

Efecto del oxígeno y la glucosa en la metanogénesis y mineralización de resinas poliméricas

The effect of oxygen and glucose on polymeric resin methanogenesis and mineralisation

*Ulises Durán Hinojosa¹, Oscar Monroy Hermosillo²,
Jorge Gómez Hernández³, Florina Ramírez Vives⁴*

Resumen

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la concentración de oxígeno disuelto (OD) y la presencia de la glucosa en la metanogénesis y mineralización de los compuestos de resinas poliméricas, mediante cultivos en lote. El inóculo utilizado para los cultivos fueron lodos procedentes de un reactor de lecho de lodos con flujo ascendente UASB (por sus siglas en inglés), alimentado con glucosa y aguas residuales de resinas poliméricas, y $1,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ de oxígeno disuelto en estado estacionario. Todas las pruebas fueron realizadas con 1500 mg L^{-1} de demanda química de oxígeno, a $30 \pm 2^\circ \text{ C}$, con $23,8 \text{ g L}^{-1}$ de sólidos suspendidos volátiles como inóculo y una relación demanda química de oxígeno / sólidos suspendidos volátiles de 1. El efecto de diferentes concentraciones de oxígeno disuelto mostró que, para la glucosa, con bajas concentraciones ($0,6$ y $1,0 \text{ mg L}^{-1}$) la eficiencia de remoción de la demanda química de oxígeno y la actividad metanogénicas permanecieron constantes, pero la eficiencia de remoción de la demanda química de oxígeno para los compuestos de resinas poliméricas aumentó $58,1 \pm 1\%$ y el rendimiento de metano disminuyó, debido a que una mayor fracción del carbono alimentado fue mineralizada a dióxido de carbono, posiblemente por una ruta aerobia. Los resultados con diferentes proporciones de glucosa / compuestos de resinas poliméricas (CRP) en presencia de $0,6 \text{ mg L}^{-1}$ de oxígeno disuelto mostraron que la presencia de glucosa no mejoró la eliminación de los compuestos de resinas poliméricas. Sin embargo, la actividad metanogénica disminuyó en un 75% cuando solamente se usó a los compuestos de resinas poliméricas como sustrato, al compararla con la actividad metanogénica con glucosa como única fuente de carbono, sugiriendo que la glucosa no favorece la eliminación de los compuestos de resinas poliméricas, pero proporciona una mejor tolerancia al oxígeno. Se concluye que la presencia de bajas concentraciones de oxígeno disuelto en los lodos metanogénicos favoreció la metanogénesis y mineralización de los compuestos de resinas poliméricas.

Palabras clave: compuestos de resinas poliméricas, glucosa, metanogénesis, mineralización, oxígeno disuelto.

1 Maestro en Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D.F. laloulises@gmail.com

2 Doctor en Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D.F. monroy@xanum.uam.mx

3 Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D.F. frav@xanum.uam.mx (Autor de correspondencia).

4 Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México D.F. frav@xanum.uam.mx (Autor de correspondencia).

Abstract

The effect of dissolved oxygen concentration and glucose on polymeric resin compounds' methanogenesis and mineralisation was examined in batch cultures. They were inoculated with sludge from an upflow anaerobic sludge blanket reactor fed with polymeric resin compounds and 1.0 mg L⁻¹ steady-state dissolved oxygen. All tests were carried out with 1,500 mg L⁻¹ chemical oxygen demand (COD), at 30±2°C, with 23.8 g L⁻¹ volatile suspended solids (VSS) as inoculum and 1:1 COD/VSS ratio. The effect of different dissolved oxygen concentrations showed that COD efficiently removed glucose whilst methanogenic activity remained constant at low concentrations (0.6 and 1.0 mg L⁻¹), but polymeric resin compounds' COD removal efficiency increased 58.1±1% whilst methane yield decreased, due to the higher aerobic mineralisation of carbon to carbon dioxide. The result of different glucose/polymeric resin compound ratios in the presence of 0.6 mg L⁻¹ dissolved oxygen showed that glucose did not improve polymeric resin compound removal. However, methanogenic activity decreased by 75% with polymeric resin compounds as substrate compared to methanogenic activity with glucose as sole carbon source, suggesting that the presence of glucose promotes conditions for higher tolerance to oxygen. The presence of low dissolved oxygen concentrations therefore promotes polymeric resin compounds' methanogenesis and mineralisation.

Key words: Polymeric resin compound, glucose, methanogenesis, mineralisation, dissolved oxygen.

Recibido: noviembre 10 de 2009

Aprobado: mayo 14 de 2010

Introducción

Las aguas residuales producto de la elaboración de resinas poliméricas contienen ácido acrílico y sus ésteres, acetato de vinilo y de estireno, los cuales son perjudiciales para la salud y el ambiente (ATSDR, 2008). Hay evidencias de que estos compuestos son cancerígenos y provocan aberraciones cromosómicas (EPA, 2000; Hengstler *et al.*, 2003). Se han realizado algunos intentos por eliminar los compuestos de resinas poliméricas (CRP) de las aguas residuales bajo condiciones anaerobias. Sin embargo, algunos de los CRP son altamente recalcitrantes. Dangcong y Xingwen (1994) encontraron que las eficiencias de eliminación para los CRP son cercanas a 70% en un reactor UASB operado con una carga de 2,94 kg m⁻³ d⁻¹ de demanda química de oxígeno (DQO). Se considera que cuando los acrilatos y el estireno son los principales componentes en las aguas residuales de resinas poliméricas, la eficiencia de eliminación puede disminuir hasta un 40% (Araya *et al.*, 2000). Castilla *et al.* (2005) observaron que en condiciones anaeróbicas la actividad metanogénica (q_{CH₄}) disminuyó casi 10 veces cuan-

do la carga volumétrica de acrilatos aumentó de 1,3 a 1,7 g L⁻¹ d⁻¹. Grbić-Galić *et al.* (1990) dan evidencias de que la eliminación de estireno bajo condiciones metanogénicas fue muy lenta. Sin embargo, bajo condiciones aerobias el estireno se elimina más rápido (O'Connor *et al.*, 1996). El acetato de vinilo puede ser metanizado a una velocidad de 2,1 g L⁻¹ d⁻¹, pero en condiciones aerobias este compuesto puede ser mineralizado a una velocidad de 13,2 g L⁻¹ d⁻¹ (Nieder *et al.*, 1990). También se ha observado que en la eliminación de los CRP bajo condiciones anaerobias tiene como pasos limitantes la inhibición de la metanogénesis acetoclástica y la acumulación de los intermediarios, tales como el acetaldehído, benceno y ácido acrílico (Demirer y Speece, 1999; Grbić-Galić *et al.*, 1990; Stuckey *et al.*, 1980). Por tanto, estas evidencias sugieren que algunos CRP pueden ser removidos de mejor manera bajo condiciones aerobias que bajo condiciones anaerobias. Sin embargo, la oxidación aerobia de compuestos recalcitrantes puede en algunos casos dar productos intermediarios más tóxicos y una alta producción de biomasa.

Los sistemas de tratamiento aerobios y anaerobios en serie se han utilizado para lograr la eliminación completa de los CRP, pero los costos de operación de estos procesos suele ser muy elevados. Sin embargo, se puede alimentar oxígeno en bajas concentraciones a reactores anaerobios para lograr una completa eliminación de una amplia gama de compuestos recalcitrantes (Durán *et al.*, 2008; Guyot *et al.*, 1995; Kato *et al.*, 1997). Sin embargo, aún no se han evaluado en detalle cuáles son los posibles efectos del oxígeno disuelto sobre el rendimiento y la estabilidad de estos sistemas.

Algunos autores han aportado pruebas de que la presencia de glucosa mejora la eliminación de algunos compuestos recalcitrantes (Freedman y Gossett, 1989; Moreno-Andrade y Buitrón, 2003), y otros autores han mencionado que también aumenta la tolerancia al oxígeno. Zitomer y Shrouf (1998) estudiaron la metanogénesis de $15 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ de sacarosa a metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) en presencia de $2 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ de oxígeno disuelto (OD), obteniendo una eficiencia de remoción de la DQO del 93%, pero el rendimiento de metano se vio disminuido. Estrada-Vázquez *et al.* (2003) evaluaron la resistencia de los lodos metanogénicos a la exposición al oxígeno, y aportaron evidencias de que la inhibición de la producción de metano aumentó cuando se disminuyó la concentración de glucosa.

El objetivo de este trabajo fue evaluar mediante cultivos en lote con lodos metanogénicos, el efecto de la concentración inicial de OD y la glucosa sobre la metanogénesis y mineralización de los CRP.

Materiales y métodos

Fuente de inóculo

Se utilizó como inóculo el lodo de un reactor UASB operado a una temperatura de $35 \pm 2^\circ \text{C}$, tiempo de residencia hidráulico de 1 día, pH de $7 \pm 0,3$, con $1 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ de OD y alimentado con $1125 \text{ mg DQO-CRP L}^{-1} \text{ d}^{-1} + 375$

$\text{mg DQO-Glucosa L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Durán *et al.*, 2008). La inoculación de los cultivos en lote con los lodos anaerobios se realizó cuando el reactor se encontraba en estado estacionario.

Medio de cultivo

El medio de cultivo utilizado para las cinéticas tenía la siguiente composición (mg L^{-1}): $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 703; K_2HPO_4 , 600; NH_4Cl , 500; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 111; y $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,1. El medio de cultivo con glucosa como fuente de carbono fue mezclado con diferentes concentraciones de aguas residuales provenientes de una planta industrial que sintetiza resinas poliméricas, cuya composición fue (mg L^{-1}): ácido acrílico (AA), 74 ± 15 ; acetato de vinilo (AV), 67 ± 12 ; butil acrilato (BA), 96 ± 20 ; estireno (ES), 99 ± 22 ; metil acrilato (MA), 112 ± 28 . Se realizaron controles abióticos de volatilidad de los CRP ($4,3 \pm 0,6\%$) para restar las pérdidas por volatilidad a los ensayos bióticos, después de 7 días bajo las mismas condiciones de estos últimos ensayos.

Métodos analíticos

La cuantificación de los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el inóculo, la cuantificación de la DQO por la técnica de reflujado cerrado y la producción de biogás por desplazamiento en columnas con una solución de NaCl 300 g L^{-1} , pH = 2 se realizaron de acuerdo con APHA (Eaton *et al.*, 1995). La cuantificación de los compuestos presentes en las resinas poliméricas se hizo mediante cromatografía de gases con detector de ionización de flama (FID) empleando una columna AT-1000 ($0,53 \text{ mm} \times 1,2 \text{ mm} \times 10 \text{ m}$), operando a temperaturas de 120°C para el horno, 130°C para el inyector y 150°C para el detector, con nitrógeno como gas acarreador a un flujo de $6,6 \text{ mL min}^{-1}$. La composición del biogás se cuantificó (CH_4 y CO_2) por cromatografía de gases con detector de conductividad térmica (TCD) empleando una columna de Carboxsphere 80/100, operando a temperaturas de 140°C para la columna, 190

°C para el detector, 170° C para el inyector, y utilizando helio a un flujo de 25 mL min⁻¹ (Durán *et al.*, 2008).

Cultivos en lote

Los cultivos en lote se realizaron por duplicado en botellas serológicas de 120 ml con 50 ml medio de cultivo, a una temperatura de 30±2° C, una concentración de inóculo de 23,8 g SSV L⁻¹ y una relación DQO/SSV de 1. Los estudios realizados fueron:

1. El efecto de la concentración de OD en la remoción de los CRP, con concentraciones iniciales de 0,0 (control); 0,6; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 mg OD L⁻¹ y utilizando como sustrato una mezcla de 750 mg DQO-Glucosa L⁻¹ + 750 mg DQO-CRP L⁻¹.
2. El efecto de la glucosa en la degradación de los CRP, utilizando diferentes relaciones G/CRP (mg DQO-G/mg DQO-CRP): 1500/0, 750/750, 375/1125, 300/1200 y 0/1500 y con una concentración inicial de OD de 0,6 mg L⁻¹.

Variables de respuesta

Los cultivos fueron evaluados mediante el cálculo de variables de respuesta, tales como: Eficiencia de remoción de DQO: $E_{DQO} (\%) = [\text{mg DQO consumida mg}^{-1} \text{ DQO alimentada}] * 100$

Rendimientos de productos: $Y_{p/s} = \text{mg DQO producto formado mg}^{-1} \text{ DQO sustrato consumido}$

Velocidades volumétricas de consumo de sustratos: $Q_s = \text{mg DQO de sustrato consumido L}^{-1} \text{ d}^{-1}$

Actividad metanogénica: $q_{CH_4} = \text{g DQO-CH}_4 \text{ formado g}^{-1} \text{ SSV d}^{-1}$

Análisis estadístico de resultados

Se realizaron análisis de varianza (Anova con $\alpha=0,95$), con el fin de determinar las dife-

rencias en las principales variables de respuesta, usando en los cultivos en lote la concentración de OD y la relación G/PRC probados como tratamientos, mediante el programa estadístico NCSS 2000 (Hintze, 2000).

Resultados y discusión

Resultados previos de un reactor UASB que fue utilizado como fuente de inóculo (Durán *et al.*, 2008), mostraron que bajo condiciones metanogénicas la glucosa no mejoró la eliminación de los CRP, y que la producción de CH₄ se debió solamente al consumo de la glucosa. Por lo que se ensayaron diferentes proporciones de G/CRP en presencia de una concentración inicial de OD de 0,6 mg L⁻¹, para evaluar el efecto del oxígeno en la metanogénesis de los CRP. Sin embargo, cuando el reactor fue alimentado con bajas concentraciones de OD, las velocidades de consumo de todos los CRP aumentaron significativamente, el estireno se mineralizó, pero la formación de metano disminuyó, posiblemente porque la adición de oxígeno aumentó la capacidad oxidativa de los lodos con lo que los CRP fueron degradados vía metanogénesis y mineralización. No obstante, no se presentan evidencias suficientes sobre el papel del oxígeno y la glucosa en la eliminación de los CRP.

Efecto del oxígeno en la remoción de los CRP

La figura 1 presenta el perfil de los cultivos a las diferentes concentraciones iniciales de OD evaluadas, después de 96 horas. Se puede observar que con 0,6 y 1,0 mg OD L⁻¹ la q_{CH_4} y la eficiencia de consumo de glucosa se mantuvieron casi constantes. Pero con todas las concentraciones de OD evaluadas la eficiencia de remoción de la DQO que correspondió a los CRP aumentó 58,1±1% en promedio al compararla con la eficiencia bajo condiciones metanogénicas y el Y_{CH_4} disminuyó debido a que una mayor fracción del carbono alimentado fue probablemente mineralizada por una ruta aerobia a CO₂. Shen y Guiot (1996) mencionan que

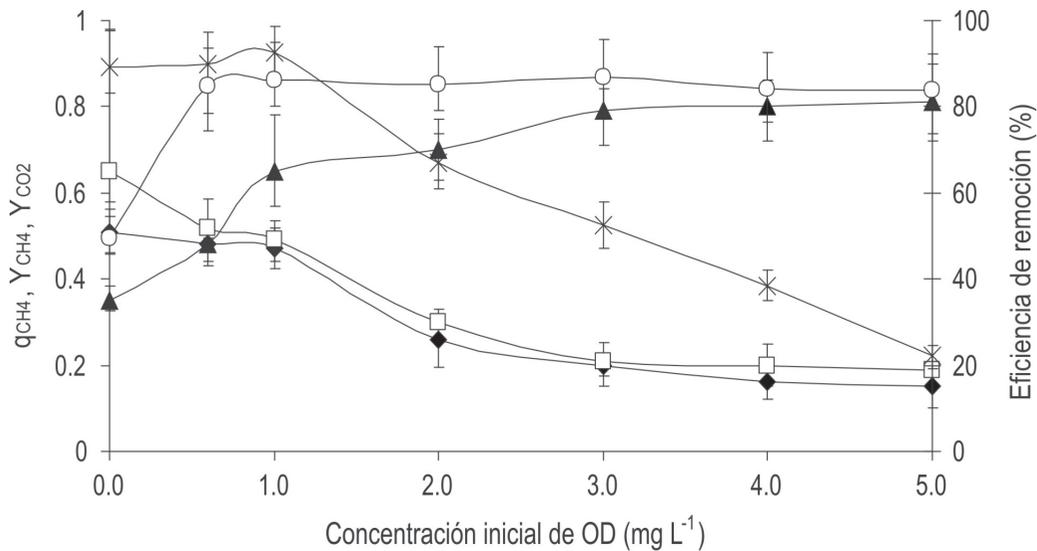


Figura 1. Efecto de la concentración de OD en la actividad metanogénica (q_{CH_4} , ◆), el rendimiento de CH_4 (Y_{CH_4} , □), el rendimiento de CO_2 (Y_{CO_2} , ▲) y las eficiencias de remoción de glucosa (×) y CRP (○).

la adición de bajas concentraciones iniciales de OD (menores a $2,0 \text{ mg L}^{-1}$) promueve la formación de biocapas protectoras compuestas de microorganismos facultativos y aerobios que mineralizan una parte del carbono alimentado, sin afectar significativamente el proceso metanogénico.

Cuando la concentración inicial de OD fue mayor o igual a 2 mg L^{-1} , la eficiencia de remoción de la DQO de glucosa y la q_{CH_4} disminuyeron hasta 75,9 y 69,2% ($p = 0,007$). Trabajos previos de Kato *et al.* (1997) y Zitomer y Shrouf (1998) muestran evidencias de que las concentraciones de OD mayores o iguales a 2 mg L^{-1} provocan una disminución del 50% en la actividad metanogénica, debido a la pérdida de los micronichos protectores en los gránulos anaerobios y la exposición de las arqueas metanogénicas al oxígeno.

Efecto de la glucosa en la remoción de los CRP

Resultados previos de un reactor UASB que fue utilizado como fuente de inóculo (Durán *et al.*, 2008), mostraron que bajo condiciones metanogénicas la glucosa no mejoró la eliminación de los CRP y que la producción

de CH_4 se debió solamente al consumo de la glucosa, por lo que se ensayaron diferentes proporciones de G/CRP en presencia de una concentración inicial de OD de $0,6 \text{ mg L}^{-1}$, para evaluar el efecto del oxígeno en la metanogénesis de los CRP. Estos resultados muestran que con 750/750 y 375/1125 mg DQO-G/mg DQO-CRP los CRP fueron removidos casi en su totalidad (80% en promedio), pero con las relaciones de 300/1200 y 0/1500 mg DQO-G/mg DQO-CRP aumentó la concentración de AA en un 35 y 55%, debido solamente a la hidrólisis del MA y del BA y no a su remoción completa, causado probablemente por la falta de OD en el cultivo. Resultados similares fueron encontrados bajo condiciones metanogénicas por Dohanyos *et al.* (1988) y Durán *et al.* (2008). En todos los ensayos realizados las concentraciones de acrilatos (AA, BA y MA) fueron superiores a los 30 mg L^{-1} ; concentraciones que han sido reportadas como inhibitorias para la metanogénesis (Demirer y Speece, 1999). Sin embargo, en estos ensayos la metanogénesis no se vio inhibida por la concentración de OD en los cultivos, ya que solamente fue utilizado en el consumo de los compuestos recalcitrantes. Hay informes que sugieren que el oxígeno es un efector positivo de las enzimas alostéricas

responsables de la eliminación de estos compuestos recalcitrantes (Dohanyos *et al.*, 1988; Nieder *et al.*, 1990; O'Connor *et al.*, 1996).

En la figura 2 se presentan las velocidades de consumo para la glucosa y cada CRP, con diferentes proporciones glucosa / CRP y con una concentración inicial de OD de 0,6 mg L⁻¹. Los resultados muestran que al disminuir la concentración de glucosa en la proporción glucosa / CRP, las velocidades de consumo de AA y glucosa disminuyen significativamente, pero el consumo del MA aumenta y las velocidades de consumo de AV, BA y ES permanecieron casi constantes. Estos resultados sugieren que la disminución de la glucosa tuvo un efecto negativo en las velocidades el consumo de glucosa y AA, las cuales disminuyeron 80 y 49%, respectivamente, y un efecto positivo sólo en el consumo de MA, con un aumento en la velocidad del 46%. Sin embargo, en los rendimientos de formación de CH₄ y CO₂ no hubo cambios significativos.

Al utilizar la actividad metanogénica (q_{CH_4}) como variable de respuesta se evidenció que esta variable fue la más sensible a los cambios de concentración de glucosa. Los resultados de la figura 3 muestran que con glucosa como

única fuente de carbono (proporción glucosa / CRP de 1500/0) la q_{CH_4} fue de 1,03 g DQO-CH₄ g⁻¹ SSV d⁻¹ y permanece con valores aceptables hasta la proporción 300/1200. Sin embargo, con la proporción de 0/1500 se tuvo una disminución del 75%. Esto sugiere que la glucosa juega un papel muy importante en la tolerancia de los lodos metanogénicos al oxígeno disuelto. Estos resultados concuerdan con los reportados por Kato *et al.* (1997) y Estrada-Vázquez *et al.* (2003), quienes sugieren que los lodos metanogénicos alimentados con concentraciones de OD menores a 2,0 mg L⁻¹ son capaces de tolerar la presencia de oxígeno cuando se utiliza glucosa como fuente de carbono alterna.

Conclusiones

Al evaluar el efecto del oxígeno disuelto con todas las concentraciones de OD evaluadas la eficiencia de remoción de la DQO que correspondió a los CRP aumentó 58,1±1% y el Y_{CH_4} disminuyó, debido a que una mayor fracción del carbono alimentado fue mineralizada a CO₂ por una ruta aerobia. Pero con 0,6 y 1,0 mg OD L⁻¹ la q_{CH_4} y la eficiencia de consumo de glucosa no tuvieron cambios significativos. Sin embargo, con 2 mg L⁻¹ o más, la eficiencia

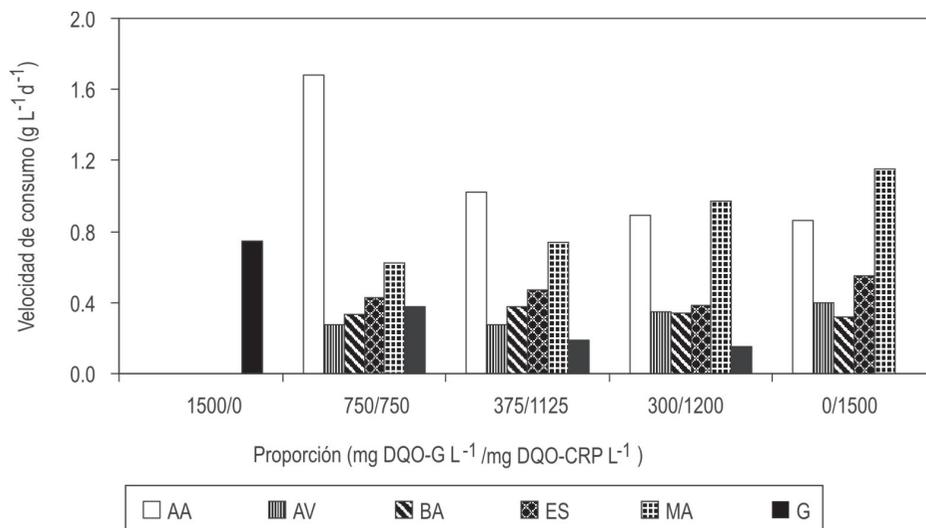


Figura 2. Velocidades de consumo de los CRP y la glucosa, con diferentes proporciones glucosa / CRP y 0,6 mg OD L⁻¹. Ácido acrílico (AA), acetato de vinilo (AV), butil acrilato (BA), estireno (ES) y metil acrilato (MA).

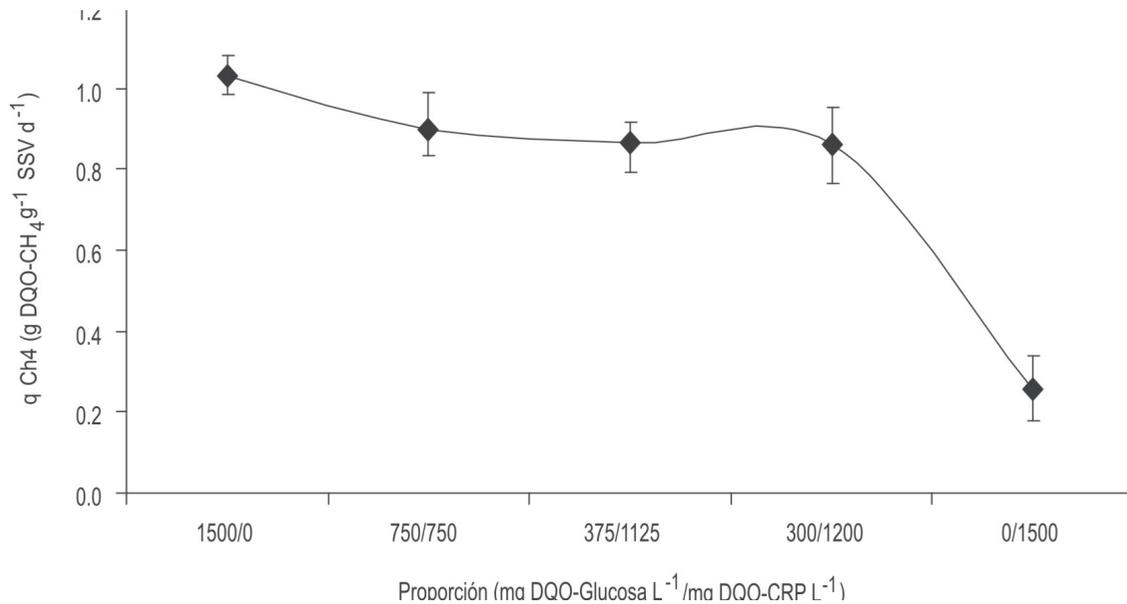


Figura 3. Efecto de las diferentes proporciones de glucosa / CRP con 0,6 mg OD L⁻¹, en la actividad metanogénica (q_{CH4}).

de remoción de la DQO de glucosa y la q_{CH4} disminuyeron significativamente.

Al disminuir la concentración de glucosa en la proporción glucosa / CRP con 0,6 mg L⁻¹ de OD, el consumo de glucosa y AA disminuyeron 80 y 49%, respectivamente, y el consumo de MA aumentó 46%, pero el consumo de AV, BA y ES permanecieron casi constantes. Sin embargo, se evidenció que la q_{CH4} tuvo una disminución del 75% con los CRP como sustrato al compararla con la q_{CH4} con glucosa como única fuente de carbono. Esto sugiere que la glucosa no mejoró la eliminación de los CRP, sino favoreció la tolerancia de los lodos metanogénicos al oxígeno disuelto.

Por tanto, la presencia de bajas concentraciones de oxígeno disuelto en lodos metanogénicos favorece la metanogénesis y mineralización de los CRP.

Agradecimientos

Al laboratorio de Microbiología Ambiental y Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana campus

Iztapalapa por el apoyo brindado para la realización de esta investigación. A Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por proporcionar el apoyo económico por medio de la beca número 181014.

Referencias bibliográficas

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2008. Encyclopedia of Public Health: Health Statement for Toxic Substances. Washington, D.C.: Ed. Lester Breslow. <http://www.enotes.com/public-health-encyclopedia/>
- Araya P., Chamy R., Mota M., Alves M. 2000. Biodegradability and Toxicity of Styrene in the Anaerobic Digestion Process. *Biotechnology Letters* 22: 1477-1481.
- Castilla, P., Leyva, A., García, U., Monroy, O., Meraz, M. 2005. Treatment of a low concentration industrial chemicals mixture in an UASB reactor. *Water Science and Technology* 52 (1-2): 385-390.
- Dangcong, P., Xingwen, Z. 1994. Effects of the seed sludge on the performance of UASB reactors for treatment of toxic wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 60 (2): 171-176.
- Demirer, G. N., Speece, R. E. 1999. Inhibitory effects and biotransformation of acrylic acid in computer-contro-

- lled pH-stat CSTRs. *Biotechnology and Bioengineering* 60 (2): 201-207.
- Dohanyos, M. Z., Zábrianska, J., Grau, P. 1988. Anaerobic Breakdown of Acrylic Acid. In: Proceedings of the 5th international Symposium on Anaerobic Digestion. Bologna, Italy. p. 287-294.
- Durán, U., Monroy, O., Gómez, J., Ramírez, F. 2008. Biological wastewater treatment for removal resins in UASB reactor: Influence of oxygen. *Water Science and Technology* 57 (7): 1047-1052.
- Eaton, A., Clesceri, L. S., Greenberg, A. E. 1995. Standard Methods for examination of Water and Wastewater (APHA). 19 edition. EE.UU.: Ed. American Public Health Association.
- Environmental Protection Agency (EPA) and Office of Air Quality Planning and Standards. 2000. Technology Transfer Network (TTNWeb), Unified Air Toxics Website (UATW). <http://www.epa.gov/ttn/uatw/hlthef1styrene.htm>
- Estrada-Vázquez, C., Macarie, H., Kato, M. T., Rodríguez-Vázquez, R., Esparza-García, F., Poggi-Varaldo, H. M. 2003. The effect of the supplementation with a primary carbon source on the resistance to oxygen exposure of methanogenic sludge. *Water Science and Technology* 48 (6): 119-124.
- Freedman, D. L., Gossett, J. M. 1989. Biological reductive dechlorination of tetrachloroethylene and trichloroethylene to ethylene under methanogenic conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 55 (9): 2144-2151.
- Grbić-Galić, D., Churchman, N., Mraković I. 1990. Microbial Transformation of Styrene by Anaerobic consortia. *Journal of Applied Bacteriology* 69 (2): 247-260.
- Guyot, J. P., Ferrer, H., Ramírez F. 1995. Methane production from acetamide in an upflow anaerobic sludge-blanket reactor based on a synergistic association between an aerobic rod and methanogens. *Applied Microbiology and Biotechnology* 43 (6): 1107-1111.
- Hengstler, J. G., Bogdanffy, M. S., Bolt, H. M., Oesch, F. 2003. Challenging dogma: Thresholds for Genotoxic Carcinogens? *Annual Reviews of Pharmacology* 43: 485-520.
- Hintze, J. L. 2000. NCSS 2000: statistical system for Windows. User's guide. NCSS. Kaysville, UT.
- Kato, M. T., Field, J. A., Lettinga, G. 1997. Anaerobe tolerance to oxygen and the potentials of anaerobic and aerobic cocultures for wastewater treatment. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 14 (4): 1-15.
- Moreno-Andrade, I., Buitrón G. 2003. Influence of the initial substrate to microorganisms concentration ratio on the methanogenic inhibition test. *Water Science and Technology* 48 (6): 17-22.
- Nieder, M., Sunarko, B., Meyer, O. 1990. Degradation of vinyl acetate by soil, sewage, sludge and the newly isolated aerobic bacterium V2. *Applied and Environmental Microbiology* 56 (10): 3023-3028.
- O'Connor, K., Duetz, W., Wind, B., Dobson A. 1996. The effect of nutrient limitation on styrene metabolism in *Pseudomonas putida* CA-3. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (10): 3594-3599.
- Shen, C. F., Guiot, S. R. 1996. Long-term impact of dissolved O₂ on the activity of anaerobic granules. *Biotechnology and bioengineering* 49 (6): 611-620.
- Stuckey, D. C., Owen, W. F., McCarty P. L. 1980. Anaerobic toxicity evaluation by batch and semi-continuous assays. *Journal Water Pollution Control Federal* 52 (4): 720-729.
- Zitomer, D. H., Shrout, J. D. 1998. Feasibility and benefits of the methanogenesis under oxygen-limited conditions. *Waste Management* 18 (2): 107-116.