EFECTO DE LOS METALES PESADOS CADMIO Y NÍQUEL SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO DE UN LODO ANAEROBIO A ESCALA DE LABORATORIO

CAMILO CÉSAR CASTRO JIMÉNEZ
JAMES LONDOÑO VALENCIA
JUAN FELIPE MORALES TABARES
UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
FACULTAD DE INGENIERÍA
Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Sanitario
Directora BEATRIZ AMPARO WILLS BETANCUR Ingeniera Sanitaria, Magíster en Ingeniera Ambiental
MEDELLÍN 2004

Tabla de contenidos

. . 1

AGRADECIMIENTOS . 3

RESUMEN . 5

ABSTRACT . 7

LISTA DE ABREVIATURAS . 9

1 INTRODUCCIÓN . . 13

2 OBJETIVOS . 15

2.1 OBJETIVO GENERAL . 15

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS . 15

3 MARCO TEORICO . 17

3.1 CONSIDERACIONES GENERALES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA . 17

3.2 TRATAMIENTO ANAEROBIO . . 18

3.2.1 Mecanismo de la digestión anaerobia. . . 19

3.2.2 Factores que influyen en el tratamiento anaerobio. . 21

3.2.3 Toxicidad Anaerobia [3.13]. . . 22

3.3 METALES PESADOS . 23

3.3.1 Cadmio y Níquel. . . 24

3.3.2 Metales pesados en la Digestión Anaerobia. . . 25

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS . 27

4. EXPERIMENTACIÓN . . 31

4.1 MATERIALES . . 31

4.1.1 Inóculo y reactores UASB. . . 31

4.1.2 Sustrato y nutrientes. . . 33

4.1.3 Botellas Serológicas. . 34

4.2 EQUIPOS . 35

4.3 MÉTODOS . 35

4.3.1 Seguimiento y operación de los reactores. . 35

4.3.2 Ensayo de degradabilidad del sustrato. . . 39

4.3.3 Ensayo de toxicidad. . 40

4.3.4 Método Estadístico para el cálculo de la CE_{50}. . . 40

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS . 41

5 RESULTADOS Y ANÁLISIS . . 43

5.1 SEGUIMIENTO Y OPERACIÓN DE LOS REACTORES UASB . 43

5.2 ENSAYO DE DEGRADABILIDAD DEL SUSTRATO . 51

5.3 ENSAYO DE TOXICIDAD . 52

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS . 59

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES . . 61

BIBLIOGRAFÍA . 63

Para mis padres y hermanos quienes me apoyaron y confiaron en mi de manera incondicional James A todos aquellos que me acompañaron y apoyaron durante estos años: Papá, Mamá, Paulina, Fabiana y mis compañeros Camilo Con el ánimo de no excluir a nadie, a todos. Felipe A la profe Beatriz por su orientación, e inducción a la investigación con espíritu creativo e independiente James, Felipe, Camilo

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

BEATRIZ AMPARO WILLS BETANCUR, I.S., MSc. Directora de la tesis y profesora de la Universidad de Antioquia

FERNANDO NARANJO PALACIO, I.S., MSc. Laboratorio de Biotecnología. Grupo GIGA. Universidad de Antioquia.

GLORIA MARIA MEJIA. Tecnóloga Química laboratorio de Ingeniería Sanitaria. Universidad de Antioquia.

PLABLO SEPULVEDA. Técnico de laboratorio Centro de Investigaciones Ambientales. Universidad de Antioquia.

BEATRIZ ELENA HENAO MURILLO. Bióloga. Universidad de Antioquia.

JORGE HUMBERTO MONCADA MONCADA. Estudiante de Ingeniería Sanitaria. Universidad de Antioquia.

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA SANITARIA. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA.

GRUPO DE INGENIERÍA Y GESTIÓN AMBIENTAL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA. UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA.

Todas aquellas personas que en una u otra forma colaboraron en la realización de la presente tesis.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se realizaron ensayos de toxicidad en botellas serológicas, en los cuales se midió la producción de biogás para cada concentración de metal adicionada.

Se llevaron a cabo ensayos preliminares para evaluar un rango amplio de concentraciones de cadmio y níquel teniendo en cuenta los siguientes factores: tiempo de contacto, producción de metano y potencial redox. El tiempo de contacto utilizado en los ensayos de toxicidad fue de 96 horas, el cual se encontró mediante una prueba de degradabilidad del sustrato.

Se determinó el rango en el cual estaba la concentración de cada metal que inhibía la producción de metano en un 50% y el ensayo final se realizó con concentraciones que estaban en dicho rango, tanto para cadmio como para níquel; esta inhibición se calculó con base en un control y aplicando el método Probit con algunas modificaciones. Los ensayos preliminares y el ensayo final se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

La concentración efectiva que inhibió la producción de metano en un 50% (CE_{50}) con un intervalo de confianza del 95% fue de 526.8 mg Ni^{2+}/L para níquel y el intervalo de 403.8 mg Ni^{2+}/L a 690.6 mg Ni^{2+}/L y de 54.2 mg Cd^{2+}/L para cadmio con un intervalo de 47.7 mgCd^{2+}/L a 60.9 mg Cd^{2+}/L

Finalmente se determino la fracción soluble de algunas concentraciones evaluadas de cadmio y níquel para evidenciar el hecho de acumulación de éstos en la biomasa anaerobia.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

ABSTRACT

On this research project toxicity assays were performed in serum bottles to measure the biogas production for every added metal concentration.

Preliminary assays were performed to evaluate a wide cadmium and nickel concentration having the following factor into account: time of contact, methane production and redox potential. The time of contact employed in the test was 96 hours which was found by means of a substrate degradation test.

The range of concentration of every metal that caused inhibition of the methane production in a 50% was determined and the final assay was performed with concentration within that range, as much for cadmium as for nickel; this inhibition was calculated based on a control and by applying the Probit method with some modifications. The preliminary and the final assays were performed without any temperature controlled.

The effective concentration that inhibited the methane production to 50% (EC_{50}) with a confidence limit of 95% was 526.8 mg Ni^{2+}/L for nickel and the interval 403.8 mg Ni^{2+}/L to 690.6 mg Ni^{2+}/L and 54.2 mg Cd^{2+}/L for cadmium with an interval of 47.7 mgCd^{2+}/L to 60.9 mg Cd^{2+}/L.

Finally the soluble fraction of some tested concentrations of cadmium and nickel to prove the accumulation of these metals in the anaerobic biomass.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

LISTA DE ABREVIATURAS

	Flow Anaerobic Sludge Blanket
	Residual
	Residual Industrial
	Residual Doméstica
	Orgánica
	de Carbono
	de Carbono
	Sulfúrico
	de Sodio
	de Retención Hidráulico
	Química de Oxígeno
	Orgánica Volumétrica
	Bioquímica de Oxígeno
	Graso Volátil
	Amortiguadora
	Metanogénica Específica
	Sólidos Volátiles / Sólidos Totales
	Teórico Esperado en el Aumento de la Actividad
	Observado en el Aumento de la Actividad

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

	Flow Anaerobic Sludge Blanket
	Ionization Detector
	Efectiva media
	de Varianza
	níquel
	cadmio

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

1 INTRODUCCIÓN

Aunque la Microbiología de la Digestión Anaerobia ha sido estudiada en muchos países, y los resultados obtenidos han permitido resolver incógnitas en cuanto al diseño y operación de diferentes tipos de reactores, los problemas de arranque y estabilidad en el comportamiento de este tipo de reactores, siguen siendo unas de las dificultades esenciales de esta tecnología. De ahí que los proyectos de investigación que se adelantan en esta área tengan como objetivo establecer si el tipo de sustrato y las condiciones de operación de la planta son los elementos más importantes en la distribución y diversidad de las principales poblaciones que se desarrollan en lodos anaerobios.

Muchas industrias como las de galvanizado, fabricación de baterías, extracción minera, fundición, producción de colorantes, entre otras, aportan cantidades apreciables de metales pesados como cadmio y níquel en sus desechos líquidos y cuando las concentraciones de estos metales dejan de ser trazas, inhiben el crecimiento y desarrollo de los procesos metabólicos de algunas poblaciones bacterianas. En algunos casos es necesario aclimatar una población microbiana para que, en presencia de algunos metales pesados, realicen la degradación de la materia orgánica presente; ya que este tratamiento puede resultar económicamente más viable que la implementación de un sistema físico-químico.

La depuración de aguas residuales industriales (A.R.I) con metales pesados como parte de sus componentes, ha sido objeto de estudio durante varios años en el mundo como se citará más adelante; en Colombia se han desarrollado investigaciones en esta

área por parte de la Universidad Nacional de Colombia, la Universidad del Valle y las Empresas Públicas de Medellín.

El Grupo de Ingeniería y Gestión Ambiental (GIGA), perteneciente a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Antioquia, ha participado en el estudio de los metales pesados en la digestión anaerobia con el desarrollo de algunos trabajos de investigación dentro de los cuales se encuentra éste, el cual pretende evaluar el efecto de los metales pesados Cadmio y Níquel sobre la producción de metano de un lodo anaerobio a escala de laboratorio.

Con esta investigación se pretende determinar cual es el límite de concentraciones de cadmio y níquel que no inhiben el proceso de remoción de carga orgánica en un reactor tipo UASB a escala de laboratorio y determinar de una forma aproximada la viabilidad de implementar este sistema a escala industrial.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración efectiva de los metales pesados Cadmio y Níquel necesaria para inhibir el 50% de la producción de metano del lodo anaerobio de un reactor tipo UASB; dicha inhibición se determinará independientemente para cada metal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la degradabilidad del sustrato para determinar el tiempo de contacto en el ensayo de toxicidad.
- Realización de ensayos preliminares para obtener un acercamiento a la concentración efectiva que inhiba en un 50% la producción de metano (CE_{50}).
- Validar los resultados obtenidos mediante análisis estadístico.
- Determinar el porcentaje soluble disponible de los metales utilizados.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

3 MARCO TEORICO

3.1 CONSIDERACIONES GENERALES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

La digestión anaerobia aplicada al tratamiento de aguas residuales (A.R.) en el mundo demostró su factibilidad en el año de 1969, con el desarrollo del filtro anaerobio de Young [3.1] en el que se lograron remociones del 87% para altas tasas de carga orgánica aplicadas. El más exitoso de los desarrollos de la digestión anaerobia de A.R. es el reactor anaerobio de flujo ascendente y manto de lodos (UASB), desarrollado por Lettinga [3.2][3.3] y basado en el principio del clarificador-digestor de flujo inverso aplicado en Sudáfrica [3.4]. Alrededor de la tecnología UASB se desarrolló en el mundo toda una generación de investigaciones que permitieron esclarecer los principios de adhesión bacterial y factores incidentes, permitiendo mejorar la digestión anaerobia a la vez que obtener lodo granular en periodos de tiempo más cortos. A su vez, se construyeron nuevas plantas de tratamiento y se amplió el espectro de aplicación a diversas clases de A.R.

Los principales tipos de sustratos tratados por digestión anaerobia en el tercer mundo [3.5] son en su orden los producidos por industrias de alimentos, cervecerías, destilerías de alcohol, pulpa y papel, azúcar, química, bebidas; agua residual doméstica

(A.R.D), entre otros.

A raíz de la cooperación entre Colombia y los países bajos se introdujo la tecnología UASB, la cual como era de esperarse cobró gran interés en nuestro medio, por su efectividad probada en otros países y por los resultados promisorios de las plantas piloto instaladas. Pronto esta tecnología tuvo un notable crecimiento: para 1994, existían más de 30 reactores en el país, mientras que en América Latina existían más de 396 reactores. No obstante el crecimiento en el número de unidades de tratamiento anaerobio, no significó su masificación ni mejoró su aceptación, ya que las plantas existentes presentan serios problemas constructivos y operacionales que no han permitido alcanzar los desempeños esperados.

3.2 TRATAMIENTO ANAEROBIO

Según Lettinga et. al. (1989) [3.6], el tratamiento anaerobio es una tecnología relativamente nueva, que ofrece muchas posibilidades:

- Lograr una protección efectiva del medio ambiente a bajo costo.
- Para países en desarrollo se hace accesible (importación no costosa de equipos).
- Para recuperar/preservar recursos y estimular la producción agrícola.

Tres rangos definidos de temperatura pueden ser distinguidos en el tratamiento anaerobio:

- Una digestión fría (psicrofílica), entre los 0ºC y 20ºC.
- Una digestión mesófilica, entre 20ºC y 42ºC.
- Una termofílica, por encima de los 42ºC hasta los 75ºC.

Los límites de estos rangos están definidos por la temperatura a la cual la velocidad de decaimiento de la bacteria empieza a exceder la velocidad de crecimiento. Si se tiene un agua residual normal, el tratamiento termofílico podría consumir demasiada energía y el psicrofílico podría consumir mucho espacio.

El tratamiento anaerobio necesita integración y un plan de tratamiento global, para lograr una completa remoción y recuperación/reuso de los constituyentes del A.R, también otros sistemas de tratamiento (por ejemplo aerobios y/o fisico-químicos) pueden ser requeridos [3.7].

Según van Haandel y Lettinga (1994) [3.8], un sistema de tratamiento anaerobio tenderá a desarrollar una población bacteriana compatible con la naturaleza de la materia orgánica MO y de las cargas hidráulicas y orgánicas. En un sistema de tratamiento maduro[1] son importantes para la eficiencia de remoción del material orgánico biodegradable los siguientes factores:

- La naturaleza del material orgánico a ser digerido.
- La existencia de factores ambientales adecuados para la digestión anaerobia.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

- Tamaño de la población bacteriana (eficiencia de retención de lodo en el sistema).
- Intensidad de contacto entre MO afluente y población bacteriana.
- Tiempo de permanencia del agua residual en el sistema.

3.2.1 Mecanismo de la digestión anaerobia.

La transformación de las macromoléculas orgánicas complejas requiere de la mediación de varios grupos diferentes de microorganismos. La figura 3.1 muestra una representación esquemática de los procesos involucrados:

Se puede decir que la digestión anaerobia tiene lugar en tres etapas generales [3.9]:

- Primeramente los componentes de alto peso molecular, tales como las proteínas y los polisacáridos, son degradados en sustancias solubles de bajo peso molecular tales como aminoácidos y azúcares, esta etapa es a veces llamada “fase de licuefacción”.

- Seguidamente, los nutrientes orgánicos son convertidos en ácidos menos grasos en una fase de “fermentación ácida”, la cual baja el pH del sistema.

- Finalmente, en la fase de “fermentación de metano” o “metanogénica”, los ácidos orgánicos son convertidos en metano, dióxido de carbono y una pequeña cantidad de hidrógeno.

Para la digestión anaerobia de proteínas, carbohidratos y lípidos, se distinguen cuatro etapas diferentes en el proceso global de conversión [3.8]:

- Hidrólisis: El proceso requiere la participación de las llamadas exoenzimas que son excretadas por las bacterias fermentativas y permiten el desdoblamiento de la MO.

1 Sistema que tiene una población compatible con el material orgánico del afluente.

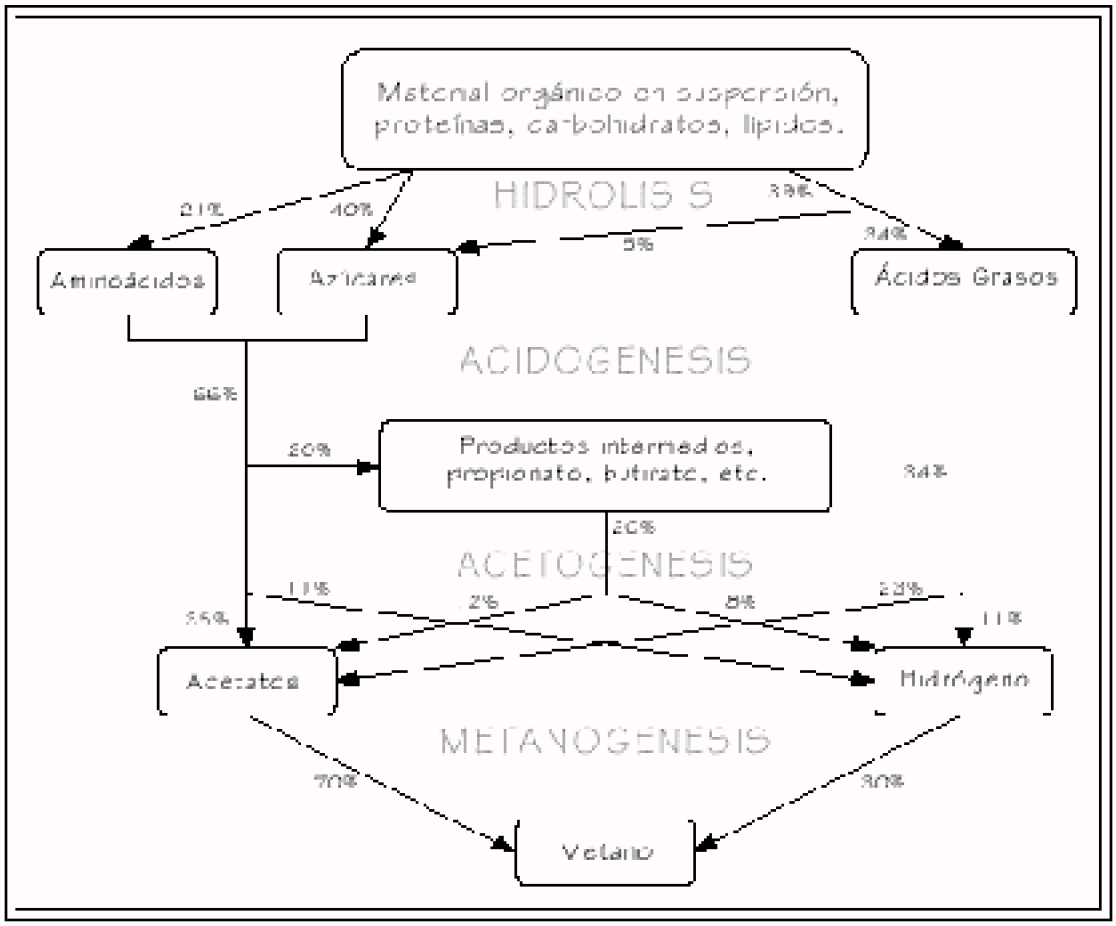

Figura. 3.1 Secuencia de procesos en la digestión anaerobia de macromoléculas complejas (los números se refieren a porcentajes, expresados como DQO). [1]

- Acidogénesis: Los compuestos disueltos, generados en el proceso de hidrólisis, son absorbidos en las células de las bacterias fermentativas y después por las acidogénicas, excretados como sustancias orgánicas simples como ácidos grasos volátiles, alcoholes, ácido láctico y compuestos minerales como CO_2, H_2, NH_3, H_2S, entre otros.

- Acetogénesis: En esta etapa, dependiendo del estado de oxidación del material orgánico a ser digerido, la formación del ácido acético puede ser acompañada por el surgimiento de CO_2 o H_2.

- Metanogénesis: En general es el paso que limita la velocidad del proceso de digestión. El metano es producido por las bacterias acetotróficas a partir de la

reducción del ácido acético o por las bacterias hidrogenotróficas a partir de la reducción del CO_2.

Las bacterias que producen metano a partir del hidrógeno crecen más rápidamente que aquellas que usan ácido acético, de modo que las metanogénicas acetotróficas generalmente limitan la tasa de transformación de la MO compleja presente en el agua

[1] Fuente: van Haandel y Lettinga (1994) [3.8].

residual en biogás. Por conveniencia muchas veces los tres primeros procesos son llamados “fermentación ácida”, que se completan con la “fermentación metanogénica” [3.10].

La producción de metano depende principalmente del estado de oxidación del carbono en la MO. Si la composición del sustrato es conocida y es completamente convertido a CH4 y CO_2 (y NH_3 en el caso que el sustrato contenga nitrógeno), la producción teórica de metano puede ser calculada de acuerdo con la siguiente ecuación [3.11]:

$C_nH_4O_bN_d + (N - a/4 - b/2 + 3d/4) \rightarrow (n/2 + a/8 - b/4 - 3d/8)\ CH_4 + (n/2 - a/8 + b/4 + 3d/8)\ CO_2 + d\ NH_3$

Generalmente el biogás obtenido contiene mucho menos CO_2 que el calculado con la ecuación anterior, debido a la alta solubilidad del CO_2 en el agua.

3.2.2 Factores que influyen en el tratamiento anaerobio.

El proceso de la digestión anaerobia, es afectado fuertemente por varios factores ambientales. Para aplicar el tratamiento anaerobio de las A.R de una forma óptima, es de gran importancia tener el conocimiento suficiente sobre el efecto de estos factores:

- Temperatura: La temperatura afecta las reacciones de equilibrio químico ocasionando cambios en la alcalinidad, pH y solubilidad de compuestos inorgánicos. La variación de la temperatura también afecta la actividad biológica. En general un aumento limitado de temperatura de corta duración hace que la actividad microbiana aumente; sin embargo si esta temperatura se mantiene, la degradación del complejo enzimático celular y el aumento de la muerte celular reducen el número de organismos e incluso pueden llegar a desaparecer especies completas.

Las tasas de asimilación del sustrato, la producción de metano y la separación sólido-líquido del efluente son más óptimas a condiciones de temperatura termofílicas.

Las bacterias metanogénicas son más sensibles a los cambios de temperatura que otros organismos en el digestor. Esto se debe a que los demás grupos crecen más rápido, como las acetogénicas, las cuales pueden alcanzar un catabolismo sustancial, incluso a bajas temperaturas [3.12].

- pH: La producción de metano se desarrolla óptimamente a un valor de pH entre 6.5 a 7.5. Valores exactos para el rango de pH no pueden ser dados ya que en algunos casos la digestión anaerobia del metano se desarrollará más allá de este rango. Si las bacterias metanogénicas no alcanzan a convertir rápidamente los AGV a medida que lo producen las bacterias acetogénicas, estos se acumulan y disminuyen el pH en el digestor. Otro aspecto importante en el que el pH tiene influencia es en la solubilidad de muchas sustancias entre ellas los metales pesados lo que hace que estos presenten mayor o menor biodisponibilidad.

- Potencial Redox: Proporciona información referente a la potencialidad de un ambiente para presentar compuestos en estado reducido u oxidado indicando la tendencia de donar o aceptar electrones; un ambiente anaerobio requiere de un bajo

potencial (-330 mV) indicando una alta actividad electrónica y un ambiente fuertemente reductor.

- Capacidad buffer: El contenido del reactor debe tener suficiente capacidad buffer para neutralizar una eventual acumulación de ácidos grasos volátiles y por supuesto la mezcla debe ser adecuada para evitar zonas ácidas dentro del reactor.

- Nutrientes: El tratamiento biológico anaerobio de las aguas residuales es desarrollado por bacterias, las cuales deben crecer durante el tratamiento, de otra forma serían lavados fuera del sistema. Por esta razón el agua residual debe contener un número de compuestos a partir de los cuales la bacteria pueda sintetizar sus constituyentes celulares.

- Toxicidad en la digestión anaerobia: Por encima de una cierta concentración cualquier componente puede ser inhibitorio, aún los ingredientes (substratos) para los organismos. Sin embargo en un rango de concentración baja muchos de estos compuestos naturales pueden estimular el metabolismo de las bacterias.

Para van Haandel y Lettinga (1994) [3.8], la temperatura es el factor ambiental de mayor importancia en la digestión anaerobia de A.R.

3.2.3 Toxicidad Anaerobia [3.13].

EL consorcio de microorganismos involucrados en el proceso de digestión anaerobia de la materia orgánica, como cualquier organismo vivo, no esta exento de ser inhibido por alguno de los compuestos presentes en el agua residual. Sin embargo, dado el hecho de que las bacterias metanogénicas tienen tiempos de generación muy prolongados, la consecuencia de la introducción de sustancias tóxicas es mayor en un sistema anaerobio que en uno aerobio. Es por esta razón que se debe conceder una especial atención a la operación de este tipo de reactores para evitar que las sustancias tóxicas entren a los sistemas anaerobios, por lo menos en concentraciones inhibitorias. Para tal fin es necesario conocer y entender a fondo el fenómeno de toxicidad.

El término toxicidad se refiere normalmente a la perturbación originada por una sustancia sobre un proceso metabólico o sobre la viabilidad del organismo en cuestión. En la práctica, durante el tratamiento anaerobio del A.R, la toxicidad se observa como una reducción en la producción de metano a consecuencia de un compuesto o una mezcla de compuestos. Cabe considerar que la inhibición causada por determinadas sustancias puede ocurrir en cualquiera de las poblaciones del consorcio bacteriano, lo que implicaría un desbalance poblacional y por consiguiente, una síntesis disminuida del producto final: el metano. Ésta implica que el efecto de un compuesto tóxico es muy complejo y no puede asumirse solamente como la inhibición de las bacterias metanogénicas, pues ellas dependen del metabolismo de las demás bacterias allí presentes; por otra parte, la magnitud de la toxicidad es función de varios factores entre los cuales se encuentra la concentración, la formación de complejos y la aclimatación entre otros.

De acuerdo con Lettinga (1999) [3.14], se pueden distinguir tres tipos de toxicidad:

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

- Toxicidad metabólica: Se refiere a la inhibición competitiva de un proceso metabólico; al retirar la sustancia tóxica, la toxicidad es completamente reversible.

- Toxicidad fisiológica: Es la inhibición que resulta del daño sobre componentes subcelulares; al retirar el compuesto tóxico ocurre la recuperación, aunque de

manera tardía. Esta demora se debe al tiempo requerido para reparar los daños ocurridos.

- Toxicidad bactericida: Se aplica a sustancias tóxicas que causan la muerte celular; luego de su remoción, la producción de metano puede que se reanude luego de mucho tiempo, pues se requiere que surja una nueva generación a partir de las células viables, lo cual se ve muy limitado por los largos tiempos de generación de las bacterias involucradas.

3.3 METALES PESADOS

Alrededor de 40 elementos en la Tabla Periódica tienen una densidad mayor o igual a 5 g/cm3 y son conocidos como metales pesados. El rasgo distintivo de la fisiología de los metales pesados, es que aún cuando muchos de ellos son esenciales para el crecimiento como el Na, K, Mg, Ca, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn y Mo, se ha reportado que también tienen efectos tóxicos sobre las células, principalmente como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas [3.15]. Debido a su movilidad en los ecosistemas acuáticos naturales y a su toxicidad para las formas superiores de vida, los iones de metales pesados presentes en los abastecimientos de agua superficial y subterráneos, se les ha dado prioridad como los contaminantes inorgánicos más importantes en el ambiente. Aún cuando se encuentren presentes en cantidades bajas e indetectables, la recalcitrancia y consiguiente persistencia de los metales pesados en cuerpos de agua, implica que a través de procesos naturales como la biomagnificación, su concentración puede llegar a ser tan elevada que empiece a ser tóxica. Los metales pesados pueden ser detectados ya sea en su estado elemental, lo que implica que no sufren modificaciones, o enlazados en varios complejos con sales. De cualquier manera, los iones metálicos no pueden ser mineralizados [3.16].

Muchos metales pesados son esenciales para el crecimiento y el metabolismo microbiano en bajas concentraciones, e. g. Cu, Zn, Mn, mientras que a otros no se les conoce función biológica, e. g. Au, Ag, Pb, Cd. Una característica de estos metales y de elementos relacionados es que pueden ser altamente tóxicos para las células vivas [3.17].

Las industrias de galvanización utilizan sales de zinc, cromo y níquel en forma de cianuros complejos, devolviéndolos en determinada cantidad a fuentes receptoras alcantarillados. El cadmio es un metal pesado que se encuentra asociado a los minerales de zinc, plomo y cobre y es emitido cuando estos metales son procesados. Aparecen también en la fabricación de baterías y pigmentos [3.18].

3.3.1 Cadmio y Níquel.

El cadmio ocupa el lugar 65 en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre, tiene un punto de fusión de 321 °C, un punto de ebullición de 765 °C y una densidad de 8,64 g/cm3. El cadmio sólo existe como componente principal de un mineral, la greenockita (sulfuro de cadmio), que se encuentra muy raramente. Casi todo el cadmio industrial se obtiene como subproducto en el refinado de los minerales de zinc. Para separar el cadmio del zinc se utiliza la destilación fraccionada o la electrólisis.

El cadmio puede depositarse electrolíticamente en los metales para recubrirlos, principalmente en el hierro o el acero, en los que forma capas químicamente resistentes. El cadmio desciende el punto de fusión de los metales con los que forma aleaciones; se usa con plomo, estaño y bismuto en la fabricación de extintores, alarmas de incendios y de fusibles eléctricos. También se utiliza una aleación de cadmio, plomo y zinc para soldar el hierro. Las sales de cadmio se usan en fotografía y en la fabricación de fuegos artificiales, caucho, pinturas fluorescentes, vidrio y porcelana. El cadmio se ha utilizado como material de control o protección en las plantas de energía, debido a su capacidad para absorber neutrones de baja energía. El sulfuro de cadmio se utiliza en un tipo de pila (batería) fotovoltaica, y las pilas eléctricas de níquel-cadmio tienen habitualmente usos especializados.

El sulfato de cadmio ($3CdSO_4 \cdot 8H_2O$) se utiliza como astringente. El sulfuro de cadmio (CdS), que aparece como un precipitado amarillo brillante cuando se pasa sulfuro de hidrógeno a través de una disolución de sal de cadmio, es un pigmento importante conocido como amarillo de cadmio. El seleniuro (CdSe), se utiliza también como pigmento.

El cadmio es el metal pesado tóxico más conocido que existe. Sus efectos se pueden resumir en que desnaturaliza las proteínas, interactúa con el calcio y el zinc en el metabolismo y produce daños en la membrana celular [3.19].

El níquel aparece bajo cinco formas isotópicas diferentes. El níquel metálico no es muy activo químicamente. Es soluble en ácido nítrico diluido, y se convierte en pasivo (no reactivo) en ácido nítrico concentrado. No reacciona con los álcalis. Tiene un punto de fusión de 1.455 °C, un punto de ebullición de 2.730 °C y una densidad de 8,9 g/cm3.

El níquel aparece en forma de metal en los meteoritos. También se encuentra, en combinación con otros elementos, en minerales como la garnierita, milerita, niquelita, pentlandita y pirrotina, siendo estos dos últimos las principales menas del níquel. Ocupa el lugar 22 en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre.

El níquel se emplea como protector y como revestimiento ornamental de los metales, en especial de los que son susceptibles de corrosión como el hierro y el acero. La placa de níquel se deposita por electrólisis de una solución de níquel. Finamente dividido, el níquel absorbe 17 veces su propio volumen de hidrógeno y se utiliza como catalizador en un gran número de procesos, incluida la hidrogenación del petróleo.

El acero de níquel, que contiene entre un 2% y un 4% de níquel, se utiliza en piezas de automóviles, como ejes, cigüeñales, engranajes, llaves y varillas, en repuestos de

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

maquinaria y en placas para blindajes. El níquel es también un componente clave de las baterías de níquel-cadmio. El níquel forma fundamentalmente compuestos divalentes, aunque se dan casos en estados de oxidación formales que varían entre -1 y +4. La mayoría de las sales de níquel, como el cloruro de níquel (ii), $NiCl_2$, sulfato de níquel (ii), $NiSO_4$, y nitrato de níquel (ii), $Ni(NO_3)_2$, presentan color verde o azul, y están generalmente hidratadas.

2 Mineral a partir del cual se extrae un metal, tal como se encuentra en el yacimiento.

Desde el punto de vista fisiológico, el níquel no es tan toxico como el cadmio, si bien algunas de sus sales pueden tener potencialmente efectos cancerígenos y mutagénicos. El metal es capaz de reaccionar con el ADN y alterar los procesos involucrados. Como integrante del metabolismo celular, el níquel hace parte de algunas enzimas, o mejor, hace parte de los sitios activos de algunas enzimas, entre las cuales están: hidrogenasa, ureasa, CO deshidrogenasa, además de ayudar a la conversión de cisteína a histidina [3.20].

3.3.2 Metales pesados en la Digestión Anaerobia.

Los efectos que los metales pesados ejercen sobre los organismos anaerobios dependen de algunos factores como la concentración del metal y la combinación entre ellos, como consecuencia resulta que a bajas concentraciones puede existir estimulación de la actividad metabólica, mientras que a altas concentraciones se produce toxicidad, o también el antagonismo donde un catión disminuye el efecto de otro. A estos fenómenos se suman la complejidad del lodo y mecanismos que afectan el comportamiento de los metales pesados en los reactores anaerobios.

La inhibición por sustancias toxicas en la digestión anaerobia se manifiesta principalmente por la disminución de la tasa de conversión de la M.O acompañada de un descenso en la producción de biogás y un incremento en la concentración los ácidos grasos volátiles con la consecuente disminución del pH si no posee la suficiente capacidad buffer. Por lo tanto comparando la remoción del material orgánico y la producción de biogás en condiciones anormales frente a condiciones normales, se puede estimar la inhibición de un reactor sometido a cargas de metales pesados.

Tinsley, I [3.21] señala que la membrana celular de las bacterias tiene gran importancia en el transporte de las sustancias al interior de la célula, la cual determina la entrada o salida al interior de ella; la forma como entran las sustancias tóxicas a la célula, se da por varios mecanismos: difusión pasiva, filtración, difusión facilitada, transporte activo, entre otros, la mayoría de las sustancias contaminantes como los metales en solución, entran a la célula utilizando el mecanismo de la difusión pasiva, donde los compuestos atraviesan la membrana celular, pasan la capa lipídica utilizando bajos gradientes de concentración. Una vez los cationes metálicos estén dentro de la célula, estos tienden a unirse con los aniones hidrosulfuros.

Los mecanismos específicos de cómo los metales pesados actúan frente a los organismos anaerobios están relacionados con cambios en los potenciales energéticos en la célula, en los electrones transportadores, en la translocalización de los sistemas del

sustrato, lo que implica cambios en la actividad enzimática o en los gradientes iónicos [3.22].

La toxicidad relacionada con los metales pesados ocurre debido a la alteración de la estructura y las funciones de las enzimas, pues éstos se unen con determinados grupos de la proteína o reemplazan los metales que ocupan normalmente el grupo prostético [3.23].

De la forma química en la cual estén los metales bajo condiciones de anaerobiosis, depende el grado en que pueden afectar los sistemas biológicos. Los metales en la forma soluble generalmente proporcionan un mayor grado de inhibición que las formas insolubles [3.24]. Es importante ver como la presencia de sulfuro precipita los iones metálicos, reduciendo el potencial tóxico bajo condiciones anaerobias, por esto es importante evaluar la fracción soluble de la dosis a las cual son expuestas las poblaciones microbianas en los ensayos de toxicidad. La resistencia a los efectos de los metales pesados se puede confinar en algunos microorganismos a la posesión de algunos factores de resistencia o plásmidos, pero los efectos de estos factores en sistemas anaerobios no están suficientemente documentados.

Las bacterias metanogénicas son más susceptibles que el resto de las bacterias a los efectos de los metales pesados y a otros tóxicos en general presentes en sistemas anaerobios. La toxicidad presentada en cada reactor anaerobio por la acción de los metales pesados es diferente y depende tanto de las condiciones de operación de éste como de la calidad del lodo.

En la tabla 3.1 se muestran varias investigaciones sobre toxicidad en digestión anaerobia y en ella se describe el tipo de reactor, algunas condiciones de operación, sustancia tóxica y sustratos utilizados, además de las variables de respuestas en los ensayos de toxicidad.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Tabla 3.1 Reporte de algunos trabajos realizados sobre toxicidad en digestión anaerobia [3.25].

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

__[3.1] YOUG, J.C and P.L McCARTY. (1969). The Anaerobic Treatment For Waste Treatment. J. Water Pollut. Control Fed. 41, R160. Citado por Look Hulshoff Pol. (1989).

[3.2] LETTINGA, G.; A.F.M. VAN VALSEN; S.W. HOBMA; W.J. DE ZEEUW Y A. KLAPWIJK. (1980). Use Of The Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor Concept For Biological Wastewater Treatment, Especially For Anaerobic treatment. Biotechn, Bioeng. 22, pp, 699-734. Citado por Look Hulshoff Pol. (1989).

[3.3] LETTINGA, G; L. W. HULSHOFF POL; S.W HOBMA; P. GRIN; P. DE YONG; R.

ROERSMA y P. IJSPEERT. (1983). The Use Of A Floating Settling Granular Sludge Bed Reactor In Anaerobic Treatment. Proceedings Of The European Symposium On Anaerobic Wastewater Treatment. 23-25 Nov, 1983. Noordwijkerhout, The Netherlands. Pp, 411-430. Citado por Look Hulshoff Pol. (1989).

[3.4] CILLIE, G.C.; M.R. HENZEN; G.J. STANDER y R.D. BAILLIE. (1969) Anaerobic Digestion – IV. The Application Of The Process In Waste Purification. Water Research, 3, 623-643. Citado por Look Hulshoff Pol. (1989).

[3.5] Ibid.

[3.6] LETTINGA, G. HULSHOFF, P. y Field, J. (1989). Posibilidades y Potencial del Tratamiento Anaeróbico de Aguas Residuales con Enfasis en el Sistema UASB. Presentado en “Seminario Internacional sobre Digestión Anaeróbica - Elementos de Diseño”. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

[3.7] Ibid.

[3.8] VAN HAANDEL, A. y LETTINGA, G.. Tratamento Anaeróbio de Esgotos – Um Manual para Regioes de Clima Quente. EpGraf, Campina Grande – PB, Brasil 1994.

[3.9] Orozco, A. (1989). Manual sobre Digestión Anaerobia, Capítulo I: Generalidades. Presentado en “Seminario Internacional sobre Digestión Anaeróbica - Elementos de Diseño”. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

[3.10] MEJIA M., Jorge H., Diseño, Construcción y Evaluación de un Reactor UASB para el Tratamiento de Aguas Residuales. Cochabamba, 1999. 16 p. Tesis (Licenciado en Ingeniería Química). Universidad Mayor de San Simón. Facultad de Ciencias y Tecnología.

[3.11] LETTINGA, G. y HULSHOFF, P. (1995). Anaerobic Wastewater Treatment Technology with Emphasis to Upflow Anaerobic Sludge Bed (UASB) Reactor Systems, Tecnología de Reactores Anaeróbicos. Presentado en “Curso-Taller Internacional sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales”, febrero 13–marzo 17 de 1995. Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

[3.12] SCHMID, L.A. and LIPPER, R.Z. 1969. Swine wastes, characterization and anaerobic digestion. Citado por: R. SOSA, R. CHAO y J. DEL RÍO. Aspectos Bioquímicos y tecnológicos del tratamiento de residuales agrícolas con producción de biogás. En: http://www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/rccpn/rev62/RCPP62art1.htm. Consulta Agosto de 2003.

[3.13] DÍAZ-BÁEZ, María C., ESPITIA V., Sandra E. y MOLINA P., Francisco. Digestión Anaerobia, una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Bogotá: Unibiblos, 2002. p. 90.

[3.14] LETTINGA G. et al. En: Lecture notes: “Biological wastewater treatment. Part one: Anaerobic Wastewater Treatment”. Wageningen University. 1999. Citado por: DÍAZ-BÁEZ, María C. et al. En: Digestión Anaerobia, una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Bogotá: Unibiblos, 2002. p. 91.

[3.15] CAÑIZARES, Rosa. Biosorción de Metales Pesados Mediante el uso de Biomasa Microbiana. En: Revista Latinoamericana de Microbiología. No. 42: 131-143, 2000.

[3.16] ATKINSON, B. W. et al. Considerations for application of biosorption technology to remediate metal-contaminated industrial effluents. Water SA. 1998. 24:129-135.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

Citado por: CAÑIZALES, ROSA. Biosorción de Metales Pesados Mediante el uso de Biomasa Microbiana. En: Revista Latinoamericana de Microbiología. No. 42: 131-143, 2000.

[3.17] GADD, G. M. Microorganisms and heavy metal toxicity. Microbial Ecol. 1978. 4:303–317. Citado por: CAÑIZALES, ROSA. Biosorción de Metales Pesados Mediante el uso de Biomasa Microbiana. En: Revista Latinoamericana de Microbiología. No. 42: 131-143, 2000.

[3.18] COTORUELO, Luis., MARQUEZ, Dolores. Los Metales Pesados en las Aguas: (I) Su origen. Acción de agentes biológicos. En: Revista Ingeniería Química. Madrid. Vol. 31, No. 356, p263-266. Abril 1999.

[3.19] NIES, Dietrich H. Microbial heavy metal resistance: Molecular biology and utilisation for biotechnological processes. En: http://bionomie.mikrobiologie.uni/hlle.de/Reviews/Reviews%201999.html, consulta Mayo de 2003.

[3.20] Ibid.

[3.21] TINSLEY, Ian. Chemical Concepts in Pollutant Behavior, a wiley-Interscience publication, Canada. 1979.

[3.22] FORERO C., Luis E., Efecto de Dos Metales Pesados, Cadmio y Níquel, Sobre la Eficiencia de Remoción de Carga Orgánica de un Reactor UASB a escala de Laboratorio. Medellín, 2003. p 32. Tesis (Magíster en Ingeniería Ambiental). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería.

[3.23] HICKEY, R., Vanderwielen, J. y Switzenbaum, M. “The effect of Heavy Metals on Methane Production and Hydrogen and Carbon Monoxide Levels During Batch Anaerobic Sludge Digestion”. En: Water Research, 23:207-218. Citado por: DÍAZ-BÁEZ, María C.; ESPITIA V., Sandra E. y MOLINA P., Francisco. En: Digestión Anaerobia, una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Bogotá: Unibiblos, 2002. p. 93.

[3.24] LESTER, J. “Heavy Metals in Wastewater and Sludge Treatment Processes”. New York, Ed. CRC Press Boca Ratón, vol. 1 y 2, 1987. Citado por: FORERO C., Luis E., Efecto de Dos Metales Pesados, Cadmio y Níquel, Sobre la Eficiencia de Remoción de Carga Orgánica de un Reactor UASB a escala de Laboratorio. Medellín, 2003. p 33. Tesis (Magíster en Ingeniería Ambiental). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería.

[3.25] NARANJO P., Fernando. Evaluación del Efecto Tóxico que tienen el Cloruro de Cromo y el Acetato de Plomo sobre el Metabolismo de un Lodo Anaerobio. Medellín, 2003. Tesis (Magíster en Ingeniería Ambiental). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

4. EXPERIMENTACIÓN

4.1 MATERIALES

4.1.1 Inóculo y reactores UASB.

EL inoculo para los ensayos de toxicidad, se tomó de tres reactores UASB a escala de laboratorio, previamente estabilizados y funcionando bajo las siguientes condiciones de operación:

- DQO afluente: 1200 mg.L-1
- % Remoción: 84 %
- TRH: 16 h
- Velocidad ascensional: 0.11 $m.h^{-1}$
- COV : 1.84 Kg $DQO.m^{-3}.d^{-1}$

En la figura 4.1 se ilustra el montaje de los reactores UASB y en la figura 4.2 se presenta un esquema de uno de los reactores.

Figura 4.1. Montaje de reactores UASB a escala de laboratorio 20

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

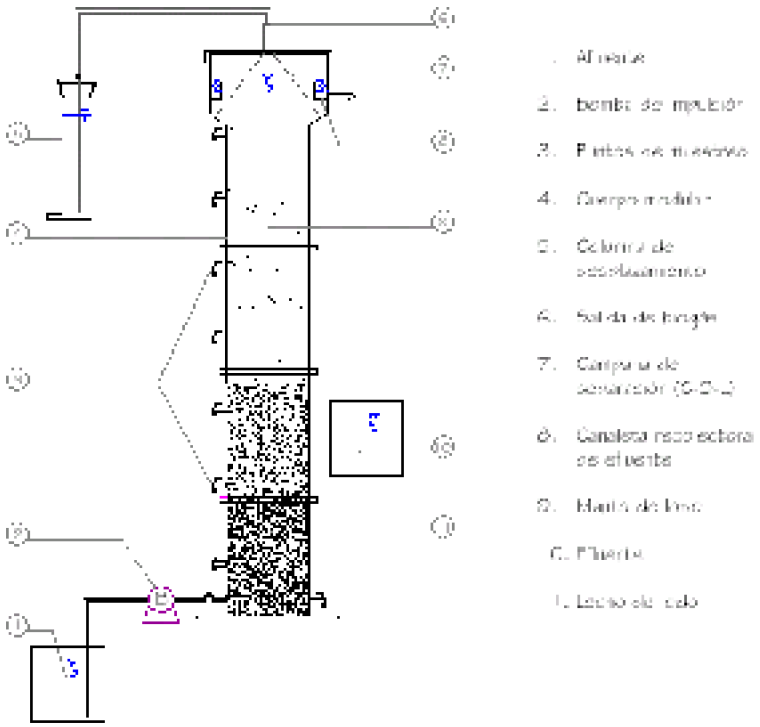

Figura 4.2. Esquema de un reactor UASB a escala de laboratorio

4.1.2 Sustrato y nutrientes.

El sustrato, con la DQO requerida para la alimentación de los reactores durante el periodo de operación, se preparaba diariamente agregando por litro de agua envejecida[3], 1.09g de suero sintético en polvo, 1.0 mL de nutrientes y 0.45g de bicarbonato de sodio (NaHCO3) para suministrarle capacidad buffer al sistema. La composición química del suero sintético es:

3 Agua almacenada durante un tiempo suficiente para disminuir su nivel de oxígeno disuelto hasta una concentración tal que no afecte las poblaciones anaerobias estrictas. - Fósforo: 6.7 mg PO_4^-.L-1

- Nitrógeno: 12.6 mg NTK.L^{-1}
- DBO_5: 652mg O_2 .L^{-1}

- DQO: 1200mg O_2 .L^{-1}
- Acidez: 7.4 mg $CaCO_3$.L^{-1}
- Alcalinidad: 28 mg $CaCO_3$.L^{-1}
- Grasas: 25.6 mg Grasas.L^{-1}

Los nutrientes inorgánicos se suministraron a partir de una solución con una composición como la de la tabla 4.1.

Compuesto	$mg.L^{-1}$
K_2HPO_4	35.52
KH_2PO_4	21.60
NH_4Cl	81.60
$MgSO_4.7H_2O$	10.80
$CaCl_2.2H_2O$	7.20
$CoCl_2.H_2O$	2.16
$MnSO_4.4H_2O$	1.80
$CuSO_4.5H_2O$	0.60
$FeSO_4.7H_2O$	2.40
$NiSO_4.6H_2O$	0.29
Na_2MoO_4	0.14

Tabla 4.1. Nutrientes inorgánicos adicionados al sustrato [4.1].

4.1.3 Botellas Serológicas.

En los ensayos de Actividad Metanogénica Especifica (AME), biodegradabilidad del sustrato y ensayo de toxicidad se utilizaron botellas serológicas de 60 mL. En estas botellas se representaban las condiciones de los reactores UASB, pero de forma estática (batch), selladas herméticamente para cuantificar el metano producido. En la figura 4.3 se muestra esta unidad experimental.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

Figura 4.3. Unidad Experimental

4.2 EQUIPOS

En la tabla 4.2 se relacionan los equipos usados en la presente investigación, sus referencias y los métodos o ensayos en los cuales se utilizaron.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Seguimiento y operación de los reactores.

En la tabla 4.3 se muestran los métodos utilizados en el seguimiento y operación de los reactores UASB.

Tabla 4.2. Equipos usados en la investigación.

Equipo	Referencia	Ensayos ó métodos
Cámara de anaerobiosis	PLAS-LAB 855 AC	AME
Cromatógrafo de gases	HEWLETT PACKARD 6890	AME, Biodegradabilidad del sustrato, Ensayos de Toxicidad
Termorreactor	Spectroquant TR620. MERCK	Determinación de la DQO
Espectrofotómetro de Absorción Atómica	GBC 932 Plus	Biodisponibilidad de los Metales
Espectrofotómetro	Spectronic 20 GENESYS	Determinación de la DQO
Microscopio	NIKON ALPHAPHOT-2 YS2	Observación del Lodo
pH-metro	SCHOOTT CG 840 B	Medición de pH
Medidor de potencial REDOX	Electrodo de platino marca Orión	Medición de potencial REDOX
Balanza analítica	Sartorius BP 210S	Preparación del alimento y otros compuestos
Mufla	Termolyne 30400	Determinación de lossólidos
Estufa	WTB BINDER	Determinación de los sólidos, AME
Autoclave	All America Model Nº25X	Esterilización

Tabla 4.3 Métodos utilizados en el seguimiento y operación de los reactores UASB.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

Parámetros determinados al A.R [4.2]				
Parámetro	**Unidad**	**Método**	**Frecuencia**	**Fuente**
pH afluente y efluente	Unidad de pH	4500-H	1 vez día	Método estándar
Índice buffer	-------	2320B	1 vez semana	Método estándar
AGV's	$meq.L^{-1}$	5260B	1 vez semana	Método estándar
DQO afluente y efluente	$mg.L^{-1}$	5220D	1 vez semana	Método estándar
Parámetros determinados al lodo anaerobio				
Sólidos totales y volátiles	$mg.L^{-1}$	2540	4 veces	Método estándar
Producción de biogás	$mL.h^{-1}$	Desplazamiento	1 vez día	Método Normalizado UdeA
AME	$gDQO.g^{-1}SSV.d^{-1}$	Cromatográfico	1 vez	Método Normalizado UdeA
Observaciones al microscopio del lodo	-------	Coloración de Gram modificada	1 vez	Método Normalizado UdeA

- Producción de Biogás.

En el ensayo para determinar la cantidad de biogás producida por el lodo de los reactores UASB se utilizaron columnas cilíndricas de vidrio, con un diámetro interno de 4.14 cm y una altura de 48 cm. El principio del funcionamiento de este sistema está basado en el desplazamiento del líquido (agua) que se encuentra dentro de la columna por el empuje que le genera el biogás que se produce en el reactor y que es conducido hasta dicha columna, la figura 4.4 muestra en detalle este sistema.

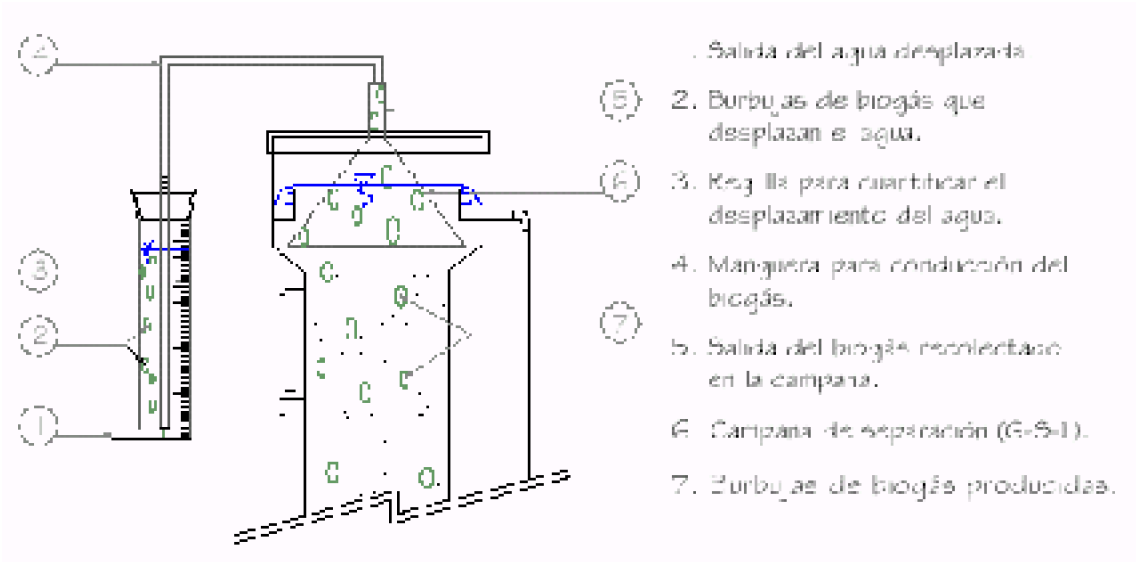

Figura 4.4. Sistema para cuantificar la producción de biogás.

- Actividad Metanogénica Específica (AME).

El ensayo de AME se realizó como lo describen Molina et al, 2002 [4.3]. Se trabajó con un sistema no agitado, una concentración de SSV de 1.3 g/L, una DQO de 4.0 g/L y el montaje se realizó en botellas serológicas de 60 mL (como se ilustra en la figura 4); a las cuales se les adicionó 15.6 mL de medio de cultivo, 0.2 mL de solución de vitaminas diluida, 0.2 mL de solución de Na_2S, la inoculación se realizó bajo condiciones anaerobias (cámara anaerobiosis) adicionando 2.0 mL de lodo, finalmente se adicionaron 2.0 mL del sustrato para obtener un volumen de fase liquida de 20 mL, dejando el volumen restante para la acumulación del metano producido. Los sustratos utilizados fueron ácidos fórmico, acético, propiónico y butírico, cada sustrato se utilizó de forma independiente adicionalmente se prepararon botellas sin sustrato (control) con el fin de corregir la producción de metano por respiración endógena. La adición de las soluciones estériles (vitaminas y agente reductor Na_2S) se llevo a cabo con jeringa estéril, purgada con N_2 y se flameo el tapón de las botellas al realizar este procedimiento. Luego del montaje se colocaron las botellas de forma invertida (para crear un sello hidráulico) a una temperatura de 35 ^{o}C para su incubación. El seguimiento de la actividad metanogénica para cuantificar el metano presente en la fase gaseosa de la botella se llevo a cabo por cromatografía de gases; las condiciones para este método se describen en la tabla 4.4. Además se llevo a cabo una segunda alimentación cuando el incremento en la producción de metano fue nulo, en la cual se adicionó la misma concentración de sustrato utilizada inicialmente. El ensayo se terminó cuando el incremento en la producción de metano nuevamente fue nulo. La figura 4.5 muestra la secuencia del montaje experimental de AME.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

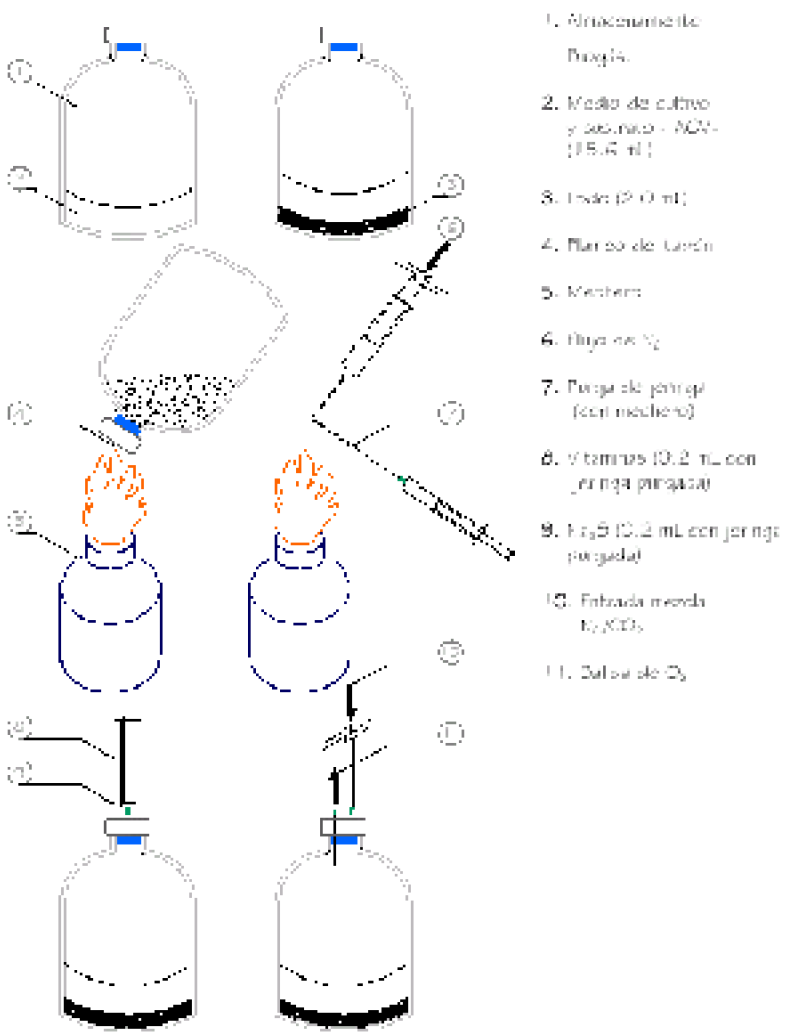

Figura 4.5 Ensayo de AME

- Observaciones al microscopio.

El lodo fue observado en el microscopio electrónico con el fin de constatar su actividad biológica e identificar a grandes rasgos las poblaciones que lo conforman. Las observaciones al microscopio se hicieron utilizando placas en fresco y coloreadas. La coloración empleada fue la de Gram modificada por Kopeloff para anaerobiosis [4.4]

4.3.2 Ensayo de degradabilidad del sustrato.

Para definir el tiempo de contacto, es decir el tiempo necesario para evaluar la toxicidad de estos metales, fue necesario realizar un ensayo de degradabilidad del sustrato (ácido acético). Para este ensayo se hizo un montaje similar al realizado para el ensayo de AME pero a temperatura ambiente y con un volumen de trabajo en cada botella de 30 mL, el cual estaba compuesto por sustrato (ácido acético), nutrientes (los macro y

micronutrientes utilizados en la operación del reactor), inoculo (lodo anaerobio proveniente de los reactores UASB estabilizados) y agua destilada, dejando el resto de volumen para la acumulación del metano; el ensayo se hizo por duplicado y a cada muestra le correspondía un control, el cual sólo contenía lodo y agua destilada.

Se mantuvieron las condiciones anaerobias dentro de las botellas mediante un intercambio de gases (se desplazaba el oxígeno por una mezcla de nitrógeno y dióxido de carbono). Se mantuvo una relación DQO /SSV de 0.8.

La degradación del ácido acético se evaluó indirectamente a partir de su conversión a metano y su producción se cuantificó utilizando el mismo método cromatográfico de AME. Se calculó la tasa de producción de metano y el ensayo se detuvo cuando dicha tasa presentó una tendencia a disminuir.

4.3.3 Ensayo de toxicidad.

El ensayo de toxicidad fue desarrollado en botellas serológicas de 60 ml utilizando cloruro de níquel hexahidratado ($Cl_2Ni.6H_2O$) y cloruro de cadmio 2,5 aguas ($Cl_2Cd.2,5H_2O$) para obtener los cationes metálicos Ni^{2+} y Cd^{2+} como tóxicos. El montaje de este ensayo es el mismo del ensayo de biodegradabilidad, con la

única diferencia que adicionalmente se agregaba el tóxico (Ni^{2+} ó Cd^{2+}) en la concentración requerida, pero manteniendo siempre el volumen final de 30 mL.

La inhibición fue estimada comparando la producción de metano del control con la producción de las botellas que contenían las diferentes concentraciones de toxico, se evaluó cada 24 horas hasta las 96 horas, que fue el tiempo de contacto obtenido en el ensayo de degradabilidad del sustrato.

El seguimiento de la producción de metano se llevo a cabo por Cromatografía de gases (Cromatógrafo FID HEWLETT PACKARD 6890) cada 24 horas durante 4 días.

4.3.4 Método Estadístico para el cálculo de la CE_{50}.

Para la determinación de la CE_{50} se utilizó el método Probit, el cual consiste en una serie de procedimientos estadísticos para analizar datos de experimentos de toxicidad aguda y se fundamenta en una distribución normal alrededor de los porcentajes de mortalidad. Este método proporciona una estimación de la CL_{50} de una sustancia tóxica y permite probar la precisión de esta estimación [4.5], pero en esta investigación se utilizó para determinar la CE_{50} ya que la respuesta a la toxicidad no se cuantifico con base en la mortalidad de los microorganismos, sino que se evaluó indirectamente a través de la inhibición en la producción de metano. Antes de desarrollar este método se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar los efectos de las diferentes concentraciones evaluadas y la similitud en los resultados para las repeticiones; se basa en la aplicación del modelo lineal aditivo que representa las diferentes fuentes de variación de los datos, los supuestos propuestos en el análisis de varianza son [4.6]: (a) los errores ξ_{ij} deben ser independientes; (b) los errores ξ_{ij} deben tener distribución normal $N(0, \sigma^2)$ y (c) cada concentración (tratamiento) define una subpoblación con distribución

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

normal $N(\mu_j, \sigma^2)$, la varianza es constante e igual para todos los tratamientos, es decir se requieren varianzas homogéneas. En este análisis se plantean las siguientes hipótesis:

H_o= Los efectos de cada concentración (tratamientos) son iguales a cero.

H_1= Al menos el efecto de una concentración (tratamiento) es diferente de cero. Al representar gráficamente los porcentajes de mortalidad acumulados (que para esta prueba de toxicidad corresponde al porcentaje de inhibición en la producción de metano) en función de las concentraciones de la sustancia tóxica, se obtiene una curva sigmoidal[3]. En el análisis Probit los porcentajes de inhibición son convertidos a Probits (Unidades de probabilidad o desviaciones equivalentes normales) y las concentraciones del tóxico son convertidas a logaritmos. De esta manera, al graficar los resultados se obtiene una línea recta en lugar de una curva sigmoidal, a partir de la cual se puede estimar la CE_{50} y su precisión. El cálculo de las transformaciones Probit se hace a partir de la integral de la distribución acumulada y ha sido tabulada por Finney (1952) [4.7], entre otros. Henao (1992), muestra los pasos detallados para la aplicación del método Probit.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[4.1] LIN, CHIU-YUE AND CHEN, CHIN-CHAO. Effect of heavy metals on the methanogenic UASB granule. En: Water Research. Vol 33 No. 2 pp 409-416. 1999.

[4.2] APHA, AWWA, WPCF. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 17th ed., American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. Washington D.C. 1989.

[4.3] DÍAZ-BÁEZ, María C.; ESPITIA V., Sandra E. y MOLINA P., Francisco. Digestion Anaerobia, una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Bogotá: Unibiblos, 2002. p 108.

[4.4] ISENBERG, Henry, D. Clinical Microbiology Procedures: Handbook pp 1.5.2. 1992.

[4.5] HENAO M., Beatriz H. Determinación de la Toxicidad Letal del Clorpirifos sobre la Mojarra Plateada Oreochromis niloticus. Medellín, 1992. p 39. Tesis (Bióloga). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingenieria.

[4.6] DÍAZ, Abel. Diseño Estadístico de Experimentos. Primera Edición. Medellín: Universidad de Antioquia. 1999. 31

3 Es una función matemática que representa una variable que se incrementa primero lentamente luego se acelera y finalmente se desacelera, eventualmente crece muy poco o declina.

[4.7] FINNEY, DJ. Probit analysis, a statistical treatment of the sigmoid response curve. 2nd ed. Cambridge: University Press. P 318. Citado por: HENAO M., Beatriz H. Determinación de la Toxicidad Letal del Clorpirifos sobre la Mojarra Plateada Oreochromis niloticus. Medellín, 1992. p 39.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

5 RESULTADOS Y ANÁLISIS

A continuación se presentan los resultados obtenidos y su respectivo análisis, tanto para el seguimiento y operación de los tres reactores UASB como para los demás ensayos realizados con el fin de obtener la CE_{50} de los metales pesados evaluados.

5.1 SEGUIMIENTO Y OPERACIÓN DE LOS REACTORES UASB

La Figura 5.1 ilustra sobre el comportamiento del pH del efluente de cada uno de los tres reactores durante la fase correspondiente a su seguimiento y operación. Esta variable fue muy similar para los tres reactores y osciló entre 6,0 y 8,3 unidades de pH, pero gran parte del tiempo se mantuvo entre 7,0 y 7,5; intervalo en el cual la mayor parte de los AGV se encuentran en la forma ionizada (no tóxica para el sistema) [5.1].

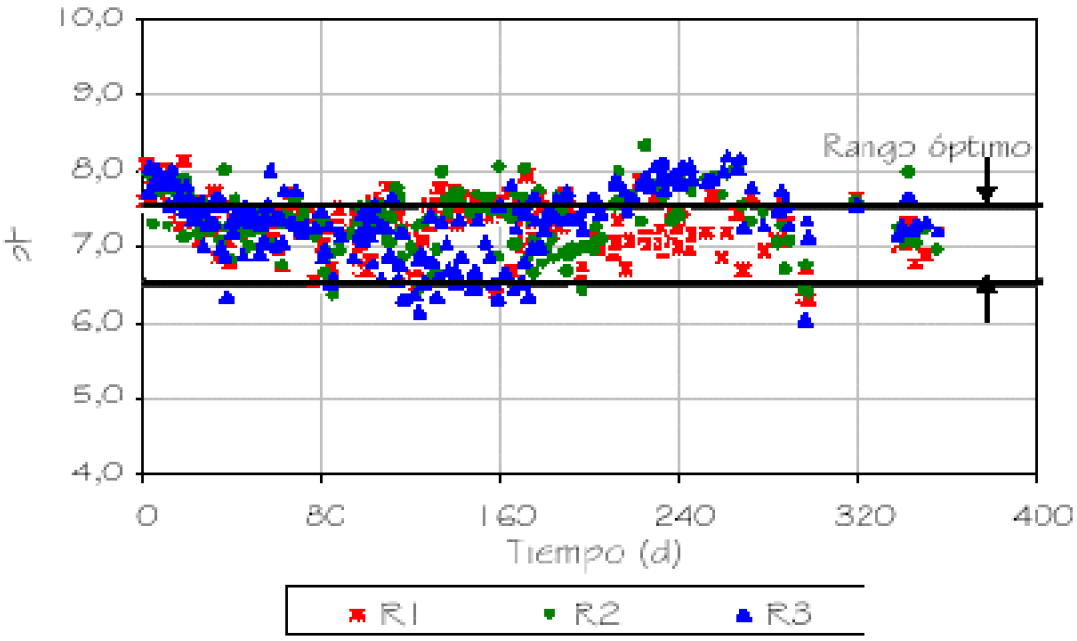

Figura 5.1 Variación del pH

La Figura 5.2 corresponde a los resultados de la variable AGV del efluente de cada uno de los reactores; el máximo valor obtenido fue de 2,2 meq.L^{-1}, lo que indica que esta variable siempre permaneció en un rango óptimo (menos de 3,0 meq.L^{-1}), sin ocasionar inhibición a la población matanogénica. Estos niveles bajos de AGV indican que dicha población estaba en capacidad de metabolizar una mayor concentración de estos ácidos y por consiguiente el sistema podría soportar un aumento de la carga orgánica aplicada [5.2].

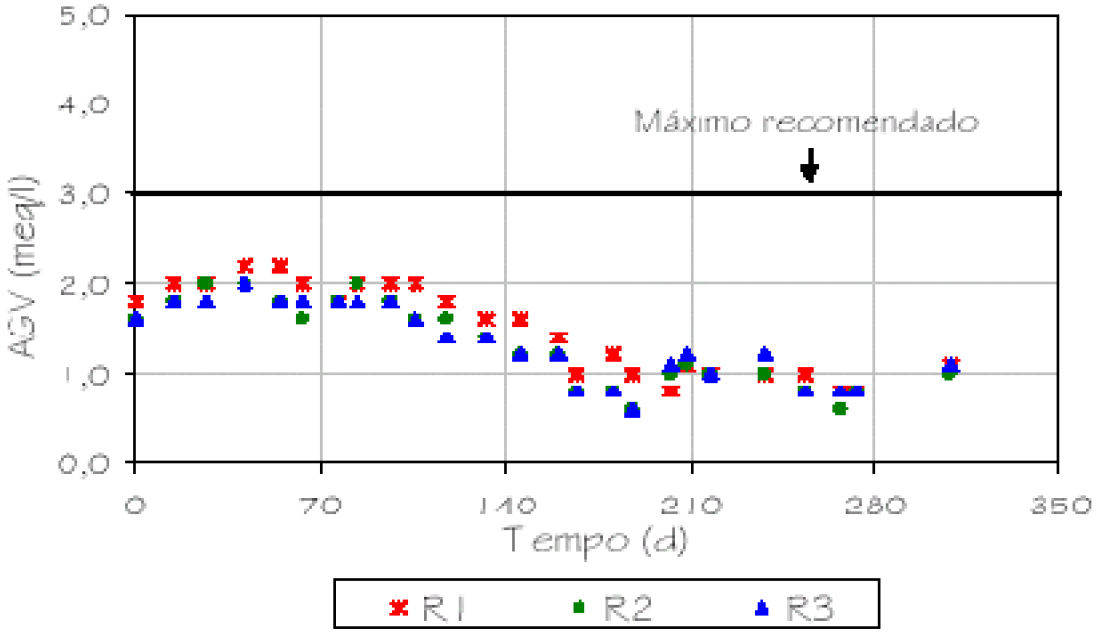

Figura 5.2 Variación de AGV

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

La variación de la capacidad amortiguadora en el efluente C.A, se muestra en la Figura 5.3; en ella se observa que aproximadamente a partir del día 90 y hasta el final de la investigación esta variable fue superior a 0,35, que es el valor máximo que se debe alcanzar en digestores anaerobios para evitar que el sistema empiece a acidificarse [5.3]. Según esto el sistema presentaba acidificación, pero comparando estos resultados con la producción de AGV, se puede notar que el sistema no presenta problemas por la acumulación de estos ácidos, como se mencionó anteriormente.

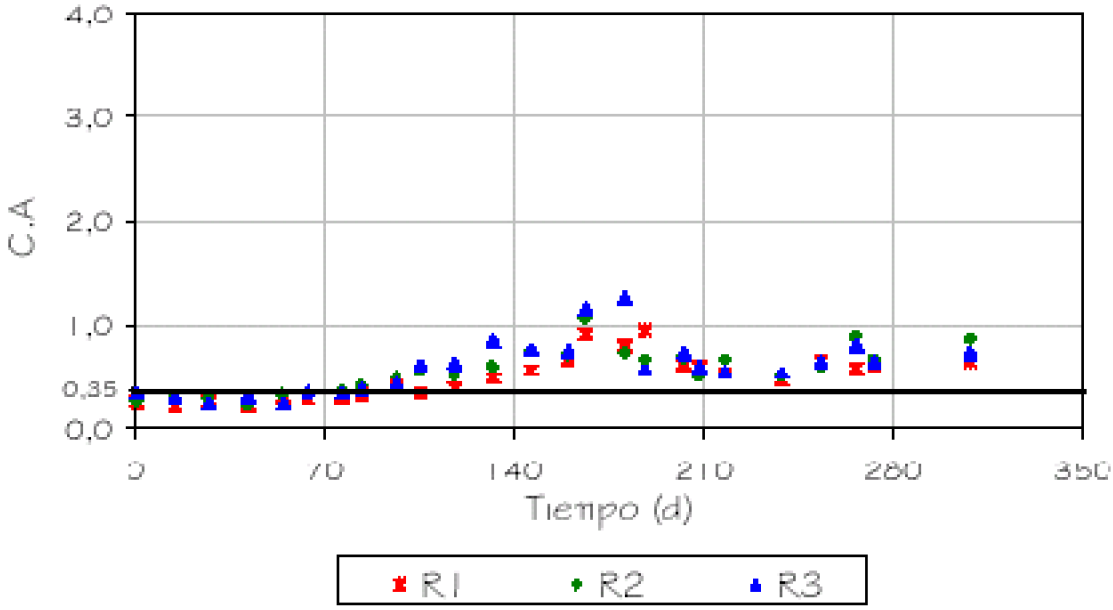

Figura 5.3 Variación de la Capacidad Amortiguadora

En la Figura 5.4 se presentan los porcentajes de remoción de DQO obtenidos para cada uno de los reactores, cuya carga orgánica aplicada fue constante (1.84 Kg DQO.m^{-3}.d^{-1}). Se destaca que esta remoción siempre estuvo por encima del 90%, indicando buena afinidad de la población microbiana por el sustrato y favorables condiciones de estabilidad.

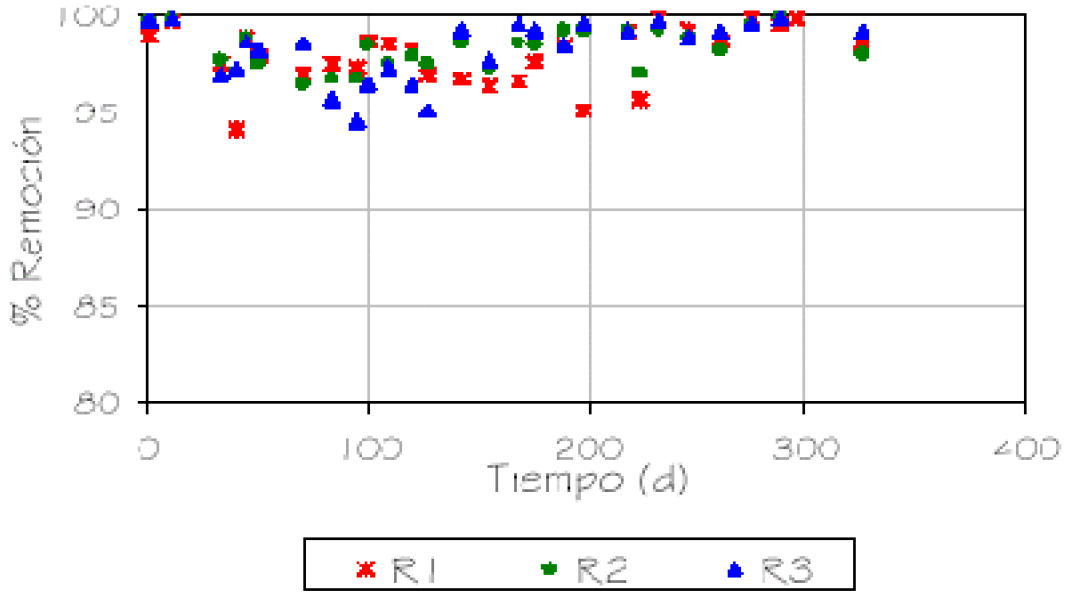

Figura 5.4 Variación del porcentaje de remoción de DQO.

La Figura 5.5 muestra la variación de la producción de biogás medida y esperada durante la etapa de seguimiento y operación de los reactores. En ninguno de los reactores la cantidad de biogás medida se acerca al valor esperado calculado con base en la DQO removida como sigue:

$$COV = 1.84 \frac{Kg\ DQO}{m^3 d}$$

Volumen reactor = 7.6 L

DQO removida = COV * Volumen reactor * % Remoción =

$$= 0.57 \frac{g\ DQO}{h}$$

Asumiendo que el 3% de la energía removida se convierte en biomasa, la energía disponible para ser transformada a biogás sería:

$$0.57 \frac{g\ DQO}{h} * 97\% = 0.55 \frac{g\ DQO}{h}$$

Por cada gramo de DQO removida se producen 380 mL CH_4 a 23 °C y 1 Atm de presión, por lo tanto para la energía disponible y a condiciones locales se produciría:

$$\frac{mL\ CH_4}{h} = 380 \frac{mLCH4}{g\ DQO} * 0.55 \frac{g\ DQO}{h} * \frac{760\ mmHg}{644\ mmHg} = 247 \frac{mL\ CH_4}{h}$$

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

Asumiendo que el 70% del biogás producido es metano:

$$\frac{mL\ Biogás}{h} = 247\ \frac{mL\ CH_4}{h} * \frac{100\ mL\ Biogás}{70\ mL\ CH_4} = 354\ \frac{mL\ Biogás}{h}$$

La figura 5.5 muestra claramente que el sistema de medición de biogás no es el más adecuado y el análisis estadístico de la Tabla 5.2, para esta variable, confirma este hecho.

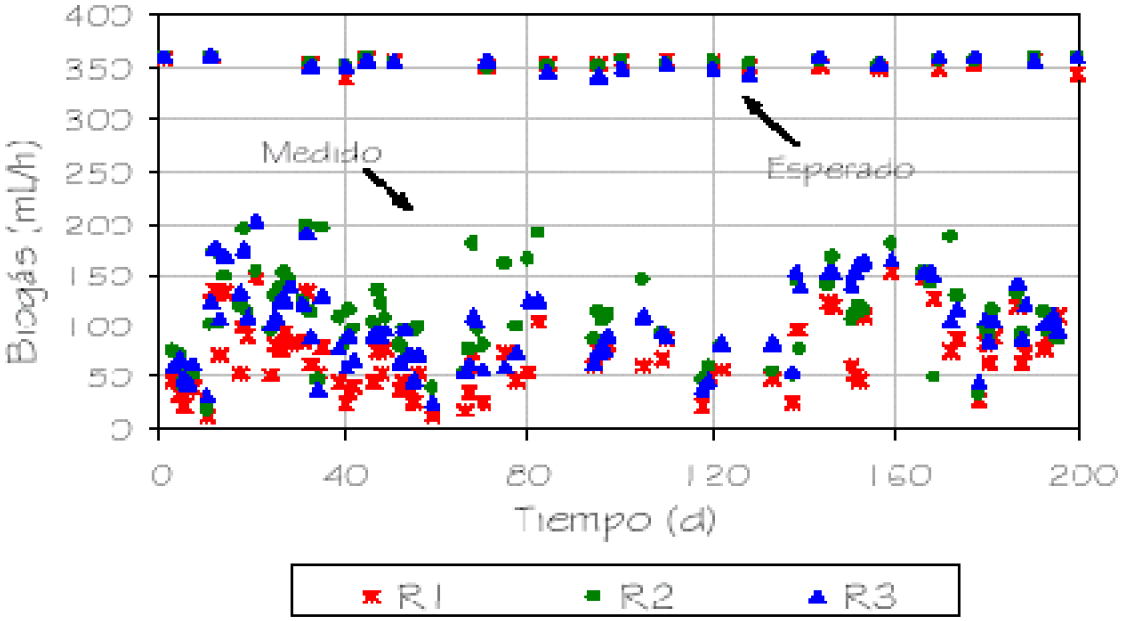

Figura 5.5 Variación de la producción de Biogás.

Los resultados de la variable SSV se presentan en la Figura 5.6, en la cual se observa que en el periodo inicial hubo un aumento de la concentración, lo cual indica crecimiento de la población bacterial; luego se presentó un descenso, posiblemente debido a que en este periodo se habían realizado ensayos preliminares y el ensayo de degradabilidad del sustrato, para los cuales fue necesario extraer lodo de los reactores, lo cual pudo haber ocasionado dicha disminución en los SSV.

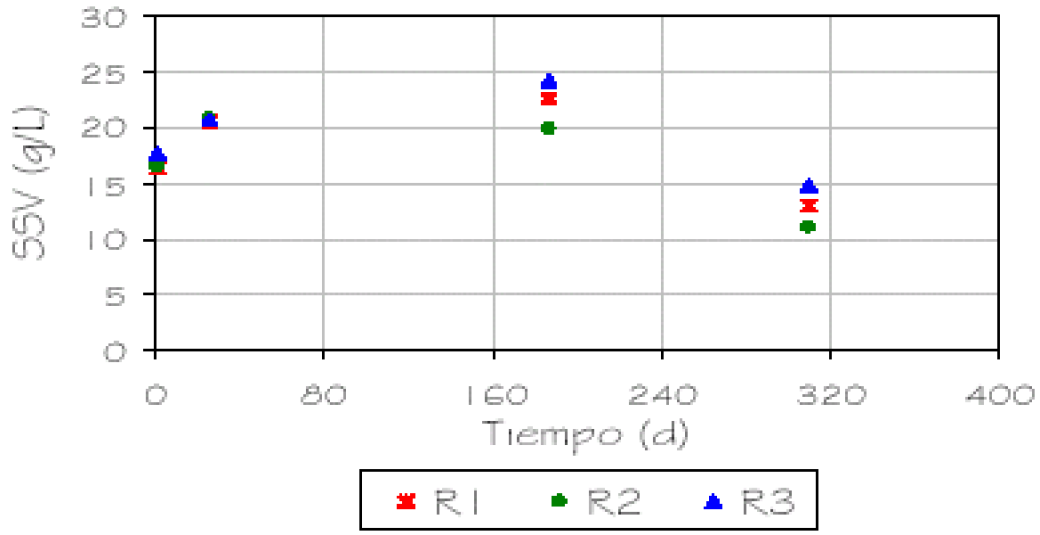

Figura 5.6 Variación de los SSV

La Figura 5.7 muestra la relación SSV/SST, la cual se determinó con el fin de evaluar directamente el crecimiento bacteriano. Con el tiempo se observó una mayor fracción de SSV en los tres reactores, lo que supone mayor cantidad de bacterias o mayor afinidad por el sustrato.

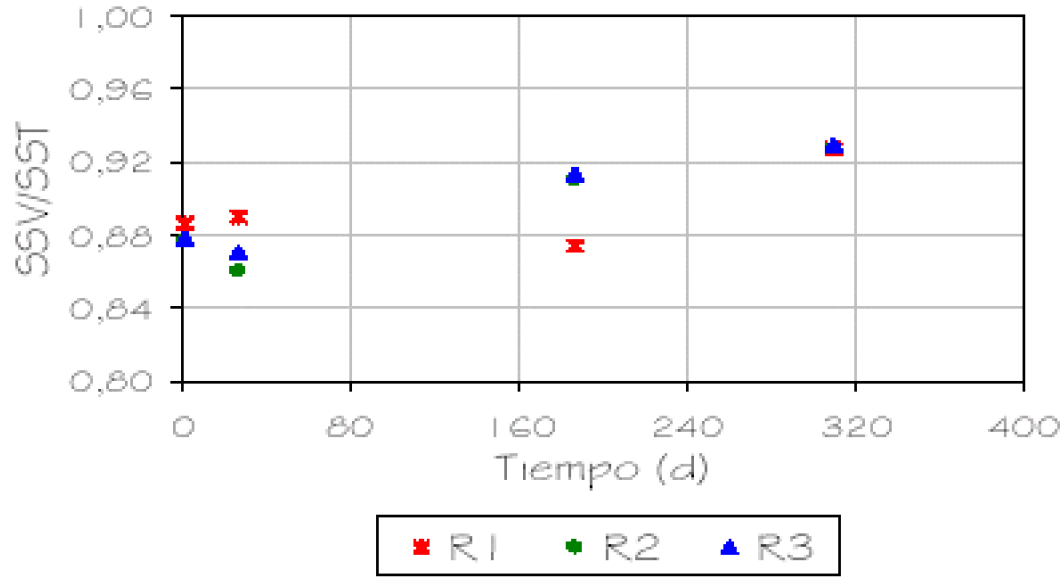

Figura 5.7 Variación de la relación SSV/SST

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

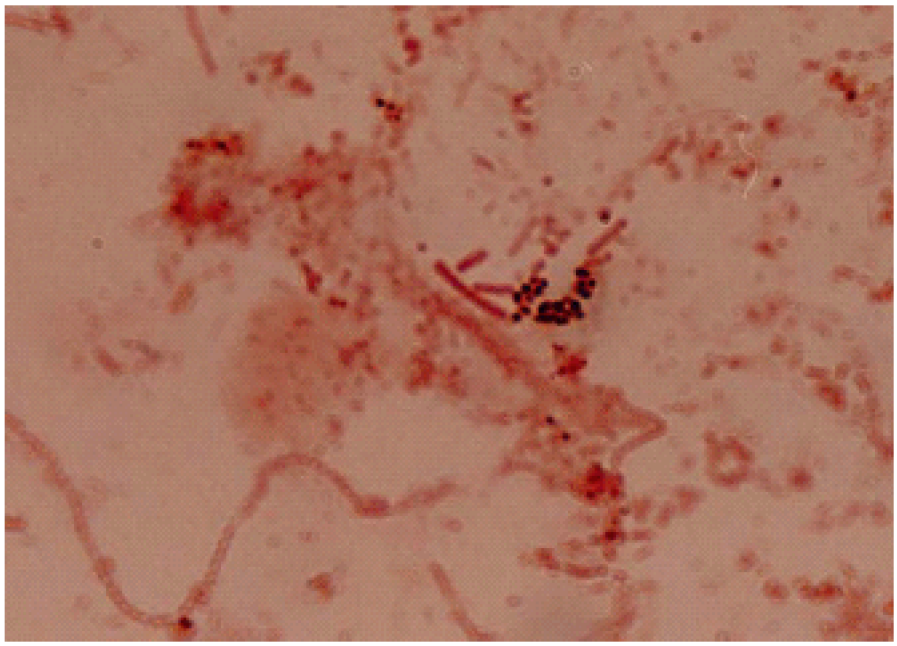

Figura 5.8 Población bacterial del lodo anaerobio

En la Figura 5.9 se presentan los resultados de la actividad metanogénica específica (AME) para los tres reactores. En el lodo de dichos reactores se observó un comportamiento semejante y se obtuvieron valores similares de AME, los cuales se resumen en la Tabla 5.1; según estos resultados el lodo se puede catalogar como floculento de buen desempeño (AME>0.3, para la mayoría de los casos). Comparando los incrementos teóricos en el aumento de actividad (ITEAA) y los incrementos observados en el aumento de la actividad (IOAA) se obtuvo:

- Para los reactores uno y tres con los sustratos ácido fórmico y butírico y para el reactor dos con estos y con ácido propiónico además, el IOAA fue mayor a dos veces el ITEAA, lo que indica que el aumento observado en la actividad se debe principalmente a la adaptación y la actividad del lodo es la actividad obtenida en la segunda alimentación. [5.4]

- Para los tres reactores uno y tres con los sustratos ácido acético y ácido propiónico y para el reactor dos con ácido propiónico solamente, el IOAA fue menor a dos veces el ITEAA, lo que indica que el aumento observado en la actividad

se debe principalmente al crecimiento esperado de las bacterias metanogénicas y la actividad del lodo es la actividad obtenida en la primera alimentación. [5.4].

Es importante destacar en este ensayo que el sistema se somete a condiciones de saturación de sustrato, por lo tanto se establece una máxima producción de metano para una cierta cantidad de lodo, a la cual indirectamente se le está evaluando la fracción de bacterias metanogénicas. [5.5]

Figura 5.9 Actividad metanogénica específica neta para los tres reactores.

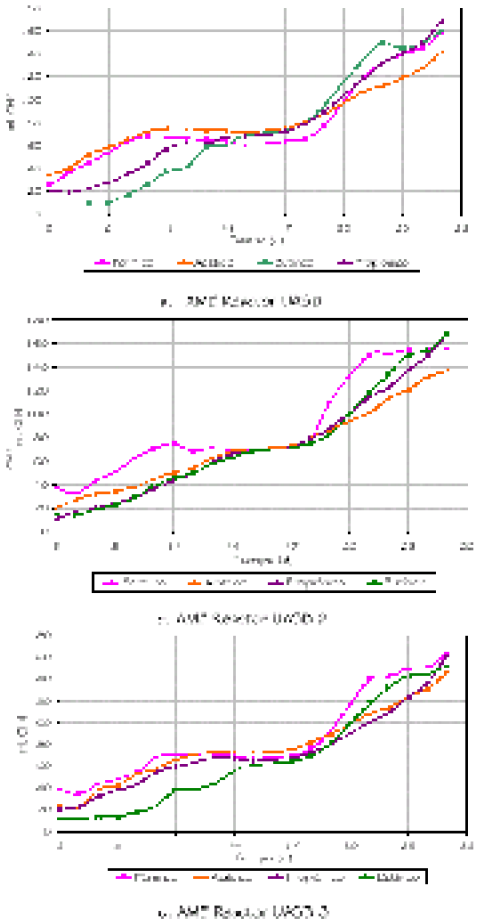

Tabla 5.1 Resumen de los resultados de AME

Tabla 5.1 Resumen de los resultados de AME

AME (g DQO-CH_4 /g SSV.d)						
SUSTRATO	**PRIMERA ALIMENTACIÓN**			**SEGUNDA ALIMENTACIÓN**		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
Fórmico	0,45	0,47	0,35	0,88	1,28	0,94
Acético	0,36	0,28	0,36	0,39	0,46	0,38
Propiónico	0,47	0,33	0,32	0,61	0,70	0,53
Butírico	0,46	0,32	0,32	0,86	0,90	0,72
AUMENTO EN LA ACTIVIDAD						
SUSTRATO	**TEÓRICO (ITEAA)**			**OBSERVADO (IOAA)**		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Fórmico	0,29	0,34	0,36	0,96	1,73	1,70
Acético	0,36	0,57	0,35	0,08	0,65	0,06
Propiónico	0,28	0,48	0,39	0,29	1,13	0,64
Butírico	0,29	0,49	0,39	0,87	1,80	1,26

La fase de operación y seguimiento de los reactores, con una duración de aproximadamente 320 días, se llevo a cabo sin ningún problema y los resultados arrojados para las variables medidas durante este período y su análisis estadístico (media y desviación estándar) presentado en la tabla 5.2, demuestran que los reactores se encontraban estables y operando bajo condiciones muy similares; A partir del día 100 se comienzan los ensayos preliminares hasta el fin de esta fase, este periodo aunque aparentemente es largo permite tener certeza sobre la confiabilidad de los ensayos; luego se continúa con el ensayo de degradabilidad y posteriormente el ensayo definitivo de toxicidad.

VARIABLE	ANÁLISIS ESTADÍSTICO					
	REACTOR 1		REACTOR 2		REACTOR 3	
	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
pH	7,26	0,25	7,32	0,37	7,28	0,46
Biogás	71,9	34,3	108,2	40,9	101,9	40,1
% Remoción	97,3	,5	98,2	1,0	98,2	1,6
AGV	1,49	0,50	1,32	0,47	1,33	0,45
C.A	0,49	0,21	0,55	0,22	0,59	0,26

Tabla 5.2 Análisis estadístico de las variables medidas durante la fase de operación

5.2 ENSAYO DE DEGRADABILIDAD DEL SUSTRATO

El ensayo de degradabilidad se llevo a cabo con el fin de obtener el tiempo óptimo para evaluar la toxicidad. En la Figura 5.10 se observa que dicho tiempo correspondió a 96

horas, tiempo a partir del cual la tasa de producción de metano disminuyó considerablemente (la pendiente en la curva baja de 0,343 a 0,033), además en este tiempo se logró una producción de metano cercana al 70% de la teórica esperada[1] igual a 34 mL; incluso en el ensayo de toxicidad, la producción de metano promedio de los blancos (sin tóxico) fue superior al 80% de la producción teórica (43.5mL).

1 La producción teórica de metano esperada en este ensayo se cálculo igual que la esperada en la producción de biogás de los reactores y con base en: DQO = 4g/L; Volumen = 0.03L; mLCH4 = 52.1mL

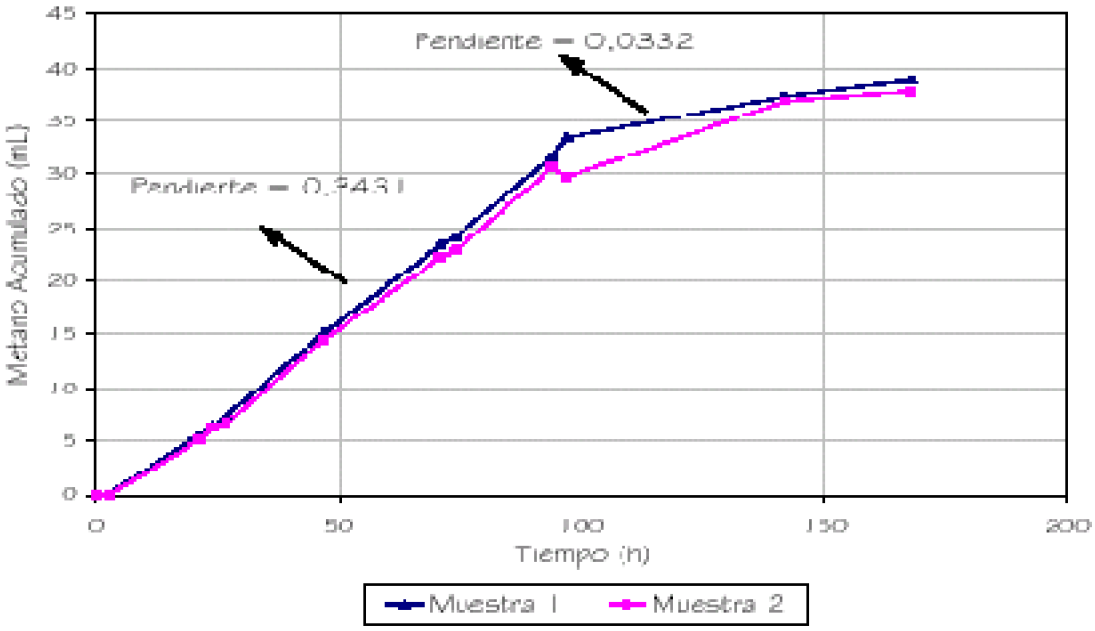

Figura 5.10 Degradabilidad del ácido acético

5.3 ENSAYO DE TOXICIDAD

Para cada metal (Cadmio y Níquel) se evaluaron diez concentraciones sin incluir el control, escogidas a partir de una serie geométrica aplicada a un intervalo de concentraciones obtenido de ensayos preliminares. En este intervalo el límite inferior correspondió a una concentración de metal que producía una inhibición en la producción de metano entre 0% y 10%, mientras que el límite superior correspondió a una concentración de metal que producía una inhibición entre 90% y 100%. La Tabla 5.3 presenta la producción de metano y el respectivo porcentaje de inhibición para las concentraciones evaluadas de Ni^{2+} y Cd^{2+} durante las 96 horas; para concentraciones bajas de níquel se observa, en color rojo, producción de metano superior a la del control o estimulación durante todo el ensayo y para casi todas las concentraciones en el tiempo cero. Con cadmio ninguna concentración presentó estimulación a partir de las 24 horas de contacto sin embargo en el tiempo cero ocurrió lo mismo que con el níquel. Algunas

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

estimulaciones parecen exageradas como la de 44 mgNi^{2+}/L a las cero horas (-104.6%) esto se debe a que en este tiempo el control produjo una cantidad muy pequeña de CH_4 lo que significa grandes aumentos en el porcentaje de inhibición o estimulación.

mg/L Ni^{2+}	0 Horas		24 Horas		48 Horas		72 Horas		96 Horas	
	mLCH_4	%Inh.	mLCH_4	%Inh.	mLCH_4	%Inh.	mLCH_4	%Inh.	mLCH_4	%Inh.
Control	0,07	-	13,0	-	25,8	-	36,4	-	45,5	-
10	0,11	10,8	14,7	21,3	30,4	17,4	40,4	10,8	44,	1,2
21	0,13	-72,9	14,4	-13,6	29,8	-15,4	40,4	-10,9	45,8	7
44	0,15	-104,6	12,1	0,4	24,0	7,3	33,0	8,0	42,5	2,0
93	0,10	31,6	10,8	14,2	19,8	23,2	27,7	24,	34,7	20,5
185	0,08	-23,8	8,3	31,2	16,0	38,2	23,4	35,0	27,9	32,0
410	0,07	5,4	7,0	41,7	13,0	46,4	18,5	49,4	23,0	47,3
822	0,07	5,3	6,7	44,8	12,6	51,4	16,6	54,4	20,	52,9
1811	0,08	-16,0	4,3	64,4	8,2	68,3	11,2	69,2	13,9	68,2
3806	0,10	-32,2	2,4	81,1	4,2	83,0	5,4	85,3	6,3	85,8
8000	0,08	[illegible]	0,4	97,1	0,7	97,3	0,9	97,8	0,9	98,
mg/L Cd^{2+}	0 Horas		24 Horas		48 Horas		72 Horas		96 Horas	
	mLCH_4	%Inh.	mLCH_4	%Inh.	mLCH_4	%Inh.	mLCH_4	%Inh.	mLCH_4	%Inh.
Control	0,07		13,0		25,8		36,4		45,5	
25	0,08	-12,6	8,2	40,2	17,2	33,4	27,2	23,6	33,3	0,3
33	0,06	13,7	5,0	58,1	13,3	48,1	23,3	36,0	34,0	17,3
43	0,07	3,4	4,3	64,2	9,9	62,0	16,.	55,3	22,2	40,
57	0,08	14,9	4,9	60,8	9,0	63,3	13,2	64,0	17,7	60,5
75	0,12	68,9	4,9	60,4	7,3	70,8	9,0	75,3	11,	74,8
99	0,16	-122,4	3,6	70,8	5,1	81,0	5,0	85,	5,0	85,0
131	0,12	50,0	3,0	76,8	4,1	84,3	4,7	87,4	5,5	89,
175	0,11	-47,9	2,4	81,1	3,2	87,5	3,5	90,2	3,7	91,8
229	0,08	-16,0	,4	86,8	2,1	92,2	2,4	93,0	2,3	94,8
300	0,08	-16,2	0,9	93,4	,2	95,6	,3	96,2	,3	97,2

Tabla 5.3 Producción de metano y porcentaje de inhibición en el ensayo de toxicidad.

Las figuras 5.12 y 5.13 muestran la variación en la producción de metano para las concentraciones de níquel y cadmio respectivamente. Como era de esperarse la producción de metano aumentó a medida que transcurrió el tiempo, mientras que a mayor concentración de metal dicha producción disminuyó, siendo más notorio este descenso en las primeras concentraciones (hasta 43 mg/L para Cd^{2+} y hasta 410 mg/L para Ni^{2+}). Sin embargo las dos primeras concentraciones de Ni^{2+} (10 y 21 mg/L) presentaron una producción de metano mayor que el control (estimulación) durante la mayor parte del tiempo; esta estimulación se presento posiblemente porque el níquel hace parte de los micronutrientes esenciales para las células.

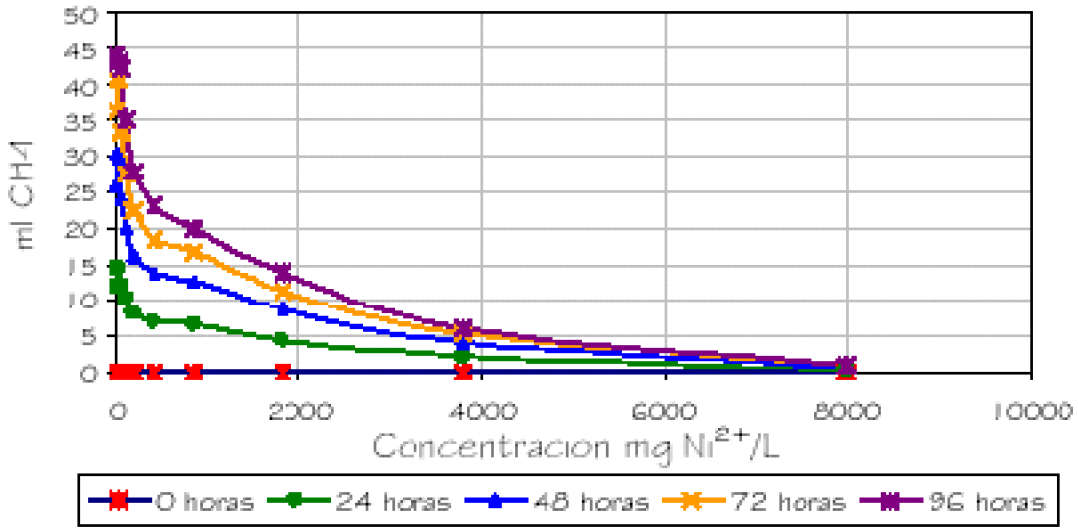

Figura 5.11 Variación en el tiempo de la producción de CH4 para diferentes concentraciones de Ni2+

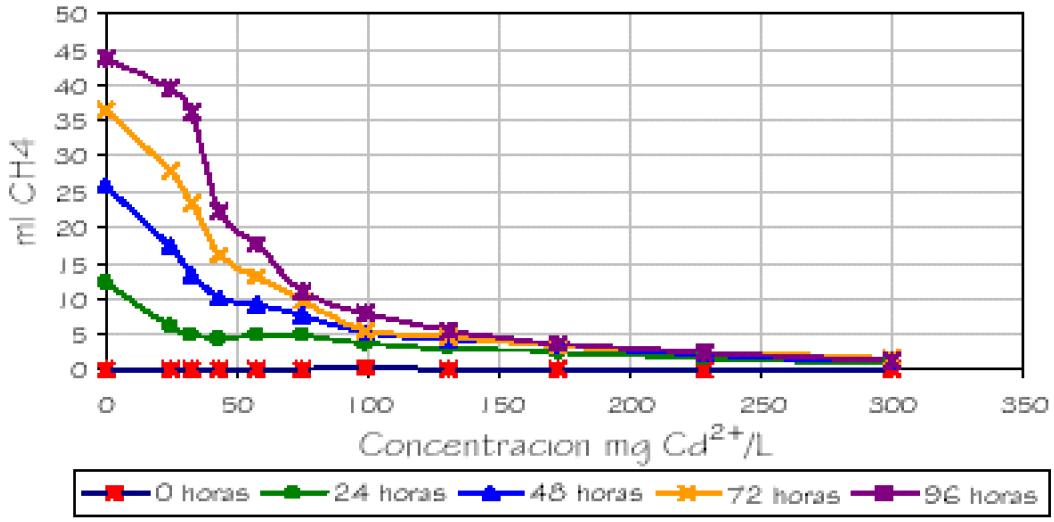

Figura 5.12 Variación en el tiempo de la producción de CH4 para diferentes concentraciones de Cd2+

La inhibición en la producción de metano para las diferentes concentraciones de níquel y cadmio se muestra en las figuras 5.14 y 5.15. En ellas se evidenció el efecto que tiene el incremento en la concentración del metal adicionado sobre la inhibición en la producción de metano; hasta 410 mg Ni^{2+}/L el porcentaje de inhibición aumenta drásticamente y a partir de allí un aumento considerable en la concentración no producía notables incrementos en la inhibición como ocurrió con las concentraciones iniciales. Este mismo comportamiento se observó con el incremento de las concentraciones de cadmio que hasta 43 mg Cd^{2+}/L produjeron un aumento fuerte en la inhibición.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

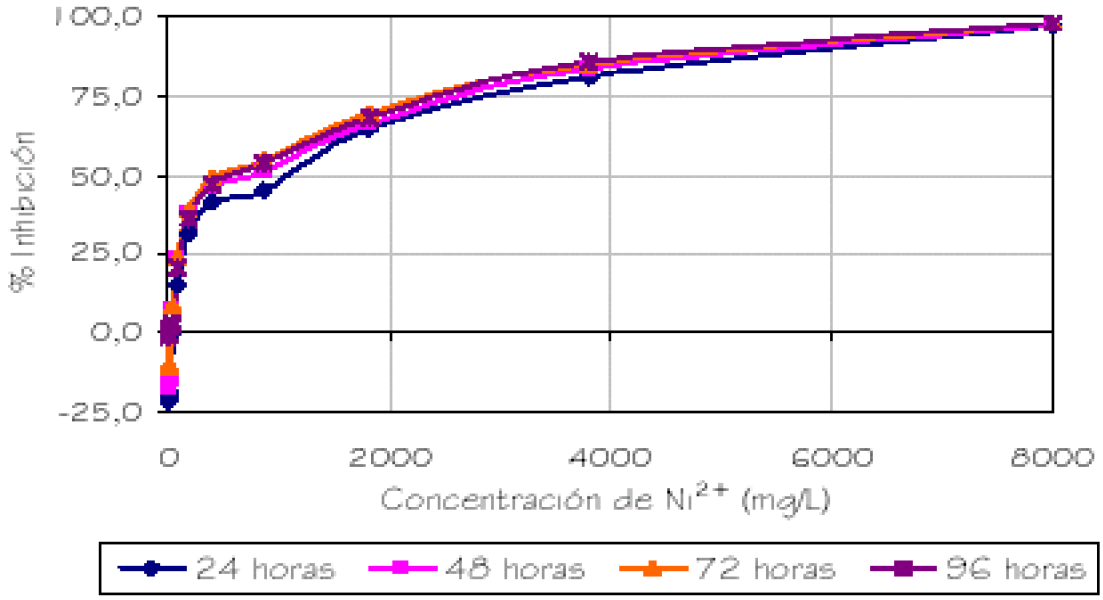

Figura 5.13 Inhibición en la producción de metano para Ni2+.

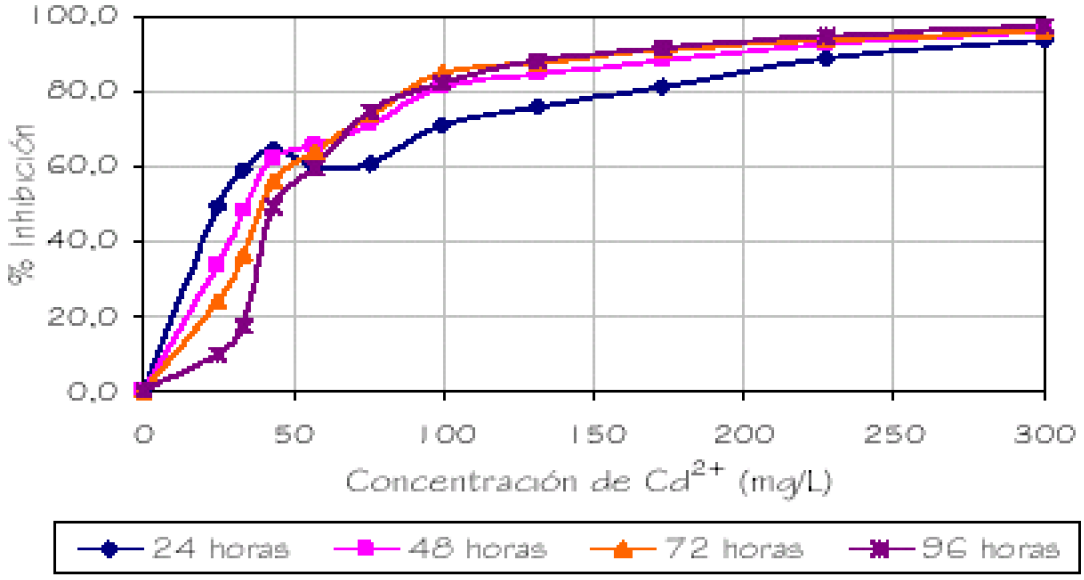

Figura 5.14 Inhibición en la producción de metano para Cd2+.

En las figuras 5.16 y 5.17 se observa el comportamiento del potencial redox para algunas de las concentraciones evaluadas durante el ensayo de toxicidad en un período de 96 horas; esta variable sólo se midió a cinco concentraciones incluyendo el control, las cuales se seleccionaron de tal forma que representaran todo el rango de concentraciones y esto se hizo debido a que se demandaba mucho lodo adicional para este ensayo. En el control se presentó una tendencia creciente hasta estabilizarse en un valor cercano a -200 mV. Con 10 mg Ni^{2+}/L, 93 mg Ni^{2+}/L y 862 mg Ni^{2+}/L se presentó el mismo comportamiento del control sólo que los valores de potencial redox son mayores a

medida que aumenta la concentración como se muestra en la figura 5.15; con 8000 mg Ni2+/L el efecto sobre el sistema fue más notorio ya que la mayor parte del tiempo el potencial redox fue positivo, a excepción de lo ocurrido a las 72 horas donde el sistema intentó recuperarse.

Al observar el potencial redox a las 0 horas se nota que todas las concentraciones de cadmio y níquel producían valores mayores al control por efecto de choque de estos metales. Dicho efecto fue más notorio con las concentraciones de cadmio, las cuales generaron valores altos de potencial redox que indicaban que el sistema tendía a ser oxidativo. A partir del efecto de choque se observó una tendencia a la recuperación para las concentraciones de 25 Cd^{2+}/L, 57 Cd^{2+}/L y 131 mg Cd^{2+}/L, pero con la mayor concentración (300 Cd^{2+}/L) esta tendencia no es tan evidente.

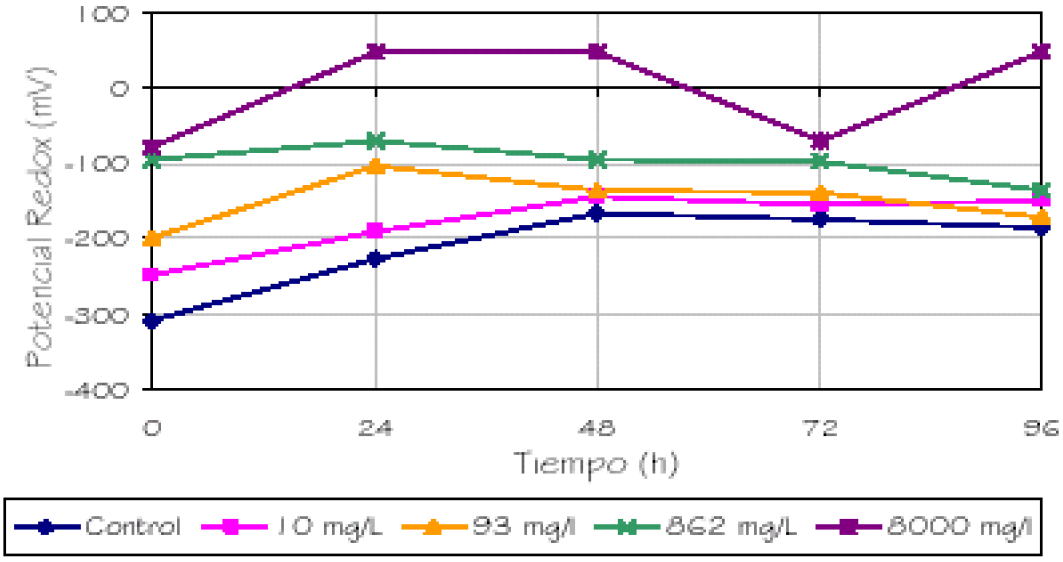

Figura 5.15 Potencial Redox para algunas concentraciones de Ni2+

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

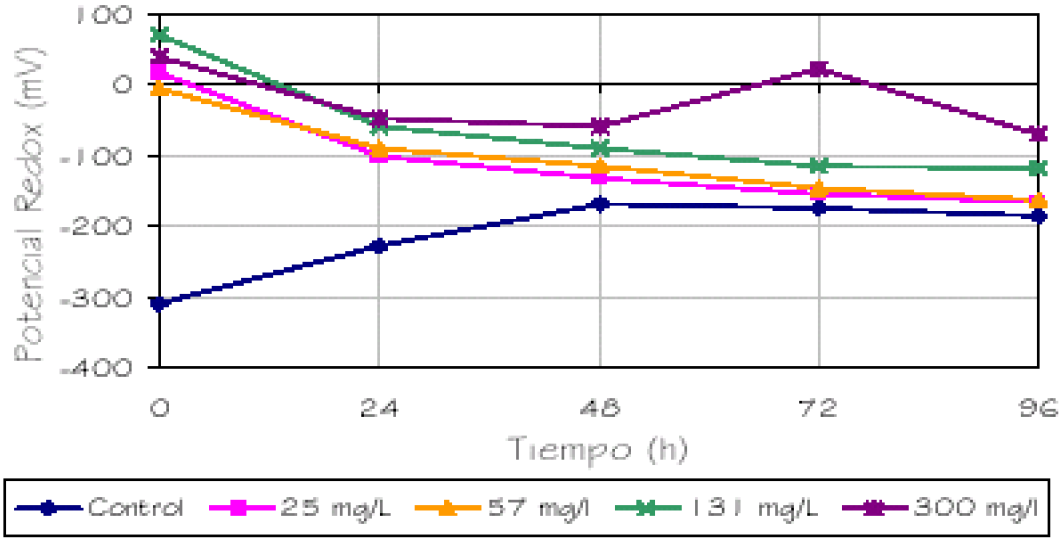

Figura 5.16 Potencial Redox para algunas concentraciones de Cd2+

En la Tabla 5.4 se presentan los resultados del análisis de varianza para el ensayo de toxicidad de cadmio y níquel; comparando el factor F (1176,895 para níquel y 299.765 para cadmio) obtenido para las concentraciones con $f_{0.05,10,40}$ (2.08 para níquel y 2.12 para cadmio) se concluye que debe rechazarse la hipótesis nula (H_o) y por lo tanto existe diferencia entre los efectos ocasionados por las diferentes concentraciones (tratamientos) tanto de cadmio como de níquel. Lo anterior permitió tomar los valores promedio de producción de metano para cada concentración y aplicar el método Probit para obtener la CE_{50}.

Tabla 5.4 ANOVA para el ensayo de toxicidad a las 96 horas.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)				
RESULTADOS NÍQUEL				
Fuente de Variación	SC	GL	MC	F
Concentración (Tratamiento)	60416,51	10	6041,651	1176,895
Error	205,34	40	5,134	-
Total	60621,85	50	-	-
RESULTADOS CADMIO				
Fuente de Variación	SC	GL	MC	F
Concentración (Tratamiento)	60163,28	10	6016,328	299,765
Error	722,52	36	20,070	-
Total	60885,80	46	-	-

El método Probit es usado para el cálculo de concentraciones letales sobre individuos de algunas especies. Es importante destacar que para la aplicación del método en esta investigación se hicieron varias analogías o relaciones entre variables, las cuales se describen en la Tabla 5.5. Según estas relaciones no se obtuvo una concentración letal (CL) sino una concentración efectiva (CE), ya que se evaluó la toxicidad sobre la

población metanogénica de forma indirecta a través del proceso de conversión de AGV a metano, el cual es llevado a cabo por dicha población.

Tabla 5.5 Relación entre variables del método Probit.

	Variables Probit Original	Variables Probit Modificado*
1	**Numero de ejemplares (N)**	**mL de CH_4 producidos por el control a las 96 horas.**
2	**Mortalidad observada (r)**	**mL de CH_4 que dejaron de ser producidos por efecto de las concentraciones de cada metal con base en la producción del control.**
3	**Porcentaje de mortalidad (P)**	**Porcentaje de inhibición en la producción de metano.**

* Variables calculadas a partir de promedios y con los resultados obtenidos a las 96 horas.

Las concentraciones efectivas de Ni^{2+} y Cd^{2+} que inhibieron la producción de metano en un 50% (CE_{50}) a las 96 horas y sus respectivos intervalos de confianza (confiabilidad del 95 %) se muestran en la Tabla 5.6. Estas concentraciones se obtuvieron con el programa computacional LC 50 Versión 2.5. [5.7]

Tabla 5.6 Concentración efectiva de níquel y cadmio a las 96 horas.

Tóxico	CE_{50}	Intervalo 95% confianza	
Níquel (mg Ni^{2+}/L)	526,8	403,8	690,6
Cadmio (mg Cd^{2+}/L)	54,2	47,7	60,9

Comparando las CE_{50} obtenidas para cadmio y níquel se observó que la toxicidad relativa fue Cd^{2+}>Ni^{2+}, similar a lo obtenido por Chin et al [5.8] quienes evaluaron la toxicidad de varios metales pesados a las 30 horas y obtuvieron C_{50} de 2000 mg/L para níquel y 450 mg/L para Cadmio, usando una mezcla de ácido acético, propiónico y butírico como sustrato. Forero [5.9] evaluó la toxicidad del cadmio y el níquel en la remoción de carga orgánica y producción de AGV en reactores UASB, pero aplicando la dosis de los metales directamente a los reactores en estudio y también encontró que el cadmio fue más tóxico que le níquel.

Al final del ensayo se calculó el porcentaje de níquel y cadmio soluble, analizando por absorción atómica la concentración de estos en el sobrenadante. Esto se hizo con algunas concentraciones, y para todos los casos el porcentaje disponible fue menor al 100% como se muestra en la Tabla 5.7.

Tabla 5.7 Concentraciones de níquel y cadmio en el sobrenadante.

NÍQUEL			CADMIO		
Concentración adicionada (mg	Concentración encontrada	% Disponible	Concentración adicionada (mg	Concentración encontrada	% Disponible

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

NÍQUEL			CADMIO		
Ni^{2+}/L)	(mg Ni^{2+}/L)		Cd^{2+}/L)	(mg Cd^{2+}/L)	
10	3.9	39.0	25	16.0	64.0
195	106	54.4	43	40.5	94.2
1811	1270	70.1	75	37.0	49.3
8000	7642	95.5	300	259	86.3

El porcentaje soluble disponible permite, además de conocer la cantidad del metal adicionado que finalmente permanece en el medio, comparar el efecto tóxico de los metales evaluados, ya que las concentraciones a las que se les midió disponibilidad en el sobrenadante más cercanas a la CE_{50} encontrada dejan ver que se requiere de menos cantidad de cadmio que de níquel para producir inhibición en un 50% sobre la producción de metano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[5.1] ZEGERS, Frank. Microbiología. P. A1-A14. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Santiago de Cali. Universidad del Valle, 1987.

[5.2] WILDSCHUT, Louw. Operación y mantenimiento de una planta UASB para aguas residuales domésticas. p. J1-J17. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Santiago de Cali. Universidad del Valle, 1987.

[5.3] ROJAS, Olga. Relación alcalinidad-ácidos grasos volátiles. p. D1-D31. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Santiago de Cali. Universidad del Valle, 1987.

[5.4] FIELD, Jim. Medición de parámetros. p. C1-C57. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Santiago de Cali. Universidad del Valle, 1987.

[5.5] DÍAZ-BÁEZ, María C. Microbiología de la digestión Anaerobia y caracterización de lodos anaerobios. En: Curso Microbiología de la digestión Anaerobia y caracterización de lodos anaerobios. Medellín. Universidad de Antioquia, 1997. p. 17-18.

[5.6] DÍAZ-BÁEZ, María C.; ESPITIA V., Sandra E. y MOLINA P., Francisco. Digestión Anaerobia, una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Bogotá: Unibiblos, 2002. p. 116.

[5.7] STEPHAN, C.E. Methods for calculating an LC50. En: American Society for Testing and Materials (ASTM) Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation, p 65-84, F.L. Mayer and J.L. Hameling, Editors. ASTM SPT 534, Philadelphia, Pennsylvania. (Versión Modificada).

[5.8] LIN, CHIU-YUE AND CHEN, CHIN-CHAO. Effect of heavy metals on the methanogenic UASB granule. En: Water Research. Vol 33 No. 2 pp 409-416. 1999.

[5.9] FORERO C., Luis E., Efecto de Dos Metales Pesados, Cadmio y Níquel, Sobre la Eficiencia de Remoción de Carga Orgánica de un Reactor UASB a escala de Laboratorio. Medellín, 2003. Tesis (Magíster en Ingeniería Ambiental). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los tres reactores se encontraban operando en condiciones estables y muy similares al realizar los ensayos de toxicidad, preliminares y definitivos; esto es importante debido a que la producción de metano es la variable respuesta de estos ensayos y depende de la estabilidad del lodo. Esta estabilidad se justifica con los resultados obtenidos para las variables AGV´s, pH, relación SSV/SST, remoción de carga orgánica y AME.

Es recomendable mejorar el sistema de medición de biogás en los reactores utilizados en esta investigación, con el fin de obtener resultados que permitan hacer un balance de masa del sistema, en el cual la energía representada en la DQO removida y remanente, la generación de nuevas células y la producción de biogás sea igual a la energía contenida en el alimento.

La tasa real de metanogenización de los sustratos en los reactores UASB será menor que la obtenida en el ensayo de AME, debido a que existen limitaciones en la cantidad de sustrato (la actividad metanogénica se realiza bajo condiciones de saturación de sustrato), nutrientes y condiciones ambientales.

Es importante la realización de ensayos preliminares de toxicidad con el fin de obtener un rango de concentraciones más refinado para evitar el incremento en costos y el gasto excesivo de lodo ya que el crecimiento de la biomasa en la digestión anaerobia es lento. Además, es mayor la probabilidad de encontrar la concentración efectiva CE_{50} con más precisión.

La inhibición en la producción de metano por el efecto de los metales pesados evaluados en esta investigación está relacionada únicamente con la población metanogénica ya que se utilizó como sustrato ácido acético (AGV) y por lo tanto la metanogenización es la única etapa de la digestión anaerobia faltante.

Si se desea evaluar el efecto de los metales pesados sobre las demás etapas involucradas en la digestión anaerobia, se debe utilizar un sustrato no acidificado que genere todas las etapas y medir conjuntamente producción de metano con producción de AGV´s.

A partir de las 48 horas la inhibición generada por el cadmio y níquel sobre la producción de metano es independiente del período adicional en el que se evalúe. Es decir, la CE_{50} calculada a las 48, 72y 96 horas es prácticamente igual y este hecho es más evidente para el níquel ya que las curvas de porcentaje de inhibición correspondientes a las 48, 72 y 96 horas de exposición como se observó en la figura 5.12, se superponen.

La concentración efectiva CE_{50} a las 96 horas encontrada para cadmio y níquel fueron respectivamente 54.2mg Cd^{2+}/L y 526,8mg Ni^{2+}/L lo que indica que el efecto tóxico del cadmio sobre la población metanogénica es mayor que el efecto del níquel. Estas concentraciones pueden variar dependiendo de las condiciones de operación del reactor, de las condiciones ambientales, de la calidad del lodo, entre otros.

Según la estimulación en la producción de metano obtenida con bajas concentraciones de níquel, se concluye que es posible la aplicación de tratamientos biológicos anaerobios a efluentes industriales con contenidos bajos de níquel sin que la población metanogénica sea afectada negativamente.

El método probit arrojó resultados satisfactorios al calcular la CE_{50} tanto para cadmio como para níquel a pesar de la necesidad de realizar analogías entre variables para la posible aplicación del método.

La presencia de metales pesados como el cadmio y el níquel posiblemente afecta otros procesos y reacciones de la digestión anaerobia, esto se evidencia en la disminución de la capacidad reductora del sistema medido a través del potencial redox.

Es importante incluir la medición del porcentaje de metal disponible acompañado del pH, no sólo al final del ensayo sino también en cada período de evaluación de la toxicidad (24, 48 y 72 horas), para analizar la relación que existe entre la evolución del porcentaje de inhibición y el porcentaje soluble disponible, así como el efecto del pH sobre este último.

Para tener puntos de comparación con futuras investigaciones sobre este tema, es recomendable estandarizar la metodología para la determinación de la toxicidad de metales pesados en reactores UASB.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

BIBLIOGRAFÍA

APHA, AWWA, WPCF. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 17th ed., American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. Washington D.C. 1989.

ATKINSON, B. W. et al. Considerations for application of biosorption technology to remediate metal-contaminated industrial effluents. Water SA. 1998. 24:129-135. Citado por: CAÑIZALES, ROSA. Biosorción de Metales Pesados Mediante el uso de Biomasa Microbiana. En: Revista Latinoamericana de Microbiología. No. 42: 131-143, 2000.

CAÑIZARES, Rosa. Biosorción de Metales Pesados Mediante el uso de Biomasa Microbiana. En: Revista Latinoamericana de Microbiología. No. 42: 131-143, 2000.

CILLIE, G.C.; M.R. HENZEN; G.J. STANDER y R.D. BAILLIE. (1969) Anaerobic Digestion – IV. The Application Of The Process In Waste Purification. Water Research, 3, 623-643. Citado por Look Hulshoff Pol. (1989).

COTORUELO, Luis., MARQUEZ, Dolores. Los Metales Pesados en las Aguas: (I) Su origen. Acción de agentes biológicos. En: Revista Ingeniería Química. Madrid. Vol. 31, No. 356, p263-266. Abril 1999.

DÍAZ, Abel. Diseño Estadístico de Experimentos. Primera Edición. Medellín: Universidad de Antioquia. 1999.

DÍAZ-BÁEZ, María C. Microbiología de la digestión Anaerobia y caracterización de lodos anaerobios. En: Curso Microbiología de la digestión Anaerobia y

caracterización de lodos anaerobios. Medellín. Universidad de Antioquia, 1997. p. 17-18.

DÍAZ-BÁEZ, María C.; ESPITIA V., Sandra E. y MOLINA P., Francisco. Digestión Anaerobia, una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Bogotá: Unibiblos, 2002.

FIELD, Jim. Medición de parámetros. p. C1-C57. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Santiago de Cali. Universidad del Valle, 1987.

FINNEY, DJ. Probit analysis, a statistical treatment of the sigmoid response curve. 2nd ed. Cambridge: University Press. P 318. Citado por: HENAO M., Beatriz H. Determinación de la Toxicidad Letal del Clorpirifos sobre la Mojarra Plateada Oreochromis niloticus. Medellín, 1992. p 39.

FORERO C., Luis E., Efecto de Dos Metales Pesados, Cadmio y Níquel, Sobre la Eficiencia de Remoción de Carga Orgánica de un Reactor UASB a escala de Laboratorio. Medellín, 2003. Tesis (Magíster en Ingeniería Ambiental). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería.

GADD, G. M. Microorganisms and heavy metal toxicity. Microbial Ecol. 1978. 4:303–317. Citado por: CAÑIZALES, ROSA. Biosorción de Metales Pesados Mediante el uso de Biomasa Microbiana. En: Revista Latinoamericana de Microbiología. No. 42: 131-143, 2000.

HENAO M., Beatriz H. Determinación de la Toxicidad Letal del Clorpirifos sobre la Mojarra Plateada Oreochromis niloticus. Medellín, 1992. p 39. Tesis (Bióloga). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingenieria.

HICKEY, R., Vanderwielen, J. y Switzenbaum, M. “The effect of Heavy Metals on Methane Production and Hydrogen and Carbon Monoxide Levels During Batch Anaerobic Sludge Digestion”. En: Water Research, 23:207-218. Citado por: DÍAZ-BÁEZ, María C.; ESPITIA V., Sandra E. y MOLINA P., Francisco. Digestión Anaerobia, una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Bogotá: Unibiblos, 2002. p. 93.

ISENBERG, Henry, D. Clinical Microbiology Procedures: Handbook pp 1.5.2. 1992.

LESTER, J. “Heavy Metals in Wastewater and Sludge Treatment Processes”. New York, Ed. CRC Press Boca Ratón, vol. 1 y 2, 1987. Citado por: FORERO C., Luis E., Efecto de Dos Metales Pesados, Cadmio y Níquel, Sobre la Eficiencia de Remoción de Carga Orgánica de un Reactor UASB a escala de Laboratorio. Medellín, 2003. p 33. Tesis (Magíster en Ingeniería Ambiental). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería.

LETTINGA, G.; A.F.M. VAN VALSEN; S.W. HOBMA; W.J. DE ZEEUW Y A. KLAPWIJK. (1980). Use Of The Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor Concept For Biological Wastewater Treatment, Especially For Anaerobic treatment. Biotechn, Bioeng. 22, pp, 699-734. Citado por Look Hulshoff Pol. (1989).

LETTINGA, G; L. W. HULSHOFF POL; S.W HOBMA; P. GRIN; P. DE YONG; R. ROERSMA y P. IJSPEERT. (1983). The Use Of A Floating Settling Granular Sludge Bed Reactor In Anaerobic Treatment. Proceedings Of The European Symposium On Anaerobic Wastewater Treatment. 23-25 Nov, 1983. Noordwijkerhout, The

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"

Netherlands. Pp, 411-430. Citado por Look Hulshoff Pol. (1989).

LETTINGA, G. HULSHOFF, P. y Field, J. (1989). Posibilidades y Potencial del Tratamiento Anaeróbico de Aguas Residuales con Enfasis en el Sistema UASB. Presentado en “Seminario Internacional sobre Digestión Anaeróbica - Elementos de Diseño”. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.

LETTINGA, G. y HULSHOFF, P. (1995). Anaerobic Wastewater Treatment Technology with Emphasis to Upflow Anaerobic Sludge Bed (UASB) Reactor Systems, Tecnología de Reactores Anaeróbicos. Presentado en “Curso-Taller Internacional sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales”, febrero 13–marzo 17 de 1995. Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

LETTINGA G. et al. En: Lecture notes: “Biological wastewater treatment. Part one: Anaerobic Wastewater Treatment”. Wageningen University. 1999. Citado por: DÍAZ-BÁEZ, María C. et al. En: Digestión Anaerobia, una aproximación a la tecnología. Primera Edición. Bogotá: Unibiblos, 2002. p. 91.

LIN, CHIU-YUE AND CHEN, CHIN-CHAO. Effect of heavy metals on the methanogenic UASB granule. En: Water Research. Vol 33 No. 2 pp 409-416. 1999.

MEJIA M., Jorge H., Diseño, Construcción y Evaluación de un Reactor UASB para el Tratamiento de Aguas Residuales. Cochabamba, 1999. 16 p. Tesis (Licenciado en Ingeniería Química). Universidad Mayor de San Simón. Facultad de Ciencias y Tecnología.

NARANJO P., Fernando. Evaluación del Efecto Tóxico que tienen el Cloruro de Cromo y el Acetato de Plomo sobre el Metabolismo de un Lodo Anaerobio. Medellín, 2003. Tesis (Magíster en Ingeniería Ambiental). Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería.

NIES, Dietrich H. Microbial heavy metal resistance: Molecular biology and utilisation for biotechnological processes. En: http://bionomie.mikrobiologie.uni/hlle.de/Reviews/Reviews%201999.html, consulta Mayo de 2003.

OROZCO, A. (1989). Manual sobre Digestión Anaerobia, Capítulo I: Generalidades. Presentado en “Seminario Internacional sobre Digestión Anaeróbica - Elementos de Diseño”. Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

ROJAS, Olga. Relación alcalinidad-ácidos grasos volátiles. p. D1-D31. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Santiago de Cali. Universidad del Valle, 1987.

SCHMID, L.A. and LIPPER, R.Z. 1969. Swine wastes, characterization and anaerobic digestion. Citado por: R. SOSA, R. CHAO y J. DEL RÍO. Aspectos Bioquímicos y tecnológicos del tratamiento de residuales agrícolas con producción de biogás. En: http://www.sian.info.ve/porcinos/publicaciones/rccpn/rev62/RCPP62art1.htm. Consulta Agosto de 2003.

STEPHAN, C.E. Methods for calculating an LC50. En: American Society for Testing and Materials (ASTM) Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation, p 65-84, F.L. Mayer and J.L. Hameling, Editors. ASTM SPT 534, Philadelphia, Pennsylvania. (Versión Modificada).

TINSLEY, Ian. Chemical Concepts in Pollutant Behavior, a wiley-Interscience

publication, Canada. 1979.

VAN HAANDEL, A. y LETTINGA, G.. Tratamento Anaeróbio de Esgotos – Um Manual para Regioes de Clima Quente. EpGraf, Campina Grande – PB, Brasil 1994.

WILDSCHUT, Louw. Operación y mantenimiento de una planta UASB para aguas residuales domésticas. p. J1-J17. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Santiago de Cali. Universidad del Valle, 1987.

YOUG, J.C and P.L McCARTY. (1969). The Anaerobic Treatment For Waste Treatment. J. Water Pollut. Control Fed. 41, R160. Citado por Look Hulshoff Pol. (1989).

ZEGERS, Frank. Microbiología. P. A1-A14. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Santiago de Cali. Universidad del Valle, 1987.

"Plataforma Cybertesis - Derechos son del Autor"