mM acetato. Esto se corrobora cuando se hacen las pruebas de igualdad de curvas en donde resulta que existen diferencias significativas con las comparaciones entre 0 y 250 y 0 y 500 (Cuadro 3.14). Cabe señalar que con 250 mg/l hubo una inhibición parcial diferente a la de 500 mg/l en la que se aprecia la inhibición evidente. Los modelos obtenidos para este experimento tuvieron excelentes niveles de ajuste, para las dosis 250 y 500 mg/l se obtuvieron las menores velocidades de producción de metano (Apéndice 3.22).

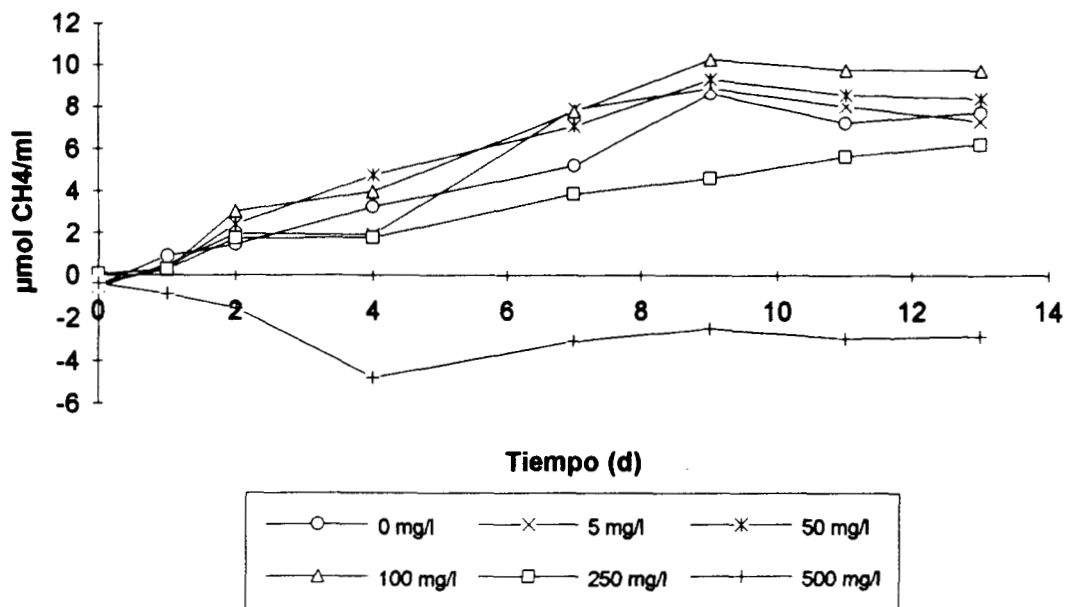


Fig. 3.11 Efecto del Dodecil Bencen Sulfonato de Sodio sobre la metanogénesis a partir del acetato de sodio con lodos de la UAM-I. Producción de metano acumulado restando el control (0 mg DBSS/l y 0 mg de acetato).

Cuadro 3.14 (*)
Comparación entre los tratamientos
DBSS Lodos UAM-I

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa (α 0.01)
0 - 5	No existe
0 - 50	No existe
0 - 100	No existe
0 - 250	Sí existe
0 - 500	Sí existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.23

3.1.2.3 Cloruro de trialquil metil amonio

En la Fig. No. 3.14 se observa que las diferentes concentraciones experimentadas no interfirieron en el consumo del acetato, esto es que de 0 a 500 mg/l de CTMA la degradación se da. En lo que se refiere a los modelos matemáticos obtenidos se observa que los niveles de ajuste fueron muy buenos y los coeficientes estimados para cada dosis difieren muy poco entre si (Apéndice 3.24). En las pruebas estadísticas como era de esperarse las dosis

experimentadas no presentaron diferencias significativas con el control Cuadro 3.15.

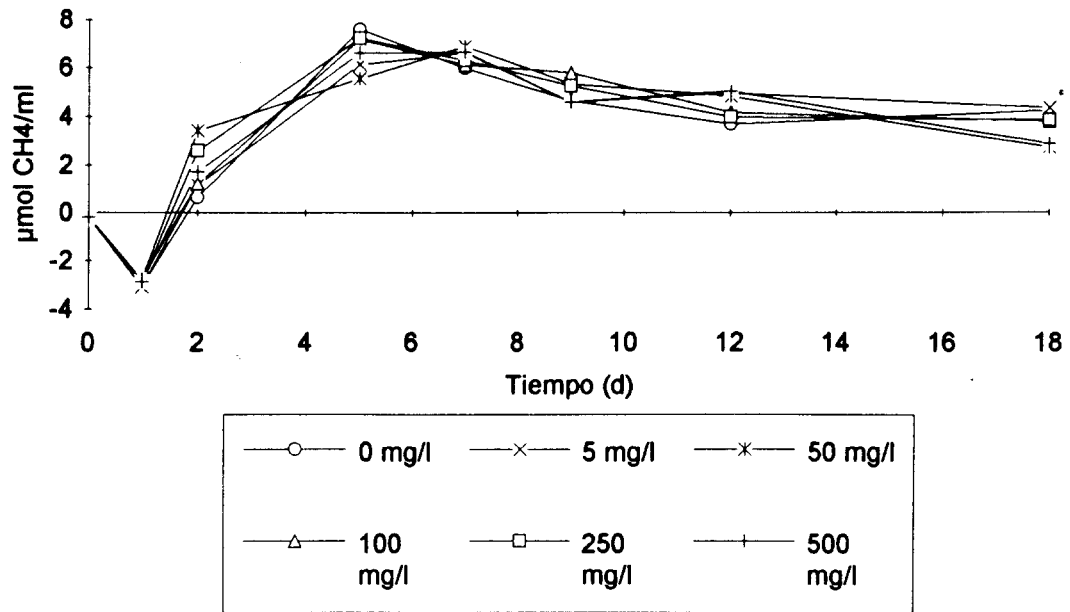


Fig. 3.12 Efecto del CTMA sobre la metanogénesis a partir del acetato de sodio con lodos de la UAM-I. Producción de metano acumulado restando el control (0 mgCTMA/l y 0 mg de acetato de sodio).

Cuadro 3.15 (*)
Comparación entre los tratamientos
CTMA Lodos UAM-I Prueba de Inhibición

Concentraciones comparadas	Diferencia Significativa (α 0.01)
0 - 5	No existe
0 - 50	No existe
0 - 100	No existe
0 - 250	No existe
0 - 500	No existe

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.25

Cuadro 3.16
Grado de inhibición de la actividad acetoclástica en relación al valor teórico (*) Lodos de la UAM-I

Detergente (mg/l)	Valor Experimental ($\mu\text{mol CH}_4/\text{ml}$)	Inhibición (%)
Lauril Sulfato de Sodio		
0	6.97	0.00 ^a
1	5.11	26.71 ^a
50	3.64	47.7 ^b
100	3.11	55.38 ^b
250	-4.82	169.23 ^b
500	-7.93	213.77 ^c
Dodecil Bencen Sulfonato de Sodio		
0	7.68	0.00 ^a
5	7.27	0.00 ^a
50	8.36	0.00 ^a
100	9.69	0.00 ^a
250	-2.81	136.58 ^b
500	-5.63	205.23 ^c
Cloruro de Trialquil Metil Amonio		
0	4.29	0.00 ^a
5	4.41	0.00 ^a
50	4.87	0.00 ^a
100	4.20	0.00 ^a
250	4.36	0.00 ^a
500	5.08	0.00 ^a

(*) Los cálculos se hicieron de acuerdo a la ecuación de Tervin y Buswell (1932) Las mismas letras no presentaron diferencias significativas.

3.3 Discusiones para Lodos de Origen Industrial.

Para las pruebas de biodegradación se observó que los tres detergentes experimentados no presentaron biodegradación a concentraciones inferiores a 50 mg/l. A concentraciones entre los 100 y 500 mg/l (para LSS con dosis a 100 y 250 mg/l; para DBSS con 250 mg/l y para CTMA con 100, 250 y 500 mg/l) se presentó el mismo fenómeno de biodegradación. Siendo la producción de metano significativamente mayor. Es importante señalar que de acuerdo a las concentraciones en las que el detergente fue biodegradable el CTMA resultó más biodegradable que los otros detergentes probados.

Este fenómeno descrito implica que sólo a concentraciones relativamente altas puede darse la biodegradación con este lodo, esto es, un fenómeno de concentración límite. Esto resulta ser interesante ya que en las descargas de lavanderías las concentraciones de detergentes aniónicos oscilan entre 250 y 300 mg/l (Martínez y col. 1989) las cuales podrían ser tratadas por digestión anaerobia con lodos de alta actividad metanogénica y lograr resultados satisfactorios. Sin embargo lo que se hace en la práctica es descargarse a la cañería, (Terzic y col. (1992) encontraron 1 mg/l de detergentes aniónicos en el estuario del mar Adriático) y posteriormente en mares o lagos en los cuales se diluyen las concentraciones viéndose afectadas las especies marinas.

Wagener y Schink (1987) encontraron una degradación parcial del dodecil sulfato de sodio a concentraciones menores de 100 mg/l con una reducción del grupo sulfato en cultivos enriquecidos con reactores de filtro anaerobio. Sin embargo para el DBSS la biodegradación se obtuvo con 250 mg/l en este trabajo. Se menciona además que la hidrólisis del grupo sulfato requiere de la enzima alquilsulfatasa que solo ha sido encontrada en bacterias aerobias (Wagener y Schink 1987). Por lo que si la degradación se diera en condiciones anaerobias el proceso resultaría muy interesante. Se sabe sin embargo que la susceptibilidad al tipo de sustrato depende del tipo de lodos utilizados, el tipo de proceso y el tiempo de exposición entre otras cosas (Federle y Schwab, 1992; Khalil y col., 1989 y Wagener y Schink, 1987).

En lo que se refiere al efecto de los detergentes en la metanogénesis a partir del acetato se presentaron patrones de comportamiento similar con los detergentes aniónico a dosis relativamente altas, es decir en los dos cesó la producción de metano para el LSS con 500 mg/l y para el DBSS con 250 y 500 mg/l.

El efecto inhibitorio por los detergentes aniónicos sobre bacterias metanogénicas ya ha sido estudiado por autores como Khalil y col. (1988 y

1989), señalando que el detergente daña la pared celular bacteriana en *Methanosarcina barkerii* provocando la lisis celular.

La inhibición para DBSS con estos lodos fue a concentraciones menores o iguales a 250 mg/l, que es aun más alta que los reportados por la literatura, en los cuales el cese en la producción de metano es drástico con concentraciones ≤ 100 mg/l utilizando glucosa como sustrato con lodos anaerobios adaptados (Wagener y Schink, 1989) y a 20 mg/l con cultivos puros de *Methanosarcina barkerii* a partir de metanol (Khalil y col, 1989).

Es importante hacer notar que en este trabajo el efecto del DBSS a dosis de 250 mg/l se presentó un efecto sinérgico, ya que en presencia del acetato el detergente inhibió la metanogénesis.

En lo que se refiere al LSS y al CTMA hay muy poca información bibliográfica por lo que no se tiene un parámetro de comparación preciso. El LSS resultó inhibitorio a 500 mg/l y el CTMA no fue inhibitorio. Estas diferencias en la inhibición pudieran deberse a la naturaleza molecular de los detergentes.

3.4 Discusiones para Lodos de la UAM-I.

De los tres detergentes experimentados con lodos de la UAM-I, solo el LSS presentó biodegradación en el rango de 50-250 mg/l. A 50 mg/l se observó que no hubo período de adaptación a diferencia de las dosis 100 y 250 mg/l que se necesitaron 2 y 7 días de adaptación respectivamente, antes de que se inicie una producción neta de metano.

El efecto del CTMA sobre la metanogénesis no se ha reportado, pero cuando se encuentra con otros compuestos el efecto no ha sido sinérgico Lewis (1992). Debido a los resultados obtenidos en ambos experimentos era de esperarse que fuera biodegradable a las dosis estudiadas, sin embargo al parecer, con estas dosis los lodos de la UAM-I no consumen el detergente esto se debe quizá a que las concentraciones fueran más altas o bien los tiempos de experimentación son más largos.

En lo que se refiere al efecto de los detergentes sobre la metanogénesis a partir del acetato se observó que los surfactantes aniónicos mostraron un efecto inhibitorio a concentraciones ≥ 50 mg/l, sin embargo en presencia del CTMA no se encontró inhibición de la acetoclastia. El efecto de inhibición por detergentes aniónicos en anaerobiosis ya ha sido reportado y explicado en este mismo trabajo.

De acuerdo a la caracterización de los lodos se observó que el conglomerado bacteriano no es tan compacto, por lo que las superficies bacterianas, principalmente de las metanogénicas quedan más expuestas al daño por detergentes aniónicos (Khalil y col., 1989). El fenómeno de rompimiento celular se debe a la unión de los lípidos de la membrana celular con la parte no polar del detergente provocando la lisis celular (Wagener y Schink, 1987).

3.5 Discusiones de comparación entre los lodos.

Cuando se compara la respuesta de la metanogénesis en el fenómeno de biodegradación para el LSS se aprecia que con ambos lados hubo biodegradación. Esto es que el LSS con dosis de 100 y 250 mg/l la digestión anaerobia es un alternativa en su remoción. El LSS es un detergente con amplios usos en la industria (pasta de dientes, shampoos, etc.), lo que podría significar una utilidad práctica en las plantas que se dedican a ésto.

Con respecto al DBSS y al CTMA los lodos de la UAM-I no presentaron biodegradación a ninguna dosis experimentada, sin embargo con los lodos industriales se presentó el fenómeno de concentración límite para llevarse a cabo la biodegradación. Esto implica que para el tratamiento de aguas con este tipos de detergente las características de los lodos anaerobios son fundamental. La importancia de la composición del inóculo ya ha sido estudiada, Federle y col., (1992) mostró que el proceso de exposición a los detergentes por largos tiempos, permite tener respuestas positivas en la biodegradación de los mismo.

En lo que se refiere a los experimentos del efecto del detergente en la metanogénesis a partir del acetato los tres detergentes experimentados mostraron los resultados similares con ambos lodos, esto fue que para el LSS se presentó inhibición a 500 mg/l con lodos industriales y a 250 y 500 mg/l para lodos de la UAM-I; con ambos lodos para el DBSS, se presentó inhibición a concentraciones mayores de 250 mg/l y con el CTMA no hubo inhibición en ambos lodos. Por lo tanto el DBSS fue el detergente más inhibitorio y el CTMA el detergente menos inhibitorio. Esto es importante porque en las plantas de tratamiento de aguas las cargas orgánicas son muy variadas en su composición química y la presencia de surfactantes (detergentes para lavar la ropa comerciales) como el DBSS pueden dar efectos inhibitorios.

En las Figs. 3.13 y 3.14 se presenta de manera gráfica la comparación entre los lodos. Haciéndose notorio la importancia de los lodos granulares con una alta actividad metanogénica que se ha señalado durante todo el presente trabajo.

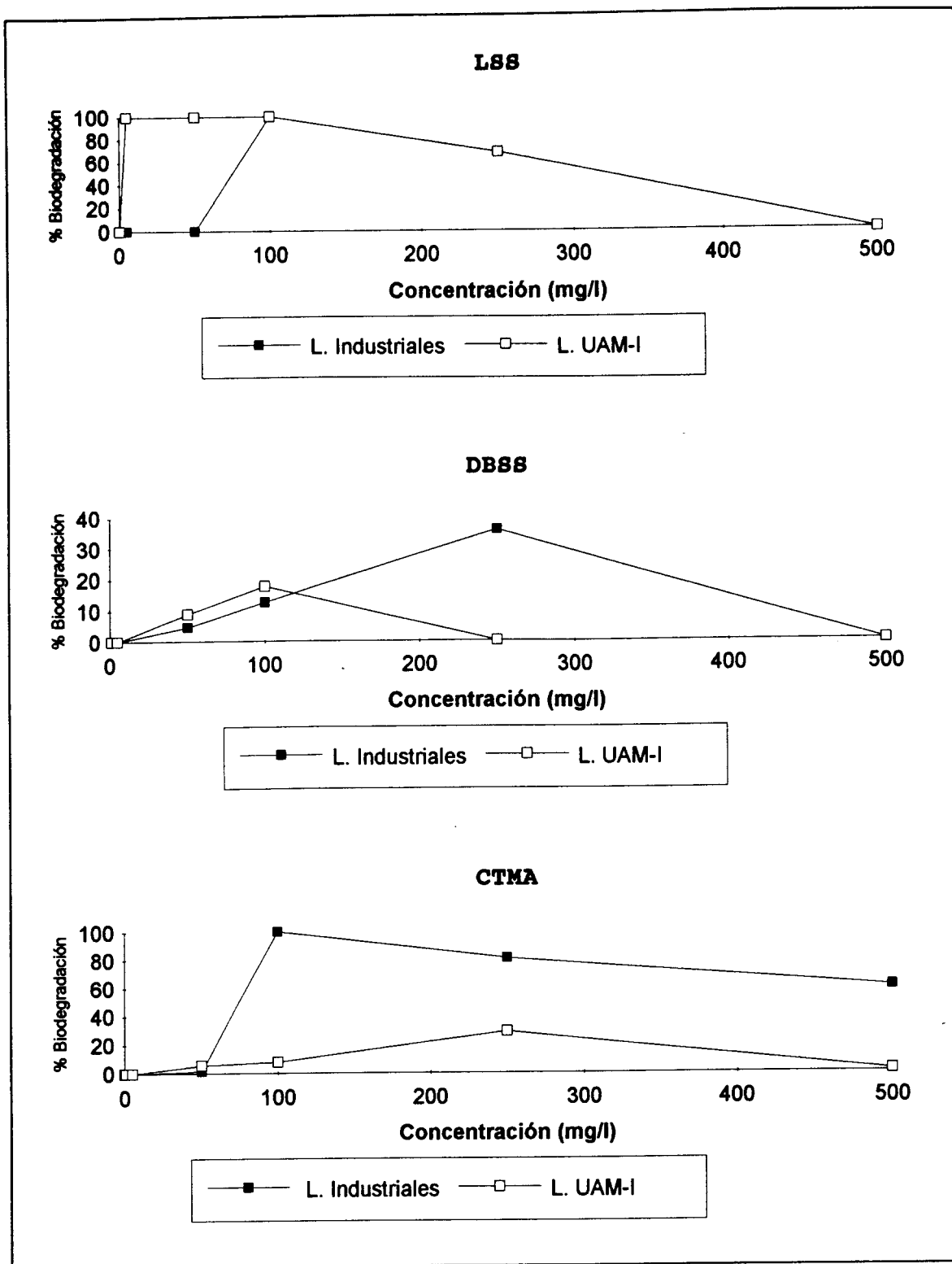


Fig. 3.13 Efecto de los detergentes en la eficiencia de degradación comparando ambos lodos

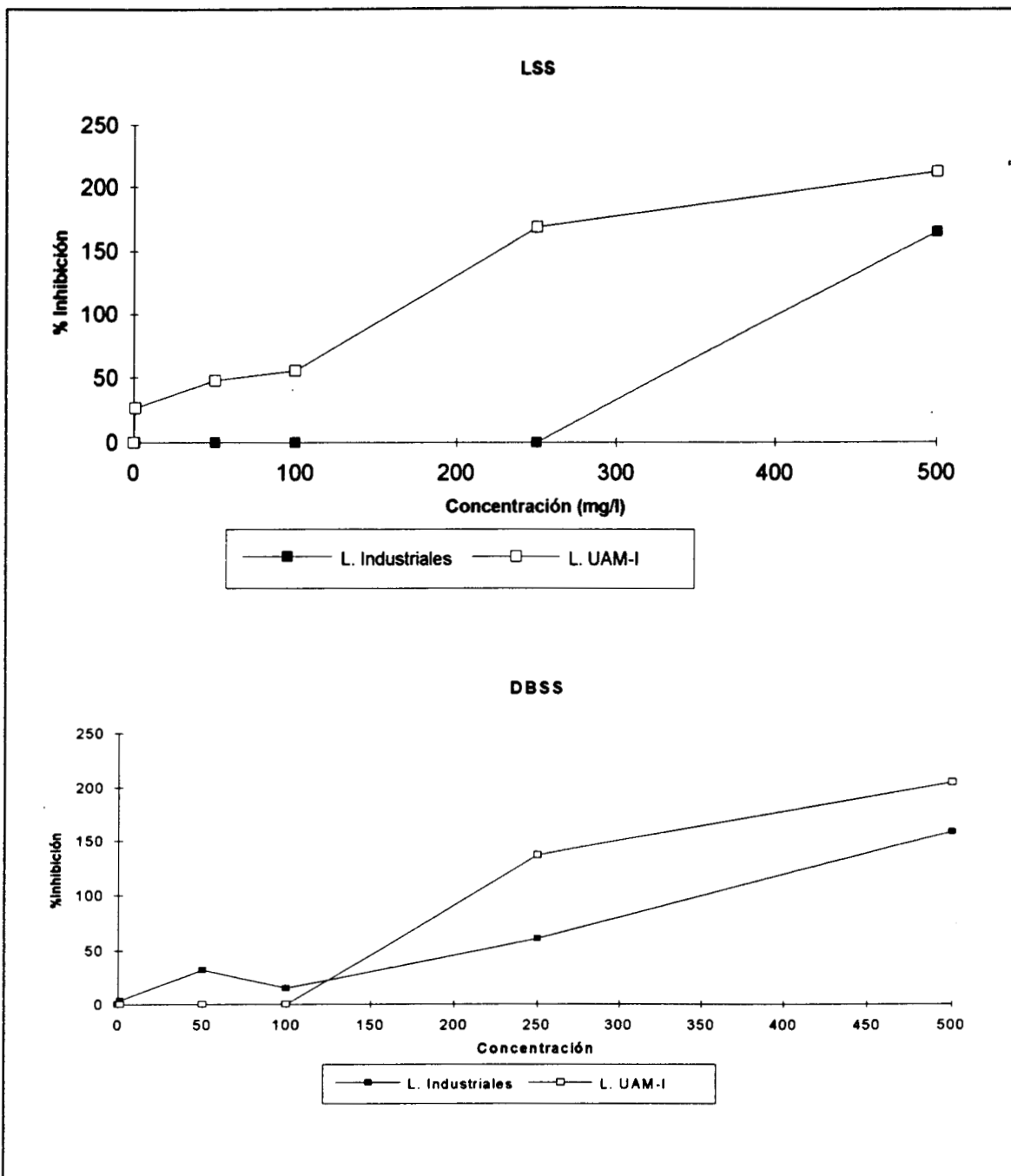


Fig. 3.14 Efecto de los detergentes en la inhibición del acetato, comparando los lodos utilizados. El CTMA no presentó inhibición en los 2 lodos utilizados por lo que no se presentó en la gráfica.

3.6 Conclusiones.

El LSS fue biodegradable con ambos lodos: para el de alta actividad metanogénica fue de 100 y 250 mg/l y para el de baja actividad metanogénica fue de 50, 100 y 250 mg/l. La digestión anaerobia por lo tanto, resulta una alternativa en el tratamiento de efluentes con este detergente.

El DBSS y el CTMA fueron biodegradables sólo con los lodos de alta actividad metanogénica a dosis de 250 y 100, 250 y 500 mg/l respectivamente. Por lo que se concluye que para los experimentos de biodegradación es importante tener inóculos anaerobios con alta actividad metanogénica. El DBSS fue biodegradable parcialmente, esto implica que en una mezcla de detergentes hay muy pocas posibilidades de degradarlo completamente, por lo que su remoción deberá hacerse por un proceso diferente. En el caso del CTMA y el LSS el tratamiento de efluentes en descargas con estas concentraciones de surfactantes (lavanderías) resulta ser una aplicación práctica de este trabajo.

En los experimentos de biodegradación con los lodos de alta actividad metanogénica se presentó el fenómeno de concentración límite: se requiere de una concentración mínima del detergente para llevarse a cabo la biodegradación.

Los detergentes aniónicos fueron inhibitorios de la acetoclastia a concentraciones altas: LSS a 500 mg/l y DBSS a dosis \geq 250 mg/l. El CTMA no fue inhibitorio a las dosis estudiadas para ambos lodos. Las concentraciones de inhibición obtenidas en este trabajo fueron más altas que las reportadas por la literatura.

La estructura molecular de estos compuestos está relacionada con el tipo de inhibición. Las diferencias fundamentales entre el LSS y el DBSS es la presencia del benceno por lo que hace pensar que a esta molécula se deba su efecto inhibitorio.

BIBLIOGRAFIA

APHA-AWWA-WPCF. (1989). Edited by Clesceri L. S., Greenberg A.E. and Trussell R.R. 17th Ed. American Public Health Association. Washington DC.

Balch W., Fox G., Magrum C., Woese C. and Wolfe R. (1979) Methanogens: Reevaluation of a unique biological group. Microbiol. Rev. **43**, 260-296.

Battersby N. S. and Wilson V. (1988) Evaluation of a serum bottle technique for assessing the anaerobic biodegradability of organic under methanogenic conditions. Chemosph. **17**, 2441-2460

Berna J. L., Moreno A., Ferrer J. (1990) The behaviour of LAS in the environment. J. Chem. Tech. **26**, 387-397

Bressan M. , Marin M.G., Brunetti R. (1991) Effects of linear Alkybenzene sulphonate (LAS) on Skeletal Development of Sea Urchin Embryos (Paracentrotus Lividus LMK). Wat. Res. **25**, 613-616.

Castillo M. A. y Martínez G. A. (1987). Teoría de la regresión con aplicaciones agronómicas. Ed. Futura, Colegio de postgraduados, México, D.F.

Considine D. (1974) Chemical and process technology enciclopedia. Ed. Mc Graw-Hill Los Angeles Cal., 1070-1077.

Federle W. T., Schwab B. S. (1992). Mineralization of surfactants in anaerobic sediments of a laundromat wastewater pond. Wat. Res. **26** 123-127.

García J.L. (1991) Ecología de inóculos anaerobios específicos en el tratamiento de aguas residuales. Memorias II seminario internacional sobre Biotecnología en la agroindustria cafetalera. Manizales Colombia.

Groot. W.H. (1991) Sulphonation technology in the detergent industry. Kluwer Academic Publisher. Netherlands

Guyot J.P. (1988) Conferencia sobre microbiología de la digestion anaerobia. Medellin Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Sanitaria.

Guyot J.P. (1992) Introducción a la Microbiología de la digestión anaerobia. Curso: Bioprocesos anaerobios para el tratamiento de efluentes industriales. UAM-I, ORSTOM, IMP, México, D.F.

- Hashim M.A. and Kulandia (1989). Aerobic treatment of branched alkylbenzene sulfonates. Chem.Tech. Biotechnol. **44**, 517-522
- Hidalgo A.F. (1987) Detergents in Latin America. J. of the Americ. Oil Societ. **64**, 264-268
- Holliger A.J., Stams A.J. and Zehnder J.B. (1988) Anaerobic degradation of recalcitrant compounds. in 5th International Symposium on Anaerobic Digestión. IAWPRC 211-221. (Hall E. R. and Hobson P. ed) pergamon Press, Paris Francia
- Khalil E.F., Whitmore T.N., Gamal-El-Din H., El-Bassel A. and Lloyd D. (1988). The effects of detergents on anaerobic digestion. Appl. Microbiol. Biotechnol. **29**, 517-522.
- Khalil E.F., Whitmore T.N., Gamal-El-Din A., El-Bressel A., Lloyd D. (1989) The effects on *Methanosarcina barkeri*. Microbiol. Let. **57**, 313-316.
- Lewis M. A. and Hamm B.G. (1986) Enviromental modification of the photosynthetic response of lake plankton to surfactants and significance to a laboratory-field comparison. Wat. Res. **20**, 1575-1582.
- Lewis M. A. (1992). The effects of mixtures and other environmental modifying factors on the toxicities of surfactants to freshwater and marine life. Wat. Res. **26**, 1013-1023.
- Martínez J., Vives-Rego J., Sánchez-Leal J., (1989) The effect of chemical structure and molecular weight of commercial alkylbenzenes on the toxic response of *Daphnia* and naturally occuring bacteria in fresh and seawater. Wat. Res. **23**, 569-572.
- Moreno R. G. (1987) . Microbiología y Bioquímica de la digestión anaerobia. Apuntes 1er. diplomado internacional de Química ambiental del agua. Módulo: Tratamiento anaerobio de aguas residuales. UNAM. méxico, D.F.
- Paterson S. J. (1968) Synthetic detergents in the sewage works. Efluents and treatment manual. 4th Ed. Thunderbird Enterprises ltd.
- Patoczka J. and Pull G. W. (1990) Biodegradation and secondary effluent toxicity of ethoxylated surfactants. Wat. Res. **24**, 965-972.
- Schink B. (1988) Environmental aspects of the degradation potential of anaerobic bacteria in 5th International Symposium on Anaerobic Digestion. IAWPRC 2-15. (Hall E. R. and Hobson P. ed) pergamon Press, Paris Francia.

Schwartz A. and Perry J. (1949) Surface active agents. Interscience publishers LTD. Baltimore, USA. 9-17, 82-110.

Shelton D.R. and Tiedje J.M. (1984) General method for determining anaerobic biodegradation potential. Appl. Environ. Microbiol. **47**, 850-857.

Schobert S. M. (1983) Methanogenic flora and their metabolic routes. Memorias del I Simposio de avances en digestión anaerobia. UAMI-ICATTI.

Speece R.E. (1990) Toxicity fate in anaerobic process. En tratamiento anaerobio en América Latina. conferencia sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales en América Latina. México D.F. ,

Terzic S., Hrsak D. and M. Ahel. (1992) Primary biodegradation kinetics of linear alkylbenzene sulphonates in estuarine waters. Wat. Res. **26**, 585-591.

Tervin D. and Buswel A.M. (1932). The methane fermentation of organic acids and carbohydrates. J. Am. Chem. Soc. **56**, 1751-1755.

Wagener S. and Schink B. (1987) Anaerobic degradation of nonionic and anionic surfactants in enrichment cultures and fixed-bed reactors. Wat. Res. **21**, 615-622.

A P E N D I C E

Apéndice 2.1 Medio RAMM

Con base a 1 litro.

La preparación del medio se realiza de la siguiente manera, todo está en g/l:

K_2HPO_4	0.27
KH_2PO_4	0.35

Sales minerales

NH_4Cl	0.53
$CaCl \cdot 2H_2O$	75 mg
$MgCl \cdot 6H_2O$	100 mg
$Fe \cdot Cl_2 \cdot 4H_2O$	20 mg

Elementos traza modificados por Zehnder y Warman

$MnCl_4 \cdot 2H_2O$	0.5
$ZnCl_2$	0.05
H_3BO_3	0.05
$CuCl_2$	0.03
$Na_2 MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.01
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	0.01
Na_2SeO_3	0.05
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.05

Solución de vitaminas (Balch y col. 1979)

	g/l
Biotina	0.000020
Ac. fólico	0.000020
Piridoxina	0.000100
Tiamina	0.000050
Riboflavina	0.000050
D.L. ác. pantoténico	0.000050
Vitamina B12	0.000001
Ac. p-amino benzoico	0.000050
Ac. lipóico	0.000050

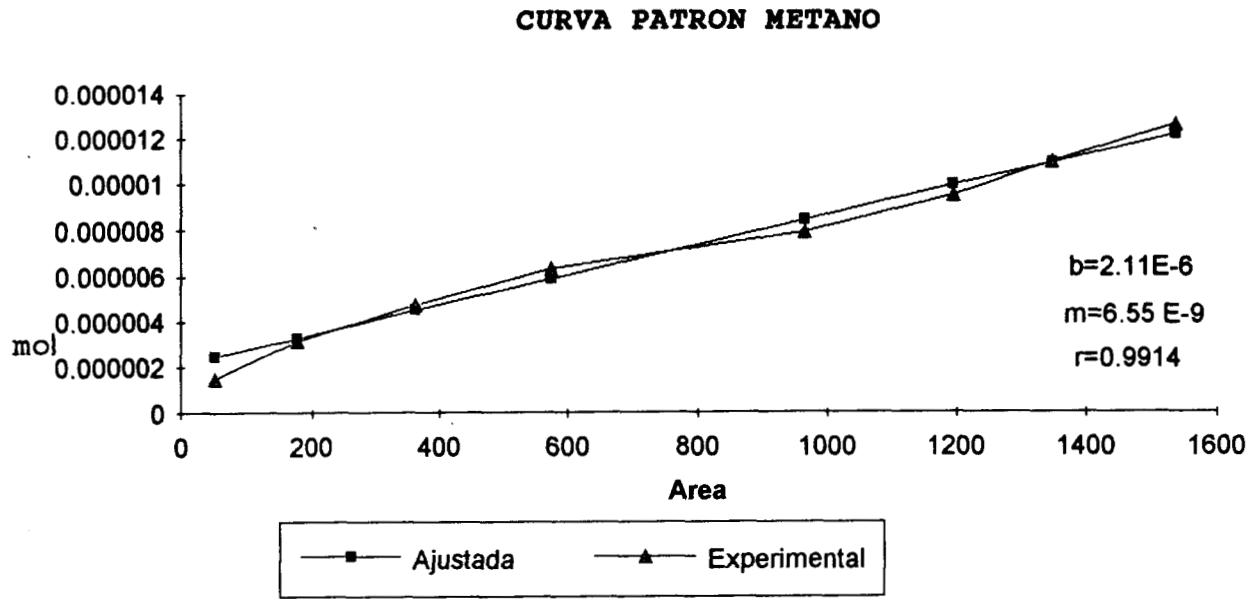
Resarzurina	0.001
-------------------	-------

Sulfuro de sodio

Se pesan 2.5 g de sulfuro de sodio, se limpian los cristales con agua destilada, se vuelve a pesar para checar que no existan pérdidas significativas. Se adiciona media pastilla de NaOH con 10 ml de agua destilada. Se afora con agua reducida a 100 ml dentro de la cámara. Se guarda en una botella serológica de 120 ml se esteriliza a 15 lb/pul² por 15 min.

Agua Reducida.

En un matraz erlen meyer se agrega el agua necesaria calculada y se adiciona 100 ml de agua en excedente. Se enfría sin quitar la atmósfera de N₂, se tapa y se sella con masking-tape.



Apéndice 2.3 PRUEBA DE HIPOTESIS

Hipótesis I:

Ho: $\alpha_0 = \alpha_i$

y

$\beta_0 = \beta_i$

Ha: $\alpha_0 \neq \alpha_i$

y

$\beta_0 \neq \beta_i$

α_0 y β_0 son los parámetros del modelo que se ajusta para el control representado por:

$$y_{0j} = \alpha_0 + \beta_0 \sqrt{X_{0j}} + \varepsilon_{0j}$$

$$j = 1, 2, \dots, n_0$$

que se comparan con α_i y β_i de los modelos correspondientes a cada dosis $i \neq 0$, representados por:

$$y_{ij} = \alpha_i + \beta_i X_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

donde i es el índice para las dosis, es decir, $i=1, 5, 50, 100, 250$ y 500 ; y j , es el índice para las observaciones en cada experimento i , $j=1, 2, \dots, n_i$.

Si Ho no se rechaza se concluye que el comportamiento de la biodegradación o inhibición a través del tiempo de la i -ésima dosis no difiere del control.

Si Ho se rechaza puede ocurrir que las ordenadas al origen (α_0 y α_i) son distintas pero las pendientes (β_0 y β_i) sean iguales, es decir, que las curvas no coinciden pero son paralelas. Esto es importante, ya que si dos curvas son paralelas se obtiene información con sólo comparar los valores de las pendientes estimadas. Por esta razón en los casos en que se rechaza Ho en la hipótesis I se procede a realizar la prueba de paralelismo, donde el contraste de la hipótesis es el siguiente:

Hipótesis II

$$H_0: \beta_0 = \beta_i$$

vs

$$H_a: \beta_0 \neq \beta_i$$

para $i = 1, 5, 50, 100, 250$ y 500 .

En este caso si H_0 no se rechaza, se concluye que la velocidad de biodegradación o inhibición de la i -ésima dosis es igual a la del control, ahora bien si H_0 se rechaza debe analizarse cada caso para saber en cual hay una velocidad mayor.

Si las curvas ni coinciden ni son paralelas se analizó cada curva en particular para determinar su importancia.

Método para probar la hipótesis I (Igualdad de curvas)

Supongase que se desea probar la igualdad del modelo para el control y para el modelo con $i=1$ (dosis 1 mg/l) y supóngase que para n_0 pares de valores : $((\sqrt{X_j}, Y_j))$, $j = 1, 2, \dots, n_0$ las observaciones se ajustan al modelo:

$$y_j = \alpha_0 + \beta_0 \sqrt{X_j} + \varepsilon_j \quad j=1, 2, \dots, n_0 \dots \dots \dots (I)$$

en tanto que para n_1 pares de valores $((\sqrt{X_j}, Y_j))$ $j=n_{0+1}, n_{0+2}, \dots, n_0+n_1=n$ las observaciones se ajustan al modelo:

$$y_j = \alpha_1 + \beta_1 \sqrt{X_j} + \varepsilon_j \dots \dots \dots (II)$$

$$j=n_{0+1}, n_{0+2}, \dots, n_0+n_1=n$$

Donde los errores E_j $j=1, 2, \dots, n$ se distribuyen normales e independientes con media 0 y varianza desconocida σ^2 . Las ecuaciones I y II pueden expresarse conjuntamente en una sola relación o modelo completo (MC):

$$y_j = \alpha_0 Q_{j1} + \alpha_1 Q_{j2} + \beta_0 Q_{j3} + \beta_1 Q_{j4} + \varepsilon_j \dots \dots \dots MC.$$

Donde estas nuevas variables se definen como sigue:

$$Q_{j1} = 1 \text{ si } j = 1, 2, \dots, n_0 \text{ y } 0 \text{ si } j = n_{0+1}, n_{0+2}, \dots, n$$

$$Q_{j2} = 0 \text{ si } j= 1, 2, \dots, n_0 \text{ y } 1 \text{ si } j=n_{0+1}, n_{0+2}, \dots, n$$

$$Q_{j3} = \sqrt{X_j} \text{ si } j= 1, 2, \dots, n_0 \text{ y } 0 \text{ si } j=n_{0+1}, n_{0+2}, \dots, n$$

$$Q_{j4} = 0 \text{ si } j= 1, 2, \dots, n_0 \text{ y } \sqrt{X_j} \text{ si } j=n_{0+1}, n_{0+2}, \dots, n$$

Cuadro 2.4.

Arreglo matricial para pruebas de homogeneidad (Castillo, 1987)

i	Q_{j1}	Q_{j2}	Q_{j3}	Q_{j4}	Y_i
1	1	0	$\sqrt{X_1}$	0	Y1
2	1	0	$\sqrt{X_2}$	0	Y
.
.
n_0	1	0	X_{n_1}	0	Y_{n_0}
$n_0 + 1$	0	1	0	$\sqrt{X_{n_0+1}}$	$Y_{n_0 + 1}$
$n_0 + 2$	0	1	0		$Y_{n_0 + 2}$
.
.
$n = n_0 + n_1$	0	1	0	$\sqrt{X_{n_0+n_1}}$	$Y_{n_0 + n_1}$

El modelo MC bajo H_0 , de la hipótesis I, cierta ($\alpha_0 = \alpha_1$ y $\beta_0 = \beta_1 = \beta$) se denomina Modelo bajo la Hipótesis I (MBHI) y se escribe como sigue:

$$y_j = \alpha(Q_{j1} + Q_{j2}) + \beta(Q_{j3} + Q_{j4}) + \varepsilon_j \dots\dots\dots(\text{MBHI})$$

Este modelo se ajusta con SAS generando las variables:

$$Q_{12} = Q_{j1} + Q_{j2} \text{ y } Q_{34} = Q_{j3} + Q_{j4}$$

De los ANOVAS generados al ajustar los modelos MC y MBHI, se obtuvo la información para construir el estadístico de F, con el cual se prueba la homogeneidad de coeficientes de la forma que sigue:

$$F_1 = (\text{SCR}(\text{MC}) - \text{SCR}(\text{MBHI}) / \text{glRMC} - \text{glRMBHI}) / \text{CMEMC} = \text{CM}(\text{Hip. 1}) / \text{CME}$$

Donde SCR(MC), es la suma de cuadrados de regresión del modelo MC y glRMC corresponde a los grados de libertad para regresión en MC. SCR(MBHI), es la suma de cuadrados de regresión del modelo bajo la hipótesis 1 y glRMBHI, los grados de libertad de regresión en el modelo MBHI. CMEM, corresponde al cuadrado medio del error del modelo MC. El numerador de la F1 o diferencia de la suma de cuadrados de regresión de los modelos MC y MBHI, entre la diferencia de los respectivos grados de libertad, es precisamente, el cuadrado medio de la hipótesis i, que es lo que se desea probar y se denota como CM(Hip.1)

Los supuestos teóricos de esta prueba son que los E_i son independientes e idénticamente distribuidos normal con media cero y varianza σ^2 . La regla de decisión es: rechazar H_0 de la hipótesis 1 si F1 es mayor que la F tabular (glRMC-glRMBHI) en el numerados y glRMC en el denominador.

Método para probar la hipótesis II (prueba de paralelismo)

También en este caso se construye un estadístico F con los resultados obtenidos al correr en SAS el modelo MC y al correr el siguiente modelo que llamaremos modelo bajo la hipótesis II (MBHII) que se obtiene bajo el supuesto de que H_0 en la hipótesis II es cierta, es decir $\beta_1 = \beta_2 = \beta$, y se escribe de la siguiente forma.

$$y_j = \alpha_0 Q_{j1} + \alpha_1 Q_{j2} + \beta(Q_{j3} + Q_{j4}) + \varepsilon_j \quad \dots\dots \text{MBHII}$$

Este modelo se ajusta con SAS generando la variable Q34= Qj3+Qj4.

De los ANOVAS obtenidos al correr tanto el modelo MC como el modelo MBHII se saca la información para calcular el siguiente estadístico de F.

$$F2 = (SCR(MC) - SCR(MBHII)) / (glRMC - glRMBHII) / CME(MC)$$

$$= CM(\text{HipII}) / CME(MC)$$

donde ahora los nuevos términos son: $SCR(MBHII)$ y $glRMBHII$, respectivamente la suma de cuadrados de regresión al ajustar el modelo bajo la hipótesis II y los grados de libertad de regresión del mismo modelo, usando un nivel de significancia de $\alpha \leq 0.05$.

La regla de decisión para rechazar H_0 de la hipótesis II es cuando el valor de la F_2 resulta mayor al valor tabulado de F con $(glrMC - glrMBHII)$ grados de libertad en el numerador y $(gleMC)$ en el denominador, usando un nivel de significancia de $\alpha \leq 0.05$.

Apéndice 3.1
Modelos Ajustados
LSS lodos industriales prueba de biodegradación

Modelo Ajustado	Nivel de Ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(5)} = -0.6342 + 6.451538\sqrt{t}$	93.78
$\hat{CH}_{4(5)} = -0.689545 + 6.48446\sqrt{t}$	97.87
$\hat{CH}_{4(50)} = -0.718474 + 6.251229\sqrt{t}$	98.24
$\hat{CH}_{4(100)} = -0.917857 + 9.06\sqrt{t}$	96.48
$\hat{CH}_{4(250)} = -0.908896 + 8.105258\sqrt{t}$	95.74
$\hat{CH}_{4(500)} = -0.5063297 + 3.941346\sqrt{t}$	97.15

(*) Los cálculos de la estimación aparece en el Apéndice 3.3

Apéndice 3.2
Dodecil bencen sulfonato de sodio lodos de la UAM-I, prueba de biodegradación.

Dosis comparadas	SCMRMC ¹	CMEMC ²	SCMRMBH ³	F2	F de tablas
0, 5	1411.33	1.2983	1410.629	0.270	6.23
0, 50	1302.494	0.775	1302.404	0.0579	
0, 100	1429.037	1.053	1427.801	0.586	
0, 250	814.741	0.686	714.985	72.684	
0, 500	686.918	0.539	431.545	236.52	

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.3

Debido al gran número de hojas que representan todos los análisis estadísticos, en este trabajo sólo se presenta un ejemplo completo de una regresión de la curva de producción de metano. Análisis realizados en el programa SAS.

Ejemplo:

Lauril Sulfato de Sodio, lodos de origen industrial prueba de inhibición.

0 mg/l					
Dependent Variable: CH4					
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	2.60025944	2.60025944	256.23	0.0001
Error	9	0.09133348	0.01014816		
Corrected Total	10	2.69159292			
R-Square		C.V.	Root MSE	CH4 Mean	
0.966067		34.033529	0.10073810	0.29599664	

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	2.60025944	2.60025944	256.23	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	2.60025944	2.60025944	256.23	0.0001

Parameter	T for H0: Pr > T Std Error of			
	Estimate	Parameter=0		Estimate
INTERCEPT	-.0440795816	-1.19	0.2648	0.0370664366
T	0.1446181775	16.01	0.0001	0.0090345869

1 mg/l

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	2.94963920	2.94963920	68.82	0.0001
Error	9	0.38572921	0.04285880		
Corrected Total	10	3.33536841			

R-Square	C.V.	Root MSE	CH4 Mean
0.884352	63.391412	0.20702367	0.32658000

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	2.94963920	2.94963920	68.82	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	2.94963920	2.94963920	68.82	0.0001

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate
INTERCEPT	-.0356232722	-0.47	0.6511	0.0761740579
T	0.1540277571	8.30	0.0001	0.0185666928

50 mg/l

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	4.83539441	4.83539441	11.12	0.0087
Error	9	3.91472164	0.43496907		
Corrected Total	10	8.75011604			

R-Square	C.V.	Root MSE	CH4 Mean
0.552609	179.67645	0.65952185	0.36706082

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	4.83539441	4.83539441	11.12	0.0087

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	4.83539441	4.83539441	11.12	0.0087

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate
INTERCEPT	-.0966891291	-0.40	0.6996	0.2426701013
T	0.1972107094	3.33	0.0087	0.0591484995

100 mg/l

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	2.65072533	2.65072533	231.01	0.0001
Error	9	0.10326984	0.01147443		
Corrected Total	10	2.75399517			

R-Square	C.V.	Root MSE	CH4 Mean
0.962502	35.093538	0.10711875	0.30523782

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	2.65072533	2.65072533	231.01	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	2.65072533	2.65072533	231.01	0.0001

Parameter	Estimate	T for H0: Parameter=0	Pr > T	Std Error of Estimate
INTERCEPT	-.0381226444	-0.97	0.3587	0.0394141874
T	0.1460148099	15.20	0.0001	0.0096068285

250 mg/l

222251

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	1.72680130	1.72680130	95.08	0.0001
Error	9	0.16345150	0.01816128		
Corrected Total	10	1.89025279			

R-Square	C.V.	Root MSE	CH4 Mean
0.913529	46.770481	0.13476378	0.28813855

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	1.72680130	1.72680130	95.08	0.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	1.72680130	1.72680130	95.08	0.0001

Parameter	T for H0: Estimate	Pr > T Parameter=0	Std Error of Estimate
INTERCEPT	0.0110049958	0.22	0.8293
T	0.1178516661	9.75	0.0120861433

500 mg/l

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	1	0.16179619	0.16179619	5.64	0.0416
Error	9	0.25835472	0.02870608		
Corrected Total	10	0.42015091			

R-Square	C.V.	Root MSE	CH4 Mean
0.385091	123.65941	0.16942869	-0.13701236

General Linear Models Procedure

Dependent Variable: CH4

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	0.16179619	0.16179619	5.64	0.0416

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
T	1	0.16179619	0.16179619	5.64	0.0416

Parameter	T for H0: Pr > T Std Error of		
	Estimate	Parameter=0	Estimate
INTERCEPT	-.0521818565	-0.84	0.4242 0.0623410377
T	-.0360743642	-2.37	0.0416 0.0151950274

□

Apéndice 3.4
Modelos Ajustados
DBSS lodos industriales prueba de biodegradación

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4_{(0)}} = 2.341069719 + 9.626445887\sqrt{t}$	84.89
$\hat{CH}_{4_{(0)}} = 2.557945 + 9.196232757\sqrt{t}$	85.62
$\hat{CH}_{4_{(0)}} = 2.812922 + 10.1135449\sqrt{t}$	81.53
$\hat{CH}_{4_{(0)}} = 3.38125256 + 10.0949\sqrt{t}$	83.8
$\hat{CH}_{4_{(000)}} = 3.6 + 10.01255976\sqrt{t}$	79.27
$\hat{CH}_{4_{(250)}} = 2.61964925 + 11.136\sqrt{t}$	77.13
$\hat{CH}_{4_{(500)}} = 3.58307 + 6.48\sqrt{t}$	73.8

Apéndice 3.5

Dodecil bencen sulfonato de sodio, lodos industriales, prueba de biodegradación.

Dosis comparadas	SCMRMC	CMEMC	SCMRMBH	F2	Fde tablas
0, 5	8676.635	24.917	8676.414	0.0127	7.28
0,1	9157.152	33.939	9154.024	0.0461	
0, 50	9740.066	30.84	9720.022	0.325	
0, 100	9612.044	34.439	9595.93	0.233	
0, 250	10279.20	42.92	9514.18	8.91	
0, 500	6842.647	26.04	6276.25	10.88	

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.6
Modelos Ajustados
CTMA lodos industriales prueba de biodegradación

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = 1.92535 + 2.8\sqrt{t}$	90.54
$\hat{CH}_{4(1)} = 2.3558 + 2.55198\sqrt{t}$	89.2
$\hat{CH}_{4(5)} = 2.00 + 2.79\sqrt{t}$	91.82
$\hat{CH}_{4(50)} = 2.1821 + 2.7187498\sqrt{t}$	92.24
$\hat{CH}_{4(100)} = 2.4363 + 3.188\sqrt{t}$	89.93
$\hat{CH}_{4(250)} = 3.4349 + 3.2518\sqrt{t}$	89.10
$\hat{CH}_{4(500)} = 2.233 + 4.079\sqrt{t}$	91.71

Apéndice 3.7
Cloruro de trietil metil amonio, lodos industriales, prueba de biodegradación.

Dosis comparadas	SCMRMC	CMEMC	SCMRMBH	F2	Fde tablas
0, 5	2354.34	10.519	2180.831	1.247	7.68
0,1	3019.663	2.678	3019.645	0.00336	
0, 50	3004.846	2.55	3004.627	0.043	
0, 100	3528.012	3.463	3509.162	2.724	
0, 250	3926.088	3.736	3870.144	7.487	
0, 500	4475.186	4.019	4352.282	14.955	

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.8
Modelos Ajustados
LSS lodos industriales prueba de inhibición

Modelo Ajustado	Medida de Ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = -1.3086 + 9.4708\sqrt{t}$	0.984
$\hat{CH}_{4(0)} = -1.268 + 9.69027\sqrt{t}$	0.986
$\hat{CH}_{4(50)} = -1.582 + 9.7409\sqrt{t}$	0.970
$\hat{CH}_{4(100)} = -1.9245 + 10.608\sqrt{t}$	0.983
$\hat{CH}_{4(250)} = -1.5508 + 10.574\sqrt{t}$	0.986
$\hat{CH}_{4(500)} = -0.8303 + 4.576\sqrt{x}$	0.895

Apéndice 3.9
Lauril sulfato de sodio, lodos industriales prueba de inhibición.

Dosis comparadas	SCMRM C	CMEMC	SCMRM BH	F2 (*)	SCRMB HII	F1 (**)
0, 5	67.064	3.048	68.518	0.25	67.652	0.19
0, 50	106.049	4.82	107.043	0.14	106.94	0.20
0, 100	81.425	3.70	104.615	3.13	97.22	4.27
0, 250	72.945	3.31	100.395	4.14	87.825	4.5
0, 500	95.283	4.33	689.91	68.09	387.805	67.56

(*) F1 de tablas es = 8.53

(**) F2 de tablas es = 6.22

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.10
Modelos Ajustados
DBSS lodos industriales prueba de inhibición

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = 3.895 + 6.549\sqrt{t}$	84.41
$\hat{CH}_{4(5)} = 3.813 + 6.185\sqrt{t}$	80.93
$\hat{CH}_{4(50)} = 3.970 + 5.887\sqrt{t}$	75.40
$\hat{CH}_{4(100)} = 3.858 + 6.369\sqrt{t}$	79.38
$\hat{CH}_{4(250)} = 1.915 + 5.707\sqrt{t}$	92.92
$\hat{CH}_{4(500)} = 1.902 + 3.113\sqrt{t}$	73.8

Apéndice 3.11
Dodecil bencen sulfonato de sodio lodos industriales prueba de inhibición.

Dosis comparadas	SCMRM C	CMEMC	SCMRM BH	F2 (*)	SCRMB HII	F1 (**)
0, 5	314.383	17.465	318.028	0.10	315.617	0.00085
0, 50	357.023	19.83	366.32	0.23	361.088	0.00065
0, 100	342.723	19.04	343.598	0.02	343.024	0.00021
0, 250	193.056	10.725	260.305	3.14	199.649	0.61
0, 500	187.567	10.42	603.057	19.94	297.199	10.52

(*) F1 de tablas es = 8.36

(**) F2 de tablas es = 6.22

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.12
Modelos Ajustados CTMA lodos industriales prueba de inhibición

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = 6.327 + 4.112\sqrt{t}$	84.41
$CH_{4(5)} = 4.626 + 4.533\sqrt{t}$	80.93
$\hat{CH}_{4(50)} = 4.645 + 4.297\sqrt{t}$	75.40
$\hat{CH}_{4(100)} = 5.417 + 4.175\sqrt{t}$	79.38
$\hat{CH}_{4(250)} = 5.673 + 4.376\sqrt{t}$	92.92
$\hat{CH}_{4(500)} = 1.395 + 5.0905\sqrt{t}$	73.8

Apéndice 3.13
Cloruro de trialquil metil amonio, lodos industriales, prueba de inhibición.

Dosis comparadas	SCMRM C	CMEMC	SCMRM BH	F2 (*)	SCRMB HII	F1 (**)
0, 5	367.099	13.59	367.177	0.29	363.4	0.27
0, 50	372.419	14.32	384.908	0.44	373.253	0.83
0, 100	429.736	16.528	434.161	0.13	429.835	0.10
0, 250	418.806	16.107	420.516	0.05	420.509	0.11
0, 500	323.417	12.439	398.645	3.03	346.69	1.87

(*) F1 de tablas es = 9.14

(**) F2 de tablas es = 6.41

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.14
Modelos Ajustados LSS prueba de inhibición lodos de la UAM-I

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = 0.97 + 3.57\sqrt{t}$	96.03
$\hat{CH}_{4(0)} = 0.45 + 4.15\sqrt{t}$	95.65
$\hat{CH}_{4(5)} = 0.56 + 4.07\sqrt{t}$	95.95
$\hat{CH}_{4(50)} = 0.86 + 4.53\sqrt{t}$	98.40
$\hat{CH}_{4(100)} = -0.29 + 5.38\sqrt{t}$	98.06
$\hat{CH}_{4(250)} = -1.42 + 5.23\sqrt{t}$	95.38
$\hat{CH}_{4(500)} = 0.13 + 2.19\sqrt{t}$	97.25

Apéndice 3.15
Lauril sulfato de sodio lodos de la UAM-I, prueba de biodegradación.

Dosis comparadas	SCMRMC	CMEMC	SCMRMBH	F2	Fde tablas
0, 5	1770.567	1.1362	1766.359	1.852	6.51
0, 1	1755.728	0.979	1752.273	1.764	
0, 50	2025.475	0.687	2003.33	16.117	
0, 100	2245.431	0.875	2196.98	27.685	
0, 250	1958.022	1.478	1936.60	7.247	
0, 500	1062.652	0.528	987.916	70.772	

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.16
Modelos Ajustados
DBSS prueba de biodegradación Lodos de la UAM-I

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = 0.75 + 3.12\sqrt{t}$	94.35
$\hat{CH}_{4(0)} = 0.70 + 3.29\sqrt{t}$	92.83
$\hat{CH}_{4(50)} = 0.46 + 3.42\sqrt{t}$	97.53
$\hat{CH}_{4(100)} = 0.53 + 1.36\sqrt{t}$	95.36
$\hat{CH}_{4(250)} = 0.53 + 1.36\sqrt{t}$	92.36
$\hat{CH}_{4(500)} = 0.84 + 0.15\sqrt{t}$	74.09

Apéndice 3.17
Dodecil bencen sulfonato de sodio lodos de la UAM-I, prueba de biodegradación.

Dosis comparadas	SCMRMC	CMEMC	SCMRMBH	F2	Fde tablas
0, 5	1411.33	1.29	1410.62	0.270	6.51
0,50	1302.49	0.776	1302.4	0.0579	
0, 100	1429.037	1.05	1427.8	0.5876	
0, 250	814.742	0.68	714.98	72.68	
0, 500	686.92	0.539	431.54	236.52	

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Cuadro 3.18
Modelos Ajustados, prueba de biodegradación, Lodos UAM-I
CTMA

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = -1.01 + 4.39\sqrt{t}$	95.29
$\hat{CH}_{4(1)} = -1.19 + 4.21\sqrt{t}$	93.69
$\hat{CH}_{4(5)} = -0.97 + 4.09\sqrt{t}$	92.75
$\hat{CH}_{4(50)} = -0.97 + 4.07\sqrt{t}$	92.59
$\hat{CH}_{4(100)} = -0.83 + 4.35\sqrt{t}$	95.54
$\hat{CH}_{4(250)} = -0.87 + 3.93\sqrt{t}$	90.73
$\hat{CH}_{4(500)} = -0.72 + 4.40\sqrt{t}$	92.44

Apéndice 3.19
Cloruro de trialquil metil amonio, lodos de la UAM-I, prueba de
biodegradación.

Dosis comparadas	SCMRM C	CMEMC	SCMRM BH	F2 (*)	SCRMB HII	F1 (**)
0, 5	140.122	11.676	140.276	0.01	140.215	0.0077
0, 50	153.120	12.76	153.85	0.03	153.56	0.034
0, 100	149.119	12.426	149.317	0.01	149.26	0.00123
0, 250	147.32	12.27	147.85	0.02	147.429	0.0088
0, 500	152.763	12.73	147.85	0.01	152.928	0.0129

(*) F1 de tablas es = 8.15

(**) F2 de tablas es = 6.3

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.20
Modelos Ajustados
LSS prueba de inhibición lodos UAM-I

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = 0.86 + 4.51\sqrt{t}$	84.41
$\hat{CH}_{4(5)} = 0.87 + 4.19\sqrt{t}$	80.93
$\hat{CH}_{4(50)} = 0.46 + 4.02\sqrt{t}$	75.40
$\hat{CH}_{4(100)} = 0.19 + 3.78\sqrt{t}$	79.38
$\hat{CH}_{4(250)} = 0.96 + 1.58\sqrt{t}$	92.92
$\hat{CH}_{4(500)} = 0.41 + 0.90\sqrt{t}$	73.8

Apéndice 3.21
Lauril sulfato de sodio, lodos de la UAM-I, prueba de inhibición

Dosis comparadas	SCMRM C	CMEMC	SCMRM BH	F2 (*)	SCRMB HII	F1 (**)
0, 5	40.917	3.409	43.829	0.429	41.681	0.22
0, 50	56.805	4.73	67.77	1.159	58.538	0.37
0, 100	41.417	3.45	74.364	4.770	45.181	1.09
0, 250	31.387	2.615	265.235	44.710	93.360	23.7
0, 500	27.953	2.329	422.477	84.690	122.278	40.5

(*) F1 de tablas es = 8.54

(**) F2 de tablas es = 6.257

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis

Apéndice 3.22
Modelos Ajustados
DBSS prueba de inhibición lodos UAM-I

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = -0.72 + 5.79\sqrt{t}$	97.36
$\hat{CH}_{4(5)} = -0.94 + 6.01\sqrt{t}$	95.84
$\hat{CH}_{4(50)} = -0.67 + 6.15\sqrt{t}$	96.02
$\hat{CH}_{4(100)} = -0.97 + 6.53\sqrt{t}$	97.12
$\hat{CH}_{4(250)} = -0.20 + 2.44\sqrt{t}$	98.93
$\hat{CH}_{4(500)} = 0.66 + 0.62\sqrt{t}$	82.06

Apéndice 3.23
Dodecil bencen sulfonato de sodio lodos de la UAM-I, prueba de inhibición.

Dosis comparadas	SCMRM C	CMEMC	SCMRM BH	F2 (*)	SCRMB HII	F1 (**)
0, 5	27.097	2.258	25.596	0.332	27.144	0.208
0, 50	27.065	2.255	30.362	0.73	27.764	0.0087
0, 100	23.749	1.979	33.528	2.47	26.719	1.50
0, 250	10.643	0.88	245.872	133.65	72.075	34.90
0, 500	10.847	0.903	526.882	285.73	157.563	162.47

(*) F1 de tablas es = 8.71

(**) F2 de tablas es = 6.28

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis.

Apéndice 3.24
Modelos Ajustados
CTMA prueba de inhibición lodos UAM-I

Modelo Ajustado	Nivel de ajuste (%)
$\hat{CH}_{4(0)} = -1.05 + 6.50\sqrt{t}$	88.54
$\hat{CH}_{4(5)} = -1.19 + 6.61\sqrt{t}$	89.87
$\hat{CH}_{4(50)} = -0.20 + 6.24\sqrt{t}$	86.85
$\hat{CH}_{4(100)} = -0.77 + 6.47\sqrt{t}$	88.20
$\hat{CH}_{4(250)} = -0.45 + 6.37\sqrt{t}$	88.13
$\hat{CH}_{4(500)} = 0.59 + 6.34\sqrt{t}$	87.26

Apéndice 3.25
Cloruro de trialquil metil amonio, lodos de la UAM-I, prueba de inhibición.

Dosis comparadas	SCMRM C	CMEMC	SCMRM BH	F2 (*)	SCRMB HII	F1 (**)
0, 5	140.122	11.676	140.276	0.01	140.215	0.0077
0, 50	153.120	12.76	153.85	0.03	153.56	0.034
0, 100	149.119	12.426	149.317	0.01	149.26	0.00123
0, 250	147.32	12.27	147.85	0.02	147.429	0.0088
0, 500	152.763	12.73	147.85	0.01	152.928	0.0129

(*) F1 de tablas es = 8.15

(**) F2 de tablas es = 6.3

SCMRMC¹ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo completo.

CMEMC² Cuadrado medio del error del modelo completo

SCMRMBH³ Suma de cuadrados medios de regresión del modelo bajo la hipótesis