



*“El saber de mis hijos
hará mi grandeza”*

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA

**“BIOADSORCIÓN Y BIOACUMULACIÓN DE COBRE
UTILIZANDO LODOS ANAEROBICOS METANOGÉNICOS”**

TESIS

Que para obtener el título de

INGENIERO QUÍMICO

ESPECIALIDAD METALURGIA

Presenta:

GLENDIA RIGEL DUARTE RODRÍGUEZ

Hermosillo, Sonora

Julio de 2009

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

UNIVERSIDAD DE SONORA

VOTOS APROBATORIOS

Hermosillo, Sonora, a 02 de Julio de 2009.

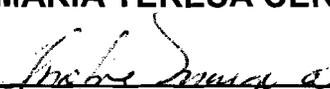
DR. JESÚS LEOBARDO VALENZUELA GARCIA
Jefe del Departamento
Ingeniería Química y Metalurgia

Por medio de la presente, nos permitimos informarle que los miembros del Jurado designado para revisar el Trabajo Profesional: "**Bioadsorción y Bioacumulación de Cobre utilizando Lodos Anaerobios Metanogénicos**", presentada por:

GLEND A RIGEL DUARTE RODRÍGUEZ

La han revisado y cada uno de los integrantes da su **VOTO APROBATORIO** ya que cumple con los requisitos parciales para la obtención del Título de:

Ingeniero Químico
(Especialidad Metalurgia)

<u>06-Julio</u> Fecha	 _____ DR. FRANCISCO JAVIER ALMENDARIZ TAPIA
<u>06-Julio</u>	 _____ M.C. MARÍA TERESA CERTUCHA BARRAGÁN
<u>06-Julio</u>	 _____ DRA. ONOFRE MONGE AMAYA
<u>06-Julio</u>	 _____ DRA. PATRICIA GUERRERO GERMÁN

AGRADECIMIENTOS

A lo largo de la licenciatura he contraído deudas de gratitud con muchas personas a las cuales debo parte de este triunfo que enumerarlas sería interminable, ya que por suerte cuento con mucha gente que me ayuda, me ayudó y me seguirá ayudando...

Definitivamente, está Dios, nuestro Señor, Guía y Proveedor.

A mis padres, por darme la estabilidad emocional, económica, sentimental; para poder llegar hasta este logro, que definitivamente no hubiese podido ser realidad sin ustedes. Gracias por darme la posibilidad de que de mi boca salga esa palabra...familia.

A mis hermanos por la compañía y el apoyo que me brindan siempre.

A mi fabuloso equipo de tesis mi director Dr. Javier, por su asesoramiento científico y estímulo para seguir creciendo intelectualmente; a la M.C. Teresa C. por sus valiosas sugerencias y acertados aportes durante el desarrollo de este trabajo; a la Dr. Onofre por su amabilidad y calidez; a la Dr. Patricia y Dr. Leobardo, "mis tíos", por su apoyo brindado, su presencia incondicional y amistad, no solo durante la realización de la tesis, sino de toda la carrera. Además a los Técnicos del laboratorio por enseñarme y ayudarme con todas las lecturas.

A todos mis amigos pasados y presentes; pasados por ayudarme a crecer y madurar como persona y presentes por estar siempre conmigo apoyándome en todo las circunstancias posibles, también son parte de esta alegría, los recuerdo y los valoro.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento; han quedado grabados en mi memoria, gracias.

Y si olvide a alguien perdón y GRACIAS.

Glenda Rigel Duarte Rodríguez

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	i
LISTA DE FIGURAS	iii
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo General	4
2.2 Objetivos Particulares	4
III. ANTECEDENTES	5
3.1 Metales Pesados	5
3.1.1 Acumulación de metales pesados (cobre) en seres vivos	8
3.1.2 Contaminación del agua	9
3.1.3 Contaminación en México	10
3.2 Reparación del Daño	11
3.3 Las Bacterias y su Enorme Capacidad de Adaptación	14
3.4 Biorremediación	16
3.4.1 Biosorción	17
3.4.2 Isotherma de adsorción	20

3.4.3 Modelo de Monod	24
3.5 Lodos Anaerobios	27
3.5.1 Clasificación y composición	27
3.5.2 Origen y cantidad de lodos generados	28
3.5.3 Características fisicoquímicas de los lodos	29
3.5.4 Influencia de los metales pesados en la estructura del lodo granular anaerobio	30
3.5.5 Gránulos anaerobios.	31
3.5.6 Digestión anaerobia	32
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	34
4.2 Caracterización de los Lodos Anaerobios.....	35
4.3 Activación y Acondicionamiento de Lodos.....	35
4.4 Cinética de Actividad Metanogénica	36
4.5 Bioadsorción y Bioacumulación	37
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
5.1 Caracterización de Lodos	39
5.2 Cinética de Actividad Metanogénica	40
5.3 Bioadsorción y Bioacumulación	42
5.4 Isotermas de Bioadsorción y Bioacumulación	44

VI CONCLUSIONES	47
------------------------------	----

VII BIBLIOGRAFÍA	48
-------------------------------	----

Anexo A: Métodos Analíticos.....	a
----------------------------------	---

A.1 Toma de muestra de lodos	a
------------------------------------	---

A.2 Caracterización del lodo	a
------------------------------------	---

A.3 Índice volumétrico de lodos IVL.....	b
------------------------------------------	---

A.4 Granulometría.....	c
------------------------	---

A.5 Activación del lodo.....	c
------------------------------	---

A.6 Determinación de la actividad metanogénica.....	d
-----------------------------------------------------	---

A.7. Pruebas de Biosorción	e
----------------------------------	---

A.7.1 Bioacumulación	f
----------------------------	---

A.7.2 Bioadsorción.....	f
-------------------------	---

Anexo B: Tablas de Resultados	g
-------------------------------------	---

B.1 Caracterización del lodo	g
------------------------------------	---

B.2 Índice volumétrico de lodo IVL	g
------------------------------------------	---

B.3 Granulometría.....	h
------------------------	---

B.4 Determinación de la actividad metanogénica.....	i
-----------------------------------------------------	---

B.5 Curva de DQO.....	j
-----------------------	---

B.6 Biosorción.....	k
---------------------	---

LISTA DE TABLAS

Tabla

3.1. Fuentes antropogénicas de metales tóxicos y elementos relacionados ^{a,b}	7
3.2 Ventajas y desventajas de los procesos fisicoquímicos (Reyes et al., 2006).....	12
3.3 Comparación de la biosorción de metales pesados por células inertes o células vivas. (Cañizares-Villanueva 2000, Adaptado de Macaskie, 1990.)	14
3.4 Toxicidad de algunos metales (Cervantes, 2006).	16
3.5 Composición química de lodos crudos y digeridos.....	28
4.1 Medio mineral empleado para la activación.	35
4.2 Elementos traza propuesto por Visser (1995)	35
5.1 Características físicas del lodo anaerobio.	39
5.2 Actividad metanogénica específica variando la concentración de acetato.....	41
A.1 Solución amortiguadora de fosfatos.....	c
A.2 Datos para determinar la actividad metanogénica.....	e
A.3 Datos para las pruebas de biosorción de Cu empleando estándar de CuSO ₄ 10 000 ppm.....	e
A.5 Medio mineral para lodo acidogénico	f
B.1 Resultados de los sólidos totales ST, Sólidos suspendidos volátiles SSV.	g
B.2 Resultados de lecturas para obtener IVL.....	g

B.3 Resultados de IVL.....	h
B.4 Resultados de los pesos retenidos en cada malla.....	h
B.5 Resultados de la actividad en matraces	i
B.6 Datos para calcular la curva estándar DQO.	j
B.7 Resultados de la cinética de producción de metano a concentraciones crecientes de acetato.....	k
B.9 Resultados de cobre en el sobrenadante durante la adsorción utilizando lodo no estéril	k
B.10 Resultados de cobre en el sobrenadante durante la adsorción utilizando lodo estéril	l

LISTA DE FIGURAS

Figura

3.1 Áreas contaminadas en la zona minera Cananea, Sonora	11
3.2 Bioadsorción de metales pesados	18
3.3 Bioacumulación de metales pesados	18
3.4 Principios básicos involucrados en la eliminación/recuperación de metales de soluciones acuosas por biomasa microbiana o productos derivados.....	20
3.5 Comparación de las diferentes isothermas	24
3.6 Efecto de la concentración del sustrato sobre la tasa específica de crecimiento	26
3.7 Proceso general de la descomposición anaeróbica	33
4.1 Diagrama de flujo de la metodología utilizada.....	34
4.2 Medición de metano por desplazamiento de una solución de NaOH.....	36
5.1 Granulometría del lodo	40
5.2 Producción de metano variando la concentración de acetato.....	41
5.3 Determinación de los parámetros cinéticos del lodo activado utilizando acetato como sustrato.	42
5.4. Eficiencia de bioacumulación de cobre en lodo anaerobio vivo.	43
5.5 Eficiencia de bioadsorción de cobre en lodo anaerobio no-vivo.....	44
5.6 Tasa de retención de cobre en lodo anaerobio vivo.....	45
5.7 Tasa de retención de cobre en lodo anaerobio no-vivo.....	45

A.1 Diagrama de las botellas serológicas utilizadas en las pruebas en lote	d
B.1 Aclimatación del lodo metanogénico.....	i
B.2 Curva estándar de la demanda química de oxígeno	j

RESUMEN

En distintas industrias, y en forma muy especial en la minería, la concentración de metales pesados de algunos de los efluentes representa un problema significativo debido a los costos y dificultades que involucra su remoción. La utilización de microorganismos como biosorbentes de metales pesados, ofrece una alternativa potencial a los métodos ya existentes para la restauración de sitios contaminados con metales pesados. El objetivo de este trabajo fue evaluar el proceso de bioadsorción y bioacumulación de cobre utilizando lodo anaerobio metanogénico. Las características del lodo empleado en este trabajo fueron: ST 60.57 g/L, SSV 30.95 g/L, IVL 43 mL_{lodo}/gSSV, diámetro de partícula del gránulo de 0.125 a 1.7 mm, $\mu_{\text{máx}}$ de 0.69 gDQO-CH₄/gSSV·d, y $K_{\text{s acetato}}$ de 4.54 gDQO_{Acetato}/L. Las pruebas de bioadsorción y bioacumulación en lote se realizaron a concentraciones de 50 a 300 mgCu(II)/L. La biosorción de cobre se observó desde los 15 minutos. Las tasas de retención de cobre para el lodo vivo (bioacumulación) y no vivo (bioadsorción), fueron similares de acuerdo al modelo de Langmuir ya que las “ $q_{\text{máx}}$ ” fueron de 25.4 y 27.67 mgCu(II)/gSSV con valores de la constante relacionada con la energía de adsorción “ b ” igual a 0.00739 y 0.00699 respectivamente, los resultados obtenidos en este trabajo indican que se puede utilizar biomasa viva y muerta de reactores anaerobios para biorremediar efluentes contaminados con metales pesados.

I. INTRODUCCIÓN

La creciente preocupación por el bienestar del medio ambiente ha hecho que el hombre desarrolle nuevas tecnologías para la restauración de sitios contaminados con los desechos provenientes de actividades antropogénicas. La contaminación de suelos con metales pesados y metaloides, como el cobre, plomo, cadmio, arsénico, mercurio, entre otros, representa una grave amenaza para el ecosistema y la salud humana y requiere la aplicación de las medidas correctivas pertinentes.

Se definen como “metales pesados” aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre menor del 0,01%. No obstante, es importante aclarar que el término “metales pesados” es impreciso y por lo general con este término se pretende indicar aquellos metales que, siendo elementos pesados, son “tóxicos” para la biota en general (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

La actividad humana en sus distintas industrias ha aumentado los niveles de estos contaminantes en aguas fluviales, océanos y sedimentos (Haytöglu *et al.*, 2001). Las fuentes más comunes de contaminación por dichos metales son: Los procesos de petróleo, las plantas generadoras de energía y los procesos metalúrgicos (Acosta *et al.*, 2007) debido a que en sus procesos de producción el agua juega un papel muy importante, ya sea que funcione como medio de transporte durante el proceso, se emplee para limpieza de los productos o que sea parte del producto final, entre otros.

En forma muy especial en la minería, la concentración de metales pesados de algunos de los efluentes representa un problema significativo debido a los costos y dificultades que involucra su remoción, para esto, a lo largo de los años se han desarrollado métodos

fisicoquímicos y biológicos, siendo los primeros los más utilizados, llamados comúnmente métodos convencionales.

Los principales métodos fisicoquímicos para la remoción de metales pesados de efluentes líquidos incluyen: precipitación, oxidación, reducción, intercambio iónico, adsorción, tratamiento electroquímico, tecnologías de membrana y recuperación por evaporación (Cañizares-Villanueva, 2000). Estos, aunque efectivos presentan varias desventajas cuando son aplicados a efluentes industriales constituidos con soluciones metálicas diluidas, entre las cuales podemos mencionar los costos importantes en términos energéticos y/o de consumo de productos químicos. Además, la precipitación química aunque efectiva para la eliminación de metales pesados crea un nuevo problema ambiental: el de los lodos que después tendrán que ser almacenados (Reyes *et al.*, 2006).

A partir de la década de los ochentas se empezaron a demostrar las capacidades que tienen ciertos microorganismos para remover grandes cantidades de metales pesados de efluentes líquidos. Estas capacidades han sido estudiadas con la finalidad de desarrollar nuevos sistemas de tratamiento que puedan reemplazar de una manera eficiente a los métodos de tratamiento convencionales (Reyes *et al.*, 2006).

El proceso de biosorción puede ser definido como la captación de contaminantes desde una solución acuosa por una biomasa completa (viva o muerta) a través de dos mecanismos diferenciados, estos son la bioacumulación y la bioadsorción; la primera basándose en la absorción de las especies metálicas al interior de las células de la biomasa viva (proceso metabólico) y la segunda basada en la adsorción de los iones en la superficie de la célula (proceso fisicoquímico) (Alexander 1999; Cañizares-Villanueva, 2000; Reyes *et al.*, 2006).

Algunas ventajas de los procesos biológicos, frente a los convencionales son: su gran selectividad, el uso de materiales renovables que pueden ser producidos a bajo costo, capacidad de tratar grandes volúmenes de agua contaminada debido a la rapidez del proceso, actúan bajo un amplio rango de condiciones fisicoquímicas (Reyes *et al.*, 2006).

Lo anterior muestra el gran potencial de utilizar la biomasa anaerobia para la biosorción de metales pesados, debido a la posibilidad de obtener grandes cantidades provenientes de plantas anaerobias de tratamiento de aguas residuales. Aunado a esto es importante conocer las características del lodo anaerobio debido a que éstas cambian de acuerdo a las aguas residuales tratadas y al tipo de reactor empleado.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- ❖ Evaluar el proceso de bioadsorción y bioacumulación de cobre utilizando lodo anaerobio metanogénico.

2.2 Objetivos Particulares

- ❖ Activar el lodo anaerobio a condiciones metanogénicas acetoclásticas (producción de metano).
- ❖ Caracterizar el lodo anaerobio por: sólidos suspendidos volátiles, granulometría, índice volumétrico de lodos.
- ❖ Determinar la constante de saturación para acetato (K_S) del lodo anaerobio.
- ❖ Evaluar la bioacumulación de cobre en biomasa anaerobia.
- ❖ Evaluar la bioadsorción de cobre en biomasa anaerobia estéril.

III. ANTECEDENTES

3.1 Metales Pesados

Todos los materiales que nos rodean, incluyendo a los seres vivos, están constituidos de átomos derivados de los elementos químicos presentes en la naturaleza. De aquí se derivan los esenciales para la vida; encontrando en mayor proporción los siguientes: carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O) y nitrógeno (N); y en proporción menor al calcio (Ca), hierro (Fe), cobre (Cu) y aluminio (Al).

Junto a ellos hay otros elementos que, aunque son metales ligeros o no metales, se suelen englobar con ellos por orígenes y comportamientos tóxicos asociados; es este el caso de arsénico (As), boro (B), bario (Ba) y selenio (Se). De acuerdo a los requerimientos en la célula, los metales pesados se clasifican en dos grupos:

- Oligoelementos o micronutrientes. Necesarios en pequeñas cantidades para los organismos, pero tóxicos una vez pasado cierto umbral. Incluyen As, B, cobalto (Co), cromo (Cr), Cu, molibdeno (Mo), manganeso (Mn), níquel (Ni), Se y zinc (Zn).
- Sin función biológica conocida. Son altamente tóxicos, e incluyen Ba, Cd, mercurio (Hg), plomo (Pb), antimonio (Sb), bismuto (Bi). (Navarro-Aviñó, *et al*, 2007.)

Dentro de los efluentes líquidos industriales, los que más afectan al medio ambiente son los contaminados por metales pesados. Estos están considerados como uno de los contaminantes más peligrosos debido a su no biodegradabilidad, su alta toxicidad a bajas concentraciones y su capacidad para acumularse en diferentes organismos (Cervantes, 2006); una vez emitidos pueden permanecer en el ambiente por cientos de años.

Generalmente los metales pesados se encuentran en concentraciones muy bajas, ya que de manera natural, proceden de los minerales existentes en las rocas, cuyas superficies

expuestas a los agentes naturales de evolución sufren alteraciones físicas, químicas y biológicas, lo que significa desintegración de sus redes cristalinas nuevas y/o síntesis de compuestos orgánicos (Martinez-Rivero, 2005).

Sin embargo la actividad humana ha aumentado sus niveles en muchas aguas fluviales, océanos y sedimentos por: residuos mineros, extracción de petróleo y gas, industrias (pesticidas, pinturas, cuero, tejidos, fertilizantes, medicamentos), vertidos domésticos, residuos agrícolas, etc., entre las principales (Cervantes, 2006). La contaminación del ambiente con metales tóxicos y radionúcleos surge como resultado de actividades humanas, principalmente industriales, sin embargo, fuentes como la agricultura y la eliminación de residuos también contribuyen (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Fuentes antropogénicas de metales tóxicos y elementos relacionados ^{a,b}.

A	B			C		D	E	F		Total	
	Energía ^c	Madera	Aceite ^c	Carbón ^c	Fe y acero			No ferrosos	Aguas residuales		Residuos sólidos
As	820	210	57	23830	1945	19090	7730	7550	12842	793	124820
Cd	125	120	143	8529	156	7371	3666	2450	24319	1147	38970
Cr	5700	---	1408	308775	15620	13350	92680	50610	61290	20339	172480
Cu	720	900	1959	5185	1601	16588	411	33740	40905	27970	147370
Hg	1800	180	---	4670	---	229	5245	1145	498	2420	11860
Mn	11400	---	1395	1087212	25000	17905	230600	20515	134055	25256	1708270
Ni	10500	1200	27070	181262	5238	14631	60246	7440	60710	259	380650
Pb	720	---	250449	8158	9732	54725	192	9300	16470	42100	346150
Se	18000	2100	4845	33878	2	13630	6566	4250	5904	348	88740
Va	300	---	76120	46925	1151	789	25470	550	676	1295	230000
Zn	18000	---	2159	11100	34325	97287	824935	85015	103715	65100	1729880

A: Metal tóxico B: Potencia y energía C: Metales D: Agricultura E: Manufactura F: Eliminación de residuos. ^a Adaptado de Nriagu y Pacyna, 1988.45 ^b Todas las cantidades están en ton/año. ^c Rendimiento directo de combustión, incluyendo el Pb derivado del petróleo y eliminación de cenizas de carbón. Los espacios vacíos significan que la cantidad de metal emitido es despreciable (Cafizares-Villanueva 2000).

3.1.1 Acumulación de metales pesados en seres vivos

Los metales pesados están muy relacionados con la magnificación biológica, toda vez que estas sustancias no se eliminan por la respiración, orina, heces o sudor; en consecuencia, se acumulan cada vez más a medida que pasan a través de la cadena alimenticia y el consumidor final es el que acumula una mayor concentración de esa sustancia (Félix y Sevilla, 2003).

Los metales pesados en altas concentraciones son tóxicos para la célula. Para que los metales pesados sean tóxicos primero deben de entrar a la célula; debido a que algunos de estos son utilizados para las funciones enzimáticas, existen mecanismos que permiten la entrada de ellos a la célula. Se conocen dos mecanismos de entrada: uno es rápido e inespecífico regulado por el gradiente quimiostático a través de la membrana celular y no requiere de energía adenosinatrifosfato (ATP) y el otro es más lento, específico y requiere ATP (Spain y Alm, 2003).

Los cationes metálicos divalentes (Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+}) son estructuralmente muy similares entre sí; todos ellos tienen diámetros iónicos entre 138 y 160 pm y una doble carga positiva. De esta manera, por su semejanza estructural, ciertos cationes metálicos divalentes pueden desplazar a otros con funciones fisiológicas importantes en la célula. Ciertos metales funcionan como “venenos” metabólicos, ya que pueden reaccionar e inhibir una serie de sistemas enzimáticos; algunos iones de estos elementos (Hg^{2+} , Cd^{2+} y plata (Ag^+)) forman complejos tóxicos inespecíficos en la célula, lo que produce efectos tóxicos para cualquier función biológica. Elementos como el Hg, As, Sn, titanio (Ti) y Pb, pueden formar iones órgano-metálicos liposolubles capaces de penetrar membranas y acumularse en las células. Aún, elementos sin propiedades tóxicas en baja concentración, como Zn^{2+} o Ni^{2+} y, especialmente Cu^{2+} , son tóxicos en concentraciones mayores (Volke et al., 2005)

Para sobrevivir bajo condiciones de estrés causada por el metal, las bacterias han desarrollado varios tipos de mecanismos para tolerar la entrada de los iones metálicos. Estos mecanismos incluyen la expulsión fuera de la célula, acumulación y complejación dentro de la célula, y la reducción a un estado menos tóxico de los iones metálicos (Spain y Alm, 2003).

En el hombre la inhalación de niveles altos de cobre puede producir irritación de la nariz y la garganta. La ingestión de niveles altos de cobre puede producir náusea, vómitos y diarrea. Cantidades muy altas de cobre pueden dañar el hígado y los riñones y pueden causar la muerte.

3.1.2 Contaminación del agua

La contaminación del agua es la adición de sustancias extrañas que se diluyen o filtran y producen un cambio que impiden su uso como recurso. En la República Mexicana se producen alrededor de 120 m³ por segundo de aguas residuales; estas aguas contaminadas se depositan en los llamados cuerpos de agua (ríos, cuencas, cauces, aguas marinas, etc.) y provocan la degradación de sus condiciones naturales con el consiguiente riesgo para la salud y el bienestar de la población (Félix y Sevilla, 2003).

El agua disuelve lo soluble, diluye lo tóxico, desplaza todo aquello que flota y disimula lo que se hunde; por ello se emplea para eliminar cuanto molesta en el hogar, la industria, comercio, oficinas, etc., y se transforma en agua residual (Félix y Sevilla, 2003).

El indiscriminado uso del agua por las industrias, de las cuales la mayoría, necesitan grandes cantidades de agua limpia en sus procesos de producción; trae consigo la contaminación del vital líquido.

Se sabe que si la contaminación no es muy alta, esta se soluciona de forma natural; si no es así el daño puede ser acumulativo e irreversible.

Muchos de los contaminantes encontrados en la atmósfera o el suelo también se pueden hallar en el agua. Entre los venenos que pueden contaminar el agua están los metales

pesados, como el arsénico (que procede de muchos tipos de insecticidas), el cadmio (plantas eléctricas), cromatos (procesos industriales), mercurio (producción de fertilizantes y otros), cianuro, selenio, cobre, cinc, plomo. (Félix y Sevilla, 2003).

3.1.3 Contaminación en México

Debido al desarrollo industrial de la minería en nuestro país y a la falta de normatividad sobre sus residuos, esta industria ha generado por décadas una gran cantidad de desechos y sitios contaminados a lo largo de todo el país. El beneficio de minerales, como parte de las actividades de la minería metálica (la mayoritaria en México), provoca problemas como la producción de sulfatos y residuos ácidos o de metales pesados.

En la minería no metálica, por su parte, los impactos negativos se relacionan con el hecho de que se realiza a cielo abierto, generando residuos, contaminación por polvos y ruido, pérdida de la capa orgánica y de la cubierta vegetal, entre otros. (Volke *et al.*, 2004) Solamente el 25% de las aguas vertidas son tratadas. Muchos de los ríos, lagos y cuerpos de agua del país están fuertemente contaminados. Es necesario cambiar esta realidad, la industria sí puede ser limpia.

En el estado de Sonora se tiene una gran auge minero y con la gran producción de minerales y metales se tiene también la contaminación que deriva de ella. El caso del río San Pedro, el cual está ubicado en la parte norte del municipio de Cananea y sur de Arizona EUA es uno de tantos casos de contaminación. Las fuentes de contaminación de este río han sido identificadas en la actividad minera que se desarrolla en esta región y en las descargas en este; estos efluentes contienen metales pesados y sulfatos a concentraciones de hasta 6724 mg/L (Gómez-Álvarez *et al.*, 2004). En la Figura 3.1 se pueden apreciar algunos cuerpos de agua de esta región altamente contaminados.



Figura 3.1 Áreas contaminadas en la zona minera Cananea, Sonora

3.2 Remediación del Entorno

El término remediación de suelos se entiende como el conjunto de acciones necesarias para recuperar y restablecer sus condiciones, con el propósito de que éste pueda ser destinado a alguna de las actividades previstas en el programa de desarrollo urbano de ordenamiento ecológico que resulte aplicable para la zona respectiva (PROY-NOM-138-Semarnat-2003).

Existen diversos métodos para el tratamiento de los efluentes líquidos que contienen metales pesados tanto no biológicos como biológicos (Levan y Real, 1997). Dentro de los métodos no biológicos (físico-químicos) se encuentran: la precipitación, intercambio iónico, osmosis inversa y adsorción (Reyes et al., 2006)

Tabla 3.2 Ventajas y desventajas de los procesos fisicoquímicos (Reyes et al., 2006).

Método	Ventajas	Desventajas
Precipitación	<ul style="list-style-type: none"> • Simplicidad de operación. • Alto nivel de eliminación de metales pesados. • Bajo costo de operación. 	<ul style="list-style-type: none"> • La presencia de agentes orgánicos disminuye su rendimiento. • No es selectivo. • Se necesitan agentes coagulantes y floculantes para separar los metales del efluente. • Generación de lodos con alto costo de tratamiento.
Intercambio iónico	<ul style="list-style-type: none"> • Es posible la eliminación de metales a muy bajas concentraciones. • Presentan alta selectividades • Es posible la recuperación de los metales por electrólisis. 	<ul style="list-style-type: none"> • La presencia de calcio, sodio y magnesio disminuye su rendimiento debido a que pueden saturar la resina. • La posible competencia entre metales pesados y otros cationes. • Las resinas no son muy tolerantes al cambio de pH. • Los materiales orgánicos pueden envenenar la resina. • La solución contaminada puede ser previamente tratada para eliminar los materiales en suspensión.
Osmosis inversa	<ul style="list-style-type: none"> • Altos niveles de remoción. • Es un proceso fácilmente automatizado. • No hay cambio en la composición química de las aguas residuales • La recuperación de metales pesados es posible. 	<ul style="list-style-type: none"> • Mediana selectividad y tolerancia a cambios de pH. • Bajo tiempo de vida con soluciones corrosivas. • Requiere de presiones muy altas para su funcionamiento. • Requiere de mantenimiento frecuente para evitar saturación de membrana. • Es necesario separar las partículas insolubles o en suspensión para evitar la saturación de las membranas.
Adsorción	<ul style="list-style-type: none"> • Altamente efectivo a muy bajas concentraciones de metal. • Fácil de operar. • Permite la fijación de metales en presencia de otros cationes. • La recuperación de los metales pesados es posible. • El adsorbente puede ser regenerado. 	<ul style="list-style-type: none"> • El costo del adsorbente y su regeneración pueden ser muy altos. • La capacidad de adsorción es altamente dependiente del pH. • Es necesario eliminar los materiales en suspensión antes de que el efluente sea tratado.

Cada uno presenta ventajas y desventajas; se pueden observar en la Tabla 3.2 (Reyes et al., 2006) las concernientes a los procesos físico-químicos citados y en la Tabla 3.3 (Cañizares-Villanueva, 2000) los correspondientes a los métodos biológicos: bioacumulación y bioadsorción (ambos en biomasa inmovilizada) que son los procesos empleados en el presente trabajo.

En ocasiones, lo más rápido y rentable es una combinación de sistemas a la hora de tratar los efluentes. Para poder elegir la combinación adecuada de tecnologías, es necesario un examen completo del lugar. La evaluación de la zona debe registrar los datos físicos y biológicos, incluyendo: hidrogeología, composición del suelo, caracterización de la población microbiana, y consideraciones de tipo climatológico, además de determinar el rango de contaminación presente (Levin y Gealt, 1997).

Tabla 3.3 Comparación de la biosorción de metales pesados por células inertes o células vivas.
(Cañizares-Villanueva 2000, Adaptado de Macaskie, 1990.)

Adsorción por biomasa inerte inmovilizada	Incorporación por células vivas inmovilizadas
<i>Ventajas</i>	
<p>1. Independiente del crecimiento, biomasa muerta, no sujeto a las limitaciones de toxicidad. No necesita de nutrientes en la solución de alimentación, de disposición de nutrientes, ni productos metabólicos.</p> <p>2. Los procesos no están gobernados por limitaciones biológicas.</p> <p>3. La selección de la técnica de inmovilización no está gobernada por limitaciones de toxicidad o inactivación térmica.</p> <p>4. Son muy rápidos y eficientes en la remoción de metales: la biomasa se comporta como un intercambiador de iones.</p> <p>5. Los metales pueden ser liberados fácilmente y recuperados.</p>	<p>1. Aunque cada célula puede llegar a saturarse, el sistema se auto-restablece debido al crecimiento.</p> <p>2. Los metales se depositan en un solo estado químico alterado y menos sensible a la desorción espontánea.</p> <p>3. La actividad metabólica puede ser la única forma económica de lograr cambios en estado de valencia o degradar compuestos organometálicos: se pueden utilizar sistemas multienzimáticos.</p> <p>4. Se pueden mejorar las cepas por medio del aislamiento de mutantes o la manipulación genética, debido a que ésta es una propiedad microbiana más que un producto bajo explotación</p> <p>5. Se pueden emplear dos o más organismos de una manera sinérgica.</p>
<i>Desventajas</i>	
<p>1. Rápida saturación: cuando los sitios de interacción con el metal están ocupados. Se necesita remover el metal antes de utilizarse nuevamente sin importar su valor.</p> <p>2. El secuestro por adsorción es sensible al pH</p> <p>3. El estado de valencia del metal no puede ser alterado biológicamente, e.g. para dar formas solubles.</p> <p>4. Las especies organometálicas no son susceptibles de degradación.</p> <p>5. El mejoramiento de estos procesos biológicos es limitado ya que las células no efectúan un metabolismo, la producción de agentes adsorbentes ocurre durante la etapa de pre-crecimiento.</p>	<p>1. La toxicidad: sólo se pueden tratar los metales a bajas concentraciones. Sin embargo se han utilizado cepas resistentes a los metales</p> <p>2. Es necesario alimentar los flujos bajo condiciones fisiológicamente posibles</p> <p>3. Se necesitan nutrientes para el crecimiento.</p> <p>4. La disposición de los productos y los nutrientes del crecimiento no consumidos.</p> <p>5. Los productos metabólicos pueden formar complejos con los metales, impidiendo la precipitación.</p> <p>6. La recuperación de los metales por desorción es limitada debido a que se pueden formar uniones intracelulares.</p> <p>7. El modelamiento de un sistema no definido representa grandes dificultades matemáticas.</p>

3.3 Las Bacterias y su Enorme Capacidad de Adaptación

La creciente preocupación de la contaminación ambiental, ha dado como resultado un aumento en la investigación y el desarrollo de tecnologías sustentables, así como una normativa cada vez más estricta. Como resultado, la introducción de tecnologías limpias en los procesos industriales ha logrado disminuir las descargas de sustancias contaminantes al medio ambiente (Reyes *et al.*, 2006).

A partir de la década de los ochentas se empezaron a demostrar las capacidades que tienen varios microorganismos para remover grandes cantidades de metales pesados de efluentes líquidos. Estas capacidades han sido estudiadas con la finalidad de desarrollar nuevos sistemas de tratamiento que puedan reemplazar de una manera eficiente a los métodos de tratamiento convencionales. (Waste y Forester, 1997).

Las bacterias se encuentran en el ambiente en exposición permanente con los metales, unos buenos y otros malos (esenciales y tóxicos). Las cantidades de metales pesados presentes en ciertos sitios pueden ser tan elevadas que no permiten la subsistencia de ningún ser vivo. Esto ha forzado a los microorganismos, a desarrollar estrategias variadas y eficientes para resistir la toxicidad de los metales nocivos (Cervantes, 2006).

Un solo mecanismo de resistencia quizá no sea suficiente para la supervivencia microbiana en entornos hostiles. Es común entonces encontrar bacterias que combinan más de una estrategia de defensa (Cervantes 2006) entre estas estrategias Cervantes (2006) menciona tres; la primera, en donde las células, para tolerar la presencia de metales los transforman en formas menos tóxicas , no se pretende decir que esta transformación sea de un metal a otro, los microorganismos aprovechan que algunos metales existen en distintas formas, o especies químicas (Tabla 3.4) es decir como iones con carga positiva o forma metálica carente de carga , la cual es menos reactiva y tóxica, algunas veces inocua. No obstante, algunos metales dañinos, como se comentó antes, comparten propiedades químicas con los metales esenciales, como su tamaño o sus cargas eléctricas

Tabla 3.4 Toxicidad de algunos metales (Cervantes, 2006).

Elemento	Símbolo	Formas cargadas	Esencial o tóxico ^a
Aluminio	Al	Al ³⁺	T ^b
Cadmio	Cd	Cd ²⁺	T
Calcio	Ca	Ca ²⁺	E ^c
Cobalto	Co	Co ²⁺	E/T ^d
Cobre	Cu	Cu ⁺ , Cu ²⁺	E/T ^d
Cromo	Cr	Cr ³⁺ , CrO ₄ ²⁻	T
Hierro	Fe	Fe ²⁺ , Fe ³⁺	E
Magnesio	Mg	Mg ²⁺	E
Manganeso	Mn	Mn ²⁺	E
Mercurio	Hg	Hg ²⁺	T
Níquel	Ni	Ni ²⁺	E/T ^d
Plata	Ag	Ag ⁺	T
Plomo	Pb	Pb ²⁺	T
Sodio	Na	Na ⁺	E ^c
Zinc	Zn	Zn ²⁺	E/T ^d

^a E, esencial; T, tóxico. Clasificación aplicable sólo para bacterias.

^b Tóxico en ciertos ambientes ácidos, en general inocuo.

^c Esenciales para ciertos microorganismos en determinadas condiciones.

^d E/T, elementos esenciales en cantidades pequeñas, pero tóxicos en niveles elevados

Otra estrategia que menciona consiste en emplear el sistema de transporte de la membrana para expulsar los compuestos tóxicos, impidiendo dañar los compuestos celulares.

La última que menciona es la producción de compuestos químicos por parte de las bacterias, que atrapan los metales intrusos. En esta técnica se emplea el principio en el que cargas opuestas se atraen.

3.4 Biorremediación

La remediación de sitios contaminados con metales, puede realizarse a través de métodos fisicoquímicos, térmicos y/o biológicos.

El término biorremediación se utiliza para describir una variedad de sistemas que utilizan organismos vivos (plantas, hongos, bacterias, etc.) para degradar, transformar o remover compuestos orgánicos tóxicos a productos metabólicos inocuos o menos tóxicos. Esta

estrategia depende de las actividades catabólicas de los organismos, y por consiguiente de su capacidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (Van Deuren *et al.*, 1997).

Dentro de la amplia diversidad microbiana, existen microorganismos resistentes y tolerantes a los metales. Los primeros, se caracterizan por poseer mecanismos de detoxificación codificados genéticamente, e inducidos por la presencia de un metal; los microorganismos tolerantes, son indiferentes a la presencia o ausencia de metal. Ambos tipos de microorganismos son de particular interés como captores de metales en sitios contaminados, debido a que ambos pueden extraer los contaminantes de una matriz contaminada. Con base en estos mecanismos, las estrategias biológicas para la remoción o inmovilización de contaminantes inorgánicos presentes en una matriz como el suelo, pueden dividirse en: bioadsorción, bioacumulación, biomineralización, biolixiviación, biotransformación y quimiosorción (Volesky y Holan, 1995).

3.4.1 Biosorción

La biosorción puede ser definida como la captación de contaminantes desde una solución acuosa por una biomasa (viva o muerta) a través de mecanismos fisicoquímicos o metabólicos, como la adsorción o el intercambio iónico. (Reyes *et al*, 2006; Cañizares-Villanueva, 2000). La biosorción se lleva a cabo por dos mecanismos: En la **bioacumulación** (Figura 3.2) la captación de los iones metálicos requiere energía y se utilizan bacterias vivas (Alexander, 1999), mientras que en la **bioadsorción** (Figura 3.3) se refiere al captar los metales de manera pasiva y se emplea biomasa (bacterias) muerta.

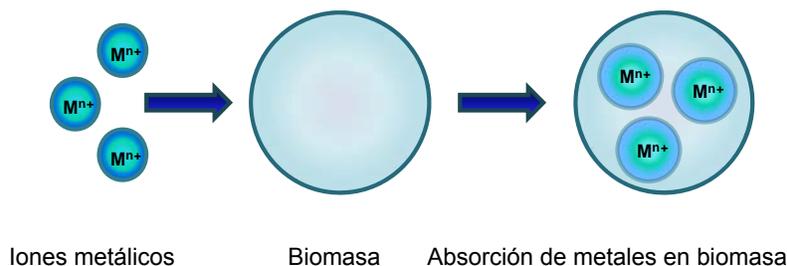


Figura 3.2 Bioacumulación de metales pesados

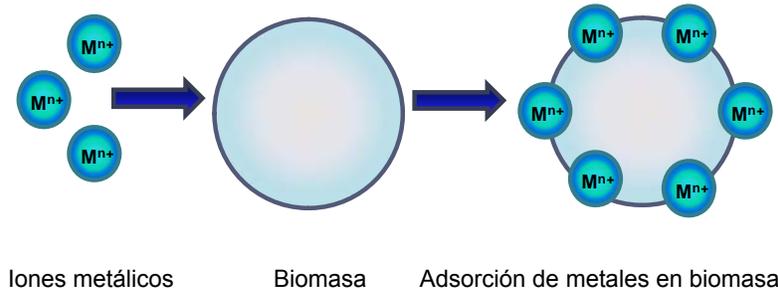


Figura 3.3 Bioadsorción de metales pesados

Este proceso de biosorción involucra una fase sólida (sorbente) y una fase líquida (solvente, que es normalmente agua) que contiene las especies disueltas que van a ser sorbidas (sorbato, e iones metálicos). Debido a la gran afinidad del sorbente por las especies del sorbato, este último es atraído hacia el sólido y enlazado por diferentes mecanismos. Este proceso continúa hasta que se establece un equilibrio entre el sorbato disuelto y el sorbato enlazado al sólido (a una concentración final o en el equilibrio) (Volesky, 2003). La afinidad del sorbente por el sorbato determina su distribución entre las fases sólida y líquida. La calidad del sorbente está dada por la cantidad del sorbato que puede atraer y retener en forma inmovilizada (Cañizares-Villanueva, 2000). Las propiedades bacterianas de atrapar a los metales han sido utilizadas por el hombre para tratar de limpiar zonas contaminadas con metales pesados (Cervantes 2006).

La utilización de microorganismos como biosorbentes de metales pesados, ofrece una alternativa potencial a los métodos ya existentes para la detoxificación y recuperación de metales tóxicos o valiosos presentes en aguas residuales industriales. Muchas levaduras, hongos, algas, bacterias y cierta flora acuática tienen la capacidad de concentrar metales a partir de soluciones acuosas diluidas y de acumularlas dentro de la estructura microbiana. El uso de biomasa muerta o productos derivados de ella elimina el problema de la toxicidad, no solo de la provocada por metales disueltos, sino también por condiciones adversas de operación, además del componente económico de mantenimiento incluyendo el suplemento de nutrientes. Sin embargo, las células vivas pueden presentar una variedad más amplia de mecanismos para la acumulación de metales como el transporte, la formación de complejos extracelulares y la precipitación (Cañizares-Villanueva, 2000, Volesky, 2003).

Para la selección de uno de los mecanismos se debe tomar en cuenta que la efectividad de la biosorción de estos microorganismos varía según las características fisicoquímicas del lodo granular; así como la concentración de metales en el efluente a tratar, entre otros. Para simplificar esta elección, se puede hacer una tabla de comparación (Tabla 3.3).

Por razones económicas, resultan de particular interés los tipos de biomasa abundantes, como los desechos generados por fermentaciones industriales de gran escala o de ciertas algas que enlazan metales y se encuentran en grandes cantidades en el mar (Cañizares-Villanueva 2000).

Una vez que la biomasa es expuesta al efluente cargado de metales y se tenga la recuperación de metales de la solución, se tiene la opción de recuperar la biomasa (funcional) utilizando reactivos químicos suaves para retirar los metales sin destruirla, permitiendo así su utilización posterior en un nuevo ciclo de tratamiento. En caso de que no importe la integridad de la biomasa, el metal puede ser retirado de la misma por métodos más drásticos. En la parte central de la Figura 3.4, cuando se ha llegado a la saturación de la biomasa (o de sus productos) con el metal, se plantea la posibilidad de recircular parte de la solución que aún contiene metales, para ser sometida a un nuevo

ciclo de eliminación por biomasa fresca y/o regenerada, por otra parte se tiene una descarga descontaminada o con una concentración de metal menor a la inicial.

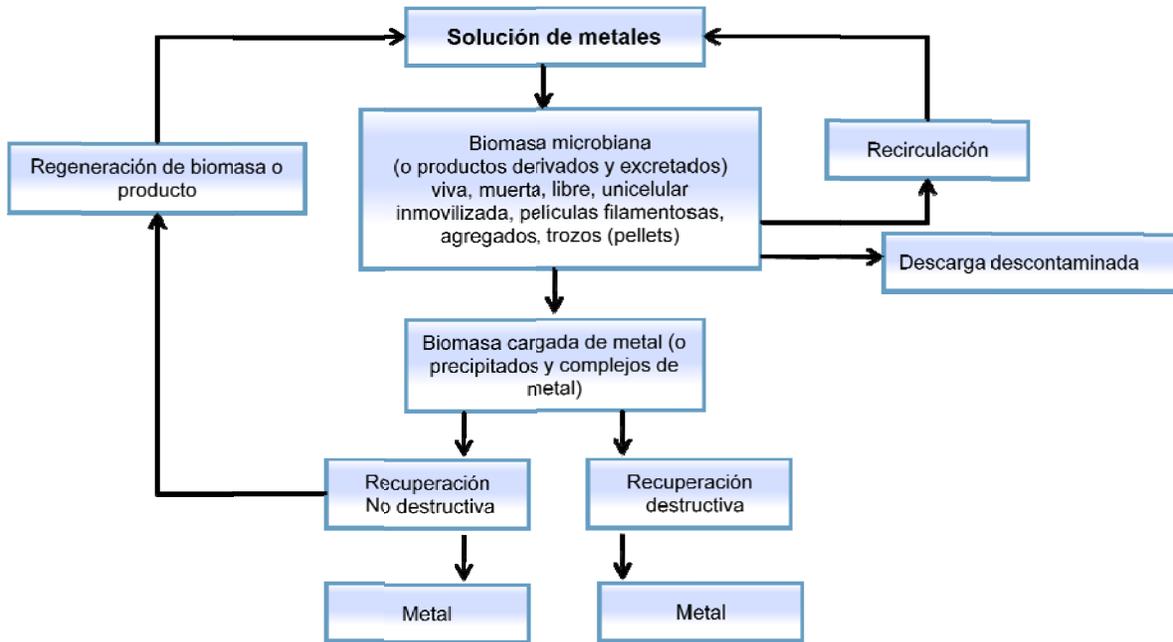


Figura 3.4 Principios básicos involucrados en la eliminación/recuperación de metales de soluciones acuosas por biomasa microbiana o productos derivados (Cañizares-Villanueva 2000).

3.4.2 Isotherma de adsorción

Evaluación del equilibrio de la biosorción.

El proceso de biosorción involucra una fase sólida (sorbente) y una fase líquida (solvente, normalmente agua) conteniendo a especies disueltas para ser sorbidas (sorbato, por ejemplo un ión metálico). Debido a la alta afinidad del el sorbente por las especies de sorbato este último es atraído en el sólido y unido por diferentes mecanismos. Este proceso toma lugar hasta que el equilibrio se establece entre la cantidad de especies de sorbato unidas al sólido y la porción remanente en solución (C_f concentración residual, final o de equilibrio). El grado de la afinidad del sorbente por el sorbato determina su distribución entre las fases sólida y líquida.

La calidad del sorbente es juzgado de acuerdo a la cantidad de sorbato que puede atraer y retener en una forma inmovilizada. C_o es la cantidad de metal atrapada (q) como la cantidad de biosorbente unido por unidad de fase sólida (por peso, volumen, etc.).

El cálculo de metal unido (mgMet/g sorbente (seco)) se basa en el balance de materia del sistema de sorción.

La cantidad de metal unida por el sorbente el cual desaparece de la solución puede ser calculada en base al balance de masa por el sorbente en el sistema.

$V[L](C_i)[\text{mg/L}] = \text{todo el sorbato en el sistema [mg]}$

$V[L](C_f)[\text{mg/L}] = \text{el sorbato remanente en la solución [mg]}$

La sorción (sorbato en la fase sólida) será la diferencia:

$q = V[L](C_i - C_f)[\text{mg/L}] / S[\text{g}]$ [en unidades mg/g]

donde

V es el volumen de la solución de metal que contacta con el sorbente [L].

C_i y C_f son las concentraciones inicial y de equilibrio del metal. Se deben determinar analíticamente.

S es la cantidad adicionada de biosorbente en base seca [g].

Isotermas de simple sorbato.

El proceso de la sorción tiende a ser exotérmico y el funcionamiento puede variar con la temperatura de por lo que se requiere que la temperatura sea constante. Las isotermas de sorción son gráficas entre el metal atrapado (q) y la concentración final residual en el equilibrio de sorbato remanente en la solución (C_f).

Las relaciones en las isotermas de sorción de (q) contra (C_f) pueden ser expresadas matemáticamente. Esto fue hecho a principios de 1900 en los trabajos clásicos de

Langmuir y Freundlich quienes estudiaron la adsorción del carbón activado (Volesky, 2003).

La relación de la isoterma de **Langmuir** es de una forma hiperbólica:

Langmuir:

$$q = q_{max} \frac{bC_f}{1 + bC_f} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

La relación de Langmuir puede ser linealizada graficando $(1/q)$ contra $(1/C_f)$ o (C_f/q) contra (C_f) .

Donde: $q_{m\acute{a}x}$ es la máxima sorción del sorbato bajo las condiciones dadas; [mg/g].

b es el coeficiente relacionado a la afinidad entre el sorbente y el sorbato.

La linealización de Langmuir queda:

$$(q/C_f) = bq_{m\acute{a}x} - bq \quad \text{Ecuación 3.2}$$

La isoterma de Langmuir (1918) considera la sorción como un fenómeno químico. Fue primeramente examinada en la adsorción de gases en superficies sólidas (Smith J. M. 1991). La constante de Langmuir $b=1/k$ la cual se relaciona a la energía de adsorción a través de la ecuación de Arrhenius. Un valor grande de b grande y un valor pequeño de k indican una alta afinidad del sorbente por el sorbato. $q_{m\acute{a}x}$ también puede ser interpretada como el total de números de sitios de unión que son disponibles para la biosorción y q es el número de sitios de unión que son ocupados por el sorbato en la concentración C_f .

Aunque el modelo de Langmuir no arroja luz sobre los aspectos de mecanismo de la sorción, si provee información de las capacidades de atracción y es capaz de reflejar el equilibrio usual de comportamiento en el proceso de sorción. Langmuir asume que las

fuerzas que son ejercidas por la superficie insaturada de átomos (total de números de sitios de unión) no se extiende más allá del diámetro de una molécula sorbida y la sorción es restringida a una monocapa.

En el caso más simple las siguientes suposiciones fueron hechas:

- a) Número fijo de sitios de adsorción; en el equilibrio, y cualquier temperatura y presión de gas una fracción de los sitios de la superficie θ es ocupada por las moléculas adsorbidas y la fracción $1 - \theta$ es libre.
- b) Todos los sitios de sorción son uniformes (ejemplo: calor constante de adsorción).
- c) Solo un sorbato.
- d) Una molécula de sorbato reacciona con un sitio activo.
- e) No hay interacción entre las especies sorbidas.

La suposición de un valor para área de superficie cubierta por molécula puede permitir el cálculo del área de superficie activa del sorbente utilizando el número de Avogadro. Sin embargo el concepto de “área de superficie” no puede ser usado en sorbentes tipo gel que la mayoría de los biosorbentes son.

Mientras sus restricciones y limitaciones son claramente reconocidas, la ecuación de Langmuir puede usarse para describir las condiciones de equilibrio para el comportamiento de sorción en diferentes sistemas sorbato-sorbente, o para una variedad de condiciones con cualquier sistema dado (Volesky, 2003).

La relación de la isoterma de **Freundlich** es exponencial:

Freundlich:

$$q = KC_f^{(1/n)} \quad \text{Ecuación 3.3}$$

Donde k y n son constantes de Freundlich.

La relación de Freundlich es una ecuación empírica. Y no indica la capacidad finita de sorción de el sorbente y esto solo puede ser razonablemente aplicado a rangos de concentraciones bajas e intermedias (C_f). Sin embargo matemáticamente es fácil de

manejar en cálculos más complejos en donde suele aparecer (ejemplo en la modelación del comportamiento dinámico de una columna). El modelo de Freundlich es fácilmente linealizado graficando en un formato log-log.

El modelo de Langmuir es finalmente el más usado ya que contiene los dos parámetros útiles ($q_{m\acute{a}x}$ y b) los cuales son más fáciles de entender ya que reflejan las dos características importantes en un sistema de sorción (Volesky, 2003).

En la Figura 3.5 se muestran las formas de las curvas de las isothermas de Langmuir y Freundlich comparado con una forma lineal.

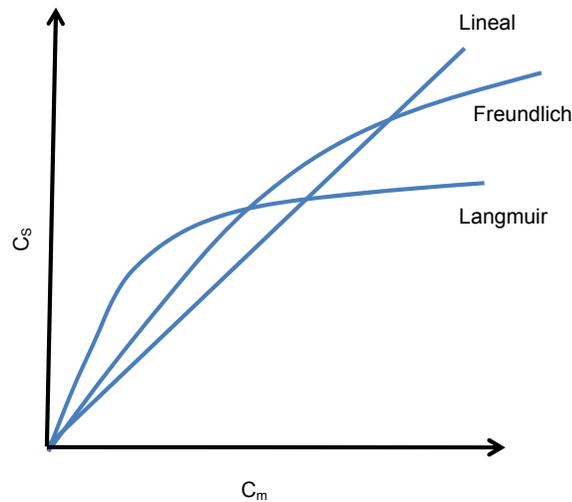


Figura 3.5 Comparación de las diferentes isothermas

3.4.3 Modelo de Monod

Monod fue el primero en investigar el efecto de la concentración de sustrato sobre la rapidez de crecimiento. Encontró que el ciclo procedía cuando se inoculaba medio nuevo con glucosa como única fuente de carbono y energía y con todo lo otros nutrientes en exceso. Durante la fase exponencial μ es constante, luego tiende a cero en la fase de desaceleración, donde la concentración de sustrato, S , (Figura 3.6) es una hipérbola con una curva de saturación similar a la que se describe la cinética enzimática tipo Michaelis-Menten. Monod propuso una expresión, la ecuación de Monod, para describir esta curva.

$$\mu = \mu_{\text{máx}} \frac{S}{K_s + S} \quad \text{Ecuación 3.4}$$

Donde μ es la rapidez específica de crecimiento (1/h), **S** es la concentración de sustrato (g/L). $\mu_{\text{máx}}$ es la rapidez específica de crecimiento de máxima y K_s es la constante de Monod (g/d) que representa la concentración de sustrato que produce la mitad de $\mu_{\text{máx}}$.

De acuerdo a Olguin-Lora y colaboradores (2003) el modelo cinético de Monod se puede ajustar para obtener los parámetros cinéticos en la actividad metanogénica específica.

$$\mu_{\text{DQO-CH}_4} = \mu_{\text{máx}} \frac{C_{\text{acet.}}}{K_s + C_{\text{acet.}}} \quad \text{Ecuación 3.5}$$

Donde:

$\mu_{\text{DQO-CH}_4}$ Es la actividad metanogénica específica gDQO/gSSV·d.

$\mu_{\text{máx}}$ Es la máxima actividad metanogénica específica gDQO/gSSV·d.

$C_{\text{acet.}}$ Es la concentración del acetato gDQO/L.

K_s Es la constante de saturación media.

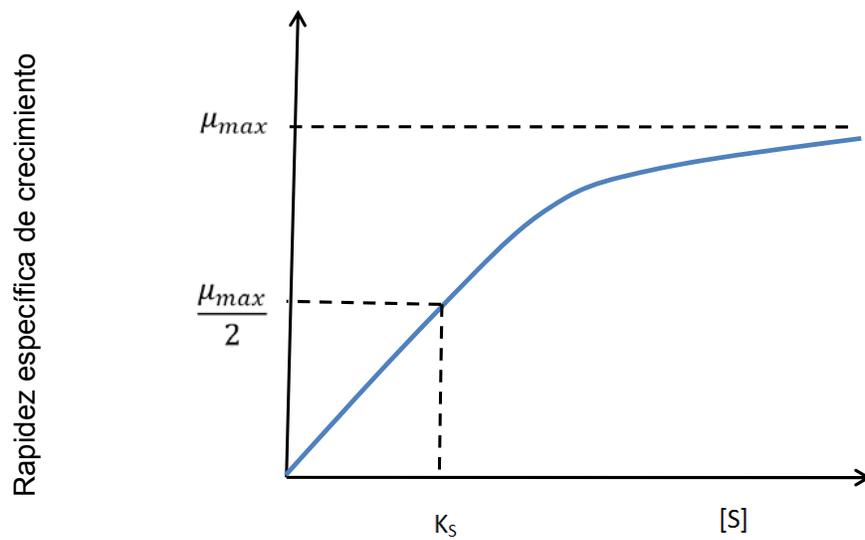


Figura 3.6 Efecto de la concentración del sustrato sobre la tasa específica de crecimiento

Durante la fase de crecimiento exponencial, $S > K_S$ y, en consecuencia $\mu = \mu_{max}$ es decir en el cultivo intermitente la población crece a la máxima rapidez posible. K_S representa la afinidad de los organismos por el sustrato.

3.5 Lodos Anaerobios

En las plantas de tratamiento de agua potable o de aguas residuales, los procesos de remoción de sólidos (floculación, sedimentación, biológicos, etc.) originan lodos, los cuales constituyen un desecho bastante importante, debido a sus volúmenes, características, composición y problemas de disposición final (Ramírez-Cortina, 1992).

3.5.1 Clasificación y composición

Los lodos residuales de acuerdo a su origen pueden ser clasificados en: Lodos primarios cuando provienen de los procesos de separación sólido-líquido (sedimentación, flotación, etc.) y los lodos secundarios cuando son de procesos biológicos.

Según sean sus características fisicoquímicas, los lodos residuales pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- ❖ Orgánico hidrófilo
- ❖ Aceitosos
- ❖ Mineral hidrófobo
- ❖ Mineral hidrófilo
- ❖ Fibroso

La composición de los lodos residuales varía según sea su origen, dependiendo del tipo de efluente industrial o urbano tratado. En la Tabla 3.5, se presenta la composición química típica de lodos crudos y digeridos (Ramírez-Cortina, 1992).

Tabla 3.5 Composición química de lodos crudos y digeridos

Composición química de lodos crudos y digeridos				
Parámetro	Lodos primarios crudos		Lodos digeridos	
	Rango típico		Rango típico	
Sólidos totales (ST, %)	2.0-7.0	4.0	6.0-12.0	10.0
Sólidos volátiles (%SV)	60-80	65.0	30.6	40.0
Grasas y aceites (soluble en éter % ST)	6.0-30.0	...	5.0-20.0	...
Proteínas (% ST)	20-30	25.0	15-20	18.0
Nitrógeno (N, % ST)	1.5-4.0	2.5	1.6-6.0	3.0
Fósforo (P ₂ O ₅ , % ST)	0.8-2.8	1.6	1.5-4.0	2.5
Potasio (K ₂ O, % ST)	0.0-1.0	0.4	0.0-3.0	1.0
Celulosa (% ST)	8.0-15.0	10.0	8.0-15.0	10.0
Hierro (no como sulfuro)	2.0-4.0	2.5	3.0-8.0	4.0
Sílice (SiO ₂ % ST)	15.0-20.0	...	10.0-20.0	...
pH	5.0-8.0	6.0	6.5-7.5	7.0
Alcalinidad (mg/L CaCO ₃)	500-1,500	600.0	2,500-3,500	3000.0
Ácidos Orgánicos (mg/L HAc)	200-2,000	500.0	100-600	200.0
Poder calorífico (BTU/lb)	6800-10000	7,600 ^(a)	2,700-6,800	4000 ^(b)

Nota (a) basado en 65% de materia volátil, (b) Basado en 40% de materia volátil.

3.5.2 Origen y cantidad de lodos generados

El origen de los lodos de una planta de tratamiento varía de acuerdo a tipo de planta y a su método de operación.

En el diseño de un tratamiento de lodos es importante conocer todas las fuentes posibles de lodos en la planta de tratamiento que los genera, con el fin de poder identificar sus características y decidir qué tipo de tratamiento sería el más adecuado.

Además para el cálculo de la capacidad de las unidades de tratamiento de lodos, se debe conocer las cantidades que se generan, su fluctuación respecto al tiempo y la capacidad potencial de las unidades de sedimentación y tanques de aeración, en los cuales de puede almacenar temporalmente una cierta cantidad de lodos. Este almacenamiento puede auxiliar en los puntos pico de carga (Ramírez-Cortina, 1992).

3.5.3 Características fisicoquímicas de los lodos

En el diseño y elección de los procesos para el tratamiento de lodos es importante conocer las siguientes características fisicoquímicas:

Características químicas

Las características más importantes de los lodos son:

- ❖ Sólidos totales (ST).
- ❖ Sólidos volátiles (SV), llamados también materia volátil (MV).
- ❖ Materia orgánica.
- ❖ Nitrógeno y Fósforo.
- ❖ Contenido de metales pesados.
- ❖ Composición química en general.

Características físicas

- ❖ Propiedades reológicas.

El conocimiento de esta característica es muy importante para el bombeo, tuberías y transporte de los lodos.

Los lodos tienen la prioridad de solidificarse en ausencia de agitación y transformarse en líquidos aplicando una ligera agitación, a esta propiedad se le llama tixotropía.

- ❖ Tipo de agua contenida en los lodos.

El agua de los lodos está formada por agua libre (fácilmente eliminada) y agua de enlace.

La cantidad de agua en los lodos (libre y de enlace) es determinante en su capacidad de deshidratación.

- ❖ Características de sedimentación.

La velocidad de sedimentación en los lodos depende de su concentración en sólidos.

- ❖ Características para la deshidratación.

Los procesos empleados para la deshidratación dependen de la concentración del lodo, grado de agregación, características estructurales de las partículas, viscosidad, fuerza iónica y pH del agua (Ramírez-Cortina, 1992).

3.5.4 Influencia de los metales pesados en la estructura del lodo granular anaerobio

El efecto de los metales en la digestión anaerobia ha sido dirigido principalmente hacia parámetros operacionales tales como producción de gases, ácidos grasos volátiles, actividad metanogénica, sólidos suspendidos volátiles, biosorción de metales; es decir las condiciones fisiológicas de los gránulos.

Debido a la laboriosidad que representa el estudio de la integridad de los lodos granulares anaerobios ante un tratamiento con metales pesados, la información que se tiene del tema es escasa, mas no así la importancia que revela; dándonos el éxito o la inhibición del lodo ante un tratamiento. Los parámetros estructurales más importantes son: la velocidad de sedimentación, la distribución del tamaño, la fuerza del lodo y el contenido del agua, los cuales tienen incidencia directa con el metabolismo del lodo.

La bibliografía reporta (Chávez, *et al.*, 2004) que con una baja concentración de metales se tiene una mayor fuerza granular por tanto son gránulos más compactos y densos aumentando la velocidad de sedimentación; se presenta poca turbiedad. Con este tipo de gránulos se favorece el crecimiento de las bacterias metanogénicas. Fang (1997) estudió la toxicidad de cinco metales pesados sobre la actividad metanogénica de biogránulos anaerobios obtenidos de un reactor UASB y encontró que los metales pesados en general inhiben en mayor medida las bioactividades de las bacterias fermentativas acidogénicas que las actividades de las metanogénicas y acetogénicas.

3.5.5 Gránulos anaerobios

La formación de gránulos puede ser iniciada por la adhesión bacteriana a precipitados inorgánicos tales como sulfato de hierro o fosfato de calcio o por la adhesión entre las mismas bacterias. La sedimentabilidad de un gránulo depende de la densidad y el tamaño. La concentración y el tipo de sustrato influyen en la formación de los gránulos: a mayor concentración de sustrato el tamaño aumenta (Grotenhuis et al., 1991), los ácidos grasos volátiles, son los mejores sustratos para la formación de gránulos. Las bacterias metanogénicas del género *Methanosaeta* (*Methanothrix*) juegan un papel esencial en la granulación; *Methanobrevibacter arboriphilicus* produce polipéptidos extracelulares que inducen la granulación, *Methanosarcina* produce agregados iniciales para formar los gránulos (Veiga et al., 1997).

Junto con los microorganismos y partículas, los gránulos están constituidos por una matriz polimérica comúnmente llamada sustancia exopolimérica (Jorand et al., 1998). Los polímeros extracelulares son compuestos de alto peso molecular (P. M. > 10,000 D) los cuales son producidos por microorganismos bajo ciertas condiciones ambientales (Morgan et al., 1990). Los polímeros extracelulares juegan un papel esencial en la estructura de los gránulos y en la actividad y funcionamiento de un tratamiento biológico de aguas residuales. Son los encargados de mediar el transporte químico para y desde los microorganismos

Según Jorand et al., (1998) los exopolímeros pueden intervenir en la cohesión del gránulo de dos maneras: 1) a través de cadenas hidrofílicas representadas por polisacáridos creando una matriz en donde la bacteria queda embebida y 2) a través de puentes de unión o puntos reticulares en los polisacáridos representados por heteropolímeros hidrofóbicos. También ofrecen propiedades de intercambio iónico debido a la negatividad de los grupos funcionales de la superficie los cuales permiten la unión de especies catiónicas tales como metales pesados (Zhang et al., 1998) creando una resistencia difusional para el movimiento del material.

3.5.6 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso complejo constituido por un conjunto de reacciones consecutivas y paralelas, biocatalizadas por diferentes especies de microorganismos (Viñas, 1994).

El consorcio microbiano activo en un tratamiento anaerobio realiza un proceso complejo que involucra muchas clases de bacterias y varios pasos intermedios. Si el sustrato consiste de compuestos orgánicos complejos, los microorganismos primero deben hidrolizar a compuestos orgánicos simples, los cuales son fermentados por los microorganismos acidogénicos a ácidos volátiles. Los ácidos volátiles largos de más de dos carbonos, son entonces convertidos a acetato e hidrógeno por las bacterias acetogénicas obligadas productoras de hidrógeno. Finalmente, el acetato e hidrógeno son convertidos a metano por las bacterias metanogénicas. Este proceso relativamente complejo se muestra en la Figura 3.7. La actividad metanogénica específica (AME = $\text{gDQO-CH}_4 \cdot \text{gSSV}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) se define como la velocidad de producción de metano, expresado como demanda química de oxígeno (DQO), con respecto a la biomasa expresado como el contenido de sólidos suspendidos volátiles (SSV). En pruebas de biodegradabilidad anaerobia se mide la velocidad de degradación de un compuesto en relación a un compuesto patrón que es el ácido acético determinando sus AME (Almendariz, 2005).

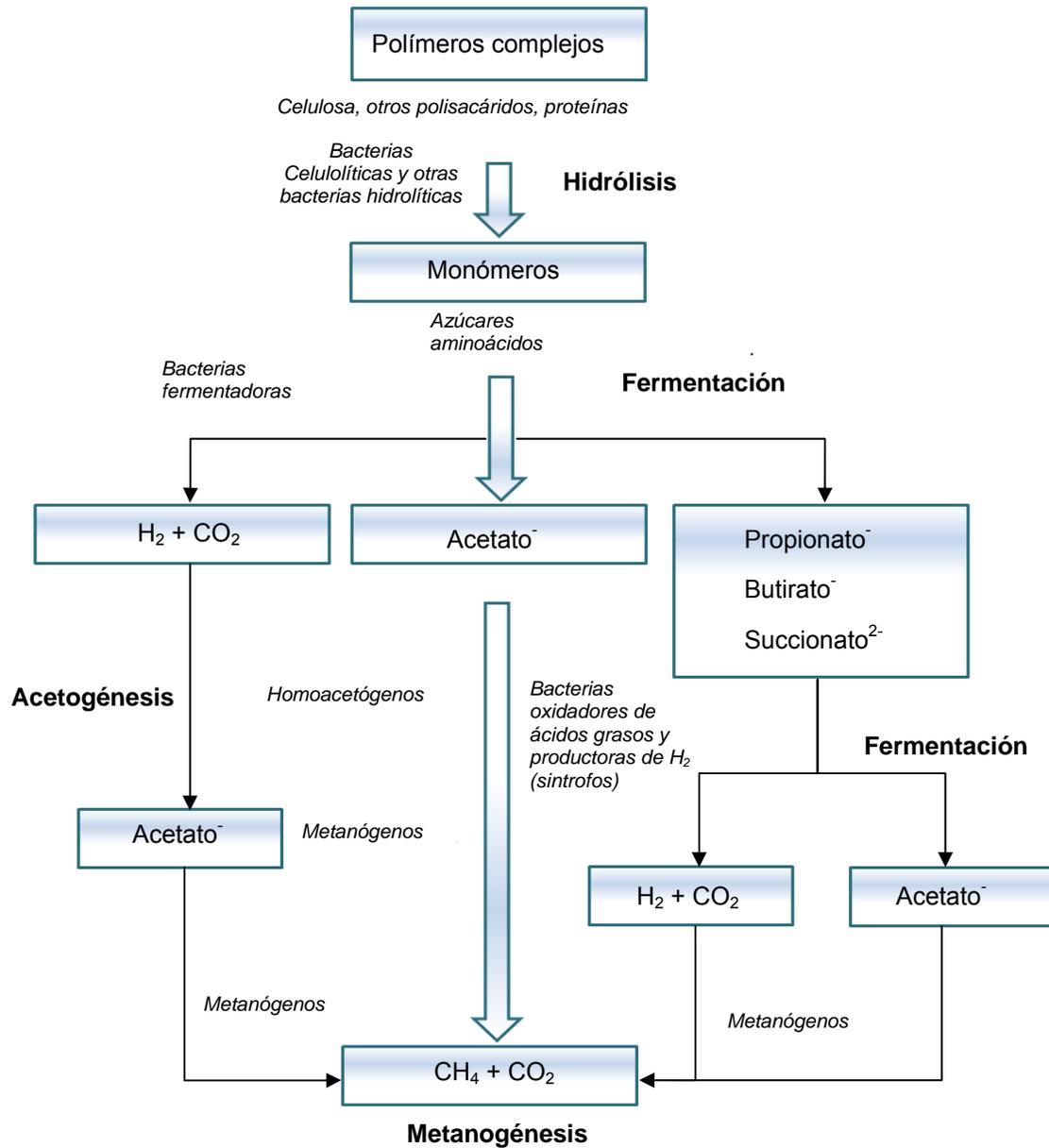


Figura 3.7 Proceso general de la descomposición anaeróbica mostrando como varios grupos de anaerobios de fermentación actúan juntos en la conversión de materiales orgánicos complejos finalmente en metano y CO₂ (Madigan et al., 2004)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

En la figura 4.1 se presenta el diagrama de flujo de la metodología experimental.

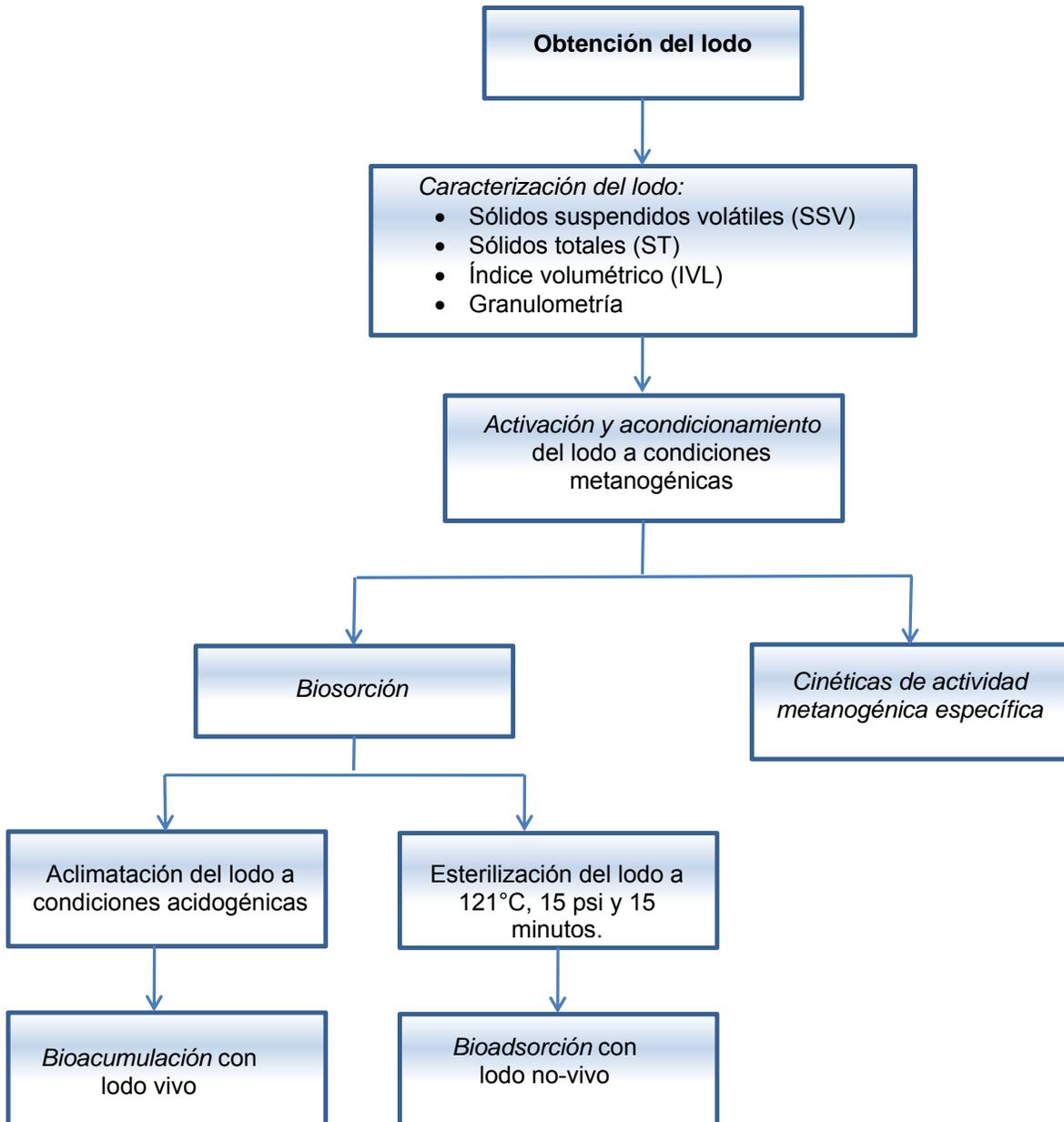


Figura 4.1 Diagrama de flujo de la metodología utilizada.

4.2 Caracterización de los Lodos Anaerobios

Los lodos fueron tomados de una planta de tratamiento de agua de una industria cervecera y se les determinó sólidos totales (ST), sólidos suspendidos volátiles (SSV), cenizas (sólidos fijos SF), índice volumétrico de lodo (IVL) (Standard Methods, 1995) y granulometría (Laguna *et al.*, 1999). Para las pruebas de bioadsorción el lodo fue esterilizado a 16 psi durante 15 minutos y para las pruebas de bioacumulación se empleó lodo vivo aclimatado a condiciones acidogénicas.

4.3 Activación y Acondicionamiento de Lodos

Para la activación y acondicionamiento de lodos se transfirieron 300 mL de lodo a matraces de 1 L y se activaron con medio mineral dado en la tabla siguiente (Tabla 4.1 y 4.2):

Tabla 4.1 Medio mineral empleado para la activación.

Compuesto	g/L
NH ₄ Cl	1.045
KCl	0.27
KH ₂ PO ₄	0.17
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.185
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05
Dextrosa	0.5
Extracto de levadura	0.02
Elementos traza	1 mL/L

Tabla 4.2 Elementos traza propuesto por Visser (1995)

Compuesto	mg/L
FeCl ₂ ·4H ₂ O	2000
MnCl ₂	500
EDTA	500
Na ₂ SeO ₃	100
H ₃ BO ₃	50
ZnCl ₂	50
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	50
AlCl ₃	50
NiCl ₃ ·6H ₂ O	50
CoCl ₂ ·2H ₂ O	50
CuCl ₂ ·2H ₂ O	50
HCl concentrado	1 mL/L

EDTA= Ácido Etileno Diamino Tetracético

Donde la solución de elementos traza es la propuesta por Visser (1995). El período de incubación fue de 12 a 20 días en una incubadora con agitación marca New Brunswick Scientific modelo C76 a una temperatura de 35°C y 50 rpm. Para la conversión del lodo metanogénico a acidogénico se sobrealimentó con glucosa a una concentración de 5 gDQO/L para tener una producción mayor de ácidos grasos y disminuir la actividad metanogénica y el pH quedó entre 4 y 4.5.

4.4 Cinética de Actividad Metanogénica

La cinética de actividad metanogénica se llevó a cabo en botellas serológicas de 150 mL con un volumen de operación de 100 mL. Se alimentaron con acetato de sodio a una concentración de 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5 gDQO/L, se inocularon con 10 mL de lodo y se utilizó el medio mineral de Visser, posteriormente fueron incubadas durante 24 h en un cuarto con control de temperatura (35 °C). La demanda química de oxígeno (DQO) se determinó de acuerdo a los *métodos estándares* (Standard Methods, 1995). El metano se determinó por desplazamiento de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 3%.

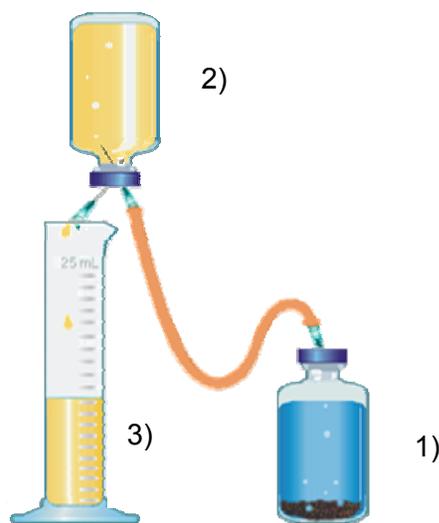


Figura 4.2 Medición de metano por desplazamiento de una solución de NaOH al 3%. 1) botella serológica, 2) botella serológica con solución de NaOH 3% en masa y 3) probeta para medir el NaOH desplazado (Almendariz, 2005).

Mediante la ecuación 4.1, se determinó la actividad metanogénica específica.

$$AME = \frac{m}{\gamma_{CH_4} \cdot X} \quad \text{Ecuación 4.1}$$

En donde:

$$\text{Pendiente} = m = \frac{L_{CH_4}}{d};$$

$$\text{Biomasa} = X [=] \text{ gSSV/L};$$

$$\text{Conversión de metano } \gamma_{\frac{CH_4}{DQO}} = 0.35 \frac{L_{CH_4}}{gDQO}$$

Se usó el medio mineral de Visser (1995) y la solución de elementos traza (Tabla 4.1 y 4.2).

4.5 Bioadsorción y Bioacumulación

Las pruebas de bioadsorción y bioacumulación se llevaron a cabo en matraces de 250 mL con 200 mL de medio mineral ajustado a pH 4.5 para evitar la precipitación del ión cobre. A cada una de las soluciones se les adicionó 12 mL de lodo (0.37 gSSV), se incubaron a 37°C durante 75 minutos en una incubadora con agitación a 50 rpm para evitar la transferencia del oxígeno a la solución. Las pruebas se hicieron a concentraciones de 50, 100, 150, 200 y 300 mgCu(II)/L y se monitoreó la concentración del ión metálico en el sobrenadante cada 15 minutos. Las soluciones de Cu se prepararon a partir de sulfato de cobre (CuSO₄) disuelto en agua desionizada. La concentración se determinó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 3100.

Isotermas de bioadsorción y bioacumulación.

La capacidad de retención de cobre (q) de la biomasa se calculó de la siguiente forma (Mesquita, et al., 2007; Gutiérrez et al., 1997):

$$q = \frac{C_i - C_f}{X_0} \quad \text{Ecuación 4.2}$$

q = Tasa de retención de Cobre (g de cobre/g de biosorbente).

C_i = Concentración inicial de Cu(II) en solución (g/L).

C_f = Concentración final de Cu(II) en solución (g/L).

X₀ = Concentración del sólidos suspendidos volátiles (biosorbente) (g/L).

Graficando la capacidad de retención del metal (g de cobre/ g de biomasa) contra concentración residual del metal en solución (g/L), se obtienen las isotermas de biosorción. En este punto, la isoterma será definida matemáticamente de acuerdo al modelo de adsorción de Langmuir.

$$q = \frac{bC_e q_{max}}{1 + bC_e} \quad \text{Ecuación 4.3}$$

q = Tasa de retención de Cobre (gCu(II)/gSSV).

q_{máx} = Tasa máxima de retención de cobre (gCu(II)/gSSV).

C_e = Concentración en el equilibrio de Cu (II) remanente en la solución (g/L).

b = Constante relacionada con la energía de adsorción.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización de Lodos

En la Tabla 5.1 se muestra la caracterización del lodo anaerobio empleado en este trabajo. Los SSV son una manera indirecta de determinar la biomasa y se obtienen al restar las cenizas (SF) a los ST, de este modo la biomasa contenida en el lodo fue la mitad del total. El IVL nos indica que el lodo es compacto y presentó una velocidad de sedimentación rápida.

Tabla. 5.1 Características físicas del lodo anaerobio.

Parámetro	
Sólido totales (ST)	60.57 g/L
Sólidos suspendidos volátiles (SSV)	30.95 g/L
Sólidos fijos (SF)	29.6 g/L
Índice volumétrico de lodo (IVL)	43 mL _{lodo} /gSSV
Velocidad de sedimentación	12.93 mL _{lodo} /s

La granulometría mostró que el lodo es granular ya que la mayoría de los sólidos tanto totales como volátiles se encontraron en un diámetro de partícula de 0.355 mm (Figura 5.1).

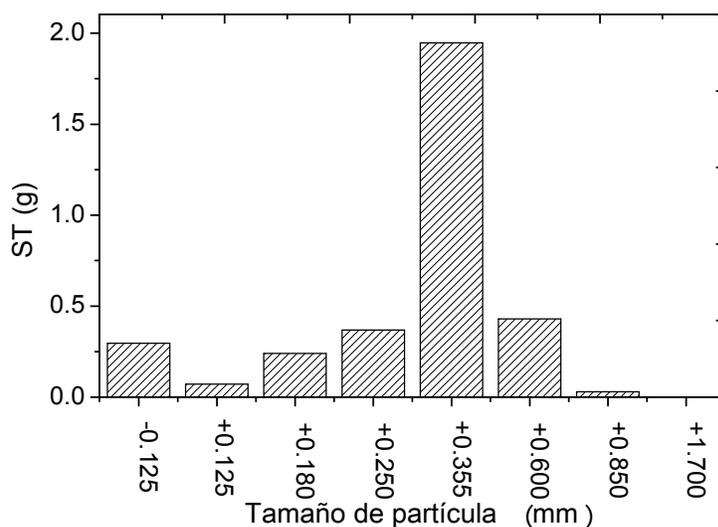


Figura 5.1. Granulometría del lodo

5.2 Cinética de Actividad Metanogénica

La actividad metanogénica específica (AME) del lodo anaerobio previamente activado, se evaluó a diferentes concentraciones de acetato. En la Figura 5.2 se observa que al aumentar la concentración de acetato, la producción de metano aumenta hasta alcanzar una producción máxima en las concentraciones de 3 y 5 gDQO/L. La producción de metano fue convertida a gDQO-CH₄ empleando el rendimiento de metano/DQO ($\gamma_{\frac{LCH_4}{gDQO}}$) y con la ecuación 4.1 se determinaron las AME (Tabla 5.2).

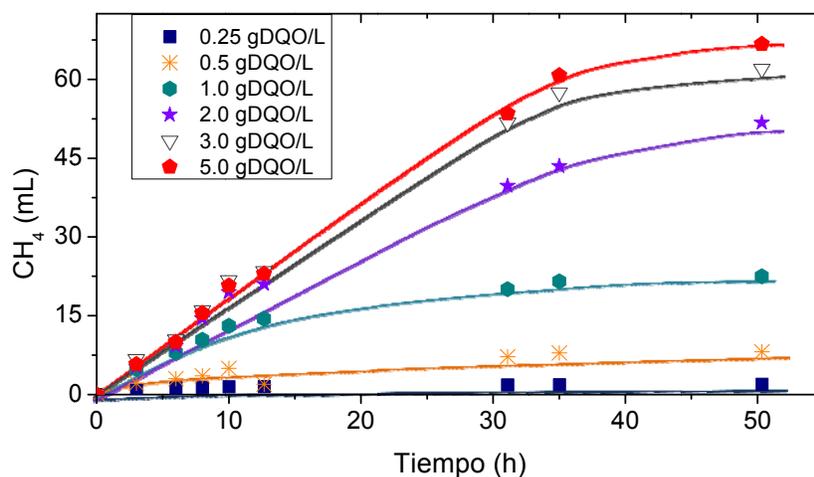


Figura 5.2 Producción de metano variando la concentración de acetato.

Tabla 5.2 Actividad metanogénica específica variando la concentración de acetato.

Acetato	m	AME
gDQO/L	gDQO-CH ₄ /d	gDQO-CH ₄ /gSSV.d
0.25	0.002	0.01
0.5	0.010	0.04
1	0.028	0.10
2	0.071	0.24
3	0.090	0.31
5	0.098	0.34

Para determinar la constante de saturación (K_S) y la máxima AME ($\mu_{m\acute{a}x}$) se empleó una herramienta de cálculo de Excel denominada Solver. Esta herramienta permite una optimización a partir de datos experimentales (Tabla 5.2) para la determinación de los

valores K_S y $\mu_{\text{máx}}$, que posteriormente son empleados para hacer un ajuste al modelo de Monod [$\mu_{\text{DQO-CH}_4} = \mu_{\text{máx}} \cdot C_{\text{acet.}} / (K_S + C_{\text{acet.}})$], (Figura 5.3) (Olguin-Lora *et al.*, 2003). De acuerdo a este análisis, los valores de parámetros $K_{S_{\text{acet}}}$ y $\mu_{\text{máx}}$ corresponden a 4.54 gDQO_{acet}/L y 0.69 gDQO-CH₄/gSSV.d, respectivamente.

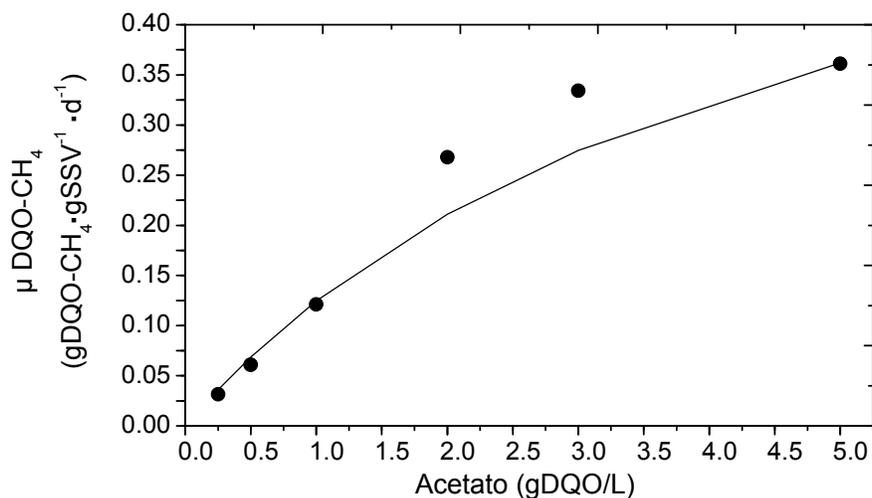


Figura 5.3 Determinación de los parámetros cinéticos del lodo activado utilizando acetato como sustrato.

5.3 Bioadsorción y Bioacumulación

Diversos factores son importantes en la retención de metales pesados usando biomasa anaerobia. Estos factores incluyen las propiedades químicas de la superficie celular, el tamaño del gránulo y actividad metabólica de la biomasa, entre otros.

La bioadsorción se refiere al captar los metales de manera pasiva y se emplea biomasa muerta, mientras que en la bioacumulación la captación de los iones metálicos requiere de energía y se utilizan bacterias vivas (Alexander, 1999).

Se estudió la bioacumulación y bioadsorción de cobre con lodo anaerobio vivo y no-vivo. Se estableció que la bioacumulación y la bioadsorción de cobre es más marcada en los primeros 15 minutos. Como se muestra en la Figura 5.4 se observa que la máxima

bioacumulación de cobre fue del 24% a los 75 minutos en la concentración de 50 mg/L y al aumentar la concentración a 300 mg/L está disminuye a un 10%. Se utilizó un blanco como control en donde no se adicionó biomasa y la precipitación del cobre fue de menos del 5%. En la Figura 5.5 se muestra la eficiencia de bioadsorción de cobre en lodo anaerobio no-vivo en donde se observa que a una concentración de 50 mg/L se obtuvo una bioadsorción de 27.5% a los 75 minutos y al aumentar la concentración a 300 mg/L ésta cae hasta 12%. En base a lo anterior, se considera que la remoción de cobre bajo las condiciones experimentales es más eficiente si se trabaja con soluciones acuosas con baja concentración de cobre. El aumento de retención de cobre utilizando lodo no-vivo se debe a que al esterilizarlo en autoclave mejora la capacidad de retención de la biomasa, debido a que las células y gránulos se rompen y se aumenta el área superficial (Haytoglu *et al.*, 2001).

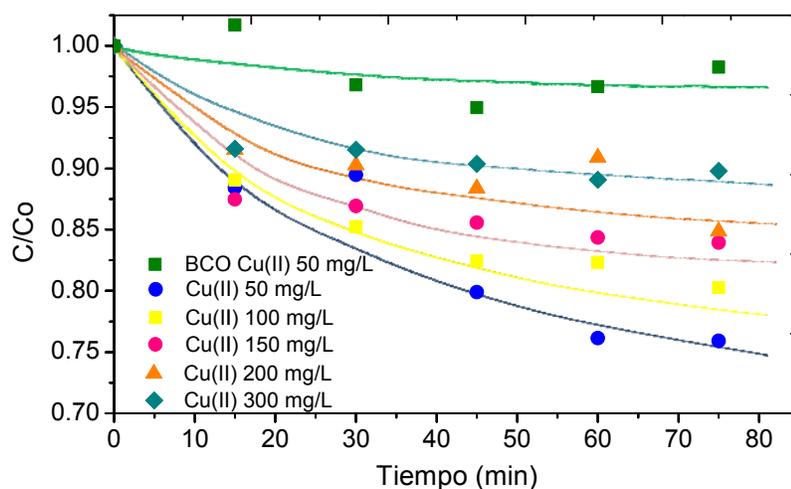


Figura 5.4. Eficiencia de bioacumulación de cobre en lodo anaerobio vivo.

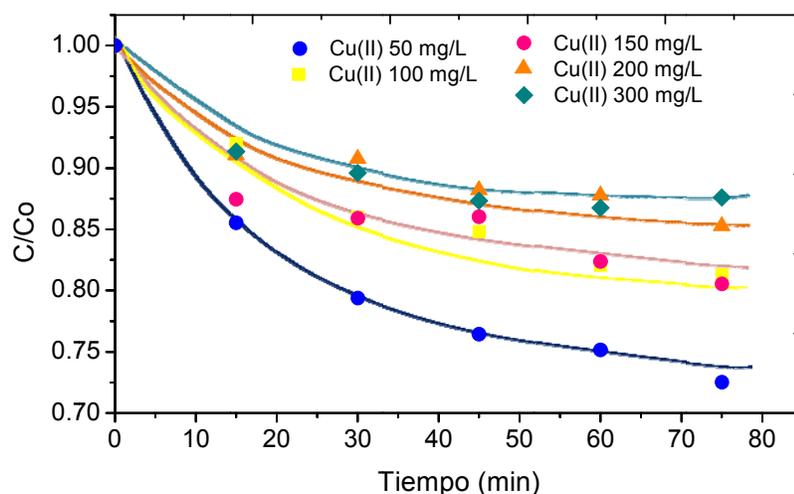


Figura 5.5. Eficiencia de bioadsorción de cobre en lodo anaerobio no-vivo.

5.4 Isotermas de Bioadsorción y Bioacumulación

Para el cálculo de estos valores se utilizó la herramienta de cálculo solver. En las Figuras 5.6 y 5.7 se muestran las tasas de retención de cobre para el lodo vivo y el no-vivo, las cuales no presentan diferencias significativas de acuerdo al modelo de Langmuir ya que la $q_{\text{máx}}$ fue de 25.4 y 27.67 mgCu(II)/gSSV con un valor de constante de b igual a 0.00739 y 0.00699 respectivamente, lo cual significa que se puede utilizar la biomasa viable y no viable de un reactor acidogénico para biorremediar el cobre de efluentes ácidos de mina.

El cálculo del límite máximo de retención ($q_{\text{máx}}$) del material nos indica su capacidad para retener iones metálicos en soluciones concentradas, y la ordenada al origen nos indica la capacidad del material de retener metales en soluciones diluidas (Gutiérrez *et al.*, 1997). Para el cálculo de estos valores se utilizó la herramienta de cálculo Solver de Excel para ajustar el modelo de Langmuir a los datos experimentales.

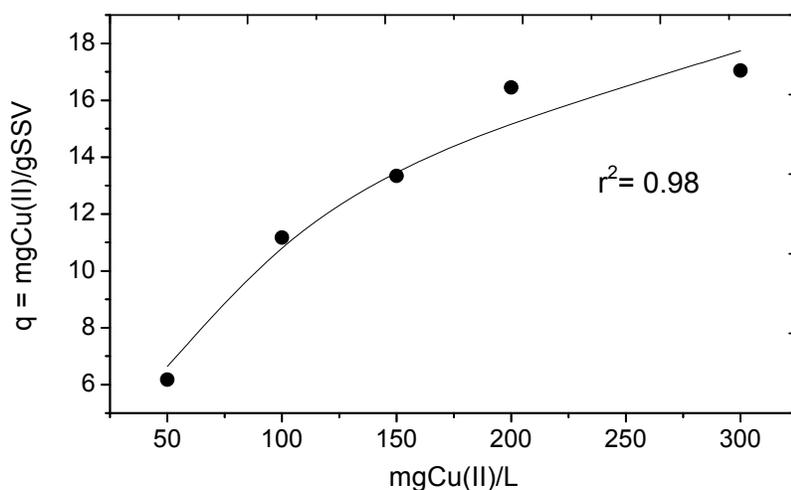


Figura 5.6. Tasa de retención de cobre en lodo anaerobio vivo. (●) Datos experimentales y (—) ajuste al modelo de Langmuir.

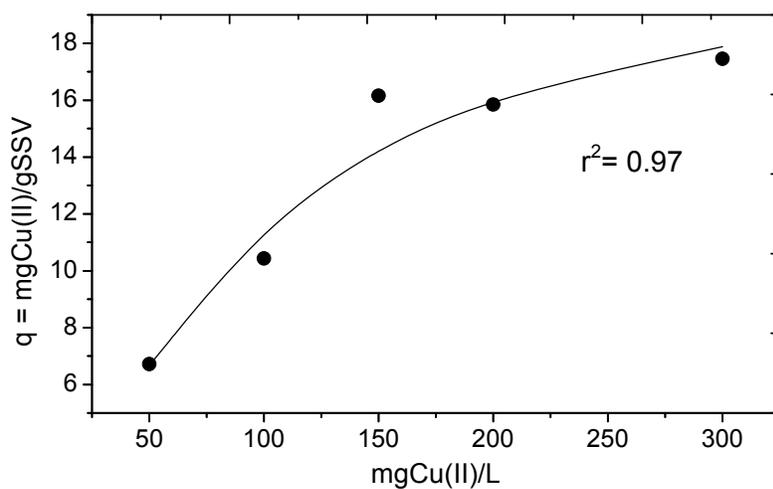


Figura 5.7. Tasa de retención de cobre en lodo anaerobio no-vivo. (●) Datos experimentales y (—) ajuste al modelo de Langmuir.

Algunos investigadores como Morais Barros *et al.*, (2006) trabajaron los procesos de biosorción de níquel y cromo a concentraciones diluidas en un reactor de flujo ascendente cargado con lodo de un reactor UASB y obtuvieron remociones superiores al 90% a pH de 9. Hawari y Mulligan (2006) trataron con soluciones de calcio a un lodo anaerobio para aumentar la capacidad de intercambio iónico y obtuvieron tasas de retención de metal similares a las que se obtienen utilizando membranas de intercambio iónico comerciales

($q_{m\acute{a}x}$ para Pb(II), Cd(II), Cu(II), y Ni(II) de 255, 60, 55, y 26 mg/g respectivamente. Haytoglu *et al.*, (2001) trabajaron con biomasa anaerobia no-viva y observaron que la máxima capacidad de adsorción para Pb(II), Zn(II), Cu(II), Ni(II) y Cr(VI) (cloruros) fue de 1250, 625, 357, 227 y 384 mg/g de biomasa seca a un pH de 4, sin embargo los trabajos los realizaron a concentraciones del metal elevadas. Artola *et al.*, (1997) investigaron la interacción del los metales pesados (cloruros de: cobre, cadmio y níquel) con el lodo anaeróbicamente digerido, obtuvieron rendimientos de remoción arriba de 95% de Cu(II) en un rango de concentración de 9.2 a 64 mgCu(II)/gST y a altas concentraciones la eficiencia de remoción disminuyó a 62.5%.

Por último, el lodo acidogénico puede ser susceptible a la presencia de metales pesados. Fang (1997) estudió la toxicidad de cinco metales pesados sobre la actividad metanogénica de biogránulos anaerobios obtenidos de un reactor UASB y encontró que los metales pesados en general inhiben en mayor medida las bioactividades de las bacterias fermentativas acidogénicas que las actividades de las metanogénicas y acetogénicas.

VI CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye lo siguiente:

El tamaño de partícula de lodo fue de 0.355 mm, lo cual permitió que se favoreciera la biosorción ya que se tiene una gran área de superficie.

El consorcio bacteriano tiene capacidad de cambiar su población bacteriana de metanogénica a acidogénica cuando fue alimentado con una alta carga orgánica.

El empleo de biomasa anaerobia para la retención de cobre ofrece una alternativa de biorremediación viable ya que se puede utilizar biomasa anaerobia que se produce en exceso en las plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR).

Al emplear biomasa no-viva aumentó la capacidad de retención de cobre debido a que aumenta el área superficial al lisarse los microorganismos y disgregarse los gránulos.

Las tasas de retención de cobre utilizando biomasa viva y no-viva fueron similares por lo que se puede utilizar la biomasa en los dos estados.

VII BIBLIOGRAFÍA

- Acosta I., Moctezuma-Zárate M. G., Cárdenas J. F. y Gutiérrez C. (2007). Bioadsorción de cadmio (II) en solución acuosa por biomasa fúngicas. *Información Tecnológica*. 18 (1): 9-14
- Alexander M. (1999). Biodegradation and Bioremediation. ED. Academic Press. Ed. 2nd. USA. 377-390.
- Almendariz F. J. (2005). Tratamiento de sosas gastadas en un reactor de lecho expandido de lodo granular anaerobio. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F.
- Artola A., Balanguer M. D. y Rigola M. (1997). Heavy metal binding to anaerobic sludge. *Wat. Res.* 31, (5): 997-1004.
- Cañizares-Villanueva R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Latinoam. Microbiol.* 42 (3): 131-143
- Cervantes Carlos (2006). Las bacterias y los metales ¿relaciones peligrosas?. *Carisma de la ciencia*. (3): 5-8.
- Cervantes Carlos (2006). Las relaciones de las bacterias y los metales. *Carisma de la Ciencia*. (3): 1-4
- Chávez M., Mejías D., Martínez M, Chacín E. y Fernández N. (2004). Influencia de diferentes concentraciones de níquel sobre los parámetros relacionados con la integridad del lodo granular anaerobio en reactores por carga. *Maracaibo*. 4 (1).
- Duffus J. (2002). IUPAC Technical Report “Heavy metals”— a meaningless term?. *Pure & Appl. Chem.* 74 (5): 793–807.
- Félix G., Sevilla L. (2003). Ecología y salud. ED. Mc Graw Hill. Ed. 2°. 163-165.

- Gómez-Álvarez A., Villalba-Atondo A., Acosta Ruíz G., Castañeda-Olivares M. y Kamp D. (2004). Metales pesados en el agua superficial del río San Pedro durante 1997 y 1999. *Int. Cont. Ambient.*, 20 (1): 5-12.
- Gutiérrez Cerón M. A., González González L. R., Sanchez Mora E. y Mellado Peralta D. (1997). Biosorción de Pb(II) por biomasa de *Saccharomyces cerevisiae*. XI Congreso nacional de ingeniería sanitaria y ambiental. Realizado del 4 al 7 de noviembre, Zacatecas, Zacatecas, Mex.
- Fang H.P. Herbert. (1997). Inhibition of Bioactivity of UASB Biogranules by Electroplating Metals. *Pure & Appl. Chem.*, 69 (11): 2425-2429.
- Hawari A. H. y Mulligan C. N. (2006). Biosorption of lead(II), cadmium(II), copper(II) and nickel(II) by anaerobic granular biomass. *Bioresource Technology*. 4 (97): 692-700.
- Haytoglu B., Demier G. N. y Yetis U. (2001). Effectiveness of anaerobic biomass in adsorbing heavy metals. *Water Science and Technology*. 44 (10): 245-252.
- Laguna A., Ouattara A., González R. O., Barón O., Fama G., El Mamouni R., Guiot S., Monroy O. y Macarie H. (1999). A simple and low cost technique for determining the granulometry of upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Water Science and Technology*. 40 (8): 1-8.
- Levin M. y Gealt M. A. (1997). Biotratamiento de Residuos Tóxicos y Peligrosos. Primera Edición. Mc. Graw-Hill. México. 2-7.
- Madigan M.T., Martinko J. M., Parker J. (2004). Brock. Biología de los microorganismos, ED. Prentice Hall España. 647.
- Martinez I., Rivero C. (2005). Evaluación de diferentes métodos para determinar las fracciones de metales pesados presentes en el suelo. *Ingeniería UC*. 12 (3): 14-20.

- Mesquita V. D., Augusto C. A. C., Assumpção H. C., Luiz C. V. y Pessoa F. F. (2007). Biosorption of lead by the brown seaweed *Sargassum filipendula*-batch and continuous pilot studies. *Electronic journal of Biotechnology*. 10 (3): 368-375.
- Morais Barros A.J., Prasad S., Duarte Leite V. y Gouveia Souza A. (2006). The process of biosorption of heavy metals in bioreactors loaded with sanitary sewage sludge. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2, (23): 153-162.
- Navarro-Aviñó J. P., Aguilar Alonso I., López-Moya J.R. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas, Departamento de Biología Vegetal. *Ecosistemas* 16 (2).
- Olguin-Lora P., Puig-Grajales L. y Razo-Flores E. (2003). Inhibition of the acetoclastic methanogenic activity by phenol and alkyl phenols. *Environmental Technology*. (24): 999-1006.
- Prescott L. M., Harley J. P. y Klein D.A. (1999). Microbiología, ED MC Hill-interamericana, España, 890-893. Ed. 4
- Ramírez-Cortina C. R. (1992). Tratamiento de aguas residuales industriales, Universidad autónoma metropolitana. México D.F.155-157.
- Reyes Toriz E. D., Cerino Córdova F. J. y Suárez Herrera M. A. (2006). Remoción de metales pesados con carbón activado como soporte de biomasa. *Ingenierías*. 9 (31): 59-64.
- Scragg Alan (2005). Biotecnología para ingenieros sistemas biotecnológicos en procesos tecnológicos, ED Limusa, México, 197.
- Smith J. M. (1991). Ingeniería de la Cinética Química. ED.Continental, Ed 5ª, México DF, 369-377.
- Spain A. y Alm E. (2003). Implications of microbial heavy metal tolerance in the environment. *Reviews in Undergraduate Research*, Vol. 2, 1-6.

- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1995). 19th edn. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, Washington DC, USA.
- Van Deuren J., Wang Z. y Ledbetter J. (1997). Remediation technologies screening matrix and reference guide. 3^a Ed. Technology Innovation Office, EPA. <http://www.epa.gov/tio/remed.htm>.
- Viñas M. (1994). Criterios de diseño y escalado de reactores anaerobios. En: III Taller y seminario latinoamericano "tratamiento anaerobio de aguas residuales" Montevideo-Uruguay. 111-125.
- Visser A. (1995). The anaerobic treatment of sulfate containing wastewater. Ph. D. Thesis. Wageningen Agricultural University, Wageningen, Holanda.
- Volesky B y Holan Z. R. (1995). Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress*. 11 (3): 235-250.
- Volesky B. (2003). Sorption and biosorption. BV Sorbec inc. (San Lambert). Canada
- Volke Sepúlveda T., Velasco Trejo J. A y de la Rosa Pérez D. (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: Muestreo y alternativas para su remediación. Instituto Nacional de Ecología, México D. F. p.p. 31-35.
- Volke Sepúlveda T., Velasco Trejo J. A., Rosa Pérez D. A. y Solórzano Ochoa G. (2004). Informe final de Proyecto: Evaluación de tecnologías de remediación para suelos contaminados por metales. Dirección general del centro nacional de investigación y capacitación ambiental.
- Waste J. y Forester C. (1997). "Biosorbents for metal ions". ED. Tylor & Francis. Ed.3rd. London.

Anexo A: Métodos analíticos

A.1 Toma de Muestra de Lodos

1. Decantar el agua sobrenadante y guardarla en un recipiente.
2. Reposar 15 minutos hasta que el contenido del lodo asiente y decantar nuevamente el agua sobrenadante.
3. Homogenizar el lodo y tomar la muestra con una pipeta serológica despuntada.
4. Una vez tomada la muestra del lodo regresar el agua extraída.

A.2 Caracterización del Lodo

1. Se coloca un crisol de porcelana limpio por media hora a 550°C en la mufla después se pasa a un desecador para que enfríe y posteriormente pesarlo (anotar como peso del crisol).
2. Agregar con una pipeta despuntada 10 mL de lodo anaerobio. En una parrilla de calentamiento eliminar toda el agua posible. Pasar a la mufla a 100°C por un lapso de 2 h; una vez transcurrido este tiempo se enfría y se pesa (registrar como peso a 100°C).
3. Poner el crisol en la mufla a 550°C por 1 h, pasarlo al desecador y anotar el peso del crisol (como peso a 550°C).
4. Finalmente regresar al desecador.

Una vez obtenidos los tres pesos, se procedió a determinar los sólidos totales, fijos y volátiles de la siguiente manera: (Standard Methods, 1995).

Sólidos totales ST:

$$\frac{\text{Peso a } 100^{\circ}\text{C} - \text{Peso del crisol}}{\text{Volumen de muestra}} [=] \frac{gST}{L} \quad \text{Ecuación A.1}$$

Sólidos Fijos SF:

$$\frac{\text{Peso a } 550^{\circ}\text{C} - \text{Peso del crisol}}{\text{Volumen de muestra}} [=] \frac{gF}{L} \quad \text{Ecuación A.2}$$

Sólidos suspendidos volátiles SSV:

$$ST - SF [=] \frac{gSSV}{L} \quad \text{Ecuación A.3}$$

A.3 Índice Volumétrico de Lodos IVL

El IVL es el volumen en mL ocupados por 1 g de un lodo después de 30 minutos de sedimentación. La determinación del IVL consistió en:

1. Poner en el cono imhoff de 1000 mL, 100 mL de lodo y se aforó a 1000 mL con buffer de fosfatos.
2. Se dejó reposar por 45 minutos para después agitar su contenido con una varilla de vidrio.
3. Transcurridos 30 minutos de sedimentación se midió el volumen ocupado por el lodo.
4. El IVL se calculó dividiendo este volumen por los g de SST presentes en los 100 mL de lodo (mLodo/gssv) (Standard Methods, 1995).

Los resultados corresponden a la Tabla del anexo B.2 y B.3.

A.4 Granulometría

1. Buscar aproximadamente 6 tamices de acero inoxidable con una apertura de malla alrededor de 2 a 0.149 mm para la prueba.
2. Apilarlos en forma vertical de tal manera que en la parte superior siempre este un diámetro mayor con respecto al inferior.
3. Tomar y pasar una muestra de 25 mL de lodo por los tamices.
4. Lavar los lodos con un buffer de fosfatos con el fin de hacerlos pasar por los tamices; separándolos por tamaños.
5. Recuperar por separado los gránulos que se retuvieron en las mallas con un retrolavado de solución amortiguadora de fosfatos (Tabla A.1) para después determinar SSV, SF y ST. (Laguna, 1999).

Los resultados corresponden a la Tabla del anexo B.4.

Tabla A.1 Solución amortiguadora de fosfatos

Compuesto	g/L
K_2HPO_4	4
$Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$	5.09
KH_2PO_4	1.08
pH solución	7.5

A.5 Activación del Lodo

1. Se tomaron tres muestras del lodo (de 300 mL cada una) y se aforó con medio mineral en una relación de 1:3 en matraces Erlenmeyer de 1000 mL.
2. Se fijó un período de incubación de 12 a 20 días en una incubadora con agitación marca New Brunswick Scientific modelo C76 a una temperatura de 35°C y 50 rpm.
3. Se determinó cada 24 h la DQO y se reinoculaba medio mineral cada tercer día
4. A partir de los resultados de DQO se determinó el momento en el cual el lodo alcanza la mayor actividad. Resultados en la Tabla B.5 y Figura B.1.

A.6 Determinación de la Actividad Metanogénica

1. Los lodos se dejaron en medio mineral por 24 horas a 30-35 °C con el fin de que consumieran toda la fuente de carbono que pudieron haber traído en el agua de la planta.
2. Las pruebas de actividad metanogénica se llevaron a cabo en botellas serológicas de 160 mL con un volumen de operación de 150 mL. El volumen de sólidos suspendidos volátiles se fijó en 2 g/L y la concentración de DQO empleada se varió de 0.25, 0.5, 1, 2, 3 y 5 g/L utilizando acetato como fuente de carbono, así se obtuvo una relación de 0.125, 0.25, 0.5, 1, 1.5 y 2.5 gDQO/gSSV respectivamente.
3. Las botellas se sellaron con tapones de caucho, posteriormente se incubaron de 30-35 °C.
4. El metano se determinó por el volumen desplazado de una solución de NaOH al 3% (Armendariz, 2005).

Los resultados corresponden a la Tabla del anexo B.

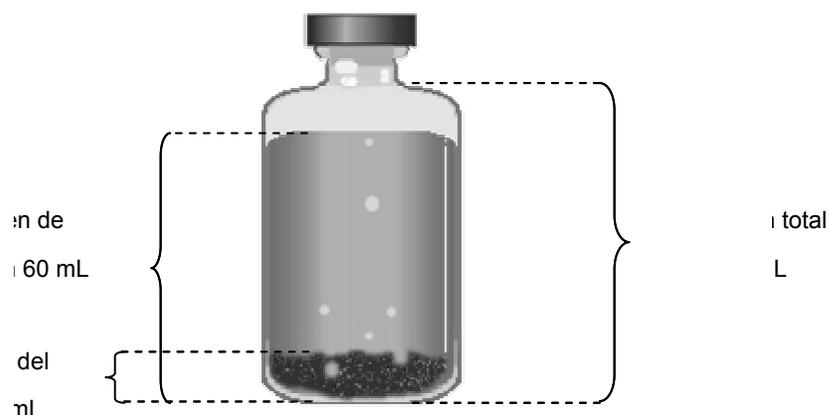


Figura A.1 Diagrama de las botellas serológicas utilizadas en las pruebas en lote

Tabla A.2 Datos para determinar la actividad metanogénica

Concentración DQO/L	Std. Acetato mL	Medio mineral mL	Lodo mL
0.25	0.625	139.375	10
0.5	1.25	138.75	10
1	2.5	137.5	10
2	5	135	10
3	7.5	132.5	10
5	12.5	127.5	10

A.7 Pruebas de Biosorción

Las pruebas de biosorción como se mencionó en MATERIALES Y MÉTODOS, consistió en pruebas de bioacumulación y de bioadsorción; que se llevaron a cabo en matraces Erlenmeyer de 250 mL en una incubadora con agitación marca New Brunswick Scientific modelo C76 a una temperatura de 35°C y 50 rpm. Ambas pruebas se realizaron con el mismo volumen de operación, variando la concentración de cobre (Tabla A.3). Las condiciones corresponden a la Tabla del anexo B.8

Tabla A.3 Datos para las pruebas de biosorción de Cu empleando estándar de CuSO₄ 10 000 ppm

Conc. Cu(II) ppm	Estándar mL	Medio mineral ^a mL	Lodo mL	Agua mL
Blanco 100	2	100	0	87
50	1	100	12	87
100	2	100	12	86
150	3	100	12	85
200	4	100	12	84
300	6	100	12	82

^a La concentración del medio mineral se preparó a una concentración doble de la propuesta en la tabla anterior; El pH se ajustó a 4.4-4.5 con ácido clorhídrico concentrado.

Tabla A.4 Condiciones de la biosorción

Datos de la cinética	
Volumen (mL)	200
Temperatura (°C)	37
pH	4.3-4.5
lodo (mL)	12
ST (g)	60.57
SSV (g)	30.95

solvente	agua
sorbato	Cu(II)
sorbente	biomasa

(g) en la botella 0.72684

A.7.1 Bioacumulación

El lodo previamente activado se paso a condiciones acidogénicas modificando la composición del medio mineral alimentado (Tabla A.4) Los resultados corresponden a la Tabla del anexo B.9.

Tabla A.5 Medio mineral para lodo acidogénico

Compuesto	g/L
NH ₄ Cl	1.045
KCl	0.27
KH ₂ PO ₄	0.17
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.185
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05
NaHCO ₃	0.125
Dextrosa	4.0
Extracto de levadura	0.02
Elementos traza	1 mL/L

A.7.2 Bioadsorción

El lodo previamente activado se esterilizó en una autoclave por 15 minutos a 121 °C y 15 Lb/plg². Los resultados corresponden a la Tabla del anexo B.10.

Anexo B: Tablas de Resultados

B.1 Caracterización del Lodo

Tabla B.1 Resultados de los sólidos totales ST, Sólidos suspendidos volátiles SSV.

crisol	peso (g) crisol g/L	peso a 100°C (g) g/L	peso a 550°C (g) g/L	ST g/L	SF g/L	SSV g/L
1	21.14	21.76	21.44	62.11	30.9	31.21
2	21.97	22.59	22.27	62.27	30.43	31.84
3	23.44	24.02	23.72	57.95	28.4	29.55

Promedio 60.77 gST/L 29.91 gSF/L 30.86 gSSV/L

Volumen de operación 1L

B.2 Índice Volumétrico de Lodo (IVL)

Tabla B.2 Resultados de lecturas para obtener IVL

Lectura	Tiempo (s)	Volumen (mL)	
		Corrida 1	Corrida 2
1	0	1000	1000
2	10	950	950
3	20	800	800
4	30	600	600
5	50	400	390
6	80	350	320
7	120	320	290
8	210	280	280
9	260	270	270
10	320	265	265
11	380	260	265
12	440	260	260

Tabla B.3 Resultados de IVL

lectura a los 30 minutos	133
gSSV/L	30.95
gSSV	3.095
IVL(mL Iodo/gSSV)	42.97

B.3 Granulometría

Tabla B.4 Resultados de los pesos retenidos en cada malla.

Tamaño de malla mm		Número de Crisol	Peso Crisol (g)	Peso 110°C	Peso 525°C
	+1.7	0			
-1.70	+0.850	1	29.31	29.33	29.32
-0.85	+0.600	2	31.39	31.82	31.57
-0.60	+0.355	3	17.37	19.32	18.23
-0.355	+0.250	4	25.45	25.81	25.68
-0.25	+0.180	5	21.05	21.29	21.22
-0.18	+0.125	6	31.98	32.05	32.04
-0.125		7	22.05	22.34	22.30

B.4 Determinación de la Actividad Metanogénica

Tabla B.5 Resultados de la actividad en matraces

Tiempo (h)	Absorbancia a 620 nm			DQO (mg/L)			Promedio DQO
	L1	L2	L3	L1	L2	L3	
0	0.117	0.115	0.116	315.86	310.02	312.94	312.94
2	0.094	0.087	0.095	248.61	228.14	251.54	242.76
4	0.091	0.085	0.088	239.84	222.3	231.07	231.07
6	0.078	0.075	0.076	201.83	193.06	195.98	196.96
9	0.055	0.048	0.051	134.58	114.11	122.88	123.86
12	0.045	0.042	0.043	105.34	96.57	99.49	100.46
25	0.021	0.021	0.011	35.16	35.16	5.92	25.42
49	0.01	0.01	0.009	3	3	0.079	2.02

Cinética de actividad del lodo de los matraces:

El volumen de lodo fue de 300 mL

Por lo tanto el contenido de SSV es de 9 g en base a que el lodo tiene 30gSSV/L

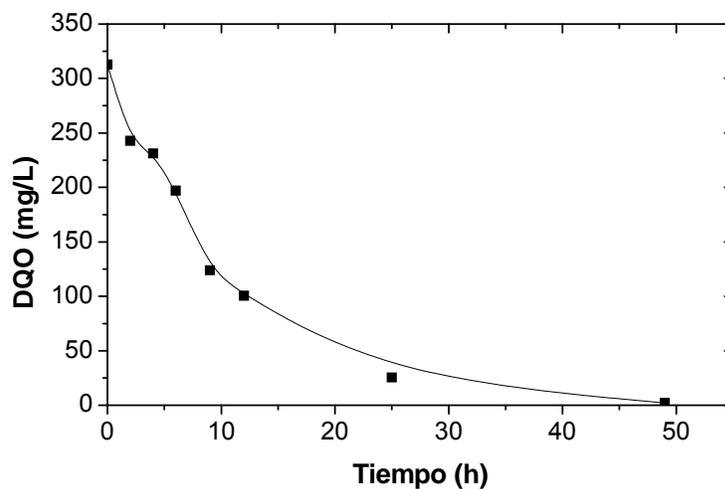


Figura B.1 Aclimatación del lodo metanogénico

B.5 Curva de DQO

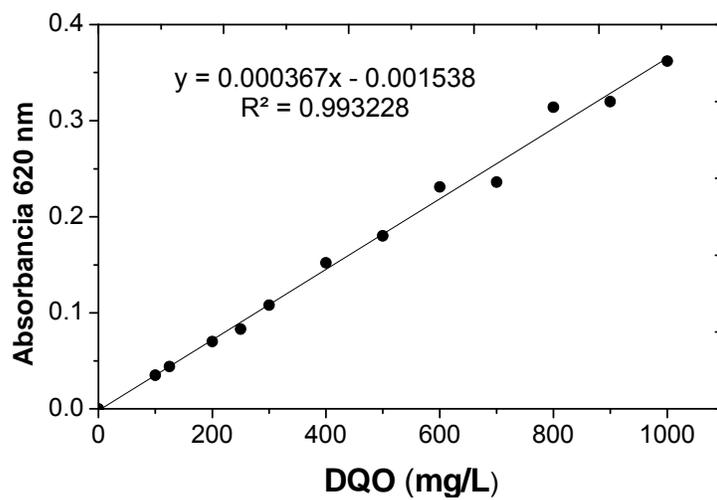


Figura B.2 Curva estándar de DQO.

Tabla B.6 Datos para calcular la curva estándar DQO.

concentración mgDQO/L	Absorbancia nm
0	0
100	0.035
125	0.044
200	0.07
250	0.083
300	0.108
400	0.1515
500	0.1803
600	0.2305
700	0.236
800	0.3135
900	0.32
1000	0.3615

Tabla B.7 Resultados de la cinética de producción de metano a concentraciones crecientes de acetato.

Tiempo(h)	Concentración de acetato DQO/L											
	0.25	0.25	0.5	0.5	1	1	2	2	3	3	5	5
	Producción de metano (mLCH ₄)											
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1.5	0.1	3.2	1.1	4.7	5	4	6.5	7.5	6	6.5	5
6	2	0.5	4.8	1.3	7	9	7.5	11	11	10	10	10
8	2.2	0.6	5.8	1.3	9.7	11.2	12	17	16	16	16	15
10	2.2	0.8	7.1	2.9	12.2	14	17	22	21.5	22	20.5	21
12.67	2.3	0.8	0.75	3.2	12.8	16.1	19	23	23	24	23	23
31.1	2.7	1	10	4.4	19	21.1	39.5	40	51	52.5	52	55
35	2.8	1	10.8	5.1	21.1	22	44	43	58	57	59	62.5
50.33	2.9	1	10.9	5.4	22.3	22.7	58.5	45	63	61	65	68.5

B.6 Biosorción

Tabla B.9 Resultados de cobre en el sobrenadante durante la adsorción utilizando lodo no estéril

tiempo (h)	Cu (mg/L)					Cu Bcolanco
	50	100	150	200	300	100
0	62.7	131	183.75	237.83	345.25	125.66
15	55.45	116.66	160.75	217.66	316.25	127.83
30	56.1	111.66	159.75	214.66	316	121.66
45	50.1	108	157.25	210.16	312	119.33
60	47.75	107.83	155	216.16	307.5	121.5
75	47.6	105.16	154.25	201.83	310	123.5

Tabla B.10 Resultados de cobre en el sobrenadante durante la adsorción utilizando lodo estéril

Tiempo (h)	Cu (mg/L)					Cu Blanco
	50	100	150	200	300	100
0	62.6	127.33	191.5	234.33	298.25	125.66
15	53.55	117.16	167.5	213.33	272.5	127.83
30	49.7	109.5	164.5	212.66	267.25	121.66
45	47.85	108	164.75	206.66	260.5	119.33
60	47.05	104.5	157.75	205.66	258.75	121.5
75	45.4	103.5	154.25	199.83	261.25	123.5