



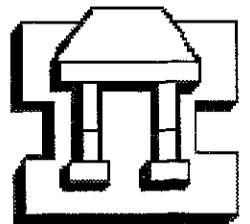
56
Universidad Nacional Autónoma de México
Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacalá

Biosorción de Compuestos Tóxicos por Biomasa Granular Anaerobia

Tesis presentada para Obtener
el título en Biología

Miguel Ángel Mejía Arias

Diciembre 2000





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO:

PRESIDENTE

Dr. Salvador Rodríguez Zaragoza.

VOCAL:

Dr. Adalberto Noyola Robles.

SECRETARIO:

M. en C. Ángel Durán Díaz.

1^{ER} SUPLENTE

Prof. María Eugenia Heres.

2^º SUPLENTE

Dr. Sergio Vaca Pacheco.

LUGAR DE DESARROLLO DE TEMA:

Instituto de Ingeniería, UNAM. México DF.

ASESOR

Dr. Adalberto Noyola Robles.

SUSTENTANTE

Miguel Ángel Mejía Arias.

México DF.

Noviembre 2000.

Dedicatorias

A MI MADRE

Por toda tu vida dedicada a nosotros, por tus sacrificios, por enseñarnos el verdadero valor de las cosas. Ten por seguro que ese ejemplo tuyo, nunca me abandonará, Gracias.

A MIS HERMANOS Y TODOS LOS SUYOS

Por su incomparable apoyo, por sus alegrías. Gracias por ser mis hermanos que seguiremos siempre juntos.

A LAURA

Por tu apoyo y cariño, gracias por ser para mi, como yo lo soy para ti.

Agradecimientos:

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Su gente, sus espacios, cúmulo de infinita riqueza que con orgullo defenderé.

A EL DR. ADALBERTO NOYOLA ROBLES

Por permitirme trabajar y ser parte de ese gran equipo.

A LOS MIEMBROS DEL JURADO

Por su tiempo y atinadas observaciones, agradezco sus aportaciones.

Asimismo, agradezco a todos mis amigos y compañeros por permitirme compartir esta gran etapa de mi vida: La Universidad.

México DF.

Noviembre 2000.

RESUMEN

Los efectos tóxicos causados al ambiente por los compuestos xenobióticos, están bien documentados. Con el fin de contribuir a su control, se dispone de diversos procesos para retirar este tipo de compuestos de las descargas líquidas, pero estos en ocasiones resultan costosos o no satisfacen las necesidades de remoción. Por ello se requiere de métodos alternativos, los cuales, además de retirar los contaminantes con éxito, aprovechen materiales que sean subproducto de algún otro proceso, reduciendo el impacto al ambiente, obteniéndose un proceso de tecnología limpia que contribuya para lograr un desarrollo sustentable.

En el presente trabajo se determinó la capacidad de biosorción de 2 lotes de biomasa granular anaerobia obtenidos de la purga de 2 reactores tipo UASB que operan con distintas aguas residuales. Se analizó la capacidad de esta biomasa para la biosorción de fenol, triclorofenol, plomo y cromo, compuestos conocidos por su toxicidad a la biota y su presencia en las descargas de agua residual de diversos procesos industriales.

Para establecer una relación entre la biomasa granular y su capacidad de biosorción, se caracterizaron ambos lotes física y microbiológicamente, cuantificando la presencia de exopolímeros, como uno de los factores que favorecen el fenómeno de la biosorción. Los experimentos de biosorción fueron realizados en pruebas por lote (*batch*), poniendo la biomasa granular en contacto con soluciones de distinta concentración de fenol, triclorofenol, plomo y cromo. La agitación y temperatura se mantuvieron constantes. Se determinó el punto donde la concentración permanece constante, tomándose muestras a distintos horarios, considerándose este punto como el establecimiento del equilibrio entre la sorción y la desorción. Los resultados fueron interpretados por el modelo matemático de Freundlich. Para los experimentos con plomo y cromo, se realizó la técnica de especiación de metales para conocer la forma de la fracción de metal retenida en la biomasa y entender mejor el fenómeno, observándose que las formas metálicas con mayor presencia en la biomasa, fueron las ligados a carbonatos, a sulfuros y a materia orgánica.

Los lotes de biomasa granular probados presentaron diferencias tanto en los parámetros físicos como en las pruebas microbiológicas. Se encontró una mayor presencia de polímeros extracelulares en el lote 1, mismo que presentó una mayor capacidad de biosorción de todos los compuestos tóxicos analizados.

En ambos lotes se retuvieron mejor los cationes metálicos que los compuestos orgánicos, observándose en estos últimos la mayor biosorción de fenol, compuesto de menor peso molecular.

Con los resultados obtenidos se puede concluir que la biomasa granular anaerobia, procedente de un reactor tipo UASB, puede ser utilizada para retirar compuestos tóxicos de efluentes líquidos. Asimismo, las diferencias en el comportamiento de biosorción entre un lote de biomasa granular y otro, pueden ser atribuidos a las diferentes características de los granos, observándose que una mayor presencia de polímeros extracelulares, puede ser directamente relacionada con el mejor desempeño en la biosorción de los compuestos tóxicos analizados.

INDICE

RESUMEN	i
ÍNDICE	ii
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE TABLAS	vi
JUSTIFICACIÓN	viii
OBJETIVOS	
OBJETIVO GENERAL	ix
OBJETIVOS PARTICULARES	ix
METAS	ix
1 PANORAMA DEL PROBLEMA; EL RECURSO AGUA	
1.1 AGUA: ABUNDANCIA Y USOS	2
1.2 CONTAMINACIÓN DEL AGUA	5
1.2.1 COMPUESTOS XENOBIÓTICOS	7
1.2.1.1 FENOLES	9
EFECTOS, TOXICIDAD Y DESTINO EN EL AMBIENTE DE LOS FENOLES	9
FUENTES DE CONTAMINACIÓN POR FENOLES	11
1.2.2 METALES PESADOS	12
1.2.2.1 EL PLOMO	13
TOXICIDAD DEL PLOMO	14
FUENTES DE CONTAMINACIÓN POR PLOMO	15
1.2.2.2 EL CROMO	18
TOXICIDAD DEL CROMO	18
FUENTES DE CONTAMINACIÓN POR CROMO	19
2 MARCO TEÓRICO; BIOSORCIÓN Y BIOSORBENTES	
2.1 MECANISMOS DE BIOSORCIÓN	23
2.2 CUANTIFICACIÓN DE LA BIOSORCIÓN	23
2.3 CARACTERÍSTICAS DE LOS BIOSORBENTES:	24
2.4 LOS MEJORES BIOSORBENTES	25
2.5 INDUSTRIA DEL TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS RESIDUALES	26
2.5.1 COMUNIDAD MICROBIANA GRANULAR ANAEROBIA	28
COMPOSICIÓN MICROBIANA DEL GRANO	28
ESTRUCTURA DEL GRANO	31
EXOPOLÍMEROS DEL GRANO	32

3	METODOLOGÍA	
3.1	LOTES DE BIOMASA: PRESERVACIÓN Y CARACTERIZACIÓN	34
3.2	SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS LOTES DE BIOMASA GRANULAR ANAEROBIA	35
3.3	EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN	36
3.3.1	EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN DE FENOLES	37
	DETERMINACIÓN DE FENOLES EN SOLUCIÓN	38
3.3.2	EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN DE PLOMO Y CROMO	38
	PARTICULARIDADES DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN EN METALES	39
3.4	ANÁLISIS DE LOS DATOS Y CUANTIFICACIÓN DE LA BIOSORCIÓN	39
3.5	ESPECIACIÓN DEL PLOMO Y CROMO SORBIDOS EN LA BIOMASA	40
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1	CARACTERIZACIÓN DE LOS LOTES DE BIOMASA GRANULAR ANAEROBIA	41
4.2	VELOCIDAD DE AGITACIÓN	43
4.3	EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN	43
4.3.1	BIOSORCIÓN DE FENOLES	43
4.3.2	BIOSORCIÓN DE 2,4,6 TRICLOROFENOL	47
4.3.3	BIOSORCIÓN DE PLOMO	52
4.3.4	BIOSORCIÓN DE CROMO	57
4.4	ESPECIACIÓN DE METALES	63
4.5	BIOSORCIÓN DE FENOL, TRICLOROFENOL, PLOMO Y CROMO POR AMBOS LOTES (RESUMEN)	69
5	CONCLUSIONES	75
	REFERENCIAS	77
	ANEXO A	83
	ANEXO B	89
	ANEXO C	92

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1	AGUA PARA CONSUMO HUMANO DISPONIBLE EN LA TIERRA	3
FIGURA 1.2	EMPLEO NACIONAL DEL AGUA SUPERFICIAL Y DEL ACUÍFERO	4
FIGURA 1.3	PORCENTAJE DE DESCARGA DE LAS INDUSTRIAS CON MAYOR NÚMERO DE COMPUESTOS TÓXICOS EN SUS AGUAS RESIDUALES	7
FIGURA 1.4	ESTRUCTURA MOLECULAR DEL BENCENO, FENOL Y TRICLOROFENOL	9
FIGURA 1.5	DESTINO DE LOS FENOLES EN EL AMBIENTE	10
FIGURA 1.6	TABLA PERIÓDICA DE LOS ELEMENTOS, MOSTRANDO LA PROPUESTA DE CLASIFICACIÓN DE LOS METALES Y METALOIDE	12
FIGURA 1.7	DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DE PLOMO EN SOLUCIÓN ACUOSA DE $Pb(II)$ $C_{TPb} = 0.04 M$	13
FIGURA 1.8	BIOSÍNTESIS DEL GRUPO HEMO, UN ELEMENTO DE LA HEMOGLOBINA, ES INHIBIDA POR EL Pb , ACUMULÁNDOSE LAS SUSTANCIAS INTERMEDIAS DE LA VÍA METABÓLICA. EL Pb INHIBE DOS PASOS (FLECHAS CONTINUAS) Y PUEDE INHIBIR OTROS DOS (FLECHAS DISCONTINUAS)	15
FIGURA 2.1	FLUJO DE ENERGÍA EN LOS PROCESOS BIOLÓGICOS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES	26
FIGURA 2.2	REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE UN REACTOR UASB (A) INFLUENTE; (B) EFLUENTE; (C) SALIDA DE GAS	27
FIGURA 2.3	MICROFOTOGRAFÍA DE UN GRANO ANAEROBIO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO, DONDE SE MUESTRA LA VARIEDAD EN LA COMPOSICIÓN MICROBIANA	29
FIGURA 2.4	SUPERFICIE DE UN GRANO MOSTRANDO LAS CAVIDADES	31
FIGURA 2.5	MODELO ESTRUCTURADO EN MULTICAPAS (GUIOT ET AL. 1992)	32
FIGURA 3.1	EXPERIMENTOS DE BIOSORCIÓN	37
FIGURA 4.1	BIOSORCIÓN DE FENOL POR EL LOTE 1	45
FIGURA 4.2	ISOTERMA DE FENOL LINEALIZADA POR EL MODELO DE FREUNDLICH. LOTE 1	45
FIGURA 4.3	BIOSORCIÓN DE FENOL POR LOTE 2	45
FIGURA 4.4	ISOTERMA DE FENOL LINEALIZADA POR EL MODELO DE FREUNDLICH. LOTE 2	45
FIGURA 4.5	ISOTERMAS DE FREUNDLICH PARA AMBOS LOTES. BIOSORCIÓN DE FENOL, $30^{\circ} C$	46
FIGURA 4.6	BIOSORCIÓN DE FENOL POR AMBOS LOTES, DE ACUERDO AL MODELO MATEMÁTICA	47
FIGURA 4.7	VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE TRICLOROFENOL RESPECTO AL TIEMPO PARA EL LOTE 1	48
FIGURA 4.8	VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE TRICLOROFENOL RESPECTO AL TIEMPO PARA EL LOTE 2	48
FIGURA 4.9	BIOSORCIÓN DE TRICLOROFENOL POR EL LOTE 1	50
FIGURA 4.10	ISOTERMA DE TRICLOROFENOL LINEALIZADA POR EL MODELO DE FREUNDLICH. LOTE 1	50
FIGURA 4.11	BIOSORCIÓN DE TRICLOROFENOL POR LOTE 2	50
FIGURA 4.12	ISOTERMA DE TRICLOROFENOL LINEALIZADA POR EL MODELO DE FREUNDLICH. LOTE 2	50
FIGURA 4.13	ISOTERMAS DE FREUNDLICH PARA AMBOS LOTES	51

FIGURA 4.14	BIOSORCIÓN DE TRICLOROFENOL AMBOS LOTES, DE ACUERDO A LA ECUACIÓN RESULTANTE	52
FIGURA 4.15	VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE Pb RESPECTO AL TIEMPO	53
FIGURA 4.16	BIOSORCIÓN DE PLOMO POR EL LOTE 1	55
FIGURA 4.17	ISOTERMA DE PLOMO LINEALIZADA POR EL MODELO DE FREUNDLICH. LOTE 1	55
FIGURA 4.18	BIOSORCIÓN DE PLOMO POR LOTE 2	55
FIGURA 4.19	ISOTERMA DE PLOMO LINEALIZADA POR EL MODELO DE FREUNDLICH. LOTE 2	55
FIGURA 4.20	ISOTERMAS DE FREUNDLICH PARA AMBOS LOTES	56
FIGURA 4.21	BIOSORCIÓN DE PLOMO AMBOS LOTES, DE ACUERDO A LAS ECUACIONES RESULTANTES	57
FIGURA 4.22	VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CROMO RESPECTO AL TIEMPO PARA EL LOTE 1	57
FIGURA 4.23	VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE TRICLOROFENOL RESPECTO AL TIEMPO PARA EL LOTE 2	58
FIGURA 4.24	BIOSORCIÓN DE CROMO POR EL LOTE 1	60
FIGURA 4.25	ISOTERMA DE CROMO LINEALIZADA POR EL MODELO DE FREUNDLICH. LOTE 1	60
FIGURA 4.26	BIOSORCIÓN DE CROMO POR LOTE 2	60
FIGURA 4.27	ISOTERMA DE CROMO LINEALIZADA POR EL MODELO DE FREUNDLICH. LOTE 2	60
FIGURA 4.28	ISOTERMAS DE FREUNDLICH PARA AMBOS LOTES	61
FIGURA 4.29	BIOSORCIÓN DE CROMO AMBOS LOTES, DE ACUERDO A LA ECUACIÓN RESULTANTE	62
FIGURA 4.30	Pb BIOSORBIDO EN LOTE 1	63
FIGURA 4.31	Pb BIOSORBIDO EN LOTE 2	64
FIGURA 4.32	CR BIOSORBIDO EN LOTE 1	65
FIGURA 4.33	CR BIOSORBIDO EN LOTE 2	65
FIGURA 4.42	ISOTERMA DE BIOSORCIÓN DE FENOL, TRICLOROFENOL, PLOMO Y CROMO POR EL LOTE 1. TEMPERATURA A 30°C Y VELOCIDAD DE AGITACIÓN A 120 RPM	70
FIGURA 4.43	ISOTERMA DE BIOSORCIÓN DE FENOL, TRICLOROFENOL, PLOMO Y CROMO POR EL LOTE 2. TEMPERATURA A 30°C Y VELOCIDAD DE AGITACIÓN A 120 RPM	71
FIGURA A.1	REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE UNA SUPERFICIE POROSA Y SUS DIFERENTES DIÁMETROS DE PORO	85
FIGURA A.2	COMPLEJO BIDENTADO CON LIGANDO DE CARBONATO Y COMPLEJO MULTIDENTADO (AGENTE QUELANTE 1,10-FENANTROLINA)	88
FIGURA B.1	ESQUEMA DE LAS DISTINTAS ENVOLTURAS CELULARES BACTERIANAS: (I) PERFIL DE LA BACTERIA. (II) ARQUITECTURA MOLECULAR, MOSTRANDO LOS PRINCIPALES COMPONENTES: A. ENVOLTURA DE CÉLULAS GRAM-POSITIVAS; B ENVOLTURA DE GRAM-NEGATIVAS; C. ESTRUCTURA DE ENVOLTURA CELULAR CARENTE DE UN COMPONENTE DE ESTRUCTURA RÍGIDA. (ME, MEMBRANA EXTERNA; PG, CAPA DE PEPTIDOGLICANO; MP, MEMBRANA PLASMÁTICA, EP ESPACIO PERIPLASMÁTICO; CAPA SUPERFICIAL S.) (ADAPTADO DE: REMACLE, 1995)	90

INDICE DE TABLAS

TABLA 1.1	CANTIDAD TOTAL DE AGUA SOBRE LA TIERRA (LÍQUIDA – SÓLIDA)	2
TABLA 1.2	DISTRIBUCIÓN Y VOLUMEN MUNDIAL DE AGUA SUPERFICIAL	2
TABLA 1.3	AGUA SUBTERRÁNEA MUNDIAL	3
TABLA 1.4	ESCURRIMIENTO EN LA REPÚBLICA MEXICANA	3
TABLA 1.5	AGUAS SUBTERRÁNEAS EN LA REPÚBLICA MEXICANA	4
TABLA 1.6	EXTRACCIÓN, CONSUMO Y DESCARGA DEL AGUA EN EL PAÍS POR LOS DIFERENTES USOS.	4
TABLA 1.7	COMPARACIÓN DE ALGUNOS LÍMITES MÁXIMOS ESTABLECIDOS PARA AGUA DE BEBER, SEGÚN DIFERENTES ORGANIZACIONES	6
TABLA 1.8	GIROS INDUSTRIALES EN MÉXICO, CON MAYOR RIESGO DE CONTAMINAR CON TÓXICOS PRIORITARIOS	6
TABLA 1.9	QUÍMICOS DE PREOCUPACIÓN AMBIENTAL. TÉRMINOS	8
TABLA 1.10	EFFECTOS TÓXICOS DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS	10
TABLA 1.11	TRATAMIENTOS PARA REMOVER METALES PESADOS	13
TABLA 1.12	SECTOR DE LA INDUSTRIA Y MANUFACTURA. RAMO FABRICACIÓN DE OTROS PRODUCTOS METÁLICOS, EXCLUYENDO MAQUINARIA	16
TABLA 1.13	USO Y DESCARGAS DE AGUA EN EL GALVANIZADO, NIQUELADO Y CROMADO	16
TABLA 1.14	LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA METALES PESADOS Y CIANUROS DE ACUERDO A LA NOM-001	17
TABLA 1.15	ELEMENTOS TRAZA REQUERIDOS PARA LA VIDA	18
TABLA 1.16	ALGUNOS EFECTOS TÓXICOS DEL CROMO	19
TABLA 1.17	CALIDAD DEL AGUA DE DESCARGA Y REQUERIMIENTOS DE LA MISMA, PARA LA INDUSTRIA DE LA CURTIDURÍA	20
TABLA 2.1	CRITERIOS DE UN AGENTE IDEAL PARA REMOVER CONTAMINANTES EN SOLUCIÓN	25
TABLA 4.1	RESULTADOS DE EXTRACCIÓN DE EPC	41
TABLA 4.2	CARACTERIZACIÓN DE LOS 2 LOTES DE BIOMASA GRANULAR SELECCIONADOS	42
TABLA 4.3	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN DE FENOL EN LOTE 1	44
TABLA 4.4	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN DE FENOL EN LOTE 2	44
TABLA 4.5	DATOS DE PRUEBA DE T, TRICLOROFENOL, LOTE 1	48
TABLA 4.6	DATOS DE PRUEBA DE T, TRICLOROFENOL, LOTE 2	49
TABLA 4.7	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN DE TRICLOROFENOL EN LOTE 1	49
TABLA 4.8	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN DE TRICLOROFENOL EN LOTE 2	49
TABLA 4.9	DATOS DE PRUEBA DE T, PLOMO, LOTE 1	52
TABLA 4.10	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN DE PLOMO EN LOTE 1	54

TABLA 4.11	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN DE PLOMO EN LOTE 2	54
TABLA 4.12	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN DE CROMO EN LOTE 1	59
TABLA 4.13	RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE BIOSORCIÓN DE CROMO EN LOTE 2	59
TABLA 4.14	PORCENTAJES DE FRACCIONES DE Pb II EN AMBOS LOTES DE BIOMASA	63
TABLA 4.15	PORCENTAJES DE FRACCIONES DE Cr III EN AMBOS LOTES DE BIOMASA	64
TABLA 4.16	CONCENTRACIÓN DE Pb II EN AMBOS LOTES DE BIOMASA. (C_b) OBTENIDA POR ESPECIACIÓN Y CALCULADA.	66
TABLA 4.17	CONCENTRACIÓN DE Cr III EN AMBOS LOTES DE BIOMASA. (C_b) OBTENIDA POR ESPECIACIÓN Y CALCULADA.	66
TABLA 4.18	CONSTANTES DE SOLUBILIDAD	68
TABLA 4.19	PARÁMETROS DE BIOSORCIÓN DE LA BIOMASA GRANULAR ANAEROBIA, A LOS DIFERENTES COMPUESTOS TÓXICOS ANALIZADOS.	69
TABLA 4.20	SOLUBILIDAD DE LOS DISTINTOS COMPUESTOS (SORBATOS).	72

JUSTIFICACIÓN

El estudio y desarrollo de métodos alternativos para la disminución de compuestos tóxicos en efluentes líquidos, resulta de gran importancia, dado que los requerimientos al cuidado del ambiente son cada vez más exigentes; por lo que además de estudiarse el potencial de remoción de dichos métodos, éstos deben cumplir al menos, con la norma de calidad de agua correspondiente. Asimismo, estos métodos deben ser económicamente factibles y sobre todo, operar con un máximo de cuidado a su entorno.

La biosorción de compuestos tóxicos utilizando como materia prima un subproducto del tratamiento biológico de aguas residuales puede aprovechar las cualidades de la biomasa para retener los compuestos tóxicos presentes en efluentes líquidos. Sin embargo, ¿Cuál es el potencial de biosorción de la biomasa granular anaerobia? ¿Cuál es la afinidad de biosorción a los distintos compuestos tóxicos analizados?, ¿Cuales son los principales mecanismos de biosorción? ¿Cómo influyen la menor a mayor presencia de polímeros extracelulares en la biosorción?

El presente trabajo realiza experimentos de biosorción en lote para analizar la capacidad de biosorción de la biomasa granular anaerobia, la cual es previamente caracterizada; utilizando los resultados obtenidos hacer inferencias sobre el comportamiento de biosorción de dicha biomasa.

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar la capacidad de la biomasa granular anaerobia, para remover los compuestos tóxicos, fenol, triclorofenol, plomo y cromo de efluentes líquidos.

PARTICULARES

- Identificar las principales características de cada lote de biomasa que pudieran verse directamente relacionadas con el comportamiento de biosorción.
- Definir la afinidad de biosorción de la biomasa por los distintos compuestos tóxicos estudiados.
- Analizar los fenómenos que suceden en la biosorción por biomasa granular anaerobia.

METAS

- Determinar las diferencias en el comportamiento de biosorción de dos lotes de biomasa granular de distintas procedencias.
 - Manifestar las posibilidades de utilización de la biomasa residual de los procesos de tratamiento anaerobio de aguas residuales, para ser utilizada como una materia prima secundaria, útil en la remoción de compuestos tóxicos.
-

CAPITULO 1

PANORAMA DEL PROBLEMA

En el seno del Sistema Solar, la Tierra es el único planeta que dispone de agua líquida. Este raro recurso es esencial para la vida, por eso la humanidad, puesto que se considera a la vez la única especie inteligente y consciente, tiene o debería tener inscrita la prioridad de la protección del sistema hidrológico.

J. Cousteau

El Recurso Agua

El diccionario de la Lengua Española define la palabra agua como:

agua: 1.- Sustancia formada por la combinación de un volumen de oxígeno y dos de hidrógeno, líquida, inodora, insípida, en pequeña cantidad incolora y verdosa o azulada en grandes masas. 2.- Es el componente más abundante sobre la superficie de la Tierra y más o menos puro, forma la lluvia, las fuentes, los ríos y los mares. 3.- Es parte constituyente de todos los seres vivos y aparece en compuestos naturales, y como agua de cristalización en muchos cristales.

Sin embargo, de acuerdo con la definición adoptada por ingenieros sanitarios y de algunos miembros de la comunidad científica, la palabra agua también comprende las soluciones / suspensiones acuosas diluidas de compuestos orgánicos e inorgánicos que constituyen los diversos tipos acuáticos (Jenkins y Snoeyink, 1981).

Tal definición se debe a las propiedades características del agua como molécula H₂O. Entre las muy particulares propiedades del agua, se encuentra la polaridad; los átomos de hidrógeno tienen carga positiva, mientras que el oxígeno tiene carga negativa. Debido a

esta distribución de cargas, la molécula H₂O es fuertemente bipolar, propiedad que constituye un factor importante para determinar sus características disolventes. Los minerales que forman la corteza terrestre son, en su mayoría, sólidos inorgánicos en donde los iones de cargas positivas y negativas existen en una estructura reticular que está unido por enlaces electrostáticos. El agua, con su carácter bipolar, tiene el poder de rodear a un ión de carga positiva con la carga negativa de su molécula (o a la inversa). El ión rodeado (o hidratado) con moléculas de agua se desplaza hacia la solución para transformarse en un ión disuelto.

Según lo anterior, las propiedades disolventes del agua hacen necesarias distintas definiciones de las que obtenemos del diccionario, ya que ésta disuelve cierta cantidad (pequeña o grande) de casi todos los sólidos o gases con los que se pone en contacto.

1.1 Agua: abundancia y usos

Teóricamente el volumen de agua que existe en la Tierra, en sus tres estados, no ha cambiado desde sus primeros tiempos. Su distribución en el planeta ha sido estudiada por diversos autores, que aunque entre ellos no existe una concordancia completa, el orden de las cantidades es el mismo. Las Tablas 1.1, 1.2 y 1.3 contienen algunas estimaciones.

Tabla 1.1 Cantidad total de agua sobre la Tierra (líquida - sólida)

fuentes	porcentaje
océanos	97.13
casquetes polares y glaciares	2.24
aguas subterráneas	0.61
ríos, lagos y corrientes	0.02

Fuente: Jenkins y Snoeyink, 1981.

Tabla 1.2 Distribución y volumen mundial de agua

fuentes	volumen en km ³	porcentaje
agua de mares y océanos	1 320 000 000	97.3
hielo polar y nieve	29 200 000	2.14
lagos de agua dulce	125 000	0.009
lagos de agua salada	104 000	0.008
agua de corrientes	1 250	0.0001
humedad en los suelos	67 000	0.005
agua subterránea	8350 000	0.61
vapor atmosférico	13 000	0.001
Total	1 357 860 250	100

Fuente: van der Leeden *et al.*, 1990.

Tabla 1.3 Agua subterránea mundial

concepto	volumen en km ³
total explotable	60 000 000
zona de activa producción	4 000 000

Fuente: Lvovitch, 1977.

Se observa que una gran cantidad de agua corresponde a los océanos y a los casquetes polares, la cual resulta inaccesible y, el agua corriente junto con los acuíferos, presentan un mínimo del total, siendo estas dos últimas las que se utilizan para el consumo humano. (Ver Fig. 1.1)

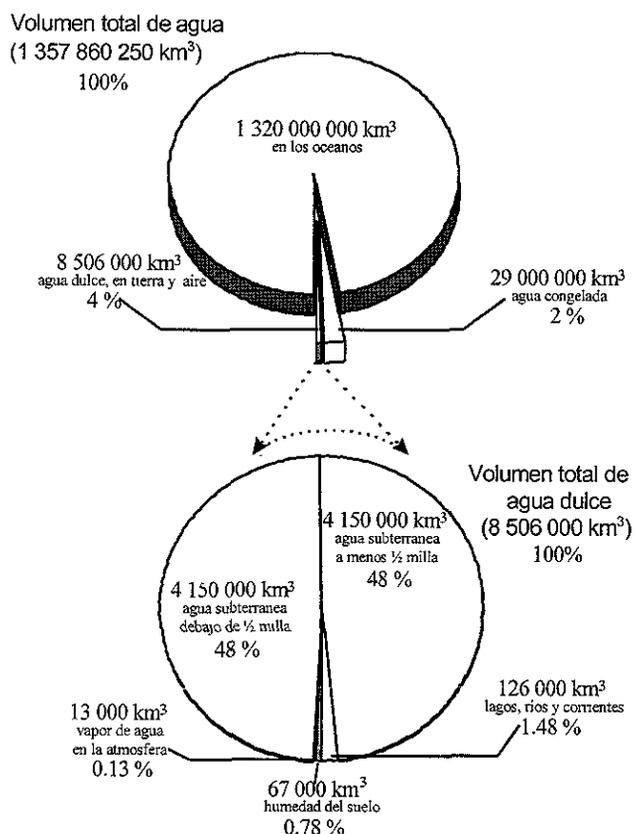


Figura 1.1 Agua para consumo humano disponible en la Tierra

En la República Mexicana, la información varía según las distintas fuentes, aunque las diferencias son mínimas. La Tabla 1.4 presenta las vertientes de ríos y su escurrimiento en el país.

Tabla 1.4 Escurrimiento en la República Mexicana

vertiente	escurrimiento (millones de m ³)	% del total
del Golfo	235 701	64.4
del Pacífico	126 565	34.6
interna	3 666	1.0
total en el país	365 932	100

Fuente: Bassols, 1976.

La estimación de la cantidad de agua subterránea en el país es aproximada, sobre todo la aprovechable, ya que se deben de considerar las restricciones que se imponen al mantener el equilibrio entre el agua infiltrada y la extraída. La Tabla 1.5 presenta la cantidad de aguas subterráneas.

Tabla 1.5 Aguas subterráneas en la República Mexicana

total explotable	255 km ³ / anuales
aprovechable	28 km ³ / anuales

Fuente: Bassols, 1976.

En el caso particular de la República Mexicana, podemos considerar la disponibilidad del agua en términos de sus usos en los diferentes sectores: agricultura, industria y municipal; siendo las fuentes de extracción la superficial (73 %) y la subterránea (27 %) (Jiménez y Ramos, 1995). La Figura 1.2 muestra la explotación nacional del agua en sus diversos fines.

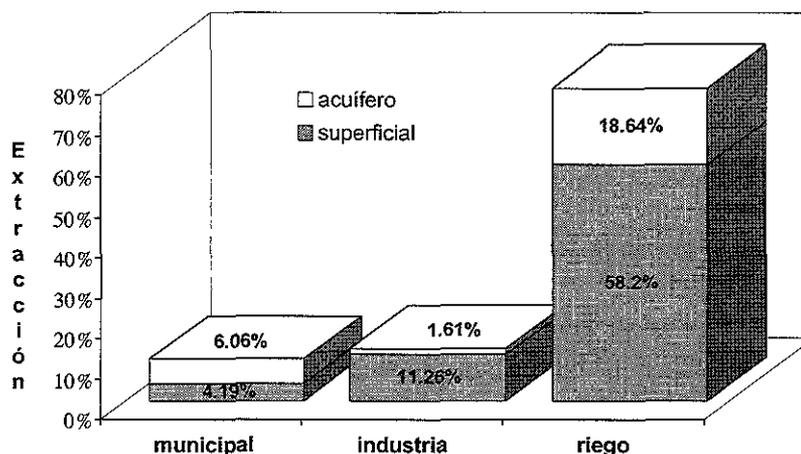


Figura 1.2 Empleo nacional del agua superficial y del acuífero; (Jiménez y Ramos, 1995).

En la Tabla 1.6, se presenta el uso del agua en términos de extracción - consumo - descarga, por los distintos sectores. Se excluyen los datos de la industria hidroeléctrica, por ser un caso particular de impacto ambiental.

Tabla 1.6.- Extracción, consumo y descarga del agua en el país por los diferentes usos

uso	extracción		consumo		descarga	
	m ³ /s	%	m ³ /s	%	m ³ /s	%
riego	1 760	77	1 478	88	282	46
industrial	295	13	117	7	178	26
uso municipal	235	10	86	5	149	25
total	2 290	100	1 681	100	609	100

Fuente: Jiménez y Ramos, 1995.

Según lo anterior, es notorio el papel vital del agua en el desarrollo de la vida y las sociedades. Es evidente la responsabilidad que cae sobre la humanidad de hacer un uso adecuado de este recurso, ya que a diferencia de muchas otras materias primas, *el agua no tiene sustituto*.

1.2 Contaminación del agua

Toda actividad humana genera un proceso, y todo proceso, genera desechos, que al superar la capacidad de masa que la naturaleza puede reciclar, se transforma en contaminante (Pickett y White, 1985).

El vehículo de contaminación mas frecuente y letal, es el agua. Sin embargo, resulta prácticamente imposible encontrar agua químicamente pura en la naturaleza. El hecho de que el agua común contenga algo más que hidrógeno y oxígeno, no es ciertamente en sí un signo de contaminación, sólo se da la contaminación cuando las sustancias disueltas o elementos extraños, son indeseables o peligrosas para los organismos o para el uso que se destina. Es decir que toda materia o forma de energía puede ser contaminante dependiendo de su reactividad o de su abundancia.

En la historia de la humanidad, se registra la preocupación del hombre por disponer adecuadamente de sus residuos, ya que la acumulación de éstos, afecta la salud y altera el equilibrio ecológico al formar focos de contaminación. Los hallazgos arqueológicos muestran la existencia de letrinas y drenes en las viviendas neolíticas (2000 años a. de C.); la civilización minoica tenía ya tuberías de arcilla para el agua y el drenaje; en la Roma antigua se construyó una de las obras más avanzadas de abastecimiento de agua y su drenaje, dando servicio a los habitantes de la entonces llamada *Ciudad Eterna*; durante la Edad Media se incrementaron los pueblos que se desarrollaron en las márgenes de los ríos más importantes, los cuales constituían una fuente de agua adecuada y un medio *aparentemente* conveniente para la eliminación de sus desechos.

El siglo XX ha traído consigo un desarrollo excepcional de la ciencia y la tecnología y, en consecuencia, un auge de la actividad económica e industrial, lo que ha ampliado la posibilidad de consumo del ser humano. Sin embargo, este proceso ha desatado un abuso deplorable de los recursos naturales y una abundante acumulación de desechos de toda índole, factores que han provocado una constante y nociva degradación del medio. Aunado a esta conducta de individuos y sociedades, el mundo también experimenta un fuerte incremento en la población, ocasionando un aumento en el consumo de agua y consecuentemente mayores volúmenes de agua residual. Por esto han surgido distintas agencias y organizaciones para la protección del agua, quienes establecen normas que indican los parámetros que se deben cumplir para su uso y descarga. En la Tabla 1.7 se presenta un ejemplo de los parámetros máximos permitidos que debe cumplir el agua según su uso, de acuerdo con los distintos grupos normativos.

Tabla 1.7 Comparación de algunos límites máximos establecidos para agua de beber según diferentes organizaciones.

Sustancia	México mg/l	Estados Unidos mg/l	Canadá mg/l	C. E. E. mg/l	O.M.S. mg/l
inorgánicos					
arsénico	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
cadmio	0.005	0.01	0.005	0.005	0.005
cromo	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
mercurio	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001
nitrato	10.0	10.0	10.0	50.0	10.0
plomo	0.025	0.05	0.05	0.05	0.05
orgánicos					
2,4 D	0.05	0.1	0.1	n.d.	0.001
2,4,5 - TCP	0.001	0.01	0.01	n.d.	n.d.
lindano	0.0002	0.0004	0.004	n.d.	n.d.
microbios					
coliformes totales	< 2	< 1	10	0	0
	organismos/100 ml				

Adaptado de: van der Leeden. *et al.*, 1990 y Diario Oficial de la Federación, 1994.

O.M.S. = Organización Mundial de la Salud

C.E.E. = Comunidad Económica Europea

n.d. = No determinado

Debido a los efectos adversos a la biota, tales sustancias, entre otras, se encuentran listadas en las distintas normas de uso y descarga de agua. Dichas sustancias suelen constituir los llamados "compuestos químicos prioritarios".

En la República Mexicana se han identificado a aquellos compuestos químicos con mayor probabilidad de encontrarse en descargas industriales Ramos *et al.*, (1996): El mayor riesgo de encontrar tóxicos prioritarios proviene de los giros listados en la Tabla 1.8.

Tabla 1.8 Giros industriales en México, con mayor riesgo de contaminar con tóxicos prioritarios

giros	metales pesados	hidrocarburos alifáticos halogenados	Aromáticos mono y policíclicos	fenoles
química y petroquímica y farmacéutica	■	■	■	■
refinación del petróleo		■		■
textil			■	■
fabricación de equipo electrónico		■	■	
plantas de celulosa y papel	■			■
explotación minera				
curtiduría	■			
metálica básica	■			
alfarería, cerámica, e industria del vidrio				

Fuente: Ramos *et al.*, 1996.

La cantidad de empresas que existen en el país varía según las distintas fuentes; el Sistema de Información Empresarial Mexicano (SIEM) registra 464 815 empresas (SECOFI, 1998), pero este padrón, además de estar aún en proceso de formación, agrupa tanto a productores, maquiladores y comercios. Según la Dirección General de Promoción de las Micro Pequeña y Mediana Empresas y Desarrollo Regional de SECOFI, el país contaba con 118 944 establecimientos industriales en el año de 1997, (Comunicación Personal, unidad administrativa de SECOFI). Por otra parte Ramos, *et al.* (1996), reportan que en todo el país existen alrededor de 1403 industrias de los giros con mayor riesgo de contaminar con tóxicos prioritarios (incluidos en la Tabla 1.8). La Figura 1.3 muestra el porcentaje del promedio de descarga de aguas residuales, por giro de las industrias identificadas como las de mayor riesgo de contaminar con tóxicos prioritarios, reconociéndose a los estados de Veracruz, México, Jalisco, Tamaulipas, Querétaro, Michoacán, Puebla y el D.F. como aquellos donde hay cantidad de industrias instaladas de este tipo (Ramos *et al.*, 1996).

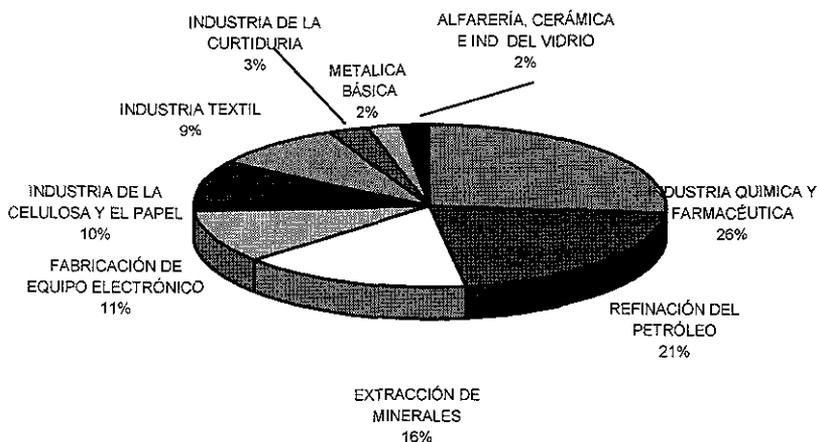


Figura 1.3 Porcentaje de descarga de las industrias, con mayor número de compuestos tóxicos en sus aguas residuales

Los compuestos que generan dichas industrias, tienen gran importancia por las características que se analizan en los párrafos siguientes.

1.2.1 Compuestos Xenobióticos

El término "xenobiótico" (extraño a la vida), es derivado de los términos griegos *xenos*: extraño, ajeno, exterior; y *bios*: vida o transcurso de vida. Para la química ambiental, xenobiótico implica "ajeno a la biosfera". Otro término que a menudo se usa como sinónimo de xenobiótico, es "antropogénico", el cual aparece en lecturas de carácter científico para referirse a "hechos por el humano". Sin embargo, cabe señalar que estrictamente hablando, antropogénico significaría "origen del hombre". La terminología que enfatiza ciertos aspectos indeseables de los compuestos xenobióticos, según el PNUMA (1998) puede ser: "recalcitrante" denominando así a sustancias químicas cuyas moléculas no se rompen de manera natural, algunos de estos compuestos no son tóxicos, como el polietileno, pero otros

como los hidrocarburos clorados son extremadamente tóxicos a los sistemas biológicos. Otros compuestos suelen denominarse "persistentes" que se refiere a que no son de fácil degradación fotolítica, biológica y/o química, soliendo ser compuestos halogenados y la mayor parte de las veces clorados, son típicamente semivolátiles, permitiéndoles su fácil acceso a zonas remotas. Su vida prolongada y su fácil dispersión en el ambiente dan lugar a su potencial de bioacumulación y bioamplificación en los organismos. También se emplean los términos "químico tóxico", "tóxico ambiental", o "Sustancias Tóxicas Orgánicas" (TOS: *Toxic Organic Substance*), para recalcar los efectos dañinos, sobre los organismos (Ver Tabla 1.9).

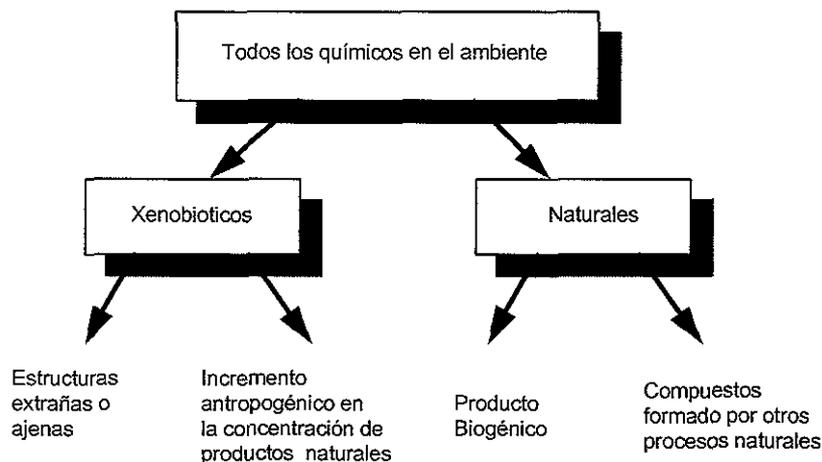
Tabla 1.9 Químicos de preocupación ambiental. Términos

características del compuesto químico	nombre (adjetivo)
ajeno a la Biosfera	xenobiótico
producido (liberado) por el hombre	antropogénico, hecho por el hombre, sintético
por sus efectos sobre el ambiente:	
- tóxico	tóxico al ambiente, TOS.
- no degradable	recalcitrante, persistente

Fuente: Hutzinger y Veerkamp, 1981.

La síntesis de urea por Wöhler en 1828, hace pensar que los términos antropogénico, hechos por el hombre y sintético no pueden ser utilizados como sinónimos con xenobiótico. Por ahora algunos compuestos químicos son sintetizados y estos son idénticos en función y comportamiento a las moléculas biosintetizadas. La síntesis de moléculas biológicas como vitaminas, hormonas y aminoácidos son algunos ejemplos.

De esta forma, todos los compuestos químicos en el ambiente pueden ser esquematizados de la siguiente manera:



Se observa que cuando se incrementa la concentración de un producto natural en la biosfera debido a las distintas actividades humanas, también se considera un compuesto xenobiótico, pues al ser liberado puede romper el equilibrio existente en el ambiente. Un caso

de incremento antropogénico de compuestos naturales a niveles tóxicos, puede ser la presencia de metales pesados en cuerpos de agua.

La necesidad de químicos con aplicaciones y usos prácticos, llevó a las universidades y a los laboratorios industriales a crear una gran cantidad de químicos orgánicos: colorantes, drogas, explosivos, aditivos, pesticidas, detergentes, entre muchos otros, todos ellos compuestos xenobióticos que, debido a su uso indiscriminado, constituyen uno de los problemas más importantes en el deterioro del ambiente. Dentro de este tipo de químicos se estudian en el presente trabajo, están los compuestos fenólicos, y dos metales pesados, el cromo y el plomo, debido a que se encuentran en descargas de agua residual de algunos sectores industriales de importancia.

1.2.1.1 Fenoles

Los fenoles son compuestos que se derivan de los hidrocarburos aromáticos, principalmente del benceno, por la sustitución de uno o varios átomos de hidrógeno del núcleo bencénico por uno o varios grupos hidroxilos (OH); análogamente se forman nuevas sustancias a partir del fenol por sustitución electrofílica de otro hidrógeno del núcleo bencénico por algún otro anión, como puede ser el Cl⁻, Br⁻. Uno de éstos compuestos es el clorofenol, que se caracteriza por tener efectos más persistentes y tóxicos (Ver Figura 1.4).

Los compuestos fenólicos son, en general, sustancias cristalinas incoloras, cuyo olor es característico; debido a su oxidación por contacto con el aire se vuelven rosadas y posteriormente rojas. El Fenol lo utilizó por primera vez el cirujano inglés Lister, en 1857, al aplicarlo como desinfectante sobre la piel, pero a causa de sus efectos nocivos, fue sustituido por otras sustancias sin estos inconvenientes.

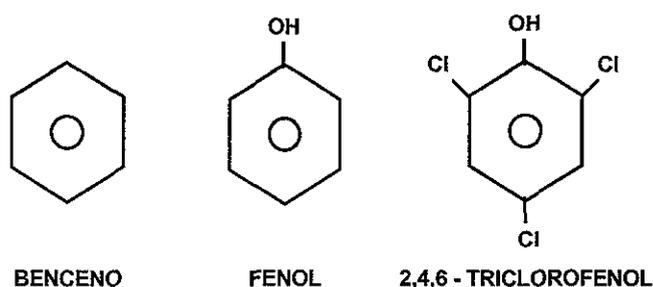
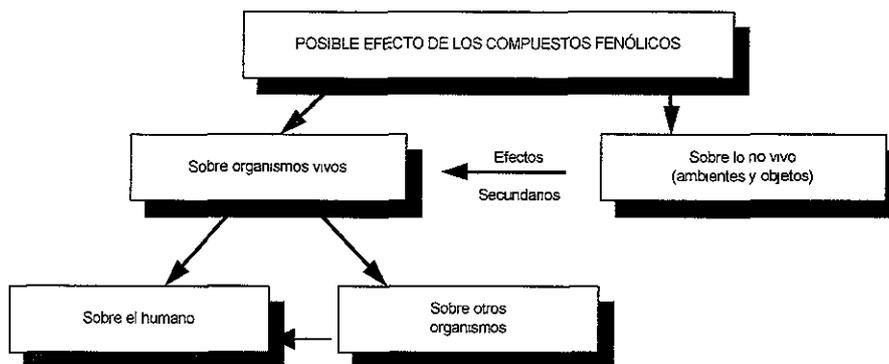


Figura 1.4 Estructura molecular del benceno, fenol y triclorofenol

Efectos, toxicidad y destino en el ambiente de los fenoles.

Los posibles efectos en el ambiente de los compuestos fenólicos se muestran resumidos en el esquema siguiente:



Después de que los compuestos fenólicos son liberados al ambiente, se inician una serie de eventos irreversibles. En el esquema anterior cabe resaltar, que los efectos de los compuestos fenólicos pueden actuar sobre la materia no viva, acumulándose y afectando posteriormente a los organismos vivos.

Los principales efectos tóxicos de los fenoles se encuentran listados en la Tabla 1.10, donde destacan los derivados clorados por sus propiedades *carcinogénicas*, al producir brotes cancerosos en los tejidos; *teratogénicas*, al elevar la incidencia de las malformaciones congénitas y, *mutagénicas* al alterar la conformación original del DNA; además, el agua contaminada por estos compuestos presenta alta coloración y olores indeseables.

Tabla 1.10 Efectos tóxicos de los Compuestos Fenólicos

	efectos sobre la salud humana			efectos en el ambiente
	carcinogénico	teratogénico	otros	
fenol	no	no	efectos en sistema nervioso central, muerte a altas dosis	afecta la reproducción en organismos acuáticos. Tóxico a los peces
clorofenoles	sí	posiblemente	mutagénico, daños al hígado	su exposición continua a mostrado trastornos en el crecimiento en diferentes organismos

Adaptado de: OMS, 1995.

El destino de los fenoles en el ambiente se puede observar en la Figura 1.5. Nótese que el destino final son los organismos vivos; en éstos, el compuesto puede ser transportado a otras estructuras biológicas a través de la cadena alimenticia.

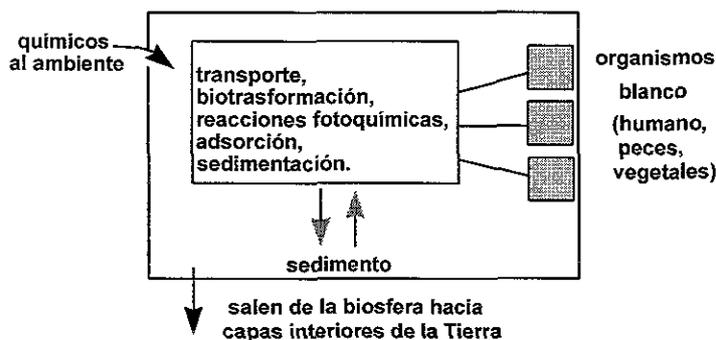


Figura 1.5 Destino de los fenoles en el ambiente

Fuentes de contaminación por fenoles.

Las aplicaciones de los fenoles son muy variadas, ya que constituye una materia prima clave en la industria, por ejemplo:

- En terapéutica sirve para preparar medicamentos, en particular, derivados del ácido salicílico, de los cuales, algunos se emplean en perfumería.
- Son materia prima en la industria de explosivos; la industria de materiales plásticos (fenoplastos) y de textiles artificiales (nylon y perlón).
- Se emplea igualmente para refinar petróleos, en la fabricación de materias colorantes, detergentes, taninos sintéticos, insecticidas, herbicidas, hormonas vegetales, en la preservación de la madera, y en el proceso de blanqueado de la pulpa de madera para la fabricación de papel, entre otros usos.

En términos de control de la contaminación, las concentraciones reportadas de fenol se presentan como el resultado de una metodología analítica, que mide un grupo general de compuestos similares, dicha metodología se basa en la identificación de un solo compuesto: *el fenol* (hidroxibenceno). Esto se debe a que la literatura técnica simplemente describe como *fenoles* a esta categoría que incluye una variedad de compuestos químicos similares, entre los que se encuentran polifenoles y fenoles sustituidos como los clorofenoles y los fenoxiacidos (Patterson, 1986).

Diversas industrias son fuente de contaminación de fenoles, entre las que destacan las refinerías de petróleo, las plantas químicas, la fabricación de explosivos, la fabricación de resinas y particularmente los hornos de coque (Patterson, 1986). En la República Mexicana, las principales industrias contaminantes de fenoles son:: la química y petroquímica; la refinación del petróleo; la textil; y las plantas productoras de celulosa y papel (Tabla 1.8), todas ellas teniendo descargas que exceden los máximos estipulados por las normas internacionales.

Para la República Mexicana, anteriormente se contaba con diferentes normas que especificaban las concentraciones de fenol máximas en descargas de agua residual de diversas industrias, en ellas se indicaba de manera general, un valor máximo de 0.5 mg/l de fenol. La NOM – 001 ECOL –1996, en vigor (Diario Oficial de la Federación, 1997), abroga las anteriores normas. En esta última no se especifican los límites máximos de fenoles, pues considera de mayor relevancia la aportación de DQO que una descarga de agua puede contribuir a partir de la mezcla de sus residuos.

La tecnología para el tratamiento de residuos con fenoles puede encontrarse para todas las concentraciones de fenol. Los tratamientos fisicoquímicos y biológicos son exitosos a escala industrial y ambos reportan altas eficiencias de remoción (Patterson, 1986).

Los métodos para el tratamiento de fenol pueden ser seleccionados de acuerdo con la concentración de fenol en el influente.; concentrada, intermedia y diluida; recomendando los tratamientos biológicos para las concentraciones intermedias y diluidas. Patterson (1986)

Los mecanismos de degradación pueden ser por acción fotolítica, o bien, por biodegradación microbiana, donde los organismos requieren una previa aclimatación para poder ocupar como fuente de carbono a los fenoles. Tales prácticas de biodegradación han sido realizadas satisfactoriamente, como lo reporta González, (1996). Sin embargo, en muchas ocasiones el tiempo de contacto de las aguas residuales con los microorganismos, o las altas concentraciones de los tóxicos, no permiten que se lleve a cabo el proceso de aclimatación (Buitrón, 1997).

1.2.2 Metales Pesados

El término Metal Pesado es impreciso, ya que es una definición arbitraria basada en la densidad o en la posición de ciertos elementos en la tabla periódica, abarcando un amplio rango de éstos, los cuales tienen diversas propiedades químicas y biológicas (Gadd, 1986). Nieboer y Richardson (1980) proponen que el término metal pesado sea abandonado en favor de un sistema que separe a los iones metálicos con base en su habilidad de formar complejos con una variedad de ligandos orgánicos e inorgánicos (Ver Figura 1.6). Así, los elementos del grupo A tienen afinidad con ligandos con oxígeno; el grupo B, con ligandos con nitrógeno y/o sulfuros y un tercer grupo intermedio, con afinidad para ambos tipos de ligandos.

Grupo A										Grupo Intermedio										Grupo B										He
H	Li	Na	K	Rb	Cs	Ba	Ca	Sc	Y	La	Ac	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	Xe	Ra		
												Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I					
												Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At					
												Ku	Ha																	

Figura 1.6 Tabla Periódica de los elementos, mostrando la propuesta de clasificación para los metales y metaloides por Nieboer y Richardson

En general, la toxicidad de los metales pesados está dada por su habilidad de unión a ligandos orgánicos, lo que causa desnaturalización de proteínas, disyunción de membranas celulares y descomposición de ciertos metabolitos y algunas veces actúa como antimetabolito de nutrientes esenciales (Bowen, 1966). Tal toxicidad requiere un control adecuado de estos elementos para mantener el equilibrio existente en la biota.

Las tecnologías utilizadas para el control de metales en vertidos líquidos industriales, se basan normalmente en métodos de transferencia de masa líquido - sólido, tales como precipitación seguida de pre o post oxidación y concentración de las especies de interés. La formación de precipitados metálicos es relativamente sencilla (Jenkins y Snoeyink, 1981), dado el comportamiento de los metales para formar distintas especies metálicas a diferentes valores de pH, encontrándose así iones libres o hidroxicomplejos poliméricos, que forman precipitados (Ver Figura 1.7).

En general, los distintos tratamientos para remover metales pesados se presentan en la Tabla 1.11. Sin embargo, cabe señalar que estos procesos requieren una infraestructura, que por los costos de producción no siempre se justifica su implantación en las unidades de producción de muchas industrias contaminantes, por lo que procesos alternativos deben ser estudiados.

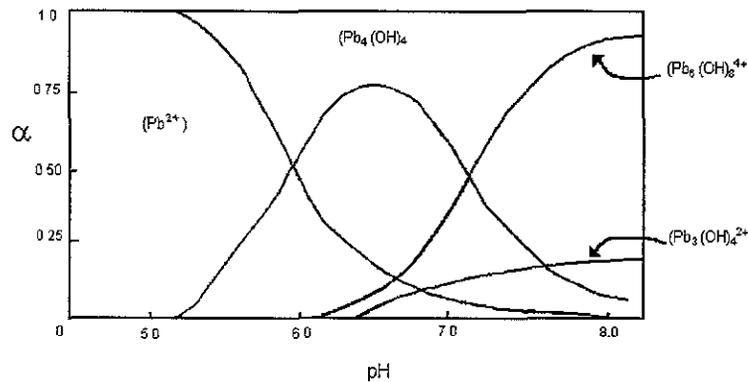


Figura 1.7 Distribución de las especies de plomo en solución acuosa de Pb (II) $C_{T\text{ Pb}} = 0.04\text{ M}$

Tabla 1.11 Tratamientos para remover metales pesados

- Precipitación
- Evaporación
- Ultrafiltración
- ósmosis Inversa
- intercambio iónico
- electrólisis
- adsorción

Adaptado de: Patterson y Passino, 1990.

En este trabajo, se analizan dos de los metales pesados que son producto de distintas actividades industriales, y que suelen encontrarse en elevadas concentraciones en el ambiente, estos son el plomo y el cromo.

1.2.2.1. El Plomo

El Plomo (Pb) es un componente menor, pero ampliamente difundido en la corteza terrestre, en la que está presente en forma de carbonatos, fosfatos y principalmente en sulfuros (galena), que al oxidarse a sulfatos libera el plomo para formar hidróxidos.

En el agua de mar se encuentran concentraciones promedio de $0.03\ \mu\text{g/l}$ de plomo, mientras que el agua de lluvia y el agua superficial tienen en promedio $5\ \mu\text{g/l}$. Generalmente, el contenido de plomo en aguas no contaminadas no sobrepasa los $100\ \mu\text{g/l}$, y su presencia en

concentraciones más elevadas, ya sea solubilizado o fijado en las materias en solución, se debe a causas externas (Chisolm, 1971).

El Pb es un metal que el ser humano ha obtenido y trabajado durante milenios. Su ductilidad, su gran resistencia a la erosión y otras propiedades, lo convierten en uno de los metales más útiles. Sin embargo, el uso inapropiado del Pb, ha provocado envenenamientos a lo largo de la historia. El envenenamiento por Pb, a veces llamado "*plumbismo*" (de la raíz latina plomo) o "*saturnismo*" (término alquimista para el metal) fue descrito por primera vez hace ya más de 2000 años por Nicandro, el médico, poeta y gramático griego.

Hoy, el estudio de los efectos del plomo abarca dos aspectos: conocer los riesgos y la lucha contra sus consecuencias.

Toxicidad del plomo

Desde hace tiempo atrás, existen pruebas tangibles de que los residuos del Pb se han estado acumulando en nuestro ambiente, particularmente en las áreas urbanas muy pobladas (Chisolm, 1971). El envenenamiento por Pb provoca daños en el cerebro, deficiencia mental y graves trastornos en la conducta, sobre todo en los niños. La intoxicación plúmbica se presenta en trastornos clínicos manifestados por anomalías y alteraciones histopatológicas variadas. El Pb es susceptible de acumularse en el organismo; el peligro no es, pues, solamente debido a la absorción de una dosis tóxica, si no a una acumulación de dosis consideradas separadamente como no tóxicas, fijándose en el esqueleto, en estrecha dependencia con el metabolismo del calcio.

Según los conocimientos actuales, el Pb no es un elemento necesario para las funciones metabólicas. Se han investigado algunos de sus efectos nocivos sobre el metabolismo celular. El trastorno más conocido es la inhibición por el Pb en la actividad de las enzimas que requieren grupos sulfhidrilos (-SH) Ondarza (1988). Un ejemplo claro de estos efectos lo tenemos en los trastornos que se producen en la biosíntesis del grupo hemo. La vía que conduce a la síntesis del grupo hemo, comienza con el succinato activado (producido en el ciclo de Krebs) y continúa en una serie de pasos; dos de estos pasos son inhibidos en presencia de Pb y otros dos pueden verse afectados con altas concentraciones del metal (Ver Figura 1.8). Cabe señalar que tales resultados son demostrados *in vitro*, en concentraciones de Pb superiores a las que se han encontrado en humanos (Larson, 1990).

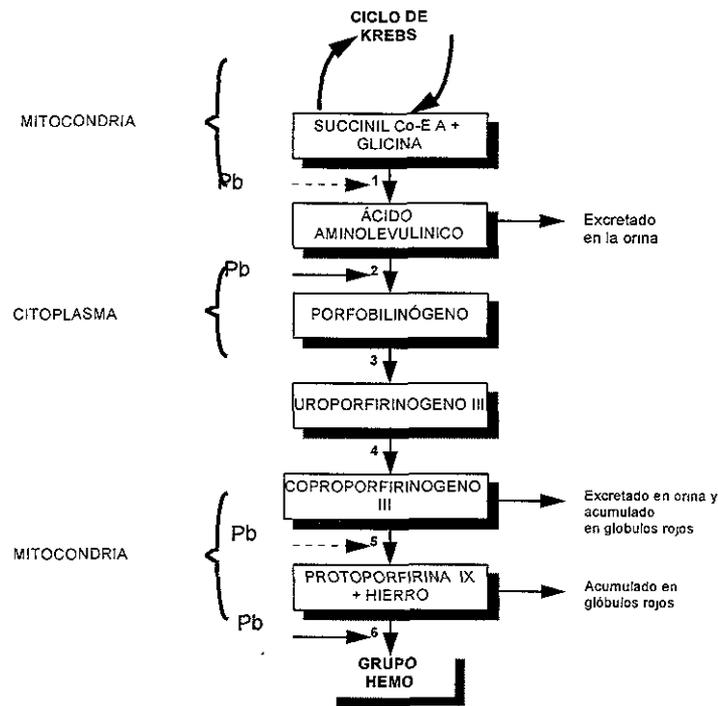


Figura 1.8 La biosíntesis del grupo Hemo, elemento de la hemoglobina, es inhibido por el Pb, acumulándose sustancias intermedias de la vía metabólica. El Pb inhibe dos pasos (flechas continuas) y puede inhibir otros dos (flechas discontinuas).

Fuentes de contaminación por plomo

Está tan difundido y es tan utilizado el Pb en la industria, que las posibilidades de contaminación son extremadamente numerosas y variadas. Figuran por sus grandes descargas de Pb, la industria de manufactura de colores minerales, el proceso de minas y extracción de minerales y la industria de acumuladores. Sin embargo, existen numerosas industrias, que aunque pequeñas, en conjunto tienen importantes descargas de Pb en sus aguas residuales, tal es el caso de la industria de Acabados de Metales (actividad de recubrimiento metálico uniforme a una superficie de una pieza sólida). En la República Mexicana la industria de Acabados Metálicos toma importancia en cuanto al uso de agua, adición de contaminantes y manejo de sus aguas residuales.

Los grupos que incluyen esta actividad, según el XIV Censo Industrial (INEGI, 1995), se encuentran en el Sector de la Industria y Manufactura dentro de la Rama de Fabricación de otros productos metálicos (excluyendo la maquinaria y el equipo); dicha rama registra 4225 unidades económicas y abarca 13 Clases donde figuran por su número de establecimientos, la clase 381405 concerniente a la fabricación de tornillos y tuercas y, la 381412 correspondiente a la galvanización, cromado, níquelado y trabajos similares en piezas metálicas. La Tabla 1.12 presenta el número de establecimientos por clase a escala nacional.

Tabla 1.12 Sector de la Industria y Manufactura.
Rama fabricación de otros productos metálicos excluyendo maquinaria

Clase	Actividad	Número de Establecimientos
clase 381402	fabricación de hojas de afeitar y cuchillería	70
clase 381403	fabricación de chapas, candados, llaves	49
clase 381404	fabricación de alambre	365
clase 381405	fabricación de tornillos y tuercas	548
clase 381406	fabricación de clavos, tachuelas y grapas	48
clase 381412	galvanizado, cromado, niquelado	518
	otras clases de la rama	2627
	<i>total de la rama</i>	4225
		(1009 en el D.F.)

Adaptado de: INEGI, 1995.

Para el caso particular de la clase 381412 que toca al galvanizado, cromado y niquelado, la Tabla 1.13 muestra el uso del agua y el promedio de las descargas de agua residual.

Tabla 1.13 Uso y descargas de agua en el galvanizado, niquelado y cromado

Parámetro	Límite
uso y manejo del agua:	
establecimientos en la Rep. Mex.	518
índice de Consumo	1 349 l/m ² área recubierta
metros cuadrados recubiertos/año	3 171 155 m ²
demanda de agua	4 277 887 m ³ /año
promedio de la descarga:	
pH	6.5 - 9
sól. suspendidos. (mg/l)	312
Pb (mg/l)	5
Ni (mg/l)	60
Cr (mg/l)	100
Cu (mg/l)	35
Fe (mg/l)	9

Adaptado de: INEGI, 1995; y López Hernández J., comunicación personal.

Las descargas de agua de esta industria, son muestra típica de las descargas industriales, las cuales varían los elementos y las concentraciones según su actividad, pero en general provocan, todas ellas efectos adversos en los ecosistemas. La Tabla 1.14 presenta los límites de descarga que indica la "Norma Oficial Mexicana NOM - 001 - ECOL - 1996, en cuanto a metales pesados y cianuros se refiere.

Tabla 1.14 Límites máximos permisibles para metales pesados y cianuros de acuerdo a la NOM-001.

parámetros (1) miligramos por litro excepto cuando se especifica	ríos						embalses naturales y artificiales						aguas costeras						suelo			humedales naturales (B)							
	uso en riego agrícola (A)		uso público urbano (B)		protección de vida acuática (C)		uso en riego agrícola (B)		uso público urbano (C)		explotación pesquera, navegación y otros usos (A)		recreación (B)		estuarios (B)		uso en riego agrícola (A)			PM			PD						
	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD	PM	PD			
arsénico	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	
cadmio	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	0.2	0.4	0.1	0.2	
cianuro	2.0	3.0	1.0	2.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	2.0	2.0	1.0	2.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0	2.0	3.0	1.0	2.0
cobre	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4	6.0	4	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	4.0	6.0	
chromo	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1.0	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	
mercurio	0.01	0.02	0.005	0.01	0.005	0.01	0.01	0.02	0.005	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	
níquel	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4	
plomo	0.5	1	0.2	0.4	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	0.5	1	0.2	0.4	
zinc	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	10	20	

Fuente : Diario Oficial de la Federación, 1997

(*) medidos de manera total

P.D. promedio diario

P.M. promedio mensual

(A), (B) y (C) tipo de cuerpo receptor según la Ley
Federal de Derechos

1.2.2.2 El Cromo

El mineral de cromo más importante es la cromita (FeCr_2O_4), el cual es abundante en depósitos de rocas ígneas. El Cromo (Cr) es un metal blanco, duro, brillante y frágil; es extremadamente resistente a los agentes corrosivos ordinarios, característica que explica sus amplias aplicaciones. La oxidación de los compuestos del cromo es instantánea, por lo que el cromo puede encontrarse en estado trivalente (cromitas) o hexavalente (cromatos).

Toxicidad del cromo.

Existen catorce microelementos que han demostrado ser esenciales para la vida. Estos se conocen también como elementos *traza*, debido a que sólo se encuentran cantidades extremadamente pequeñas en el cuerpo. Esta condición ha hecho muy difícil determinar que elementos son necesarios para la vida. El Cr es uno de los catorce elementos traza que ha demostrado tener un papel esencial para la vida, por lo que se han establecido las cantidades diarias seguras y adecuadas para el consumo humano (Bloomfield, 1992). La Tabla 1.15 muestra algunos de estos elementos con las dosis diarias recomendadas para adultos, y su función en el organismo.

Tabla 1.15 Elementos traza requeridos para la vida

elemento	requerimiento diario	función
flúor	1.5 – 4 mg	Necesario en huesos y dientes previene caries dental
yodo	0.15 mg	En la función normal de tiroides
selenio	0.05 mg	Evita distrofia muscular
silicio	n. d.	En crecimiento de huesos y desarrollo de tejido conectivo
arsénico	n. d.	En crecimiento y reproducción de animales
hierro	2 – 3 mg	Se halla en hemoglobina
cobre	15 mg	En algunas enzimas
zinc	n. d.	En la función normal del hígado
cobalto	2.5 – 5 mg	En vitamina B ₁₂
manganeso	0.05 – 0.2 mg	En diversas enzimas
cromo	0.05 – 0.02 mg	Aumenta la eficacia de la insulina, disminuye el colesterol
molibdeno	0.15 – 0.5 mg	En diversas enzimas
vanadio	n. d.	En el crecimiento óptimo de pollos y ratas
níquel	n. d.	En la absorción del hierro

Fuente: Bowmfield M., 1992.

n.d.= no determinada la dosis recomendada.

Sin embargo, dosis mayores a las recomendadas causan una acción tóxica hepatorenal, además de que el cromo hexavalente, aparte de ser un oxidante muy potente, presenta características carcinogénicas, entre otras (Ver Tabla 1.16). La absorción de Cr tras la exposición por vía oral es relativamente baja y depende del estado de oxidación. El Cr VI se absorbe más fácilmente a través del tracto gastrointestinal que el Cr III, y puede atravesar las membranas celulares. En estudios epidemiológicos, se ha hallado una relación entre la exposición del Cr VI por inhalación y el cáncer en el pulmón. En una amplia gama de pruebas de genotoxicidad *in vitro* e *in vivo* los compuestos de Cr VI, resultaron activos, pero no los del Cr III. Sin embargo, agentes reductores como los jugos gástricos pueden interferir en la acción mutagénica del Cr.

Por lo anterior, en un principio se consideró que debían determinarse valores guía distintos para Cr III y Cr VI. Sin embargo, los actuales métodos de análisis favorecen el establecimiento de un solo valor guía para el total de Cr (OMS, 1995). Por esto, las normas internacionales, europeas y americanas, han adoptado como concentración máxima de Cr permisible en el agua de beber 0.05 mg/l, partiendo de que organismos acuáticos como protozoarios y algas tienen un límite de tolerancia de 0.05 mg/l de Cr_{tot}, siendo éstos más sensibles que los peces (límite: 1 mg/l de Cr_{tot}).

Tabla 1.16 Algunos efectos tóxicos del cromo

Irritación en la piel
trastornos a vías respiratorias
daños al hígado
efectos embriotóxicos
teratogénico
mutagénico
carcinogénico

Adaptado de: van der Leeden F. et al., 1990.

Fuentes de contaminación por cromo

Aparte de la fabricación de aceros especiales, el Cr puro se emplea poco en la industria, en cambio, sus derivados son muy utilizados. En la industria química son principalmente los bicromatos los que más se utilizan. Las sales de cromo se emplean como mordiente para las pinturas y colorantes (verde de cromo, rojo de cromo etc.) y también se añaden algunas veces al agua industrial de enfriamiento, como elementos anticorrosivos. Además, el cromado electrolítico de superficies metálicas está muy generalizado junto con el curtido al cromo que se utiliza ampliamente para los cueros y pieles.

La industria de la curtiduría, definida como la acción de convertir la piel de cualquier animal en un producto final que puede tener diversos usos, es una de las actividades industriales

importantes del país y además, una fuente de contaminación debido a la cantidad y a la calidad de sus aguas residuales.

La Tabla 1.17 presenta el análisis de un agua residual del proceso de curtido de una curtiduría típica instalada dentro del Distrito Federal y se compara con los valores máximos permisibles estipulados por la Norma Oficial Mexicana NOM - 001 - ECOL/1996.

Tabla 1.17 Calidad del agua de descarga y requerimientos de la misma, para la industria de la curtiduría

parámetro	análisis de un agua del proceso de curtido (mg/l)*	permisibles NOM-001 (mg/l)**
pH (unidades de pH)	4	6 – 9
demanda bioquímica de oxígeno	3 720	30 – 150
sólidos sedimentables	40	1 – 2
sólidos suspendidos	12 916	40 – 150
grasas y aceites	416	15 – 25
cromo total	5 650	0.5 – 1.5

* López Hernández J., comunicación personal y **Diario Oficial de la Federación, 1997.

La eliminación del Cr en las aguas residuales no presenta dificultades particulares utilizando los tratamientos de precipitación convencionales. Sin embargo, el ingreso bruto de las principales industrias contaminantes no siempre permite implantar un sistema adecuado para el tratamiento de sus aguas, o bien, dejan remanentes que requieren un tratamiento de pulimento.

CAPITULO 2

MARCO TEÓRICO

"Parecido a la naturaleza... Parecido al pensamiento y parecido también en alguna forma al Globo de la Tierra. Parecido al error, a la dulzura y a la crueldad A lo que no es real... A la Araucaria que extiende sus ramas en un patio...Al polvo... A unas nubes que se sobreponen, encogen al horizonte pero hacen pensar al cielo... A una vela en el Pacífico... A la caricia de una gran fatiga, a una promesa a largo plazo. Al movimiento en un nido de hormigas, A un ala de cóndor cuando la otra ala está ya en la vertiente opuesta de la montaña, A unas mezclas, A la médula a la vez que la mentira. A un joven bambú a la vez que al tigre...Parecido a mi, al fin, y más aún a lo que no soy.. "
Henri Michaux.

Biosorción y biosorbentes

El uso de la biotecnología para solucionar problemas que producen desequilibrios a los sistemas terrestres y acuáticos, es un proceso factible y económico que se ha venido realizando desde tiempo atrás (Hansen y Morales, 1995). La "biorremediación" es una línea de la biotecnología, que tiene como objetivo utilizar microorganismos para realizar el saneamiento ambiental en los sistemas afectados por compuestos contaminantes; ofreciéndose como una alternativa tecnológica para resolver algunos de los problemas de contaminación que nos aquejan en la actualidad.

La utilización de microorganismos para remover contaminantes de cuerpos de agua, ha sido una práctica realizada de manera satisfactoria desde hace varias décadas (Brown y Lester, 1979). Estos métodos alternativos de remoción de contaminantes empiezan a ser considerados en nuevas aplicaciones, dado que por ejemplo, las técnicas convencionales para remover metales, pueden ser inefectivas o extremadamente caras, especialmente cuando los metales en solución contienen del orden de 1 a 100 mg/L (Volesky, 1990).

Los microorganismos son utilizados para remediar las distintas afectaciones a los cuerpos de agua, por lo que se aprovechan las propiedades pasivas y activas de los microorganismos. Así, por ejemplo, se han utilizado diferentes microorganismos en medios acuosos, principalmente en forma inmovilizada, a través de la tecnología de "Tapetes Microbianos" (Bender, 1994), donde se aprovechan diversas propiedades de la biomasa. Algunas de estas propiedades serán analizadas mas adelante.

En la remoción de algunos metales pesados por tratamientos biológicos, en trabajos realizados con lodos activados, Lester (1982) identifica los siguientes mecanismos de biorremediación:

- Atrapamiento físico de precipitados metálicos por los microorganismos
- Unión de metales solubles a polímeros extracelulares de bacterias
- Acumulación por la célula
- Volatilización de metales a la atmósfera

Analizando los mecanismos propuestos por Lester, podemos clasificar la capacidad de remoción de metales como una propiedad "pasiva" o "activa" inherente a las células. Algunos tipos de biomasa microbiana pueden retener relativamente altas cantidades de iones metálicos por una propiedad pasiva de sorción y/o complejación (Ver Anexo A). Esto comúnmente se conoce como *biosorción*. En este punto, es esencial establecer una adecuada terminología relacionada a la captura y concentración de especies metálicas por diferentes tipos de microorganismos y sus productos: Tsezos y Bell (1989), definen el término biosorción como la captura – secuestrado y/o acumulación de químicos y partículas por la biomasa microbiana. Sin embargo, Volesky (1990) hace una distinción en esta definición limitando sólo la biosorción al proceso de captura - secuestrado de algunas moléculas por materia de origen biológico. Los trabajos de este mismo autor sobre captura de metales pesados, indican que el modo activo de acumulación metálica por células vivas es usualmente designado como *bioacumulación*. Este proceso es dependiente de la actividad metabólica de la célula, la cual puede verse significativamente afectada por la presencia de los iones metálicos; aunque la tolerancia al metal reflejará la habilidad de un organismo a sobrevivir en un ambiente adverso.

El fenómeno de la biosorción se observó en algunos microorganismos con capacidad de secuestrar algunas sustancias del ambiente donde crecen. Tales sustancias, denominadas *biosorbatos* generalmente no son necesarias para su metabolismo. Esta propiedad *biosorbente* es llevada a cabo por los componentes externos de la célula, pues como se ha dicho, es independiente de la actividad metabólica, siendo esto determinado estrictamente por el carácter químico y físico de las capas celulares externas, como puede ser la pared celular. Una importante característica de la biosorción es que puede manifestarse igualmente cuando hay actividad metabólica, que cuando la célula esta muerta, por lo que remanentes celulares, tales como paredes celulares, pueden aún representar un potente biosorbente.

2.1 Mecanismos de biosorción

La biosorción, capacidad pasiva de la célula de secuestrar sustancias químicas, es causada por diferentes mecanismos fisicoquímicos, que dependen de diversos factores externos, como lo son el tipo del químico o partícula, la forma iónica en la solución y sobre todo el tipo del sitio particular de unión responsable del secuestro. Dentro de los principales mecanismos que se encuentran en la biosorción destacan: la adsorción, el intercambio iónico, la complejación y el atrapamiento físico de partículas precipitadas en la biomasa (Ver Anexo A).

Existen varios trabajos que han complementado la comprensión de los mecanismos que suceden en la biosorción. Polikarpov (1966) apunta que algunos radionucleotidos presentes en ambientes acuáticos pueden ser adsorbidos por microorganismos, y dicha propiedad es independiente de las funciones vitales de la célula, dado que vivas o muertas exhiben la misma propiedad de captura. Tezuka (1969) sugiere que la reversibilidad de la floculación en lodos activos al adicionar los cationes Ca^{2+} o Mg^{2+} , es el resultado de enlaces iónicos formados por la capa negativa de la superficie de las células y los cationes de la solución. Tanaka y Skoryna (1970) establecen las propiedades naturales de intercambio iónico de los polisacáridos, particularmente en el caso de los metales bivalentes (M^{2+}), donde se intercambian con elementos de los polisacáridos:



Beveridge (1978) trabajó con paredes celulares de *Bacillus subtilis* para remover iones de alto número atómico; la hipótesis de retención por un mecanismo físico - químico explicaba el fenómeno de biosorción. Kuyucak y Volesky (1989) reportan que las paredes de la Gram positiva *B. subtilis* no capturan iones de cobalto mientras las Gram Negativas, como *E. Coli*, si lo hacen; este trabajo resalta la importancia de la pared celular bacteriana (Ver Anexo B).

Por otro lado, los cationes metálicos pueden formar complejos con las cargas negativas de los azúcares, o con los polifosfatos, por quelación con átomos de oxígeno cargados negativamente, siendo este un proceso de intercambio iónico (Kuyucak y Volesky, 1989).

2.2 Cuantificación de la biosorción

Existen diversos métodos para la cuantificación experimental de la biosorción (Ver Anexo A). Las Isotermas (temperatura constante), son las que han tomado mayor interés, debido al mayor control de sus variables. La captura de las sustancias se evalúa cuantitativamente a través de isothermas de equilibrio de adsorción, similares a las descritas por Hutchins (1965) para evaluar el desempeño del carbón activado.

La expresión gráfica de la isoterma es una representación de la captura por el sorbente (en mg/g; ó mol/l) contra la concentración residual del sorbato (en mg/l). El resultado de dicha relación es frecuentemente una línea hiperbólica, mostrando el valor de una completa saturación del biosorbente en la fase estacionaria de la curva. Una cierta porción de la curva de isoterma puede ser linealizada, usando logaritmos, para así, poder extrapolar datos; sin embargo esto no siempre es posible (Volesky, 1990).

El resultado de la captura se grafica en un diagrama que representa la *isoterma de biosorción*. El máximo valor de captura es un dato importante para la caracterización del biosorbente. La forma de la isoterma de biosorción es también importante desde otro punto de vista: una isoterma que tiene una pendiente alta desde el origen, aún a una baja concentración de sorbatos, es altamente deseable, porque ésto indica alta afinidad del biosorbente por los sorbatos dados.

Existen distintos modelos de isotermas de adsorción los cuales son ampliamente aceptados y fácilmente linealizados (*Anexo A*); dos de ellos, el modelo de Langmuir y el modelo de Freundlich, destacan por ser de sencilla aplicación. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que estos no son modelos cuyos términos o parámetros puedan ser conveniente y apropiadamente aceptados para la interpretación física del tema de biosorción.

2.3 Características de los biosorbentes

Los biosorbentes son básicamente producidos utilizando biomasa como materia prima, cuya principal característica es la alta capacidad de biosorción. Al utilizar la biomasa como tal, en un proceso de biosorción, ésta usualmente no posee las características necesarias para que se de el contacto eficiente con el biosorbente en solución, pues por ejemplo, la biomasa seca (pulverizada o en trozos granulares) pueda hincharse al humectarse, lo cual la emblandece y rompe, lo que es generalmente inconveniente y dificulta sus usos. Para la aplicación de los biosorbentes en algunos procesos, es necesario que la biomasa se encuentre en forma adecuada, como puede ser inmovilizada, o bien, que la biomasa presente tales características que al ser aplicada en un proceso, no se deteriore fácilmente.

Las características convenientes que el biosorbente necesita tener para los procesos en que será aplicado son: dureza, porosidad, tamaño de partícula, y resistencia a un amplio espectro de variables de los parámetros de la solución, tales como temperatura, pH, contenido de solvente, etc.

La formulación de un biosorbente puede resultar en un eficiente producto secuestrador de metales u otros compuestos tóxicos, pudiendo ser efectivo y económico en los procesos de biosorción. La formulación de biosorbentes industriales adecuados representa una línea de desarrollo de productos, los cuales deben ser complementados con trabajos básicos de experimentación. Actualmente, toda la nueva *familia* de materiales biosorbentes se

desarrolla a partir de los descubrimientos originales de los distintos tipos de biomasa, las cuales poseen propiedades sobresalientes de biosorción.

2.4 Los mejores biosorbentes

Para lograr el éxito en un proceso de biorremediación, la selección de la biomasa ha sido un factor clave (Nakayina y Sakaguchi, 1986), pues las propiedades particulares de los distintos microorganismos, establecerán los mecanismos adecuados para la biorremediación de determinados ambientes contaminados.

Los criterios de un agente activo para remover contaminantes de cuerpos de agua, se encuentran listados en la Tabla 2.1. En la medida que un material biosorbente cumpla estos criterios, tendrán mayor interés en su aplicación.

Tabla 2.1 Criterios de un agente *ideal* para remover Contaminantes en solución

-
- captura eficiente y rápida
 - producido a bajo costo
 - características físicas para poder ser utilizado en flujo continuo.
 - selectivo.
 - alta versatilidad (Amplio rango de T y pH)
 - que no dependa de la concentración de los tóxicos (sirva a bajas concentraciones, \leq a 10 ppm, así como a altas concentraciones \geq a 100 ppm)
 - regenerable
-

Adaptado de: Volesky, 1990.

Algunos procesos industriales producen biomasa microbiana, como los procesos operados por la farmacéutica o por algunas industrias bioquímicas, pudiendo ser sus residuos posibles subproductos al aplicarlos como biosorbentes. Otra posibilidad que es explorada, es la obtención de biomasa algal a través de la propagación de algas de agua dulce o por colecta de algas en ambientes marinos.

Algunos ejemplos de microorganismos cuya capacidad como biosorbentes ha sido estudiada son, entre otros, los producidos por la industria de la fermentación: *Penicillium chrysogenum* (Tsezos y Volesky, 1981), *Rhizopus arrhizus* (Tsezos y Bell, 1989) y *Bacillus spp*; o de ambientes marinos: *Sargassum natans*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* y *Palmyra spp*; o bien, de estanques de agua dulce como: *Chlorella spp* (Volesky et al., 1992). Estas biomasas han tenido distintos desempeños en su capacidad de biosorción, y todas han servido de base para el desarrollo de nuevos biosorbentes.

La industria del tratamiento de aguas residuales es un sector que produce importantes cantidades de residuos de biomasa microbiana, por lo que puede constituir una fuente potencial de material biosorbente.

2.5 Industria del tratamiento biológico de aguas residuales

En general, los objetivos del tratamiento biológico de aguas residuales, son la coagulación y eliminación de sólidos coloidales no sedimentables, así como la estabilización de la materia orgánica, digiriendo moléculas complejas y transformándolas en moléculas más sencillas (Winkler, 1994). Algunos sistemas biológicos son aplicados en el tratamiento de aguas cuyo contenido de contaminantes es, en su mayoría o totalidad, orgánico y por consiguiente biodegradable. En los tratamientos biológicos se involucran una serie de organismos que degradan la materia orgánica a través de su metabolismo. La ingeniería sanitaria crea microclimas en tanques o reactores con las condiciones necesarias para el mejor desarrollo de los organismos involucrados en la estabilización de la materia orgánica, acelerando los procesos que naturalmente tardarían mayores tiempos.

Se distinguen dos grupos en sistemas de tratamiento biológico, según el aceptor final de electrones en su metabolismo: los procesos aerobios, si el aceptor final de electrones es el oxígeno; y los procesos anaerobios, si el aceptor final son compuestos oxidados, como sulfatos y nitratos o, como en el caso de la fermentación, moléculas orgánicas. Esta diferencia metabólica conlleva implicaciones técnicas y económicas importantes para la industria de aguas residuales. La Figura 2.1 representa el flujo de energía que tiene lugar en uno y otro proceso; asimismo se aprecian las diferencias que existen durante la transformación del sustrato a productos finales.

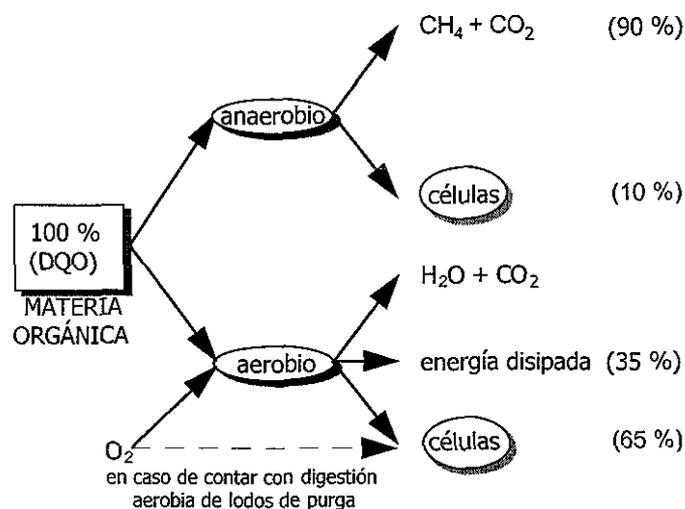


Figura 2.1 Flujo de energía en los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales

La tecnología anaerobia para el tratamiento de aguas residuales, surge en los años 80's como una opción atractiva para el control de la contaminación. El reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) es fundamentalmente aplicado para tratar aguas residuales industriales con media y elevada carga orgánica. Sin embargo, en climas cálidos y semicálidos, aguas residuales diluidas, como las de tipo doméstico, también pueden ser tratadas (Noyola, 1993).

El reactor tipo UASB en la actualidad es popular por su alta tasa en los tratamientos biológicos anaerobios, dado que es capaz de soportar altas cargas de materia orgánica (20 kg DQO/m³d) con eficiencias de remoción del 70 al 80%, siendo eliminada ésta, a un bajo costo de operación; además produce biogás (CH₄ y CO₂, principalmente), que puede ser utilizado como combustible.

Algunas ventajas del reactor UASB frente a los tratamientos anaerobios tradicionales, se dan en el grado de contacto y en la habilidad de retener una alta concentración de biomasa sin necesidad de material de soporte, aún a pesar de la velocidad ascendente. Dada la alta concentración de biomasa, el reactor puede operar con tiempos de retención hidráulica cortos. Sin embargo el éxito de operación de estos reactores requiere de una buena capacidad de sedimentación de la biomasa. En un UASB, la biomasa es retenida como agregados celulares llamados *granos*, formados por las propiedades naturales de inmovilización de las bacterias.

El reactor UASB puede ser esquematizado en 3 compartimentos: (1) el lecho de lodo granular, (2) la zona de expansión, y (3) el separador de fases sólido - gas - líquido (Figura 2.2).

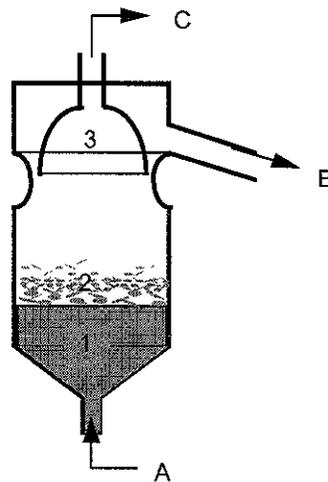


Figura 2.2 Representación esquemática de un reactor UASB
(A) influente; (B) efluente; (C) salida de gas

La comunidad microbiana granular anaerobia se localiza en la parte baja del reactor. El agua residual ingresa por abajo y atraviesa el lecho de lodos. Aquí los compuestos orgánicos son degradados biológicamente produciéndose biogás y nuevos microorganismos. Arriba del lecho de lodos se desarrolla una zona expandida, debido a la producción del biogás y al flujo ascendente del influente. En el separador de fases son separados el biogás el líquido y los sólidos. Los granos con buena capacidad de sedimentación regresan al lecho a través de la zona fluidizada, donde flóculos y bacterias dispersas son "lavadas" del reactor con el efluente.

2.5.1 Comunidad microbiana granular anaerobia

Diferentes tipos de conglomerados microbianos han sido descritos, tales como granos, *pellets*, flóculos y lodos floculentos. Sin embargo esto no es una clara distinción entre los diferentes conglomerados. Algunos autores usan las siguientes definiciones: Los *pellets* y los granos son conglomerados con una estructura densa; después de sedimentar, estos presentan una apariencia bien definida. Los flóculos y el lodo floculento son una estructura laxa, que después de sedimentar toman una forma macroscópicamente homogénea (Dolfing, 1986)

El diámetro del lodo granular varía dentro del rango de 0.14 a 5 mm, dependiendo del agua residual que tratan, las condiciones de operación y el método analítico utilizado. Así por ejemplo, los granos que se desarrollan en sustratos acidificados, tal como el acetato, son generalmente más pequeños que los granos que crecen en sustratos acidogénicos, (e. g. glucosa). La forma del grano puede variar ampliamente, pero estos tienen generalmente una forma esférica. Las velocidades de sedimentación libres se encuentran en el rango de 18 a 100 m/h, pero los valores típicos son entre 18 y 50 m/h. Menos de 20 m/h, se considera una pobre sedimentación; de 20 a 50 m/h, granos con una capacidad satisfactoria de sedimentación y más de 50 m/h, se tienen por una buena condición de sedimentación, (Schmidt y Ahring, 1996).

La materia inorgánica, o las cenizas de los granos, varía del 10 al 90% del peso seco del grano dependiendo de la composición del agua residual, las características del proceso, etc. Sin embargo, de manera general se puede decir que los granos que crecen en aguas residuales complejas tienen un menor contenido en cenizas que los que crecen en sustratos simples, (Hulshoff y Lettinga, 1986). Los principales componentes de las cenizas contenidas en granos, son el calcio, el potasio y el hierro, (Schmidt y Ahring, 1996). Algunos autores reportan que el 30% de las cenizas contenidas son sulfuro de hierro (FeS), el cual puede ser el responsable del color oscuro del grano (Dolfing, 1986).

Composición microbiana del grano

La completa degradación de la materia orgánica a CH₄ y CO₂ bajo condiciones anaerobias involucra una compleja interacción de diversos grupos bacterianos.

De manera general, la materia orgánica se degrada partiendo de las bacterias fermentativas que hidrolizan polímeros biológicos por medio de enzimas extracelulares; los oligómeros y monómeros que se forman son fermentados a acetato y otras cadenas cortas de ácidos grasos volátiles, tales como propionato y butirato. En tales condiciones metanogénicas, los ácidos grasos a su vez son oxidados a acetato, hidrogeno y bióxido de carbono por bacterias acetógenas productoras de hidrógeno. Finalmente el acetato y H₂/CO₂ son convertidos a metano por bacterias metanógenas (Hungate, 1969).

La cuenta de bacterias en un grano se ha llevado a cabo por diferentes vías; las cuentas directas típicas, dan una concentración celular $5E10$ a $1.4E12$ células/ml de grano (Schmidt y Ahring, 1996). Estas técnicas son apoyadas por métodos colorimétricos y microscopía electrónica de transmisión, resultados que no aportan información acerca de la cantidad y la actividad de los diferentes grupos tróficos en los granos. Además, la identificación de bacterias por criterios morfológicos puede no ser una herramienta válida, dado que los granos son ecosistemas complejos, Ver Figura 2.3.

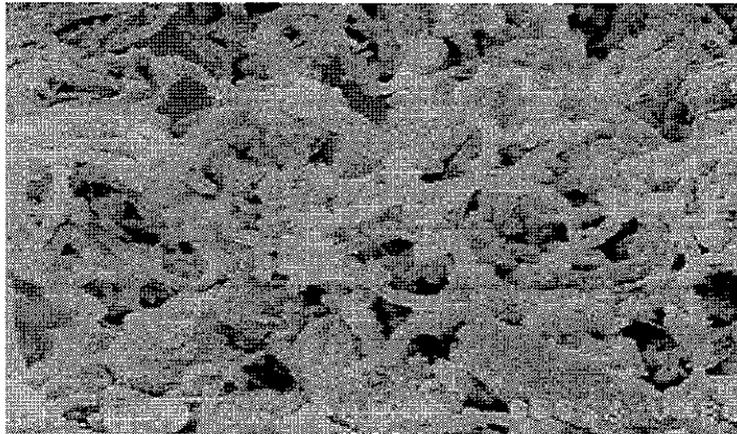


Figura 2.3 Microfotografía de un grano anaerobio por microscopía electrónica de barrido, donde se muestra la variedad en la composición microbiana.
Cortesía de A. Noyola, Instituto de Ingeniería, UNAM

La técnica conocida como Número Mas Probable (NMP) apoyada por técnicas de aislamiento (Anexo C), determina el número de bacterias que conforman los distintos grupos tróficos. En algunos estudios de NMP han sido identificados los siguientes géneros bacterianos:

Metanógenas

Methanobrevibacter spp.,

Methanospirillum spp.,

Methanosaeta spp (antes conocida como *Methanothrix spp*).

Methanosarcina spp.

Sintróficas

Syntrophobacter spp.

Syntrophomonas spp.

Pelobacter spp.

Sulfato reductoras

Desulfovibrio sp.

Desulfobulbus sp.

Las procedimientos moleculares de tipo inmunológico, tales como anticuerpos monoclonales y policlonales, o bien pruebas con ácidos nucleicos, han servido para determinar la especie de algunas bacterias que conforman el grano. Estas técnicas pueden ser aplicadas directamente a suspensiones de granos desintegrados o en granos poco densos. Estas investigaciones han servido para determinar las siguientes especies bacterianas, donde el grupo más estudiado a sido el de las bacterias metanógenas (Dolfing, 1986; Guiot, 1992; Hulshoff y Lettinga, 1986; Kosaric *et al.*, 1990; entre otros.):

Methanobacterium formicum, *Methanobrevibacter arboriphilus*,
Methanobacterium thermoautrophicum, *Methanospirillum hungatei*,
Methanobrevibacter smithii, *Methanosarcina thermophila*, *Methanosaeta concilii*,
Methanogenium marisnigri, *Methanosarcina mazei*.

También se han observado otras especies microbianas relacionadas con la degradación de ciertos sustratos (Schmidt y Ahring, 1996). Algunas de éstas son:

Bacterias relacionadas con la degradación del etanol:

Pelobacter carbinolicus.

Bacterias relacionadas con la degradación del propionato:

Syntrophobacter wolinii.

Bacterias relacionadas con la degradación del butirato:

Syntrophomonas wolfei.

Bacterias relacionadas con la deoloración anaerobia:

Desulfomonile tiedjei.

Asimismo, con ayuda de tecnología moderna, se ha observado que *Methanosaeta* y *Methanosarcina*, tienen un papel importante en la formación del grano. Ambos grupos son bacterias metanogénicas acetoclásticas; *Methanosaeta* usualmente crece en largos agregados de 1 a 3 μm de diámetro; estos agregados consisten en grandes números de células individuales rodeadas por una pared gruesa. Los sustratos de estas bacterias suelen ser acetato, metanol, metilaminas y algunas veces H_2/CO_2 (Schmidt y Ahring, 1996). *Methanosarcina* es fácilmente observada en el microscopio debido a su morfología característica y a que posee el cofactor fluorescente F_{420} . *Methanosaeta* es un organismo filamentoso que solo crece con acetato, y tiene una cinética de crecimiento menor a *Methanosarcina*. *Methanosaeta* también posee una morfología característica pero tiene bajos niveles del cofactor F_{450} , por lo que se dificulta su determinación.

Dolfing (1986), indica que en conteos directos microscópicos que realizó sobre lodo metanogénico granular, del 40 al 50% de la población microbiana pertenecen a los géneros *Methanosaeta* y *Methanosarcina*. Sin embargo, en la composición microbiana, no se ha detectado uniformidad en muestras de lodo granular de distinta procedencia, pero sí se ha observado que en todas las muestras analizadas se presentan organismos del género *Methanosaeta*. Por ello, se propone que estas bacterias son un componente esencial para la formación del grano.

Estructura del grano

Dolfing *et al.*, (1985) afirman, tomando como base estudios hechos con microscopía electrónica de transmisión, que los organismos se encuentran distribuidos al azar dentro del grano y por lo tanto no se puede observar una organización interna que sea repetitiva.

En el mismo sentido, Dubourgier *et al.* (1988) encontraron que los agregados microbianos son heterogéneos al observar microflóculos con un intervalo de diámetro de grano de 10 a 50 μm , formados por bacterias del género *Methanosaeta* bordeados por colonias de cocos y bacilos. Estos microflóculos se presentan en todos los digestores anaerobios y su formación en los reactores UASB se debe a los filamentos producidos por las bacterias *Methanosaeta*. Dichos filamentos forman puentes entre los microflóculos, lo que da como resultado la formación de flóculos con diámetros mayores a 200 μm , en los que se aprecia un gran número de microcolonias embebidas en una matriz exopolimérica. En la parte superficial de varios granos es posible observar túneles que presumiblemente son útiles para la transferencia de sustrato (Guiot, 1992). Ver Figura 2.4.

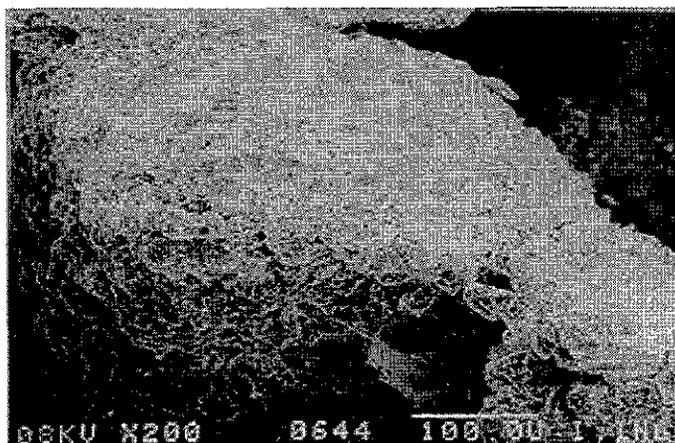


Figura 2.4 Superficie de un grano mostrando las cavidades.
Cortesía de A. Noyola, Instituto de Ingeniería, UNAM

Por otra parte, Guiot *et al.* (1992a) proponen el "Modelo Multicapas", en el cual se considera a los granos como consorcios concéntricos que poseen una estructura bien definida. Mediante diversos experimentos, al nivel de laboratorio, con reactores UASB en condiciones mesófilas alimentados con sacarosa, se observó que los granos obtenidos mostraban una estructura formada por tres capas, cada una de las cuales poseía morfotipos bacterianos distintivos. Ver Figura 2.5.

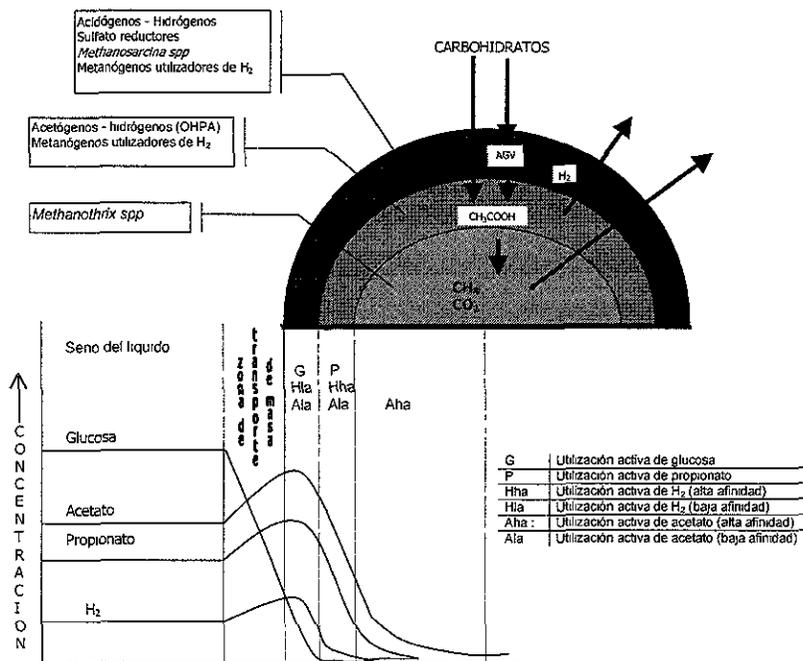


Figura 2.5 Modelo estructurado en Multicapas (Guiot, et al., 1992)

En este modelo, la *capa interna*, que es el centro del gránulo, está formada por bacilos que poseen flagelos terminales, de la misma forma y tamaño que los descritos para especies de *Methanosaeta*. La *capa media*, está constituida por bacilos y cocos; de acuerdo a distintas observaciones, los bacilos se asemejan a las especies de *Methanobrevibacter* descritas por Dubourgier et al. (1988). La *capa externa*, contiene una mayor diversidad de microorganismos e incluye organismos acidógenos y sulfatorreductores, así como organismos tipo *Methanococcales* y filamentos tipo *Methanospirillum*.

Sin embargo, al analizar y comparar las muestras de distintos lodos granulares de diferente procedencias, muestran que existe una gran variedad en la estructura física del gránulo, por lo que no se puede generalizar un modelo estructural único (Alibhai y Forster 1988).

Exopolímeros del gránulo

Los exopolímeros celulares (EPC) bacterianos son estructuras de origen bacteriano, que en las células Gram negativas están constituidos principalmente de polisacáridos, y en el caso de las Gram positivas, primordialmente de peptidoglicanos (Ondarza, 1988). Los EPC pueden estar hechos de desechos orgánicos, células lisadas y otros materiales orgánicos excretados por la célula; estos contienen polímeros de sacáridos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. (Ver Anexo 2).

Diversas investigaciones muestran que las bacterias en los granos están rodeados de EPC, por lo que Guiot (1993), indica que la formación de granos está correlacionado con la producción de EPC. Este mismo autor además añade que el principal factor biológico para la agregación y adhesión en los consorcios bacterianos, es la producción de EPC. La composición química de éstos puede consistir en homopolímeros, o bien, una compleja variedad de heteropolímeros (monosacáridos, hexosas neutrales, 6-desoxihexosas, polioles, ácidos urónicos, ácidos hialurónicos y aminoazúcares). La mayor parte de los EPC alcanzan altos pesos moleculares ($PM > 10\ 000$) (Foster, 1982).

De acuerdo con los resultados de Ross (1994), los EPC de los granos anaerobios conforman el 4% del total del peso seco, estos contienen polisacáridos ácidos y son de naturaleza aniónica, la cual determina la carga de la superficie del lodo, siendo esta negativa (-10 mV a -20 mV) (Horan *et al.*, 1986). El mayor constituyente en los polímeros celulares es de naturaleza protéica (Morgan *et al.*, 1990), restringiéndose la producción de exopolisacáridos a las bacterias metanógenas.

El contenido de EPC en granos se encuentra entre 0.6 y 20% de SSV dependiendo del lodo granular examinado, la extracción y el método analítico aplicado (Schmidt y Ahring, 1996). Los EPC de los granos consisten principalmente de proteínas y polisacáridos, típicamente en proporciones entre 2:1 y 6:1; también se han encontrado lípidos en 0.02 y 0.05% de SSV (Foster, 1982). La composición de EPC afecta las propiedades en la superficie de la bacteria y las propiedades físicas del grano, así como la porosidad de la matriz de los EPC afecta la actividad celular a través de la regulación a la transferencia del sustrato y el transporte del biogás (Moreno, 1994).

La producción de biomasa excedente de los tratamientos anaerobios de aguas residuales, suele constituir un problema en cuanto a su tratamiento y disposición. Las características de la estructura del lodo granular anaerobio procedente de un reactor tipo UASB, así como las características físicas y químicas peculiares de la matriz de EPC, estimulan el estudio de todo este conjunto de cualidades para utilizar los granos como material biosorbente de elementos no deseados en los cuerpos de agua, y convertir este residuo del tratamiento de aguas residuales en un subproducto susceptible de ser aplicado en la biorremediación de ambientes afectados por compuestos tóxicos. En este sentido, la investigación y el desarrollo de tecnologías que sean capaces de remover compuestos tóxicos, reutilizando dichos granos, se abre como un tema de oportunidad.

CAPITULO 3

METODOLOGÍA

*"Concern for man himself and his fate must always form
the chief interest of all technical endeavour.
Never forget this in the midst of your diagrams and equations."*

A. Einstein.

El presente trabajo, se condujo como un estudio comparativo entre el comportamiento de biosorción de dos lotes de biomasa granular anaerobia, procedentes de la purga de dos distintos reactores tipo UASB. Los compuestos tóxicos en solución por biosorber fueron: el fenol; el 2,4,6 - triclorofenol; el plomo II y el cromo III.

La selección de los lotes de biomasa se dio en razón de su disponibilidad y de la abundancia de exopolímeros celulares (EPC) que contiene el grano. Por lo que se realizó un análisis de diversas muestras de biomasa granular de distintas procedencias, para determinar su concentración de exopolímeros celulares totales (carbohidratos, proteínas y/o lípidos), técnica que se encuentra descrita en el Anexo C.

Las fases experimentales fueron divididas en tres etapas.

3.1 Lotes de biomasa: preservación y caracterización

Una vez seleccionados los dos lotes de biomasa granular anaerobia, fueron tratados por separado y de manera similar.

Los lodos se tamizaron a través de una malla de abertura de 0.6 mm de diámetro, desechando en lo posible la biomasa floculenta (agregada de forma laxa) y la materia no digerida, obteniendo así granos de tamaño uniforme.

Posteriormente los granos tamizados fueron resuspendidos en una solución isotónica, la solución fisiológica de Ringer (Holtzman y Novikoff, 1988), preparada con NaCl al 0.9% con el objeto de mantener a los granos en un medio osmóticamente estable, que les permitiera, en lo posible, mantener su morfología.

La caracterización de cada lote de biomasa granular anaerobia, antes de iniciadas las pruebas de biosorción, consistió en los siguientes análisis, los cuales son descritos en el Anexo C:

- Determinación de sólidos (ST, SV, y SF).
- Índice de volumen de lodos (IVL).
- Velocidad de sedimentación.
- Actividad metanógena al ácido acético.
- Numeración de grupos tróficos bacterianos por la técnica de número más probable (NMP).
- Detección de los metales Pb y Cr, por digestión total de una muestra de biomasa seguida de espectrofotometría de absorción atómica.
- Detección de fenol (fenol y/o 2,4,6 - triclorofenol), por digestión total de una muestra de biomasa, seguida de una técnica colorimétrica basada en la reacción del fenol con la 4 - aminoantipirina.

3.2 Selección y caracterización de los lotes de biomasa granular anaerobia

Para llevar a cabo los experimentos de biosorción, inicialmente se contó con 4 diferentes lotes de biomasa obtenidos de la purga de distintos reactores tipo UASB. El primer lote operaba con agua de una industria papelera nacional, otro con agua de la industria cervecera, un tercer lote operaba con agua procedente de un complejo industrial y por último biomasa granular obtenida de un UASB que trata agua residual de una industria papelera ubicada en Canadá.

Para cada uno de estos cuatro lotes de biomasa, se realizó la extracción térmica de EPC de las bacterias que conforman el grano, para así poder elegir aquellos 2 lotes con mayor abundancia en EPC, y con éstos realizar los experimentos de biosorción. Sin embargo, la normalización de la técnica de extracción de EPC no fue satisfactoria para los lotes de biomasa procedentes de la industria papelera ni para la del reactor que operaba en Canadá, pues los resultados obtenidos presentan una gran variación; probablemente tal dispersión de los datos se deba a las características físicas de la biomasa, donde se observó que el factor común de estos dos lotes era la presencia de granos laxos.

Por lo anterior, los lotes analizados de biomasa seleccionados, fueron los procedentes del reactor que operaba con residuos de la industria cervecera, en el proceso de malta, reactor ubicado en Grajales, Puebla (*lote 1*); y del reactor alimentado con agua residual compuesta, con fuerte proporción de efluente cervecero, procedente del complejo industrial en Monterrey, Nuevo León (*lote 2*).

3.3 Experimentos de biosorción

Los experimentos de biosorción parten del principio de que el contacto entre la biomasa microbiana anaerobia y la sustancia que contiene los elementos a sorber, alcanzan el equilibrio (sorción - desorción) a una cierta temperatura establecida. En este punto una cantidad determinada del sorbato es secuestrada por el sorbente estableciéndose el equilibrio con la cantidad remanente en la solución, conocida como la solución residual, final o concentración en equilibrio (C_f) de los compuestos de interés.

Los experimentos de biosorción se realizaron en lote (*batch*), como lo muestra la Figura 3.1, con pruebas por triplicado en botellas serológicas de 150 ml a las que se le adicionaron 21 ml de biomasa (M) a una concentración de sólidos previamente determinada. A la biomasa granular se le extrajo la mayor cantidad de agua posible utilizando un filtro de fibra de vidrio (GF-A) para evitar efectos de dilución en la prueba. A las botellas serológicas con la biomasa se les adicionaron 100 ml (V) de la solución problema de las diferentes concentraciones iniciales (C_i) de los sorbatos (Pb, Cr, y fenoles). Los controles que se establecieron contenían solo solución problema pero ausencia de biomasa, y fueron manejados de manera idéntica a las demás muestras, para así poder medir posibles sorciones no debidas a la comunidad microbiana anaerobia.

Todas las botellas serológicas, la biomasa y las soluciones problema, fueron colocadas por separado cuatro horas antes de iniciadas las pruebas en una cámara con temperatura constante a 30° C; y se agitó a 120 r.p.m. la cual no dañó los granos y aseguró un adecuado contacto con la solución. La velocidad elegida, se determinó después de probar distintas velocidades de agitación, como se presenta en el siguiente capítulo.

La C_f se obtuvo tomando una muestra de la solución separándola por filtración de la fase sólida a distintos tiempos (0.0, 0.25, 2 y 24 horas), para su posterior análisis. El muestreo en el tiempo para los experimentos de biosorción, se usó para establecer el tiempo en que se alcanza el equilibrio. Se asumió que la C_i era el resultado del análisis de la muestra tomada al tiempo 0.0 de iniciada la prueba. La captura del sorbato (q o x/m ; en mg de sorbato por g de biomasa), se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula (Castellan, 1985):

$$q = \frac{V(C_i - C_f)}{M}$$

Donde:

q = adsorbato adsorbido por unidad de biomasa.

V = volumen de solución problema.

C_i = concentración inicial.

C_f = concentración final.

M = cantidad de biomasa

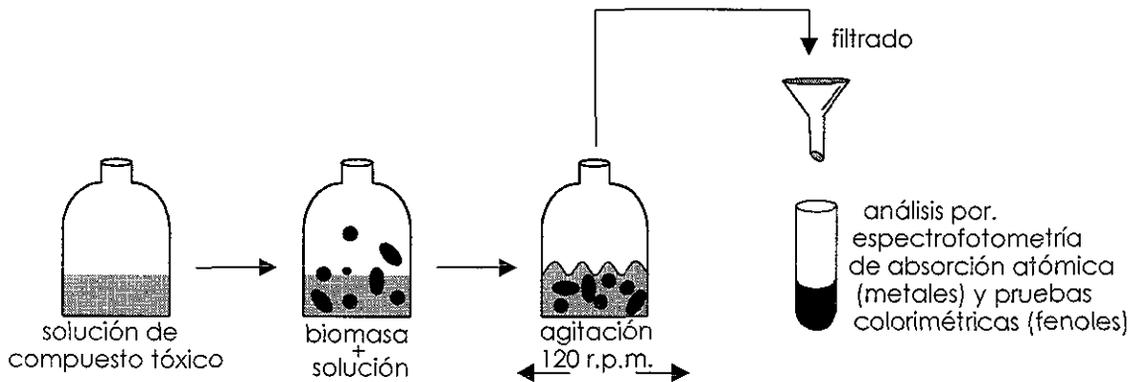


Figura 3.1 Experimentos de biosorción

3.3.1 Experimentos de biosorción de fenoles

Los compuestos fenólicos que se analizaron fueron el fenol y el 2,4,6-triclorofenol, debido a sus efectos, toxicidad y destino en el ambiente.

Los fenoles residuales tienen diferentes alternativas de tratamiento, de acuerdo con la concentración de fenol en el agua residual. Las concentraciones intermedias que contienen el intervalo de 5 a 500 mg/l de fenol, son las que Patterson (1985) recomienda para ser tratadas ya sea con procesos biológicos, con carbón activado, y/o por oxidación química, entre otros métodos.

Por lo anterior, las C_i analizadas en las pruebas de biosorción con fenol, son concentraciones intermedias, permitiéndose analizar el comportamiento de la biosorción, con otros métodos tradicionales. Con este planteamiento se llegó a las siguientes concentraciones iniciales de fenoles, eligiéndose una concentración mayor a 500 mg/l para evaluar sus posibles efectos:

-	Fenol	50 mg/l	100 mg/l	200 mg/l	300 mg/l	500 mg/l	1000 mg/l
---	-------	---------	----------	----------	----------	----------	-----------

Debido a los fuertes efectos tóxicos del triclorofenol, para las pruebas de biosorción se eligieron C_i menores a las elegidas para el fenol. Las concentraciones partieron de 0.5 mg/l, porque las normas que regulan las descargas industriales de agua residual, como la que establece límites de las aguas provenientes de la refinación de petróleo y petroquímica, indican dicho valor como máximo permitido en las descargas. Los otros valores se calcularon con la función $f(x)=5x$, siendo x la concentración anterior probada, para obtener un espectro de C_i ,

Triclorofenol	0.5 mg/l	2.5 mg/l	12.5 mg/l	62 mg/l	312 mg/l	650 mg/l
---------------	----------	----------	-----------	---------	----------	----------

Determinación de fenoles en solución

Con una pipeta se obtuvieron 10 ml de solución de las botellas prueba, en los horarios determinados. Posteriormente la muestra se filtró con filtros GF-A, desechando los primeros mililitros, para llevar así el filtro al equilibrio. Las soluciones filtradas y debidamente etiquetadas se almacenaron a 10°C para su posterior análisis en un tiempo no mayor de 24 horas.

La técnica que se utilizó para determinar la concentración de fenoles en solución es de acuerdo con el *Standard Methods* (APHA, 1989; Anexo C). Dicha técnica colorimétrica, basada en la 4-aminoantipirina, se realizó en un espectrofotómetro tipo HACH número 3020, con el cual se habían elaborado previamente las curvas de calibración con soluciones de concentraciones conocidas de fenol y triclorofenol respectivamente. Para todas las diluciones necesarias se utilizó agua destilada.

3.3.2 Experimentos de biosorción de plomo y cromo

Las pruebas de biosorción para los metales plomo y cromo, fueron obtenidas de las sales $Pb(NO_3)_2$, para obtener Pb II en solución y $Cr(NO_3)_3$, para obtener Cr III en solución.

Las descargas máximas permisibles de plomo y cromo en aguas residuales es de 0.5 mg/l para el plomo y de 1 mg/l para el cromo (NOM 001 ECOL – 1996), por lo que las C_i partieron de estas concentraciones. La selección de las distintas concentraciones se realizó de manera similar a las concentraciones de triclorofenol, obteniéndose los siguientes valores en solución de éstos metales.

Pb II	0.5 mg/l,	2.5 mg/l,	12.5 mg/l,	62 mg/l,	312 mg/l,	650 mg/l
Cr III	1 mg/l,	5 mg/l,	25 mg/l,	125 mg/l,	625 mg/l	

Particularidades de las pruebas de biosorción de metales

Debido a la tendencia de los metales de formar hidroxicomplejos a un pH cercano al neutro, se prepararon las soluciones con agua destilada acidificada con ácido nítrico 0.1 M, a un pH de 4, donde las especies metálicas predominantes son las iónicas, tanto para el plomo como para el cromo (Perry y Chilton, 1982). Sin embargo, la biomasa produce un medio neutro (capacidad *buffer*), por lo que al entrar en contacto la biomasa y la solución se forman complejos metálicos que precipitan. Para resolver este inconveniente en el momento de tomar la muestra en los horarios determinados, se vaciaron las botellas serológicas en un recipiente, reteniendo la biomasa con el metal sorbido, en una malla con una abertura de 0.6 mm de diámetro que permitió el libre paso de los precipitados metálicos. La muestra fue tomada una vez que se le adicionaron 0.5 ml de ácido nítrico concentrado, para obtener predominantemente el metal en forma iónica y se agitó la solución para obtener una muestra homogénea.

3.4 Análisis de los datos y cuantificación de la biosorción

De las lecturas del espectrofotómetro de absorción se obtuvieron resultados por triplicado, por lo que se calculó un valor único para cada concentración probada a través de obtener el valor promedio de las repeticiones. Posteriormente se calculó la masa de compuesto tóxico sorbido por unidad de masa de la biomasa para obtener el valor de q o X/M , según el apartado 3.3

Para el presente trabajo se utilizó el modelo matemático de Freundlich (Ver Anexo A), el cual describe a través de las isothermas el fenómeno de la adsorción, seleccionándose porque para representar la biosorción de la biomasa granular anaerobia a los diferentes sorbatos, este modelo describe de manera general a la adsorción (monocapa \forall multicapa; intercambiable \forall fijo), siendo de esta manera un modelo versátil que puede representar de mejor manera a todos los factores que intervienen en la biosorción. Las isothermas se construyeron con el siguiente modelo:

$$q = KC_e^{1/n}$$

donde:

- q = Adsorbato adsorbido por unidad de adsorbente-
- C_e = Concentración en equilibrio.
- K = Constante de capacidad de adsorción
- $1/n$ Constante de fuerza de adsorción

linealizada:

$$\ln q = \ln k + \frac{1}{n} \ln C_e$$

donde:

$\ln K$ = Ordenada al origen.
 $1/n$ = Pendiente

Para hacer las comparaciones entre los resultados obtenidos en el establecimiento del equilibrio de los distintos horarios analizados, se realizó una prueba de "t de Students", determinando si existen diferencias significativas entre un grupo y otro. En dicha prueba se empleo un nivel de significancia de 0.05.

3.5 Especiación del plomo y cromo sorbidos en la biomasa

La especiación de metales, según Stover *et al.* (1976), aporta datos importantes para poder calcular la cantidad y la forma de los metales retenidos en lodos resultantes del tratamiento de aguas residuales. Dicha técnica, descrita en detalle en el Anexo C, utiliza distintos reactivos como ácidos, bases, sales y agentes quelantes para poder extraer los metales de la biomasa, separándolos en un proceso secuencial, que incluye a aquellos metales que se encuentran unidos como fracciones intercambiables, adsorbibles, enlazados a grupos orgánicos y precipitados como carbonatos y sulfuros, siendo los principales mecanismos el intercambio iónico, la sorción, la quelación y la precipitación.

De esta manera, es posible obtener datos de la forma en que quedan retenidos los metales Pb y Cr en la comunidad microbiana granular anaerobia al llevarse a cabo el fenómeno de la biosorción. Para ello se seleccionó una concentración de cada metal siendo el valor intermedio de 62 mg/l, y se realizó una prueba de biosorción, tal y como se describe en el apartado 3.2. Una vez alcanzado el equilibrio se separaron las fases sólido y líquido y se realizó la técnica de especiación de metales sobre la biomasa sorbente. Asimismo, se realizó una digestión total de una muestra de biomasa granular después de estar en contacto con la solución en las condiciones establecidas hasta alcanzar el equilibrio.

CAPITULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la investigación, silencia cosas, porque reducen las esperanzas; lo mas profundo de la naturaleza, por superstición; la luz de la experiencia a la opinión del vulgo. Son pues innumerables los caminos, y a veces imperceptibles, en que los afectos colorean e infectan la comprensión."

Francis Bacon

4.1 Caracterización de los lotes de biomasa granular anaerobia

La biomasa granular anaerobia procedente de la industria cervecera (Lote 1) y la biomasa granular que operaba tratando agua residual compuesta industrial (Lote 2), fueron los lotes seleccionados para realizar las pruebas de biosorción, debido a que en las pruebas de estandarización de las técnicas (Ver apartado 3.2), ambos lotes reportaron resultados estables. Por lo anterior, se procedió a realizar las pruebas experimentales con estos lotes.

Los resultados de la extracción térmica de EPC (Tabla 4.1), indicaron una mayor presencia de EPC por peso seco en el lote 1, encontrándose ambos lotes por abajo del intervalo esperado para la biomasa granular (200-300 mg EPC / g SV), según lo reporta Kosaric *et al.* (1993).

Tabla 4.1 Resultados de extracción de EPC

lote 1			lote 2		
135.9	mg de	EPC/g de ST	75.9	mg de	EPC/g de ST
177.4	mg de	EPC/g de SV	85	mg de	EPC/g de SV
13.6	% de	EPC en peso seco	7.6	% de	EPC en peso seco

El lote 1 se distingue sobre el lote 2 por sus granos bien definidos cuyo diámetro va desde 1 a 3 mm, mientras que para el lote 2 la forma del grano es mas bien variable. La mayor presencia de exopolímeros en el lote 1, puede ofrecer una mejor matriz donde se embeben los diferentes grupos bacterianos.

La caracterización de la biomasa consistió en determinar parámetros tanto físicos como microbiológicos (Tabla 4.2). En estos resultados se observa una mayor fracción de materia orgánica en el lote 2, al presentar mayor cantidad de Sólidos Volátiles. Dicha materia

orgánica no necesariamente representa la biomasa de los grupos bacterianos, pues también presenta pajillas y otros residuos que pudieran encontrarse en el caudal de agua con los que se alimentaba el reactor. Por otro lado los resultados obtenidos de las pruebas de Índice Volumétrico de Lodos (IVL) y Velocidad de Sedimentación son similares (Ver Anexo C), siendo para ambos lotes una baja velocidad de sedimentación, pudiendo ser a causa de la interferencia que sufren los granos durante su sedimentación, al no ser una sedimentación libre o de partículas discretas.

Tabla 4.2 Caracterización de los 2 lotes de biomasa granular seleccionados

parametros	lote 1	Lote 2
• Sólidos Totales	68.5 g/l (100 %)	65.9 g/l (100 %)
• Sólidos Fijos	17.3 g/l (25 %)	7.0 g/l (11 %)
• Sólidos Volátiles	51.2 g/l (75 %)	58.9 g/l (89 %)
• IVL	13.8 ml/g ST	15.2 ml/g ST
• Vel. de Sedimentación	18.5 m/h	18.1 m/h
• Actividad Metanógena	0.6 g CH ₄ - DQO/g SSV • d	0.3 g CH ₄ - DQO/g SSV • d
NMP:		
Fermentativas	2.62E10	3.97E7
Metanógenas Hidrogenófilas	2.16E4	1.85E4
Metanógenas Acetoclásticas	1.23E4	6.61E4
OPHA _B	5.40E5	4.63E6
OPHA _P	3.86E5	1.05E5
Sulfato Reductoras	2.62E8	6.61E6

NMP: Número Más Probable por gramo de Sólido Suspendido Volátil (SSV) de 6 grupos tróficos bacterianos.

OPHA_B: Acetógenas obligadas a producir H⁺ a partir de butirato;

OPHA_P: Acetógenas obligadas a producir H⁺ a partir de propiónico

La actividad metanógena se aprecia diferente en ambos lotes, presentando el lote 1 mayor producción de gas metano. Se considera que un lodo granular es altamente activo cuando alcanza una actividad específica de 1 g CH₄ - DQO /g SSV • d. (gramo de gas metano - Demanda Química de Oxígeno / gramo de sólido suspendido volátil por día, unidad para calcular la producción de metano por lote de biomasa microbiana) Sin embargo, aunque las actividades de ambos lotes están por debajo de 1, éstos en la práctica operan satisfactoriamente en sus correspondientes reactores UASB, en la degradación de la materia orgánica (Noyola, comunicación personal).

Los datos obtenidos con la técnica del NMP, muestran mayor abundancia de células fermentativas en el lote 1. Las bacterias fermentativas principalmente hidrolizan oligómeros y monómeros fermentándolos a acetatos y otros ácidos grasos. Así también el lote 1 presenta un mayor número de bacterias sulfatorreductoras (SR). El hecho de la mayor abundancia de bacterias SR en el lote 1, resulta de interés para la biosorción, ya que este tipo de bacterias, en condiciones anaerobias reducen sulfato (SO₄)²⁻ hasta iones de sulfuro (S²⁻), los cuales pueden formar fácilmente ligandos con metales pesados para formar sulfuros metálicos y precipitarlos. En el resto de los grupos bacterianos que conforman el grano, existen algunas diferencias de número, sin embargo el orden de magnitud de las cantidades, es el mismo.

4.2 Velocidad de agitación

Las pruebas de biosorción se realizaron agregando 21 ml de biomasa con 100 ml de agua destilada en condiciones controladas de temperatura (30° C) y a una velocidad de agitación de 80, 100, 110, 120, y 130 r.p.m., por un tiempo de 24 horas dentro de botellas serológicas de 150 ml selladas con tapón de goma, las cuales fueron colocadas de forma horizontal en la plancha agitadora para que asegure el contacto entre el biosorbente y el biosorbato.

La velocidad de 120 r.p.m. se seleccionó para realizar los experimentos de biosorción por ser la máxima velocidad que al término de la prueba mantuvo a los granos de los dos lotes, con la misma apariencia física de antes de iniciada la prueba, no observándose aumento de la turbidez en el líquido sobrenadante.

4.3 Experimentos de biosorción

Todas las pruebas de biosorción por la biomasa granular anaerobia, fueron de acuerdo a la metodología descrita en el capítulo 3. Las adecuaciones en los experimentos para cada compuesto tóxico analizado, se presentan antes de exponer sus correspondientes resultados.

4.3.1 Biosorción de fenol

Las concentraciones de fenol probadas fueron de 50, 100, 200, 300, 500 y 1000 mg/l que, de acuerdo con la metodología descrita en el apartado 3.2, se pusieron en contacto con la biomasa granular anaerobia de ambos lotes.

En la metodología se señala la necesidad de conocer el tiempo donde se establece el equilibrio, o sea, cuando la concentración final es constante, alcanzando el equilibrio entre la sorción y la desorción, siendo este el punto indicado para tomar las muestras y posteriormente analizarlas.

En el caso del fenol, en pruebas preliminares llevadas a cabo durante la normalización de la técnica, se observó que no presentaban variación en los resultados de las muestras tomadas en los distintos horarios (0.25, 2 y 24 hrs.). Por lo que los resultados fueron obtenidos del análisis de las muestras tomadas a las 2 horas de iniciadas las pruebas. Esto va en el sentido de trabajos de biosorción de fenol realizados por otros autores como Kennedy *et al.* 1992, en el que toma dicho horario por estimar que es tiempo suficiente para que se complete el fenómeno de la sorción. Además, considerando la buena actividad metanógena de los granos, la posibilidad de biodegradación de fenoles es posible (aunque no esté aclimatada la biomasa) por lo que, en el horario seleccionado para la toma de muestras, se minimiza la posibilidad de biodegradación del sorbato.

En las Tablas 4.3 para el lote 1 y 4.4 para el lote 2, se muestran las concentraciones finales alcanzadas, así como los valores de fenol biosorbido por gramo de biomasa.

Tabla 4.3 Resultados de las pruebas de biosorción de fenol en lote 1

volumen de solución utilizada (V) -ml-	biomasa utilizada (M) -mg-	concentración inicial (C _i) fenol -mg/l-	concentración final (C _f) fenol -mg/l-	masa de fenol sorbido (X) (C _i -C _f)V -mg-	masa de fenol sorbido por unidad de masa de la biomasa (X/M ó q) -mg/g-
100	1080	50	38.4	1.16	1.0741
100	1080	100	70.15	2.98	2.7593
100	1080	200	152	4.80	4.4444
100	771	300	248.24	5.17	6.7056
100	843	500	415.2	8.48	10.0593
100	843	1000	883.07	11.69	13.8671

Tabla 4.4 Resultados de las pruebas de biosorción de fenol en lote 2

volumen de solución utilizada (V) -ml-	biomasa utilizada (M) -mg-	concentración inicial (C _i) fenol -mg/l-	concentración final (C _f) fenol -mg/l-	masa de fenol sorbido (X) (C _i -C _f)V -mg-	masa de fenol sorbido por unidad de masa de la biomasa (X/M ó q) -mg/g-
100	1344	50	21.70	2.83	2.1057
100	1344	100	56.30	4.37	3.2515
100	1344	200	152.70	4.73	3.5193
100	1384	300	248.00	5.20	3.8160
100	1384	500	425.20	7.48	5.4046
100	1384	1000	917.50	8.25	5.9610

Los resultados de las pruebas con fenol en ambos lotes, se muestran graficados en las figuras 4.1 y 4.3, con sus respectivas isotermas de adsorción linearizadas por el modelo de Freundlich (Fig. 4.2 y 4.4).

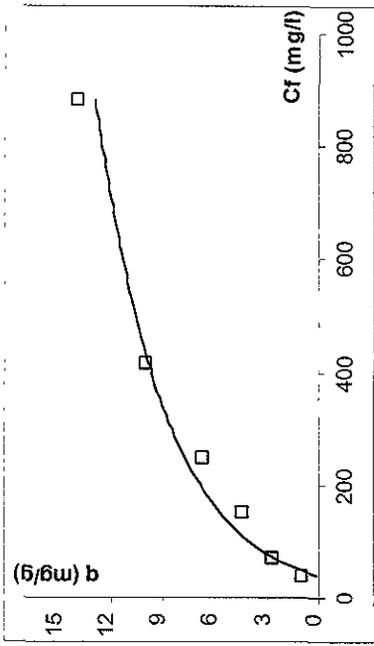


Figura 4.1 Biosorción de fenol por el lote 1

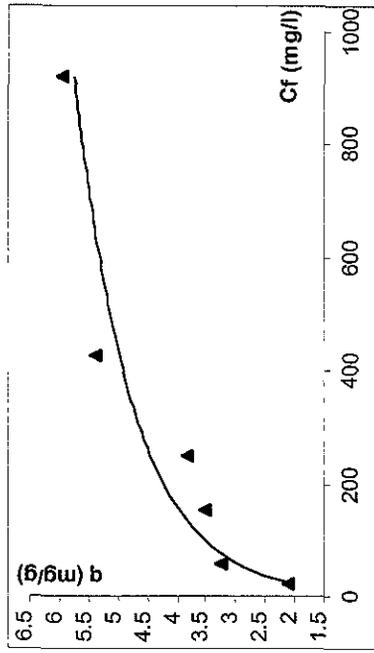


Figura 4.3 Biosorción de fenol por lote 2

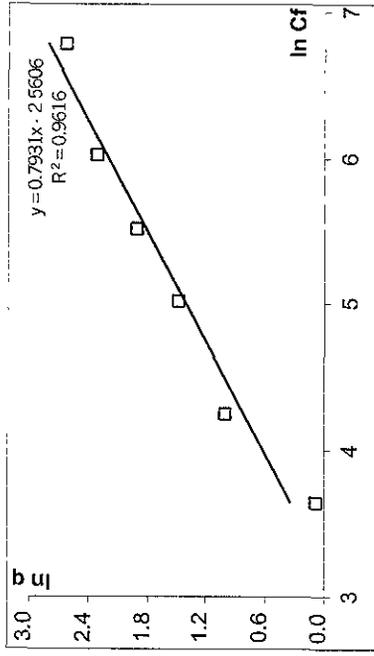


Figura 4.2 Isotherma de fenol linealizada por el método de Freundlich, lote 1

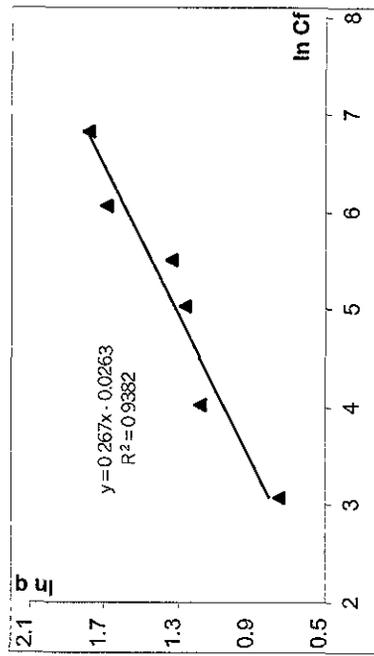


Figura 4.4 Isotherma de fenol linealizada por el modelo de Freundlich, lote 2

Las líneas de tendencia obtenidas durante la biosorción de fenol por los lotes 1 y 2 (Fig. 4.1 y 4.3) tienen la forma característica de las isotermas de adsorción al formar curvas logarítmicas cuando se construyen con base en las distintas concentraciones del tóxico en solución.

Al aplicar el modelo de Freundlich a los datos de biosorción (Fig. 4.2 y 4.4), se observa que la recta ajustada para ambos lotes (línea de tendencia), tiene un coeficiente de determinación aceptable al observarse que el valor de R^2 en ambos lotes es cercano a 1, presentándose una pendiente mayor en el lote 1.

Si se sobreponen ambas isotermas (Fig. 4.5) se puede apreciar lo siguiente:

Ambos lotes tienen la misma capacidad de biosorción (3.52 mg/g), a una concentración en equilibrio (intersección de las líneas), cuyo valor es de 123.4 mg/l.

El lote 1 tiene mayor capacidad de biosorción a altas concentraciones (hacia adelante del punto de intersección)

El lote 2 tiene una mayor capacidad de biosorción a bajas concentraciones (hacia atrás del punto de intersección).

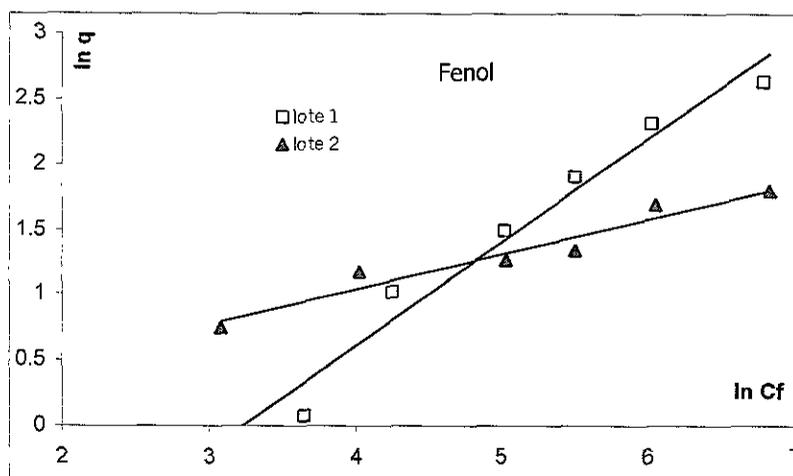


Figura 4.5 Isotermas de Freundlich para por ambos lotes. Biosorción de fenol, 30° C

Por otro lado, la linealización de las curvas experimentales, siguiendo el modelo de Freundlich permite llegar a las siguientes ecuaciones que nos ayudan a distinguir de manera matemática, las diferencias entre la capacidad de biosorción de fenol por ambos lotes. Asimismo, la ecuación resultante, nos permite calcular el comportamiento de biosorción de la biomasa granular anaerobia a distintas concentraciones de fenol requeridas.

Para el lote 1
grano de agua residual de maltería.

$$q_1 = 0.0777C_f^{1/1.26} \quad (4.1)$$

Para el lote 2
grano de agua industrial mixta.

$$q_2 = 0.974C_f^{1/3.75} \quad (4.2)$$

Se puede observar en la figura 4.6 que las ecuaciones arriba presentadas se ajustan bien a los resultados obtenidos experimentalmente.

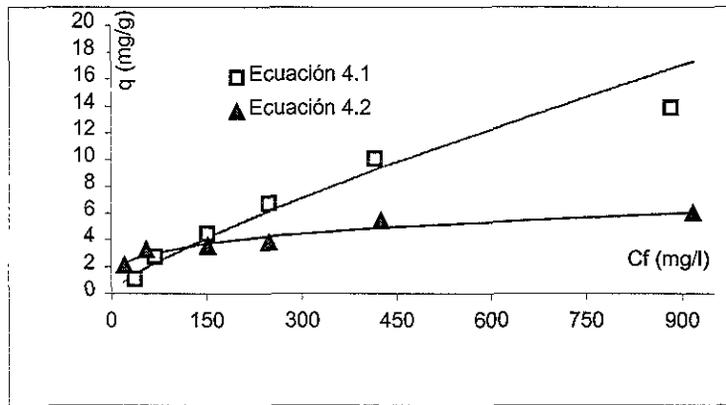


Figura 4.6 Biosorción de Fenol por ambos lotes, de acuerdo al modelo matemático de Freundlich

Por lo anterior se muestra que al menos en las concentraciones probadas, el modelo matemático puede ser utilizado para hacer los cálculos pertinentes en el fenómeno de biosorción de fenol por biomasa granular anaerobia.

4.3.2 Biosorción de 2,4,6-Triclorofenol

Las pruebas de biosorción de triclorofenol para ambos lotes de biomasa fueron realizadas según se describe en el apartado 3.2. Las concentraciones iniciales analizadas de triclorofenol fueron de 0.5, 2.5, 12.5, 62, 312 y 650 mg/l.

El establecimiento del equilibrio se realizó tomando muestras a las 0.25, 2 y 24 horas con dos concentraciones distintas (12.5 y 312 mg/l) para ambos lotes. Los resultados de las pruebas de establecimiento del equilibrio para triclorofenol se pueden ver graficados en las Figuras 4.7 y 4.8, para el lote 1 y 2 respectivamente, donde se observa que existen diferencias entre 0.25 horas y 2 y 24 horas. Sin embargo para apreciar si las diferencias son significativas entre 2 y 24 horas se realizó una prueba estadística de "t de Student", estableciéndose una comparación estadística en ambos lotes. En las Tablas 4.5 y 4.6 se presentan los datos de biosorción para cada lote en los distintos horarios.

Para el lote 1:

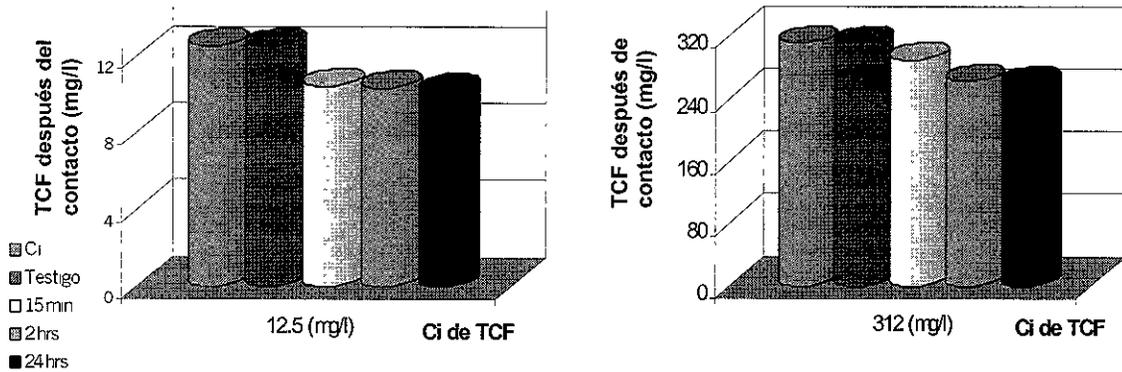


Figura 4.7 Variación de la concentración de triclorofenol respecto al tiempo para el lote 1

Para el lote 2:

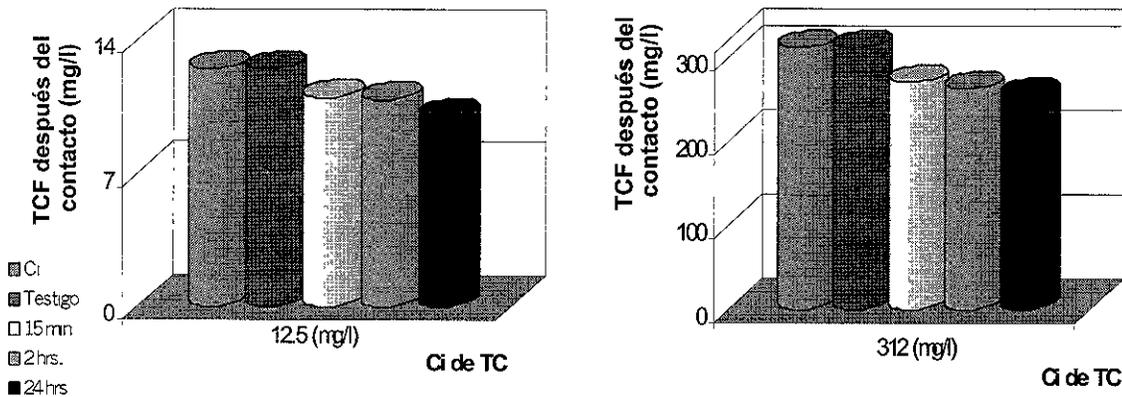


Figura 4.8 Variación de la concentración de triclorofenol respecto al tiempo para el lote 2.

Tabla 4.5 Datos de Prueba de t , triclorofenol, lote 1

horarios de muestra (hr)	Repeticiones			Σx	\bar{x}
2	10.42	10.20	10.35	262.32	73.32
24	9.26	8.97	9.37	263.72	72.83
				$\Sigma t = 584.61$	$\bar{x}_t = 73.07$

De acuerdo con los cálculos matemáticos, se obtuvo que la $t_{calculada}$ es igual a 0.00547 que resulta menor al compararla con la t_{tablas} (6, 0.05), la cual tiene un valor de 2.447 según lo indica la prueba de t ($t_{calculada} < t_{tablas}$); por lo que la hipótesis nula donde se plantea que no existen diferencias entre los grupos ($H_0: x_1 = x_2$), es aceptada.

Por lo anterior se comprueba que no existen diferencias significativas en las concentraciones finales de triclorofenol alcanzadas entre 2 y 24 horas de iniciadas las pruebas de biosorción por el lote 1.

Tabla 4.6 Datos de Prueba de *t*, triclorofenol, lote 2

horarios de muestra, (hr)	Repeticiones					Σx	\bar{x}
2	10.91	10.80	10.96	257.22	268.72	558.61	111.72
24	10.18	10.45	10.69	225.32	280.72	537.36	107.47
						$\Sigma i = 1095.97$	$X_t = 109.6$

Después de realizados los cálculos pertinentes se obtuvo que la $t_{calculada}$ es igual a 0.00728 que resulta menor al ser comparada con 2.981 que es el valor de t_{Tablas} (8, 0.05), por lo que la hipótesis planteada de no existir diferencias entre los grupos de datos analizados se acepta ($H_0; x_1 = x_2$).

Con los datos obtenidos de la prueba de "*t*" se demuestra que al menos en las concentraciones probadas (12.5 y 312 mg/l), no existen diferencias en la toma de muestra entre 2 y 24 horas de iniciadas las pruebas de biosorción para triclorofenol por el lote 2.

Asumiendo que todas las concentraciones a probar pueden tener un comportamiento similar en el establecimiento del equilibrio (sorción – desorción), se realizaron la toma de muestras de biosorción de triclorofenol, para el resto de las concentraciones, a las dos horas de iniciadas las pruebas. Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 4.7 y 4.8 para el lote 1 y lote 2 respectivamente.

Tabla 4.7 Resultados de las pruebas de biosorción de triclorofenol en lote 1

volumen de solución utilizada (V) -ml-	biomasa utilizada (M) -mg-	concentración inicial (C _i) triclorofenol -mg/l-	concentración final (C _f) triclorofenol -mg/l-	masa de triclorofenol sorbido (X) (C _i -C _f)V -mg-	masa de triclorofenol sorbido por unidad de masa de la biomasa (X/M ó q) -mg/g-
100	1080	0.5	0.48	0.0020	0.0019
100	1080	2.5	2.41	0.0090	0.0083
100	1080	12.5	10.32	0.2180	0.2019
100	843	62	52.64	0.9360	1.1103
100	843	312	262.32	4.9680	5.8932
100	843	650	589.20	6.080	7.2123

Tabla 4.8 Resultados de las pruebas de biosorción de triclorofenol en lote 2

volumen de solución utilizada (V) -ml-	biomasa utilizada (M) -mg-	concentración inicial (C _i) triclorofenol -mg/l-	concentración final (C _f) triclorofenol -mg/l-	masa de triclorofenol sorbido (X) (C _i -C _f)V -mg-	masa de triclorofenol sorbido por unidad de masa de la biomasa (X/M ó q) -mg/g-
100	1344	0.5	0.41	0.0090	0.0067
100	1344	2.5	2.46	0.0040	0.0030
100	1344	12.5	10.89	0.1610	0.1198
100	1384	62	56.88	0.5120	0.3699
100	1384	312	262.97	4.9030	3.5426
100	1384	650	596.80	5.3200	3.8439

Los resultados de las pruebas con triclorofenol en ambos lotes, se muestran graficados en las figuras 4.9 y 4.11, con sus respectivas isotermas de adsorción linealizadas por el modelo de Freundlich (Fig. 4.10 y 4.12).

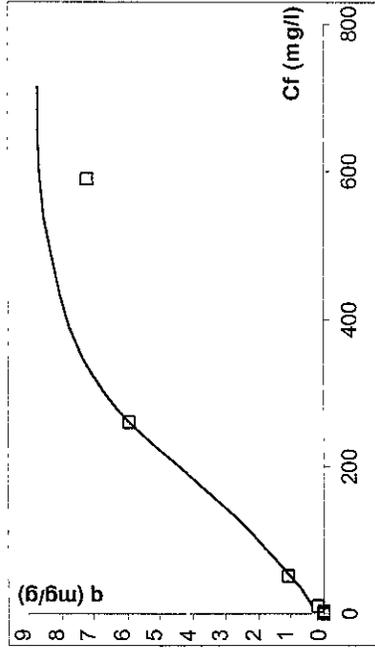


Figura 4.9 Biosorción de triclorofenol por el lote 1

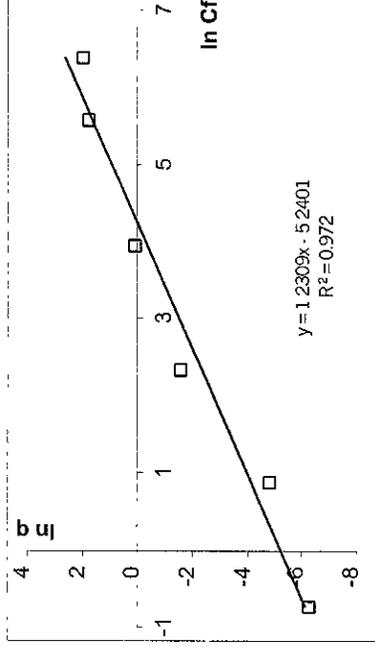


Figura 4.10 Isoterma de triclorofenol linealizada por el modelo de Freundlich, lote 1

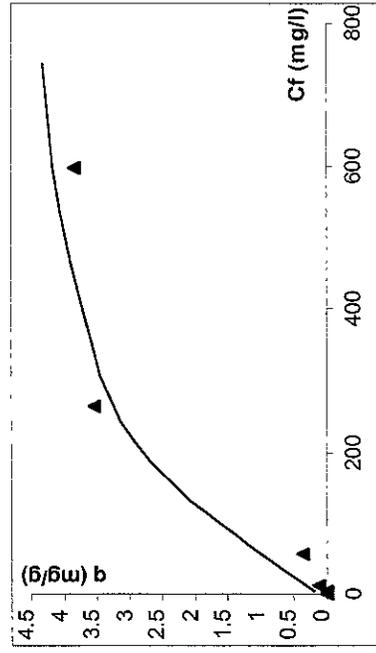


Figura 4.11 Biosorción de triclorofenol por lote 2

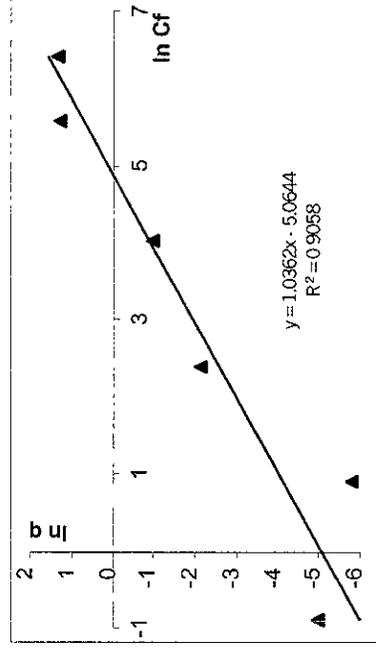


Figura 4.12 Isoterma de triclorofenol linealizada por el modelo de Freundlich, lote 2

La linealización de la curva experimental para las pruebas de biosorción de triclorofenol, para ambos lotes, presentan un coeficiente de determinación aceptable (0.9720, lote 1, fig. 4.8; y 0.9058, lote 2, fig. 4.10). Se observa un mayor grado de dispersión de los datos en el lote 2, comportamiento similar a cuando se analizó el fenol con este mismo lote.

En la figura 4.13 se presentan las isothermas de sorción para ambos lotes. En ella se distingue claramente la mayor capacidad de biosorción de triclorofenol por el lote 1. De esta figura se observa que:

Ambos lotes tienen una capacidad limitada de biosorber 2,4,6 Triclorofenol.

El lote 1 tiene mayor capacidad de biosorción en todas las concentraciones probadas.

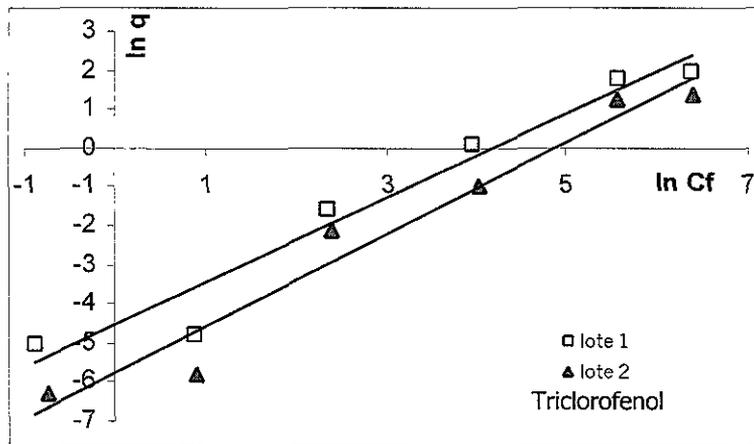


Figura 4.13 Isothermas de Freundlich para ambos lotes

Para cuantificar las diferencias se aplicó el modelo de Freundlich, la linealización de los datos experimentales, nos permite llegar a las siguientes ecuaciones de biosorción de triclorofenol:

Para el lote 1
grano de agua residual de maltería

$$q_1 = 0.0052 C_f^{1/0.812} \quad (4.3)$$

Para el lote 2
grano de agua industrial mixta

$$q_2 = 0.0063 C_f^{1/0.963} \quad (4.4)$$

Para apreciar el grado de ajuste de las ecuaciones obtenidas por medio del modelo matemático de Freundlich, se presenta la figura 4.14 donde se observan también graficados los datos experimentales de ambos lotes, para triclorofenol. En esta figura se aprecia que las curvas obtenidas a través del modelo matemático, se alejan de los datos experimentales en concentraciones mayores a 200 mg/l de triclorofenol. Dicho modelo, para las condiciones de laboratorio probadas, muestra mayor precisión a concentraciones menores a 200 mg/l.

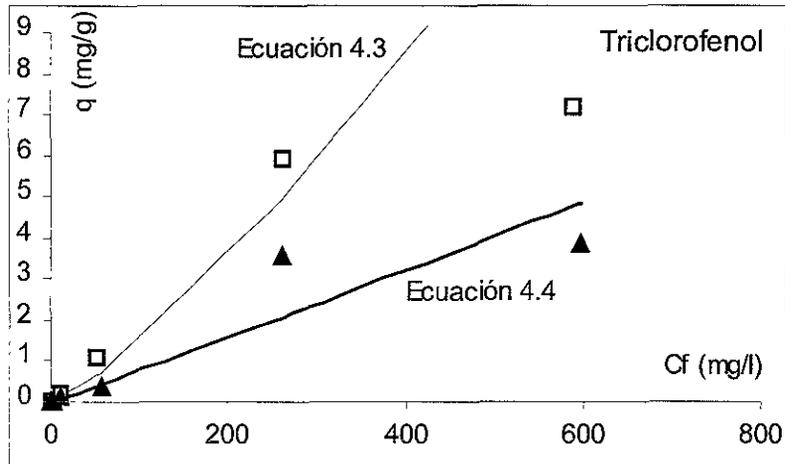


Figura. 4.14 Biosorción de Triclorofenol ambos lotes, de acuerdo al modelo matemático de Freundlich

4.3.3 Biosorción de plomo

Para establecer el tiempo en el que se establece el equilibrio de biosorción de Pb, se realizaron en el lote 1, muestreos a las 0.25, 2 y 24 horas de iniciadas las pruebas de biosorción con las concentraciones de 0.5, 2.5, 12.5, 62, 312, y 650 mg/l de Pb II.

Se encontró que la variación en la concentración de plomo disminuye de las 0.25 a las 2 horas, pero la variación es mínima entre las 2 y 24 horas, como se puede observar en los resultados graficados en la Figura 4.15. Se aplicó la prueba estadística de "t" (Tabla. 4.9), para establecer si las diferencias en las concentraciones de Pb son significativas entre los dos últimos horarios de muestreo.

Tabla 4.9 Datos de prueba de t, plomo, lote 1.

horarios de muestra, (hr)	Repeticiones						Σx	\bar{x}
2	0.5	1.54	7.49	36.82	95.33	216	357.68	59.73
24	0.5	1.49	5.72	27.78	89	208.3	332.79	55.58
							689.67	57.7

De la anterior tabla se obtiene que la $t_{calculada}$ tiene un valor de 0.0861, que resulta menor al ser comparada con la t_{Tablas} (10, 0.05) con valor de 2.228, ($t_{calculada} < t_{Tablas}$), por lo que la hipótesis nula ($H_0; x_1 = x_2$), se acepta.

De acuerdo a la prueba anterior, se confirmó que en el lote 1 las diferencias en los muestreos tomados a las 2 y 24 hrs, no son significativas en las distintas concentraciones de plomo.

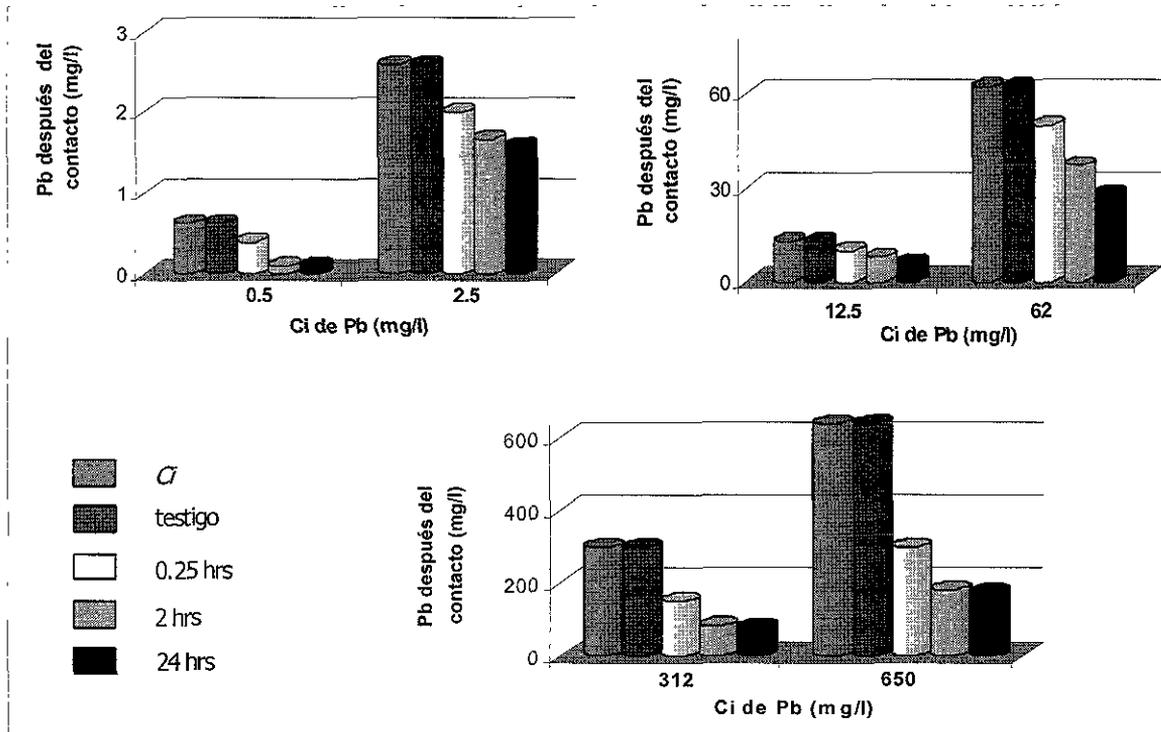


Figura 4.15 Variación de la concentración de Pb respecto al tiempo

Con base en estos resultados, tanto para el lodo 1 como para el lodo 2, se definió el tiempo de toma de muestra a las 2 horas para los experimentos de biosorción, por considerarse que en este horario de muestreo el sistema biomasa/plomo, se encuentra en equilibrio.

Tomada la muestra, se trató y analizó de acuerdo con la descripción hecha en la metodología. Los resultados de los experimentos de biosorción con Pb se muestran en la Tabla 4.10 para el lote 1 y en la Tabla 4.11 para el lote 2. En dichas tablas se presenta la concentración final alcanzada (C_f) y la cantidad de sorbato biosorbido por gramo de biomasa (X/M o bien q)

Tabla 4.10 Resultados de las pruebas de biosorción de plomo en lote 1

volumen de solución utilizada (V) -ml-	biomasa utilizada (M) -mg-	concentración inicial (C _i) plomo -mg/l-	concentración final (C _f) plomo -mg/l-	masa de plomo sorbido (X) (C _i -C _f)V -mg-	masa de plomo sorbido por unidad de masa de la biomasa (X/M ó q) -mg/g-
100	1439	0.5	0.5	0	0
100	1439	2.5	1.54	0.096	0.0667
100	1439	12.5	7.49	0.501	0.3481
100	1424	62	36.82	2.518	1.7682
100	1424	312	95.33	21.667	15.2156
100	1424	650	216.63	43.337	30.4333

Tabla 4.11 Resultados de las pruebas de biosorción de plomo en lote 2

volumen de solución utilizada (V) -ml-	biomasa utilizada (M) -mg-	concentración inicial (C _i) -mg/l-	concentración final (C _f) plomo -mg/l-	masa de plomo sorbido (X) (C _i -C _f)V -mg-	masa de plomo sorbido por unidad de masa de la biomasa (X/M ó q) -mg/g-
100	1521	0.5	0.5	0	0
100	1521	2.5	2.13	0.037	0.0243
100	1521	12.5	7.87	0.463	0.3044
100	1384	62	48.66	1.334	0.9638
100	1384	312	200.33	11.167	8.0686
100	1384	650	417.64	23.24	16.8350

Los datos experimentales graficados pueden ser observados en las figuras 4.16 y 4.18, para la biosorción de Pb por el lote 1 y por el lote 2 respectivamente. En estas figuras se inserta la línea de tendencia que describe su comportamiento.

Las figuras 4.17 y 4.19. muestran la linearización de la curva experimental por el modelo de Freundlich. Estas figuras muestran las isotermas para plomo por los dos lotes de biomasa granular anaerobia.

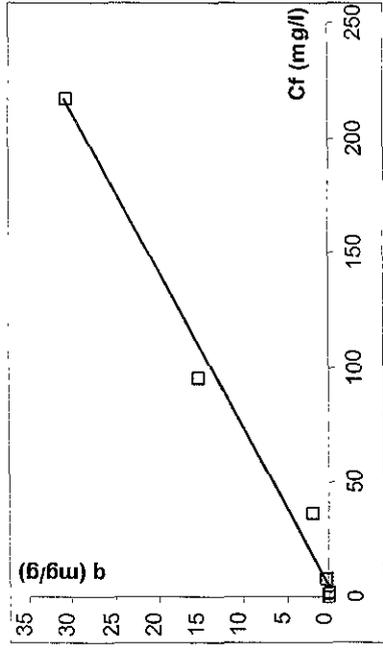


Figura 4.16 Biosorción de plomo por el lote 1

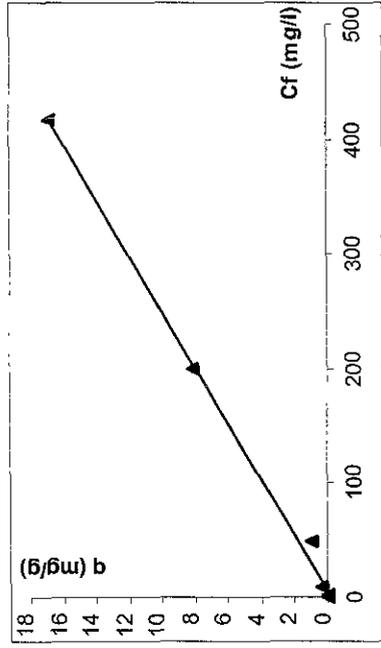


Figura 4.18 Biosorción de plomo por lote 2

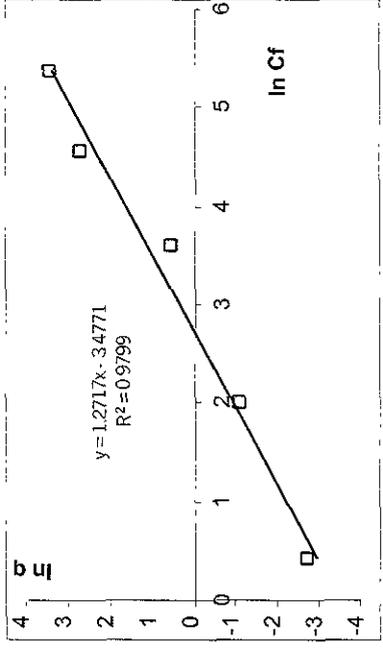


Figura 4.17 Isoforma de Pb II linealizada por el modelo de Freundlich. Lote 1.

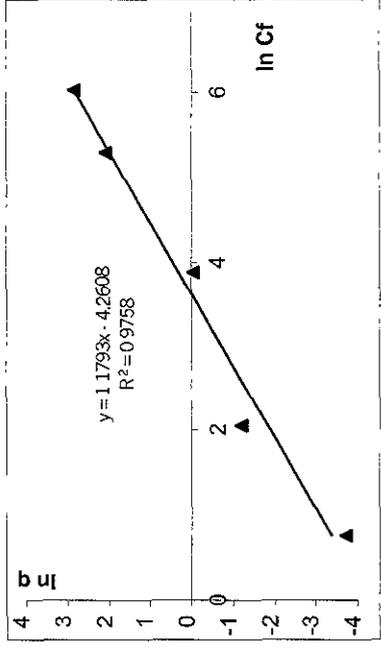


Figura 4.19 Isoforma de Pb II linealizada por el modelo de Freundlich. lote 2.

Al obtener la línea de tendencia de biosorción de Pb por ambos lotes, se observa que esta se presenta como una recta, a diferencia de los anteriores compuestos analizados los cuales describen una curva logarítmica. Esta línea recta indica la probabilidad de que la biosorción de Pb por ambos lotes, pueda llevarse a cabo satisfactoriamente a concentraciones mayores a las analizadas, al no presentarse la asíntota de la curva. Sin embargo, el intervalo de biosorción se observa limitado en concentraciones de Pb menores a 2.5 mg/l, pues al analizar la concentración de 0.5 mg/l no se removió sorbato. (Tablas 4.10 y 4.11). Este límite inferior puede comprenderse a través del estudio de la termodinámica del sistema.

La obtención de isothermas por el modelo de Freundlich (Figuras 4.17 y 4.19), se realizó descartando el primer dato, dado que se encuentra dentro del límite inferior de biosorción. En éstas gráficas se inserta la ecuación de la recta, donde se aprecia una pendiente ligeramente mayor en el lote 1 ($m_1=1.2717$ versus $m_2= 1.1793$). Asimismo como se observa en la superposición de las isothermas (Figura 4.20), el lote 1 es claramente mejor que el lote 2 como biosorbente de Pb en las concentraciones analizadas.

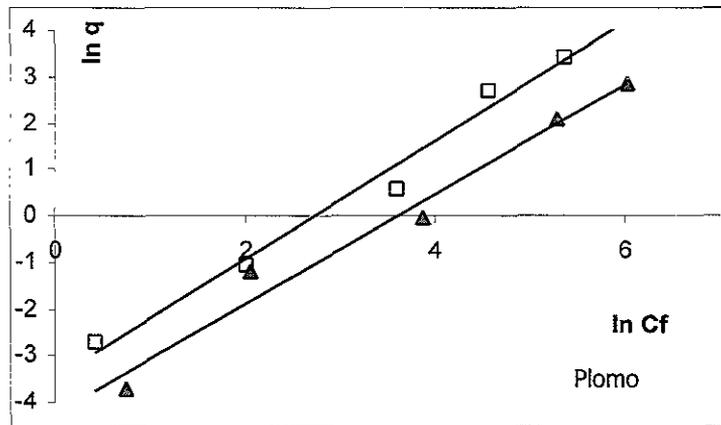


Figura 4.20 Isothermas de Freundlich para ambos lotes

Tomando la ecuación de la línea recta y realizando la correspondiente sustitución de valores en el modelo de Freundlich, se obtiene las siguientes ecuaciones que representan la biosorción de Pb por cada uno de los lotes de biomasa granular anaerobia analizados.

Para el lote 1
grano de agua residual de maltería

$$q_1 = 0.031C_f^{1/0.786} \quad (4.5)$$

Para el lote 2
grano de agua industrial mixta

$$q_2 = 0.014C_f^{1/0.848} \quad (4.6)$$

Para comparar gráficamente los resultados obtenidos experimentalmente y los derivados a partir de las ecuaciones resultantes al aplicar el modelo de Freundlich, se presenta la Figura 4.21. Se muestra que al menos en las condiciones establecidas de laboratorio, el modelo matemático representa adecuadamente el fenómeno de biosorción de plomo por biomasa granular anaerobia.

Para comparar gráficamente los resultados obtenidos experimentalmente y los derivados a partir de las ecuaciones resultantes al aplicar el modelo de Freundlich, se presenta la Figura 4.21. Se muestra que al menos en las condiciones establecidas de laboratorio, el modelo matemático representa adecuadamente el fenómeno de biosorción de plomo por biomasa granular anaerobia.

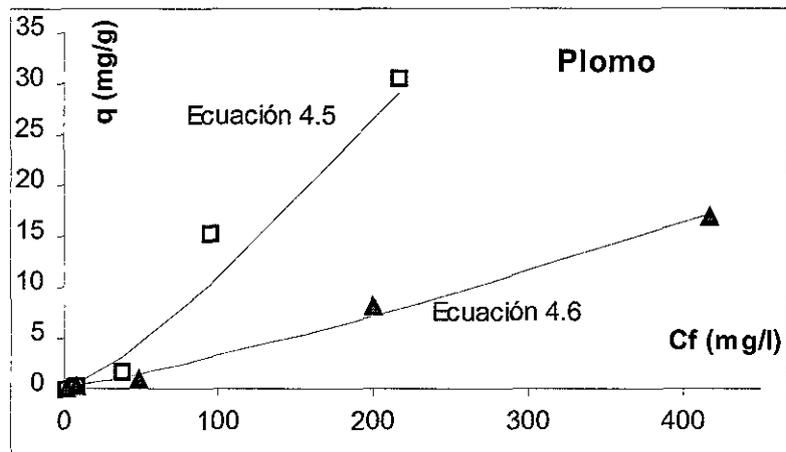


Figura. 4.26 Biosorción de Plomo ambos lotes, de acuerdo a las ecuaciones resultantes.

4.3.4 Biosorción de cromo

Las pruebas de biosorción de cromo se realizaron para las concentraciones de 1, 5, 25, 125, 625 y 1562 mg/l de Cr III, estas soluciones se pusieron en contacto con los dos lotes de biomasa granular anaerobia. La determinación del tiempo de establecimiento del equilibrio, se realizó tomando muestras de la solución en los distintos horarios propuestos en la metodología. Los resultados del análisis de estas muestras se pueden apreciar graficados en la Figura 4.22 para el lote 1 y Figura 4.23 para el lote 2.

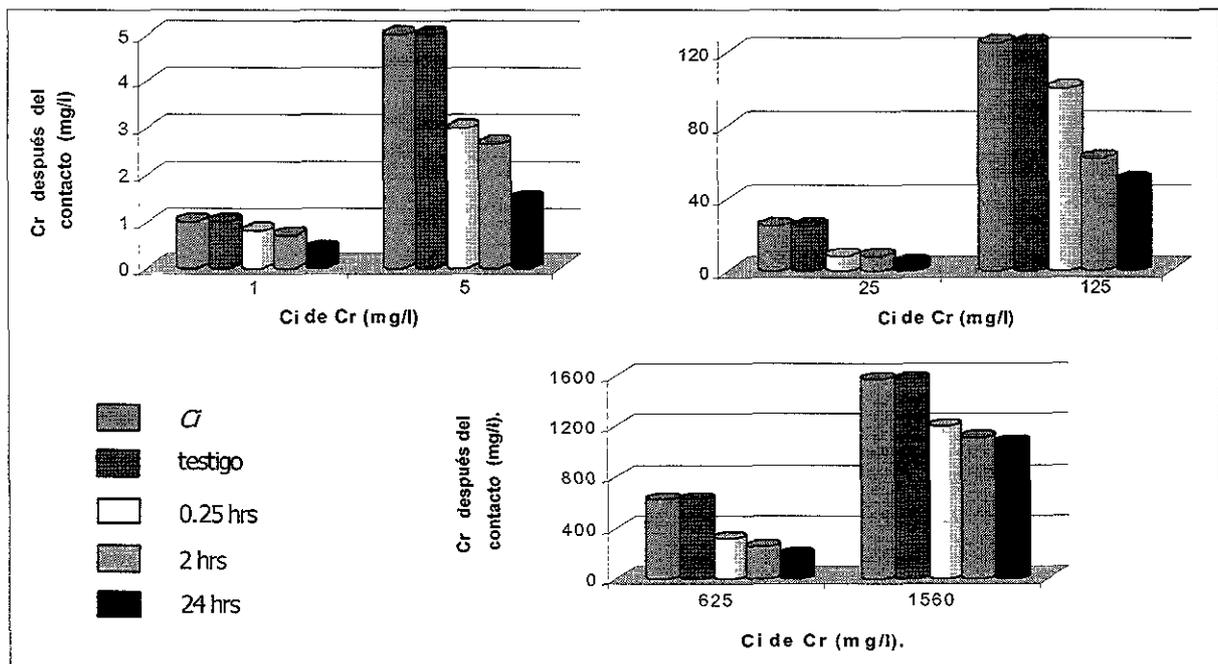


Figura 4.22 Variación de la concentración de cromo respecto al tiempo para el lote 1

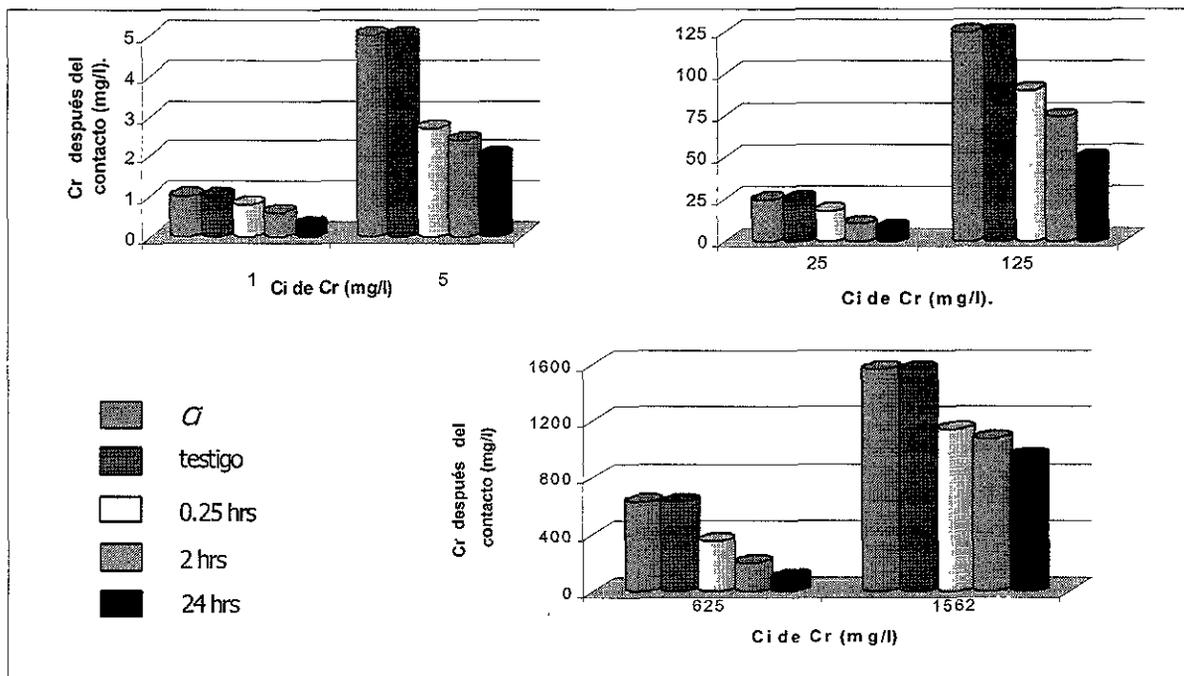


Figura 4.23 Variación de la concentración de cromo respecto al tiempo para el lote 2

En las figuras anteriores, se observa que la concentración de Cr continúa disminuyendo en el tiempo, por lo que el establecimiento del equilibrio en la solución no se lleva a cabo dentro de los horarios probados. Esto probablemente se deba a posibles efectos del Cr sobre la biomasa, pues fueron conservadas las mismas condiciones de laboratorio, misma temperatura y velocidad de agitación que en las pruebas con fenol, triclorofenol y plomo. Además al terminar la prueba con Cr, se observó que la solución en las botellas serológicas presentaba cierta turbidez, manifestándose esta situación en todas las concentraciones probadas.

La presencia de turbiedad en la solución probablemente muestre la pérdida de la consistencia granular de la biomasa, pues al observar los granos éstos habían adquirido una consistencia laxa. Considerando que la matriz de exopolímeros es el principal factor de agregación y adhesión de los grupos bacterianos, podría entonces el Cr tener efectos sobre estos polímeros. En trabajos realizados con diversos consorcios bacterianos, Urrutia *et al.*, (1994), reportan que el Cr III frente a otros metales pesados, tiene afinidad por superficies bacterianas, formándose un precipitado amorfo asociado a dichas superficies.

Esta afinidad del Cr a las paredes celulares, tiene efectos sobre la matriz de polímeros pudiendo ser esta la razón por lo que se ve afectada la granulación. Al perderse la consistencia granular de la biomasa, las células que componen el grano se dispersan paulatinamente aumentando el área de contacto, disponiéndose así de mayores puntos de unión entre la biomasa y los iones de Cr.

Por lo anterior, en las pruebas de biosorción de cromo y la elaboración de sus isothermas, se seleccionó el horario de muestreo de 2 horas, con la finalidad de homogeneizar el tratamiento de los experimentos con el resto de los compuestos tóxicos analizados.

Las Tablas 4.12 y 4.13, muestran los valores obtenidos de los experimentos de biosorción, para ambos lotes de biomasa respectivamente.

Tabla 4.12 Resultados de las pruebas de biosorción de cromo. Lote 1

volumen de solución utilizada (V) -ml-	biomasa utilizada (M) -mg-	concentración inicial (C _i) cromo -mg/l-	concentración final (C _f) cromo -mg/l-	masa de cromo sorbido (X) [(C _i -C _f)V] -mg-	masa de cromo sorbido por unidad de masa de la biomasa (X/M ó q) -mg/g-
93	1289	1	0.6	0.0372	0.0288
93	1289	5	2.40	0.2418	0.1875
93	1289	25	8.33	1.5503	1.2027
93	1368	125	62.22	5.8385	4.2679
93	1368	625	200	39.525	28.8925
93	1368	1562	1072	45.57	33.3114

Tabla 4.13 Resultados de las pruebas de biosorción de cromo. Lote 2

volumen de solución utilizada (V) -ml-	biomasa utilizada (M) -mg-	concentración inicial (C _i) cromo -mg/l-	concentración final (C _f) cromo -mg/l-	masa de cromo sorbido (X) [(C _i -C _f)V] -mg-	masa de cromo sorbido por unidad de masa de la biomasa (X/M ó q) -mg/g-
93	1344	1	0.7	0.0279	0.0275
93	1344	5	2.66	0.2176	0.1619
93	1344	25	10.55	1.3438	0.9998
93	1321	125	75.54	4.5997	3.4819
93	1321	625	245	35.34	26.7524
93	1321	1562	1110	42.036	31.8213

Los resultados de las pruebas de biosorción con cromo se muestran graficados en las figuras 4.24 y 4.26 para cada lote; asimismo en las figuras 4.25 y 4.27, se muestran las correspondientes isothermas linealizadas por el modelo de Freundlich.

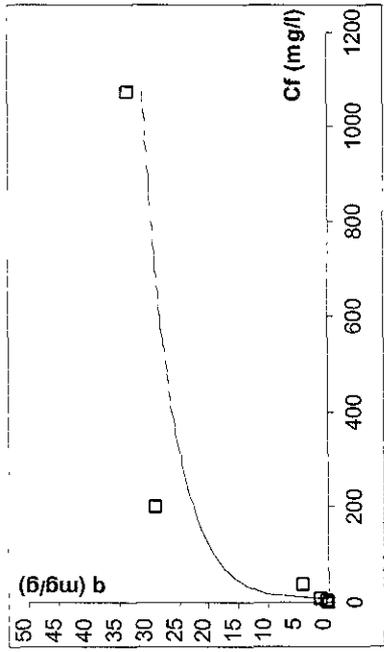


Figura 4.24 Biosorción de cromo por el lote 1

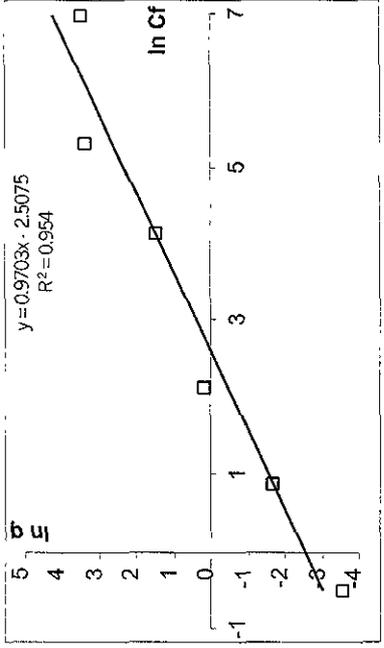


Figura 4.25 Isooterma de Cr linealizada por el modelo de Freundlich, Lote 1.

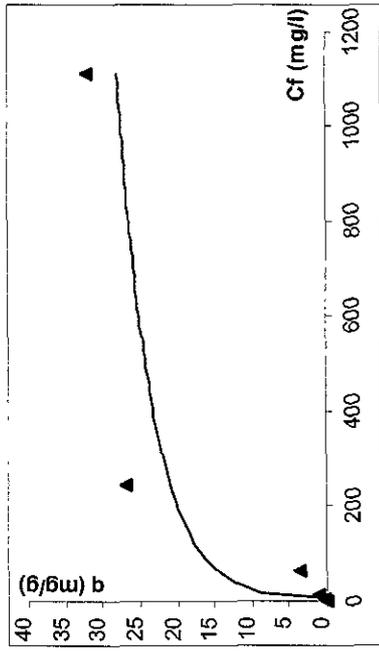


Figura 4.26 Biosorción de cromo por lote 2

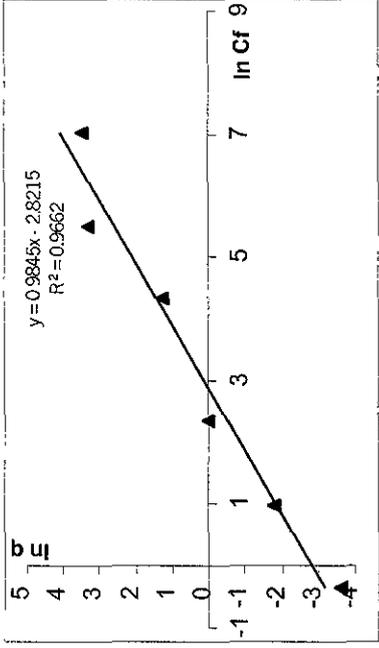


Figura 4.27 Isooterma de Cr linealizada por el modelo de Freundlich, Lote 2.

En las gráficas, Fig. 4.26 y 4.28, se aprecia que la línea de tendencia describe la curva logarítmica típica que se presenta en los fenómenos de adsorción que son llevados a cabo con carbón activado como adsorbente.

Las isothermas linearizadas de biosorción para cromo, pueden verse graficados en las Figuras 4.25 y 4.27 respectivamente para cada lote de biomasa, distinguiéndose una cierta dispersión de los datos. En estas figuras se inserta la ecuación de la recta y el valor de R^2 , siendo este último aceptable en ambos lotes. Así también la ecuación, presenta el valor de la pendiente, la cual es ligeramente mayor para el lote 2.

En la Figura 4.28, se muestran superpuestas las isothermas de biosorción. En dicha figura, se observa que las isothermas corren de forma cercana, siendo ligeramente mejor el lote 1 para la biosorción de cromo (mayor capacidad de biosorción por gramo de biomasa), debido a que su correspondiente isoterma se encuentra por encima de la isoterma para el lote 2.

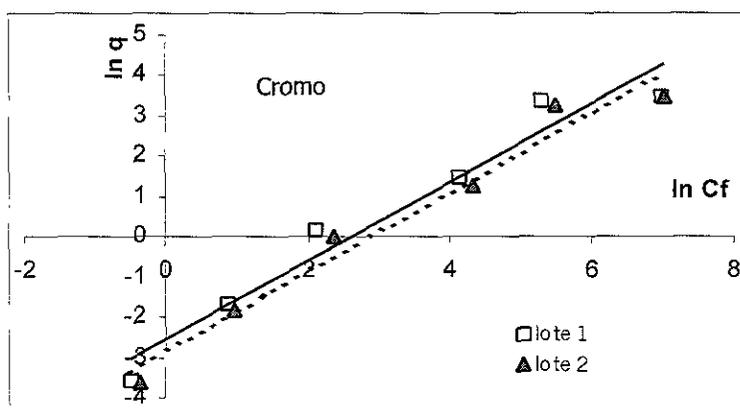


Figura 4.28 Isothermas de Freundlich para ambos lotes

Los valores obtenidos en las isothermas se sustituyeron en el modelo de Freundlich para obtener las siguientes ecuaciones:

Para el lote 1

Grano de agua residual de maltería

$$q_1 = 0.0814 C_f^{1/1.0306} \quad (4.7)$$

Para el lote 2

grano de agua industrial mixta

$$q_2 = 0.0595 C_f^{1/1.0157} \quad (4.8)$$

Al comparar los resultados obtenidos experimentalmente y los obtenidos a través de las ecuaciones resultantes del modelo de Freundlich, (Fig. 4.29), se observa que el modelo matemático en concentraciones de cromo menores a 100 mg/l, representa adecuadamente los datos de biosorción. Sin embargo, en el resto de las concentraciones el modelo presenta variación respecto a los datos experimentales, indicando que la biosorción de cromo por la biomasa granular anaerobia sucede de manera más compleja con relación al modelo propuesto por Freundlich.

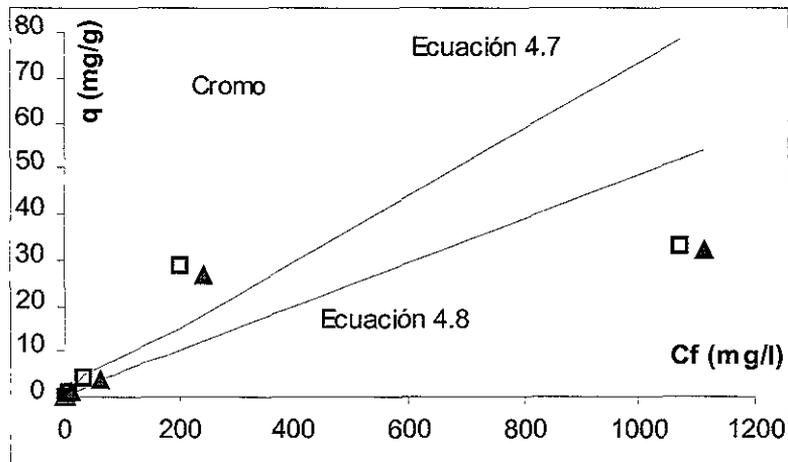


Figura. 4.36 Biosorción de Cromo ambos lotes, de acuerdo al modelo matemático de Freundlich

4.4 Especiación de metales

La especiación de metales biosorbidos por la biomasa granular anaerobia, se llevó a cabo para ambos lotes siguiendo la técnica descrita en el Anexo C.

La biomasa que se empleó en los experimentos de especiación, se puso en contacto con las soluciones metálicas en concentraciones de 62 mg/l de Pb II y 62 mg/l de Cr III, según se describe en los experimentos de biosorción con metales, donde se indica la utilización de un tamiz para permitir el libre paso de los metales que no se sorbieron, incluyendo posibles precipitados que se encontrasen en la solución. Para los experimentos de especiación, la muestra de biomasa fue tomada del tamiz que retuvo los granos bacterianos, cuantificándose de esta manera solo los metales que fueron retenidos por la biomasa.

Los resultados de la prueba de especiación del plomo en ambos lotes, se presentan en la Tabla 4.14.

Tabla 4.14 Porcentajes de fracciones de Pb II en ambos lotes de biomasa

	lote 1	lote 2
Intercambiables	8.54 %	8.80 %
Adsorbidos	7.32 %	4.80 %
Ligados con materia orgánica	10.98 %	40.80 %
Carbonatos	50 %	32 %
Sulfuros	23.17 %	13.60 %

Las gráficas de las figuras 4.30 y 4.31 muestran para el lote 1 y lote 2 respectivamente, la proporción en la que el plomo se retiene en las diferentes fracciones determinadas por la prueba de especiación.

carbonatos > sulfuros > materia orgánica > intercambiables > adsorbidos.

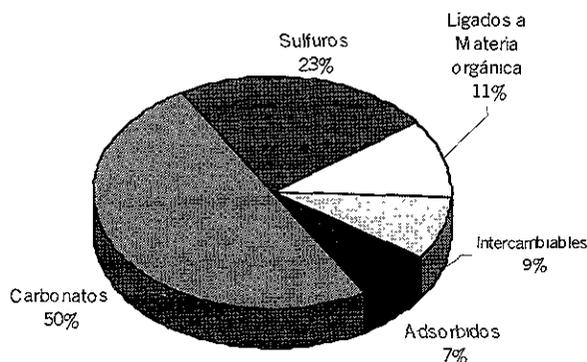


Figura 4.30 Pb biosorbido en lote 1

materia orgánica > carbonatos > sulfuros > intercambiables > adsorbidos.

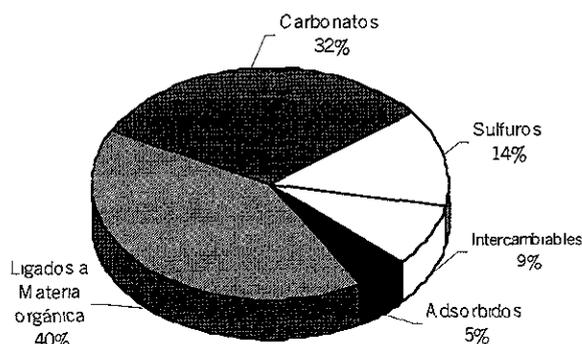


Figura 4.31 Pb biosorbido en lote 2

En las figuras anteriores se observa que en el lote 1, la mitad de todo el plomo sorbido se encuentra en forma de carbonatos, mientras que en el lote 2 la fracción más abundante está unida a la materia orgánica (40 %). Esta diferencia pudiera estar relacionada con una mayor abundancia de materia orgánica en el lote 2, tal y como se presenta en la caracterización de la biomasa (Ver Tabla 4.2). Por lo que no hay una relación directa entre el plomo adsorbido y la mayor presencia de EPC en el lote 1, según lo reporta la Tabla 4.1

El Pb ligado a carbonatos y sulfuros, se encuentra en cantidades importantes en ambos lotes (carbonatos 50% y 32% y sulfuros 23% y 14%, para lote 1 y lote 2 respectivamente), pudiéndose atribuir a la afinidad del Pb para formar este tipo de complejos (Darimont y Frenay, 1990). El ligando $-Sx^2-$ puede encontrarse en la biomasa como subproducto de las mismas células, como es el caso de las bacterias sulfatorreductoras que reducen sulfato a sulfuro.

La fracción de plomo intercambiable y adsorbida sobre ambos lotes se presenta en menor proporción, por lo que es posible afirmar que los cationes de Pb tienen una mayor afinidad por otros ligandos de la biomasa.

Para el cromo, los resultados de la especiación de metales en ambos lotes se presentan como sigue:

Tabla 4.15 Porcentajes de fracciones de Cr III en ambos lotes de biomasa

	lote 1	lote 2
intercambiables	12.50 %	19.35 %
adsorbidos	10.42 %	16.13 %
ligados con materia orgánica	18.75 %	19.35 %
carbonatos	14.58 %	19.35 %
sulfuros	43.75 %	25.81 %

A continuación se presentan las gráficas donde se aprecia cómo se sorbió el cromo en las distintas fracciones (Figuras 4.32 y 4.33).

sulfuros > materia orgánica > carbonatos >intercambiables > adsorbidos.

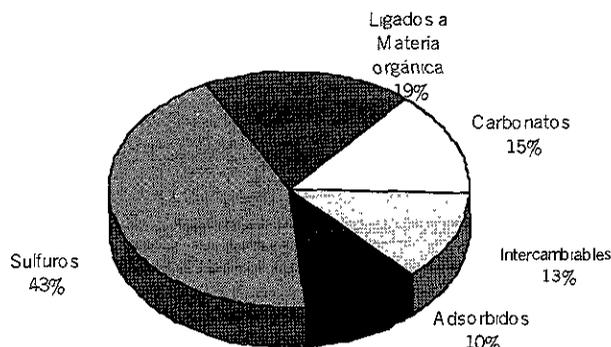


Figura 4.32 Cr biosorbido en lote 1

sulfuros > carbonatos = materia orgánica = intercambiables > adsorbidos.

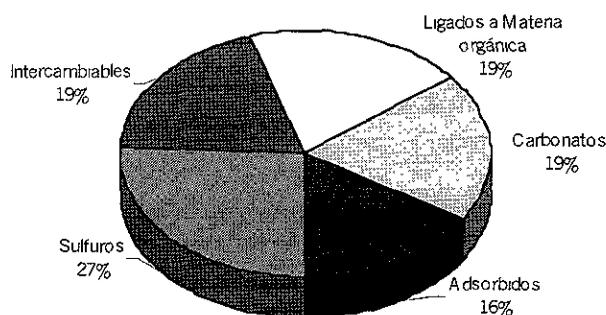


Figura 4.33 Cr biosorbido en lote 2

En el lote 1 destaca la biosorción de cromo en forma de sulfuros, esto probablemente se deba a una mayor concentración de sulfuros en la biomasa, por lo que resulta de interés conocer la concentración de azufre que se encuentra en el grano, y así confrontar y establecer una relación entre la mayor o menor cantidad de metal retenido con sulfuros.

Por otro lado, para conocer las posibles interacciones en el análisis de una fracción y otra, se realizó un balance de masa del metal entre el adicionado al inicio de la prueba (C_i), la concentración del metal al final en la fase líquida (C_f) y el metal sorbido por la biomasa granular anaerobia (C_b), comparando los resultados obtenidos experimentalmente y los calculados según la siguiente fórmula:

$$C_i = C_f + C_b$$

Donde:

- C_i = concentración inicial
- C_f = concentración final en fase líquida
- C_b = concentración en la biomasa (sorbida)

Para el plomo, las C_i en ambos lotes fue de 62 mg/l. Para el lote 1 la C_r según la Tabla 4.10, donde se muestran los resultados de la prueba de biosorción, fue de 36.82 mg/l, por lo que de acuerdo con la fórmula, la cantidad de metal retenido por la biomasa sería de 25.18 mg/l. Sin embargo, la suma de los resultados de especiación para cada una de las fracciones es de 32.23 mg/l, indicando un 28% más del metal. Para el lote 2, la C_r fue de 48.66 mg/l (Ver Tabla 4.11) por lo que la concentración esperada de metal en la biomasa sería de 13.34 mg/l; no obstante, la concentración obtenida por la suma de las fracciones reporta 18.94 mg/l siendo mayor en un 42% (Ver Tabla 4.16)

Tabla 4.16 Concentración de Pb II en ambos lotes de biomasa. C_b obtenida por especiación y calculada.

	lote 1		lote 2	
	C_b (%)	C_b (mg/l)	C_b (%)	C_b (mg/l)
Intercambiables	8.54	2.75	8.8	1.67
Adsorbidos a materia orgánica	7.32	2.36	4.8	0.91
Carbonatos	10.98	3.54	40.8	7.73
Sulfuros	50	16.12	32	6.06
<i>total</i>	100	32.23	100	18.94
	<i>C_b calculada</i>	25.18	<i>C_b calculada</i>	13.34
	<i>% de incremento</i>	28	<i>% de incremento</i>	42

En la especiación de cromo, la C_i para ambos lotes también fue de 62 mg/l; más no se dispone de la C_r , dado que no se analizó esta concentración. Sin embargo, para efectos de estimar las posibles interferencias en la prueba de especiación, se calculó la C_r a partir de una regresión lineal con los datos de C_i y C_r presentados en las Tablas 4.12 y 4.13 para cada lote. De lo anterior, se obtiene un valor calculado de C_r de 30 mg/l de cromo en el lote 1 y de 36.5 mg/l en lote 2. Con estos datos se presenta la Tabla 4.17 donde se muestra que la concentración de metal en la biomasa y de acuerdo a los experimentos de especiación es mayor en 33% y 19% para cada lote, respectivamente, en comparación con las concentraciones esperadas por la fórmula.

Tabla 4.17 Concentración de Cr III en ambos lotes de biomasa. C_b obtenida por especiación y calculada.

	lote 1		lote 2	
	C_b (%)	C_b (mg/l)	C_b (%)	C_b (mg/l)
Intercambiables	12.5	5.32	8.8	5.87
Adsorbidos a materia orgánicos	10.42	4.43	4.8	4.89
Carbonatos	18.75	7.98	40.8	5.87
Sulfuros	14.58	6.21	32	7.83
<i>total</i>	100	42.56	100	30.35
	<i>C_b calculada</i>	32	<i>C_b calculada</i>	25.5
	<i>% de incremento</i>	33	<i>% de incremento</i>	19

Lo anterior, parece indicar que las pruebas de especiación pueden reportar mayores concentraciones de metal, probablemente por interferencia entre el análisis de una fracción y otra. En este caso, resulta de interés conocer la cantidad total de metal biosorbido, cuantificándolo a través de una digestión total de la muestra de biomasa para su posterior análisis y así establecer un adecuado balance entre las concentraciones del metal.

Stover y Silveria (1976), en sus experimentos de especiación de metales en lodos activos, reconocen las interferencias que existen entre un muestreo y otro, reportando en el análisis con plomo, interferencias de hasta un 25%. No obstante, como estos autores lo indican, los cálculos obtenidos a partir de esta prueba proporcionan información para estimar el estado de los metales retenidos por la biomasa.

Por otra parte, entre los factores que afectan la remoción de metales, los EPC se reportan como el principal factor biológico (Lester, 1982), razón por la que se analizó la concentración de EPC, encontrándose que es diferente en ambos lotes (Ver Tabla 4.1). Estos biopolímeros, poseen carga negativa (-10 a -20 mV) resultando de interés para las distintas fuerzas de atracción intermoleculares propias del fenómeno de adsorción, pudiendo ser cuantificadas en la especiación a través de la fracción adsorbida. Además, la influencia de los EPC puede ejercerse a partir de la fracción ligada a la materia orgánica, al ofrecer ésta una superficie con diferentes ligandos para formar los distintos complejos orgánicos, siendo los enlaces covalentes y de coordinación muy comunes en este tipo de sistemas (Ondarza, 1988). Sin embargo, con los cationes metálicos analizados, no se observa una clara relación entre la cantidad de metales retenidos por adsorción y/o intercambio iónico y la mayor o menor concentración de EPC.

En las pruebas de biosorción, tanto para el plomo como para el cromo y en ambos lotes, la solución de metales tenía un pH de 4 y al final de los experimentos el pH fue cercano a 7; esto debido a la capacidad de la biomasa para regular su medio. De acuerdo con lo expuesto en el apartado 1.2.2, los metales en solución a un pH cercano a 7, tienden a formar hidróxidos, por lo que en el sistema acuoso donde se realizaron los experimentos de biosorción y especiación, se encontraban determinadas concentraciones de los metales en forma de iones libres, hidroxidos y ligandos para formar carbonatos y sulfuros del metal.

La afinidad para formar estos complejos metálicos dependerá del pH, las constantes de formación, los productos de solubilidad y la estequiometría de los complejos y sólidos (Gardner *et al.*, 1991). Con los datos anteriores, se pueden utilizar modelos para predecir la afinidad para formar los compuestos metálicos. Sin embargo, debe considerarse que los cálculos hechos para la predicción presentan diferentes limitaciones, siendo las más comunes la posibilidad de omisión de especies en la solución y la obtención de datos inciertos, causando cualquiera de estas dos, errores en las predicciones de afinidad.

En general, el comportamiento del plomo y cromo en presencia de los aniones carbonatos y sulfuros, presentan características de afinidad que los hace más o menos abundantes en la naturaleza. Los carbonatos y sulfuros de plomo son compuestos que se encuentran comúnmente en estado natural, mientras que en el cromo se observa una mayor afinidad para formar sulfuros, dado que los carburos de cromo son poco comunes. (Bailar *et al.*, 1973).

Para estimar la afinidad de formación de compuestos metálicos, la Tabla 4.18 reporta las constantes de solubilidad para el plomo, deduciendo que aquel compuesto que tenga menor solubilidad, tendrá mayor afinidad por precipitar. Para el caso del cromo no se localizaron las constantes de solubilidad para estos productos en la literatura, ya que como lo reporta Bilinski *et al.*, (1998) estos compuestos han sido poco estudiados.

Tabla 4.18 Constante de solubilidad

Compuesto	pK _s a 30° C y a pH cercano a 7
Pb ₂ S	27.9
Pb ₂ CO ₃	13.3

Fuente: Dean, 1992.

La menor solubilidad del carbonato de plomo nos reporta la afinidad del plomo a formar estos precipitados, situación que pudiera verse reflejada en ambos lotes de biomasa al encontrarse mayores concentraciones de plomo en carbonatos que ligada a sulfuros.

Brown y Lester (1979) reportan en trabajos realizados con lodos activos, una mayor presencia de carbonatos de plomo, manifestándose la mayor afinidad del plomo a formar estos compuestos, aunque es importante señalar que son múltiples los factores que influyen en su formación.

4.5 Biosorción de fenol, triclorofenol, plomo y cromo por ambos lotes (resumen)

Con la finalidad de apreciar y comparar los dos lotes de biomasa granular anaerobia con respecto a su comportamiento de biosorción de los diferentes compuestos tóxicos analizados, se presentan las siguientes tablas y gráficas que muestran los distintos resultados obtenidos experimentalmente.

En la tabla 4.19 se resumen los datos de la biosorción para cada uno de los compuestos tóxicos considerados en este estudio.

Tabla 4.19 Parámetros de biosorción de la biomasa granular anaerobia a los diferentes compuestos tóxicos analizados.

	lote 1			Lote 2		
	K	1/n	R ²	K	1/n	R ²
fenol.	0.077	0.793	0.962	0.974	0.266	0.938
2,4,6-Triclorofenol	0.005	1.231	0.972	0.006	1.036	0.906
Plomo	0.031	1.272	0.979	0.014	1.179	0.976
Cromo	0.081	0.970	0.954	0.059	0.984	0.966

Según la tabla anterior, todas las isothermas se ajustan a la ecuación de Freundlich, con coeficientes de determinación mayores a 0.9, tal y como lo muestran los valores de R². El valor de 1/n indica la pendiente de la isoterma, el hecho de que una isoterma tenga una pendiente cercana a 1, significa que puede tener una mayor capacidad de biosorción a concentraciones mayores de sorbato.

La presentación de los datos obtenidos en los experimentos de biosorción, se aprecian graficados con la isoterma de Freundlich linealizada en las figuras 4.34 para el lote 1 y 4.35 para el lote 2.

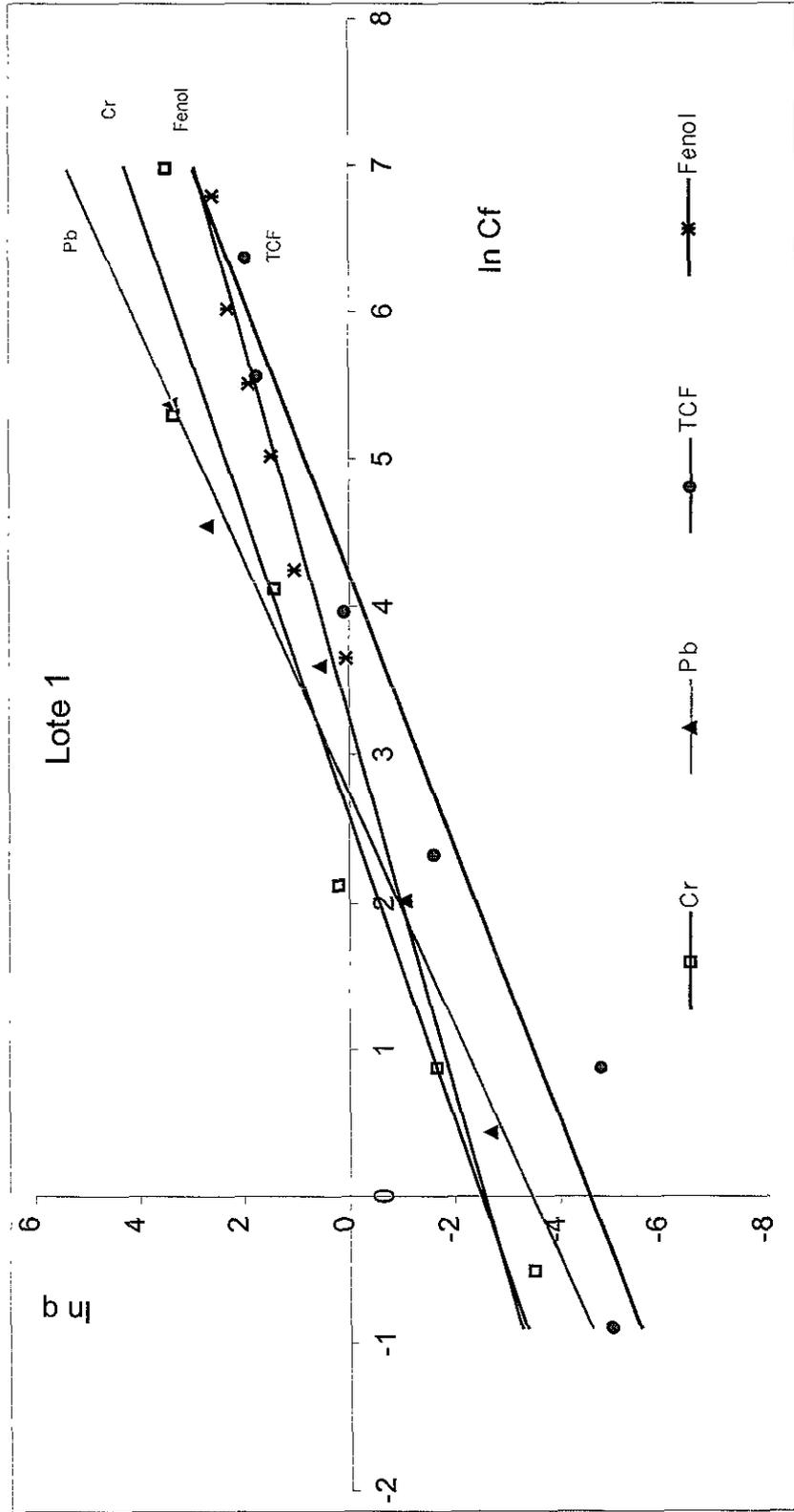


Figura 4.34 Isotermas de Biosorción de Fenol, Triclorofenol, Plomo y Cromo del lote 1. Temperatura a 30°C y velocidad de agitación a 120 rpm.

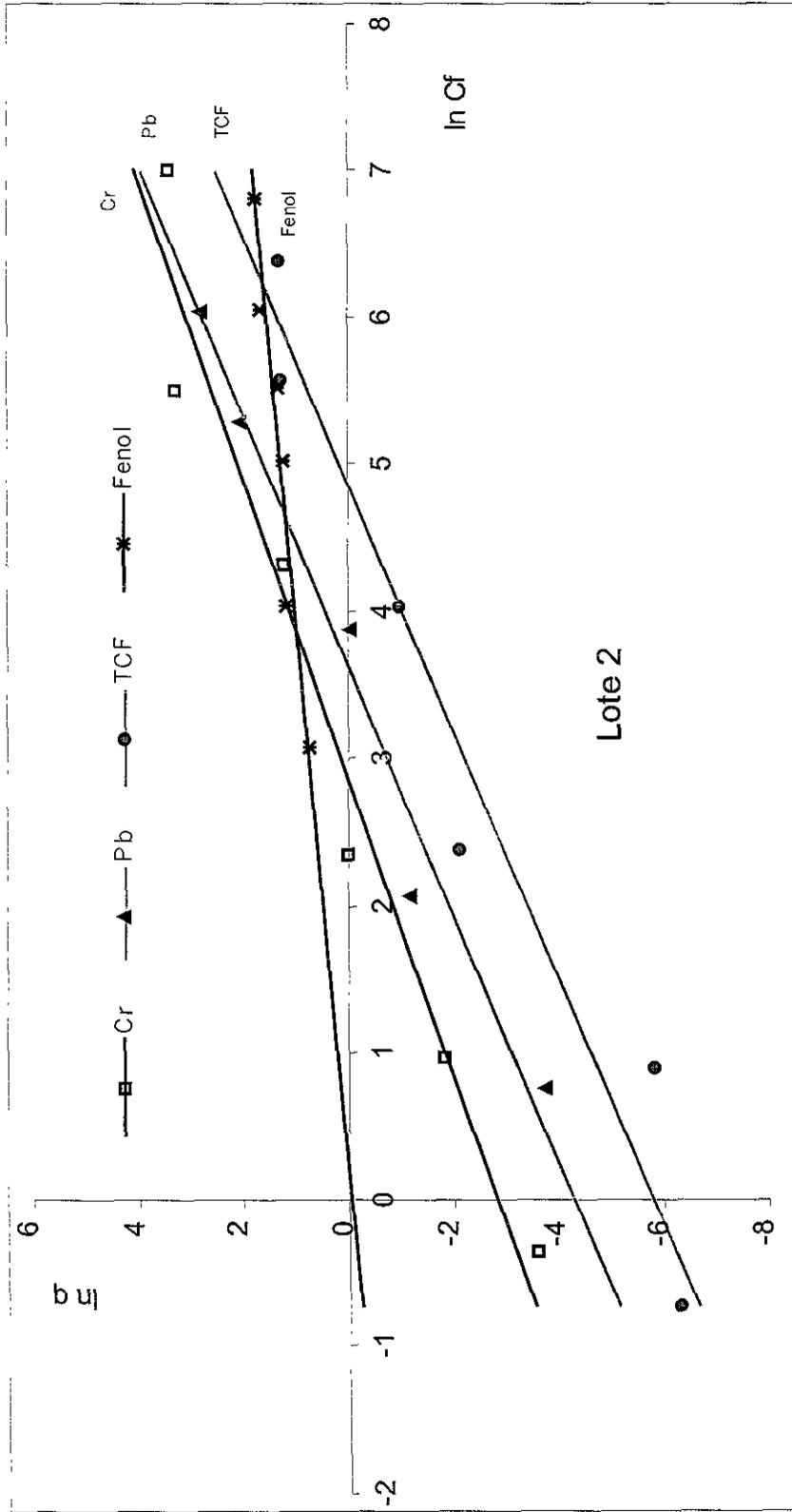


Figura 4.35 Isotermas de Biosorción de Fenol, Triclorofenol, Plomo y Cromo del lote 2. Temperatura a 30°C y velocidad de agitación a 120 rpm.

Considerando que las isotermas pueden ser utilizadas para determinar el desempeño de un biosorbente al sorber uno o más sorbatos, se observa en las gráficas anteriores que para ambos lotes la biosorción es mayor para los metales. Es decir, el plomo y el cromo se biosorben mejor que el triclorofenol y el fenol y, de manera general, que el fenol se biosorbe mejor que el triclorofenol.

En los fenómenos de adsorción de compuestos orgánicos por carbón activado, se ha observado que entre mayor sea el tamaño de las moléculas del sorbato, mayor es la sorción, debido al incremento de las fuerzas de atracción. Lo anterior no se cumple en los experimentos de biosorción con biomasa granular anaerobia, pues aunque el triclorofenol tiene un mayor peso molecular, es biosorbido en menor proporción que el fenol. Esto se debe a la diferencia del carbón activado, los fenómenos que se presentan en la sorción con biomasa granular anaerobia son múltiples.

Por otro lado, la solubilidad puede ser un factor importante en la biosorción por biomasa granular, debido a que mientras más hidrofílico sea un sorbato, menor es la posibilidad de trasladarse a la interfase para ser sorbida. La Tabla 4.20 muestra para los compuestos analizados, los valores de solubilidad en 100 ml de agua. En ella se observa que el Nitrato de Cromo y el Nitrato de Plomo tienen una mayor solubilidad.

Tabla 4.20 Solubilidad de los distintos compuestos (sorbatos)

compuesto	en 100 ml de agua a 30 °C y pH cercano a 7
fenol	6.7
triclorofenol	6.0 – 7.42
Pb ₂ NO ₃	255
Cr ₂ NO ₃	152

Fuente: Dean, 1992.

Si se considera únicamente la solubilidad, se esperaría que las formas iónicas de los compuestos de cromo y plomo, fueran menos biosorbidas que el fenol y el triclorofenol, más otro factor importante a considerar es la naturaleza química de los compuestos, siendo el fenol y el triclorofenol compuestos orgánicos de carácter no polar, mientras que los inorgánicos, cromo y plomo, son de carácter iónico, presentando mayor afinidad química los cationes bivalentes. Lo señalado se manifiesta en los resultados expresados en las gráficas, donde se observa la gran afinidad de los cationes para sorberse a la biomasa, al unirse a los ligandos sulfuros y carbonatos, por su habilidad para intercambiarse en los grupos carboxyl y/o fosfato y su buena capacidad para adsorberse a las bacterias por la propiedad electronegativa de su superficie.

Con respecto a la biosorción entre los compuestos orgánicos analizados, se observó en ambos lotes, que de manera general hay un mejor desempeño en la remoción de fenol, siendo este comportamiento similar a los resultados obtenidos en carbón activado por Benefield y Judkins, 1982. Asimismo, Kennedy *et al.*, 1992, en pruebas con fenol describen a partir del modelo de Freundlich valores de k y $1/n$ muy similares a lo obtenidos en estas pruebas ($k = 0.003$ a 0.08 y $1/n = 0.4$ a 1.5), reportando que la biosorción de moléculas orgánicas decrece conforme aumenta el peso molecular de los sorbatos.

En la biosorción de los fenoles existe la posibilidad de biodegradación de los compuestos analizados, siendo de acuerdo con Buitrón, (1997) un proceso factible que se puede llevar a cabo a través de un proceso de aclimatación a la biomasa, proceso que se lleva a cabo a partir de un escalamiento en las concentraciones y complejidad de los compuestos. Sin embargo, esta posibilidad se minimiza, dado a que como se menciona en el capítulo 3, la biomasa utilizada nunca trató aguas residuales con contenido de fenoles, además de que el tiempo de contacto fue muy corto, por lo que la actividad metabólica de la biomasa seguramente se encontraba deprimida después del manejo previo a las pruebas de biosorción.

La biosorción entre los metales tuvo diferente comportamiento; de acuerdo a las isotermas se observa que el cromo se biosorbe mejor a bajas concentraciones que el plomo en el lote 1, mientras que en el lote 2, la isoterma correspondiente al cromo está por arriba de la del plomo, indicando que dicho lote remueve mejor el cromo. En lo anterior se deben considerar los siguientes puntos que pueden reflejarse en las isotermas de biosorción de cromo: los valores para el cromo muestran una gran dispersión de los datos, siendo más significativa esta dispersión en el lote 2. Lo señalado se presenta en la tabla 4.19 al observar los valores de R^2 correspondientes al cromo. Otra consideración que explicaría el incremento de la biosorción del cromo, es la disgregación de los granos observada durante los experimentos de biosorción con este metal, aumentando de esta manera los puntos de unión entre los iones de cromo y la biomasa.

De acuerdo con diversos trabajos de biosorción de metales, el plomo se biosorbe mejor que el cromo. Holan y Volesky (1993) explican en distintos trabajos con alga marina *Sargassum natans*, que el plomo se fija mejor a la biomasa debido a las distintas propiedades termodinámicas de éste. Cabe señalar que en la mayoría de los experimentos de biosorción de metales reportados en la literatura, la biomasa es inmovilizada con acrilatos, o sufre un pretratamiento que inhibe cualquier actividad metabólica, o bien, en muchas ocasiones los experimentos se realizan en cepas bacterianas específicas.

Por otra parte, Holan *et al.* (1993), demostraron en experimentos con el alga marina *A. nodosum*, que la contraparte aniónica de una sal puede ejercer influencia en la biosorción. En sus experimentos, se observa que el cadmio se biosorbe mejor si la sal con que se prepara la solución es sulfato de cadmio que si se prepara con acetato de cadmio. Con lo anterior, se advierte que la biosorción depende también de otras formas presentes en la solución,

resultando de interés conocer como se comporta la biosorción de alguno de los compuestos analizados en presencia de algún otro compuesto y/o con algún otro tipo de sal.

En general, para la biosorción de metales diversos autores han demostrado la importancia de los polímeros extracelulares, al observar que aquellos organismos ricos en este tipo polímeros tienen una mayor biosorción. También la literatura indica que las bacterias que poseen una capa de biopolímeros externa a la pared celular (cápsula) son mas efectivos para la biosorción. Así mismo la literatura reporta que la pérdida de polímeros por cualquiera que sea la causa, en la célula o consorcio bacteriano, puede también significar la pérdida de la capacidad de biosorción (Bell y Tsezos, 1987; Beveridge, 1978; Foster, 1982; Goodwin, 1988; Guiot, 1992; Holan y Volesky, 1994; Lester, 1982; Volesky, 1990). Esta situación puede verse reflejada en la biomasa granular anaerobia, al observarse el mejor comportamiento de biosorción del lote 1 siendo, según la tabla 4.2, el mas abundante en EPC.

Gardner *et al.* (1991), muestran en experimentos de biosorción con metales pesados, tasas de remoción de metal diferentes entre una planta piloto y en pruebas en laboratorio, demostrando que los resultados obtenidos en lote solo reflejan la capacidad de biosorción en condiciones estáticas, por lo que los resultados aquí expuestos podrán ser diferentes al ser probados en otras circunstancias.

Para el tratamiento de aguas residuales, la biosorción de compuestos tóxicos puede ser realizada en lote o en flujo continuo, siendo éste último en varios casos preferido. Las Isotermas sólo demuestran el desempeño del biosorbente bajo condiciones estáticas de la prueba. Pruebas adicionales en columnas pueden conducirnos a evaluar el desempeño del biosorbente en sistemas de flujo continuo, para formar una unidad de pulimento dentro de un tren de tratamiento, por lo que serán necesarios tomar en cuenta diferentes variables como lo son la masa de biosorbente, el volumen de agua residual a tratar, el flujo, el rango de biosorción entre otras variables que son determinadas en pruebas en lote, similares a las estimadas en el presente trabajo.

CAPITULO 5

CONCLUSIONES

"Ubi dubium ibi libertas"

Donde hay dudas hay libertad.

Proverbio Latino.

La utilización de biomasa granular anaerobia, procedente de un reactor tipo UASB, puede ser utilizada para remover compuestos tóxicos de efluentes líquidos.

Las diferentes características de los granos de biomasa, de acuerdo al tipo de agua con que se alimentan, afectan el comportamiento de biosorción, observándose que una mayor presencia de polímeros extracelulares (lote 1) puede ser directamente relacionada con el mejor desempeño general de dicho lote en la biosorción de compuestos tóxicos.

En los lotes de biomasa granular seleccionados, la biosorción sucedió de forma rápida, siendo ésta menor a 2 horas, según se observa en los resultados del establecimiento del equilibrio de plomo, fenol y triclorofenol. Para el cromo, en las concentraciones analizadas, no se definió un tiempo de establecimiento del equilibrio, al menos en los horarios de toma de muestra (menor a 24 horas), observándose que a mayor tiempo de contacto con la solución de cromo, los granos adquirirían una consistencia laxa y se observaba turbidez en la solución, debido probablemente, a una interferencia del cromo en la matriz de exopolímeros, disgregando el grano y aumentando la superficie de contacto.

De acuerdo a los experimentos de biosorción, de manera general se concluye que:

1. Ambos lotes de biomasa tienen capacidad de biosorber los compuestos tóxicos analizados.
2. Los compuestos orgánicos se biosorben menos que los cationes metálicos probados; es decir, la biomasa granular anaerobia es mejor biosorbente de los cationes metálicos plomo y cromo, que de los compuestos orgánicos fenol y triclorofenol.
3. EL lote 1 fue mejor biosorbente para los compuestos tóxicos metálicos que para los compuestos orgánicos en altas concentraciones, mientras que el lote 2 resultó ser mejor biosorbente a bajas concentraciones de los compuestos fenólicos probados.
4. La biosorción de compuestos orgánicos fue mejor en el fenol que en triclorofenol para ambos lotes, observándose que la biosorción por biomasa granular anaerobia al igual que diversos experimentos de biosorción con otras biomazas analizadas, puede ser mejor para moléculas de bajo peso molecular como el fenol.

Dentro de los múltiples fenómenos que suceden en la biosorción, en la biomasa granular a diferencia del carbón activado, la adsorción sucede en menor grado, según las fracciones de metal encontradas por especiación de metales. El fenómeno mas presente en este caso fue la formación de compuestos metálicos con carbonatos y sulfuros, así como ligandos a materia orgánica.

La biosorción a través de los mecanismos de precipitación, adsorción, intercambio iónico y quelación en las estructuras bacterianas, puede prevenir que se almacenen los componentes tóxicos en componentes intercelulares sensitivos. Este fenómeno a su vez puede aprovecharse para remover elementos tóxicos de cuerpos de agua y concentrarlos en la biomasa para su posterior disposición.

REFERENCIAS

- Aguilar, G. (1985). "Adsorción y Catálisis". Universidad Autónoma de Puebla, Textos uap Puebla, México.
- Alibhai K. R. K y Foster C. F. (1988). "Physic-chemical and Biological Characteristics of Sludge Produced in Anaerobic Up flow Sludge Blanket Reactors". *Enzyme Microb. Technol.* 8:601-605.
- American Waste Water Association, AWWA (1990). "Water Quality and Treatment". McGraw - Hill E.U.A.
- American Waste Water Association, AWWA (1987): "GAC Filter Adsorbers". Research Foundation Research Report E.U.A.
- APHA, AWWA, WPLF.(1992). "*Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*". Edition 18 Washington D. C.
- Balch W. E.; Fox G. E.; Magrum L. J.; Woese C. R. (1979).. "Methanogens: Revaluation of a Unique Biological Group". *Microbiol. Rev.* 43 (2): 260-296.
- Bassols Catilla, Ángel. (1976). "Recursos Naturales: Clima, Agua, Suelos, Teoría y Uso.". Editorial Nuestro Tiempo, México.
- Basta N y Tabatabai M. "Effect of Chopping systems on adsorption of metals by soils: I. Single-Metal Adsorption". *Soil Science* 153(2): 108-114.
- Bell J. P. y Tsezos M. (1987). "Removal of hazardous organic pollutants by adsorption on microbial mass". *Wat. Sci. Technol.* 19: 409-416.
- Benefield, L. y Judkins, W (1982). "Process Chemistry for Water and Wastewater Treatment". Prentice - Hall E.U.A.
- Bender J. (1994). "Characterization of Metal Ion Binding Biofloculants Produced by the Cyanobacterial Component of Mixed Microbial Mats". *Appl Environ. Microbiol.* 60(7):2311-2315.
- Beveridge T. J. (1978). "Microbial uptake Heavy Metal". *Can. J. Microbiol.* 24:89-95.
- Bilinski H., Huston R. Y Stumm W., (1998). "Determination of the stability constants of some hydroxo and carbonate complexes of Pb (II), Cu (II), Cd (II) y Zn (II) in dilute solution anodic stripping voltammety". *Analytical Chemical Act* 84: 154-164.
- Bloomfield, M. (1992). "Química de los Seres Vivos". Grupo Noriega Editores LIMUSA México.
- Bowen, Hughes, Lepp y Phipps (1980). "Serial Heavy Metal Pollution and Terrestrial Ecosystems in Advances in Ecological Research", Ed. A. Macladyen, 1: 217-237.
- Bowen H. J. M. (1966). "Trace Elements in Biochemistry". Academic Press, Londres.
- Brown M. J. y Lester J. N. (1979). "Metal Removal in Activated Sludge: the Role the Bacterial Extracellular Polimers". *Wat. Res.* 13: 817-837.

- Buitrón G, (1997). "Biodegradación Aerobia de Compuestos Xenobióticos". en Biodegradación de Compuestos Industriales, Instituto de Ingeniería, UNAM México DF.
- Castellan, G.W. (1985). "Fisicoquímica". Fondo Educativo Interamericano S.A. México.
- Cheremisinoff, Nicholas P. Y Cheremisinoff Paul N. (1993). "Carbon Adsorption for Pollution Control". Ed. Engliwood Cliffs, Prentice – Hall, New Jersey.
- Chisolm, J. Julian Jr. (1971). "Envenenamiento por plomo", en capítulo 12 pág. 139 de "La Ciudad: Su origen crecimiento e Impacto en el hombre" (1976). Selecciones de *Scientific American*, versión española editada por Antonio Fdz. Y Galiano Ruiz. Blume, Madrid;.
- Darimont, A. F. y Frenay J. (1990). "Metals in Aqueous Solutions". en "Biosorption of Heavy Metals". (1990). Volesky Bohumil Capítulo 1.5 pp 65-80. CRC. Press. Boca Raton, E.U.A.
- Diario Oficial de la Federación (1996). "NOM - 127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano -Límites permisibles de calidad y tratamientos a que se debe someterse el agua para su potabilización". Publicada el jueves 18 de enero de 1996
- Diario Oficial de la Federación (1997). NOM 001 - ECOL – 1996 "Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales". Publicada el 6 de Enero de 1997
- Dolfing J. (1986). "Granulation in UASB Reactors Wastes". *Sci Technol* 18:15-25.
- Dolfing J.; Griffisen A.; van Neervan A. y Zevenhuizen L. (1985). "Chemical and Bacteriological Composition of Granular Metanogenic Sludge". *Can. J. Microbiol.* 31: 744-750
- Dubourguier H. C., Prensier G y Albaque G. (1988). "Structure and Microbial Activation of Granular Anaerobic Sludge", en "*Granular Aerobic Sludge, Microbiology and Technology*", (1986). Editado por Lettinga G., Zehnder A. J. B. y Hulshoff Pol L. W., pp 18-34, ed. Pudoc, Wageningem.
- Dubois M, Gilles K. A. Hamilton J. K. Rebers P. A. y Smith F. (1956). "Colorimetric Method for the Determination of Sugars and Related Substances". *Anal. Chem.* 28:350-356.
- Dyer A., Enemy H. Y Townsend R. (1981). "The Plotting and Interpretation of Ion-Exchange Isotherms in Zeolite Systems Separation". *Science and Technology* 16 (2): 173-183.
- Fornwalt H. y Hutchins, R. (1966). "Purifying Liquids with Active Carbon". *Chem. Engineering* 73: 8-179
- Foster C F (1982). "Sludge Surfaces and their Relation to the Rheology of Sewage Sludge Suspensions". *J Chem. Tech. Biotechnology.* 332: 799-807.
- Foster C. F y Lewin D. C. (1972). "Polymeric Interactions at Activated Sludge Surfaces". *Effl. Wat. Treat.* 12:520-525.
- Fourest, E. y Roux J-C. (1992). "Heavy metal biosorption by fungal mycelia by- products: machanisms and influence of pH". *Appl. Microbiol Biotechnol* 37: 399-403.
- Gadd G. M. (1986). "Fungal Responses Towards Heavy Metals" en "*Microbes in extreme environments*" Editado por Herbert R. A. y Codd G. A., pp. 83-110. Academic Press, Londres

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

- Gardner M., Cowling S., y Hunt D., (1991). "Removal of Heavy Metals from sewage by sulphide precipitation: Thermodynamic calculations and tests on a pilot – scale anaerobic reactor". *Environmental Technology* 13: 281-291.
- González A. (1996). "Dinámica de poblaciones de los lodos activados utilizados en el proceso de biodegradación de efluentes industriales", Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Biología), Fac de Ciencias - División de estudios de postgrado, UNAM, México.
- Goodwin J. A. S. (1988). "Surface Chemistry in the Activated Sludge Process". Tesis Ph. D. Universidad de Birmingham, citado en "A Comparative Study of the Nature of Biopolymers Extracted from Anaerobic and Activated Sludges". Morgan J. W., Forster C y Evison L., (1990). *Wat. Res.* 24: 743-750.
- Goodwin J. A. S. y Foster C. F. (1985). "A Further Examination Into the Composition of Activated Sludge Surfaces in Relation to their Settling Characteristics". *Wat. Res.* 19: 527–533.
- Guiot R. S. (1992). "Bioimmobilization in Anaerobic Reactor". *Curso: Bioprocesos anaerobios para el tratamiento de efluentes industriales*. UAM-I, ORSTOM, IMP. 6 y 7 de mayo. México.
- Guiot R. S., Pauss A. y Costerton J. W. (1992). "A Structural Model of Anaerobic Granule Consortium". *Wat. Sci. Tech.* 25 (7): 1-10.
- Hansen A. M. y Morales L. A. (1995). "Contaminación de los sedimentos de la Presa Silva, Gto. y alternativas tecnológicas para su rehabilitación". Segundo Minisimposio Internacional sobre remoción de contaminantes de aguas y suelos, Instituto de Ingeniería-UNAM, México.
- Horan N y Eccles C. R. (1986). "Purification and Characterization of Extracellular Polysaccharides from Activated Sludge". *Wat. Res.* 20:1427-1432.
- Holan Z. R., Volesky B. y Prasejyo I. (1993). "Biosorption of Cadmium by biomass of marine algae". *Biotechnol. and Bioeng.* 41: 819-825.
- Holan Z. R. y Volesky B. (1994). "Biosorption of Lead and Nickel by Biomass of Marine Algae". *Biotechnol. and Bioeng.* 43: 1001-1009.
- Huges M. K., Leep N. W. y Phipps D. A. (1980), "Aerial Heavy Metals Pollution and Terrestrial Ecosystems" en *Advances in Ecological Research*, 1: 217-237 editado por A. Macfadyen, Ed Academic Press, Londres.
- Hulshoff Pol L. W. y Lettinga G. (1986). "New Technologies for Anaerobic Wastewater Treatment". *Water Sci. Technol.* 11:41-53.
- Hungate R. E. (1969). "A Roll Tube Method for Cultivation of Strict anaerobies" en *Methods in Microbiology*, 3(8): 117–132. Edif. Academic Press. N. Y., E.U.A.
- Hutzinger y Veerkamp (1981). "Microbial Degradation of Xenobiotics and Recalcitrant Compound". *Fems Symposium No. 12 Primera parte: The scope of the problem Xenobiotic Chemicals with Pollution Potential*, pp 3 – 44 Academic Press. Londres.
- INEGI (1995). "XV Censo Industrial, Industrias Manufactureras, Extractivas y Electricidad. Censos Económicos 1995. México.

- James, Robert y Healy, T. O. (1972). "Adsorption the Hydrolyzable Metal Ions at the Oxide - Water Interface". *J. of Colloid Interface Science* 10: 42 - 52.
- Jenkins, D. y Snoeyink, V. L. (1987). "Química del Agua". LIMUSA México.
- Jiménez C, B y Ramos J. (1995). "Estudio de disponibilidad del agua en México en función del uso, calidad y cantidad". Contrato SGAA-93-034 para la Gerencia de Calidad, Reúso del Agua e Impacto Ambiental, Comisión Nacional del Agua, Proyecto 3320, Instituto de Ingeniería, UNAM.
- Kennedy K.J; Lu J. y Mohn W. (1992). "Biosorption of chlorophenols to anaerobic granular sludge". *Wat. Res.* 26: 1085-1092.
- Kenneth E. Noll. (1992). "Adsorption Technology for air and water pollution control". Lewis Publishers, Inc. E.U.A..
- Kosaric N., Shen C. F. y Blaszczyk R. (1993). "The Effect of Selected Heavy Metals (Ni, Co and Fe) on Anaerobic Granules and their Extracellular Polymeric Substance (EPS)". *Wat. Res.* 27 (1): 25-33.
- Kosaric N., Blaszczyk R., Orphan L. y Valladares J. "The Characteristics of Granules from Up flow Anaerobic Sludge Blanket Reactors". *Water Res.* 24: 1473-1477.
- Kuyucak N. y Volesky B. (1989). "The Mechanism of Cobalt Biosorption". *Biotechnol. and Bioeng.* 33: 823-821.
- Kuyucak N. y Volesky B. (1989). "Accumulation of Cobalt by Marine Alga". *Biotechnol. and Bioeng.* 33: 809-814.
- Kuyucak N. y Volesky B. (1989). "Desorption of Cobalt-Laden Algal Biosorbent". *Biotechnol. and Bioeng.* 33: 815-822.
- Larson, Richard A. (1990). "Biohazards of Drinking Water Treatment". Lewis, Publishers E.U.A.
- Lester, J. N.(1982). "Heavy Metals in Waste Water and Sludge Treatment Process.". Volumen II: Treatment and Disposal. CRC Press Boca Raton Florida.
- Lvovitch (1977). "Water Balance" en Tokyo Geography Papers. 19:79-86. Del Simposium "World Water Balance Held at Reading", realizado en Junio 1970, Tokio, Japón.
- Lowry O. H., Rosenbourg N. J., Farr A. L. y Zandall R. J. (1951). "Protein Measurement with Folin Phenol Reagent". *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Metcalf and Eddy, Inc. (1985). "Tratamiento, Evaluación y Reutilización de Aguas Residuales" 2a. Edición en español. Editorial Labor.
- Moreno R. G. (1994). "Obtención de Lodos Granulares en un Reactor UASB a partir de Lodos de Purga". *Tesis de Maestría*. Instituto de Ingeniería, UNAM. México.
- Morgan J. W., Forster C y Evison L. (1990). "A Comparative Study of the Nature of Biopolymers Extracted from Anaerobic and Active Sludge". *Wat. Res.* 24: 743-750.
- Nakayima A. y Sakaguchi t. (1986). "Selective Accumulation of Heavy Metals by Micro organism". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24: 59-64.

- Noyola R. A. (1993). "Tratamiento Anaerobio de aguas Residuales en México". Memorias del Primer Mini simposio Internacional sobre Remoción de Contaminantes de Aguas y Suelos Junio de 1993 DGAPA, Instituto de Ingeniería, Facultad de Química, UNAM, México.
- Nieboer E. y Richardson D. H.S. (1980). "The Replacement of the Nondescript Term *Heavy Metals* by a Biological and Chemical Significant Classification of Metals Ions", *Environmental Pollution* 1:3-26.
- OMS (1995). "Guidelines for drinking – Water quality". Ed. Organización Mundial de la Salud. Geneva.
- Ondarza, R. (1988). "*Biología Moderna*". Ed. Trillas 8a. Edición. México.
- Patterson J. W. y Passino R. (1990). "*Metals Speciation Separation and Recovery*". Lewis Publishers. Chelsea Michigan E.U.A.
- Patterson J W.(1986). "Industrial Wastewater Treatment Technology". 2a edición Boston Ed. Butterworth Londres.
- Pavon S. T. (1995). "Influencia de la Temperatura en la Remoción de Metales Pesados por el Proceso de Intercambio Iónico utilizando Zeolita-Clinoptilolita". Tesis de Maestría en Ingeniería Ambiental Facultad de Ingeniería-UNAM, México.
- Pavoni J. L., Tenney M. W. y Echelberger W. F, (1972). "Bacterial Extracellular Polymers in Biological Flocculation". *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 44:414-431.
- Perry, Robert H. y Cecil H Chilton (1982). "Manual del Ingeniero Químico". 2a Edición en español. Mc Graw Hill, México.
- Pickett, S. y White, P. (1985). "The Ecology Of Natural Disturbances And Patch Dynamics". Academic Press.
- PNUMA (1998). Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Informe de evaluación sobre algunos contaminantes orgánicos persistentes. Dentro del Primer periodo de sesiones. Montreal, 29 de junio a 3 de julio de 1999 tema 4.
- Polikarpov G. C. en "Radioecology of Aquatic Organisms". (North Holland, New York, 1966). en Tsezos M. y Volesky B (1981). "Biosorption of Uranium and Thorium". *Biotechnology and Bioengineering* 23: 583-604.
- Ramos J, Jiménez B. y Rodríguez A. (1996). "Evaluación de Tóxicos Prioritarios". Memorias Técnicas del XXV Congreso Internacional AIDIS, México 1996.
- Remacle J. (1990). "The Cell Wall and Metal Binding" en "Biosorption of Heavy Metals" (1990). Volesky Bohumil Capítulo 2.1 83-92 CRC. Press. Boca Raton, E.U.A.
- Ross W. R. (1994). "The Phenomenon of Sludge Pelletisation in the Anaerobic Treatment of a Maize Processing Waste". *Water S. A.* 10:197-203.
- Rudd T., Karapanagiotis, N. Sterritt R., y Lester, J. (1989). J. "Extraction and Characterization of Extracellular Polymers in Digested Sewage Sludge". *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 44: 107-120
- Urrutia M., Fude L., Harris B., Beveridge T. (1994). "Reduction of Cr (VI) by consortium of sulphate-reducing bacteria (SRB III)". *Appl. Environmental Microbiology* 60(5): 1525-1531

- S.A.R.H. (1979). "Estudio del Impacto de Metales Pesados en el Recurso Hidráulico". Proyecto 8189 II etapa.
- SECOFI (1998). Datos ofrecidos por la Secretaria de Comercio y Fomento Industrial, a través del Sistema de Información Empresarial Mexicano <http://www.secofi-siem.gob.mx>
- SEDUE, Subsecretaria de Ecología (1984). "Curso sobre manejo y disposición final de residuos sólidos municipales". TOMO I. México.
- Schmidt J. E. y Ahring B. K. (1996). "Granular Sludge Formation in Up flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Reactors". *Biotechnology Bioengineering* 49:229-246.
- Stover R., y Silveria D. (1976). "Evaluation of Metals in Wastewater sludge". *J. WPCF* 48(9): 2165-2175.
- Tanaka Y. y Skoryna S. (1970). "Organic Macromolecular Binders of Metal Ions" en memorias del Laboratorio de Investigación Gastrointestinal de McGill University, Montreal, Canadá.
- Tebo B. M. (1995). "Metal Precipitation by Marine Bacterias: Potential for Biotechnological Applications", *Genetic Engineering*, 17:45-61.
- Tezuka Y. (1969). "Flocculation of Activated Sludge Bacteria". *Appl. Microbiol.* 2: 222-235.
- Tsezos M. y Volesky B., (1981). "Biosorption of Uranium and Thorium", *Biotech. and Bioeng.* 18:583-604
- Tsezos M. y Volensky B. (1982). "The Mechanism of Uranium Biosorption by *Rhizopus arrhizus*". *Biotechnol. and Bioeng.* 24: 385-401.
- Tsezos M. y Bell J.P. (1989). "Comparison of the biosorption and desorption of hazardous organic pollutants by live and dead biomass". *Wat. Res.* 23, 561-568.
- Van der Leeden F., Troise, Fred., y Keith, D. (1990). "The Water Encyclopaedia". 2º Edición. Editorial Lewis Publishers. E.U.A.
- Volesky Bohumil (1990). "Biosorption of Heavy Metals". CRC. Press. Boca Raton E.U.A.
- Volesky B., May H., Holan Z.R. (1993). "Communications to the editor: Cadmium biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*". *Biotechnol. and Bioeng.* 41: 826-829.
- Volensky B. y Prasetyo I. (1994). "Cadmium Removal in a Biosorption Column". *Biotechnol. and Bioeng.* 43: 1010-1015.
- Wallen L. L. y Davis E. N (1972). "Biopolymers of Activated Sludge". *Wat. Sci. Technol.* 6:161-164.
- Weber Jr (1972). "Adsorption in Physicochemical Processes for Water Quality Control", editado por W. J. Weber Jr y John Wiley and Sons, New York en Kappor A. y Viraghavan T. (1995). "Fungal Biosorption-an Alternative Treatment Option for Heavy Metal Bearing Waste Waters A review". *Biosource Technology* 53:195-206.
- Winkler Michael A (1994). "Tratamiento Biológico de Aguas de Desecho". Ed. LIMUSA. México
- Woese C. R. (1981). "Archaeobacteria". *Investigación y Ciencia* (edición española de *Sci. Amer.*), 59:48-61, Barcelona, España.

ANEXO A

ÍNDICE

		página
A-1	ADSORCIÓN	84
A-2	INTERCAMBIO IÓNICO	87
A-3	COMPLEJACIÓN	88

FENÓMENOS DE SUPERFICIE

A-1 ADSORCIÓN

A mediados del siglo XVIII se observó que en las interfaces de un sistema, la concentración de la sustancia en la superficie es mayor que en el volumen total. Sin considerar la magnitud y las características de las fuerzas que lo originan, a este fenómeno se le llamo *sorción* y en la sustancia en la cual se efectúa dicho fenómeno *sorbente*. Las investigaciones detalladas mostraron que la sorción abarca un grupo de fenómenos entre los cuales los más importantes son: la *absorción* y la *adsorción* (Aguilar, 1985).

La absorción se refiere al proceso que tiene lugar en el volumen del sorbente, y la *adsorción se refiere al proceso que se lleva a cabo en la superficie del sorbente*. En la adsorción la sustancia que se deposita en la interfase se llama adsorbato, y en la sustancia en cuya superficie se realiza el fenómeno, adsorbente.

Se ha observado que la adsorción se puede llevar en las interfases: líquido – líquido; líquido – gas; sólido – líquido y sólido – gas; siendo la interfase sólido – líquido de mayor interés para el tratamiento de aguas residuales.

Los principios de la adsorción se remontan a sistemas moleculares donde suceden fenómenos de "auto asociación", causado por distintas fuerzas propulsoras que contribuyen a obtener un estado de máxima entalpía. Existen bases suficientes para suponer que el fenómeno de la adsorción se debe a la no saturación de campos de fuerzas de la superficie del adsorbente, o dicho en otras palabras, es originado por un exceso de energía libre de la superficie. El grado relativo de insaturación determina el tipo de enlace que surge entre la partícula adsorbida y la superficie. Desde este punto de vista se diferencian dos tipos generales del fenómeno de la adsorción: la *quimisorción* y la *adsorción física*. Las diferencias en estas son:

- En la adsorción física sucede por interacciones con las nubes de electrones, por lo que el fenómeno es reversible (*desorción*). Por su parte, la quimisorción es poco reversible pues forma puentes químicos fuertes.
- La adsorción física no tienen sitios específicos, la química sí, permitiéndole a esta última, especificidad y direccionalidad.
- El calor que se requiere para la adsorción física es bajo, 1 a 8 Kcal/mol, en cuanto a la adsorción química se requiere de 8 a 200 Kcal/mol.

La quimisorción es un fenómeno que sucede en condiciones especiales, por lo sólo se analizará la adsorción física, que en adelante únicamente se denomina como Adsorción.

La adsorción puede ser representado por:



Las principales fuerzas que permiten que se lleve a cabo la adsorción pueden ser causadas por las llamadas interacciones dipolo - dipolo como los puentes de hidrógeno, o bien por las fuerzas de van der Waals (enlaces débiles que actúan siempre como atrayentes entre átomos y moléculas adyacentes no importando su similitud). En general, podemos decir que si la adsorción es entre no polares, las fuerzas involucradas son las de van der Waals e interacciones hidrófobas, mientras que para adsorciones polares se ven involucrados atracciones iónicas y puentes de hidrógeno, las cuales tienen cierta especificidad y direccionalidad.

En la calidad de la adsorción se involucran por parte del adsorbente el área superficial, el tamaño de poro y la química superficial, y por parte del adsorbato el peso molecular, el punto de ebullición y la polaridad. Asimismo se ha observado que los parámetros para mejorar la adsorción son: mayor concentración de adsorbato, mayor área superficial y, la menor cantidad de impurezas antes de iniciar el contacto del adsorbente con el adsorbato. No toda el área superficial de un adsorbente es favorable para todo adsorbato, ya que todo depende del tamaño y distribución de los poros del adsorbente que permiten o impiden la correcta difusión del adsorbato (Ver Figura A.1). Los poros han sido clasificados de acuerdo a su diámetro como microporos (< a 2 nm), mesoporos (2 - 50 nm) y macroporos (> 50 nm). Los poros son

un factor determinante para la adsorción ya que el 99% de los sitios activos para la adsorción se encuentran en el interior de la partícula (Cheremissinoff, 1993). En la química superficial, algunos autores han reportado que la presencia de oxígeno sobre la superficie del adsorbente disminuye sus propiedades.

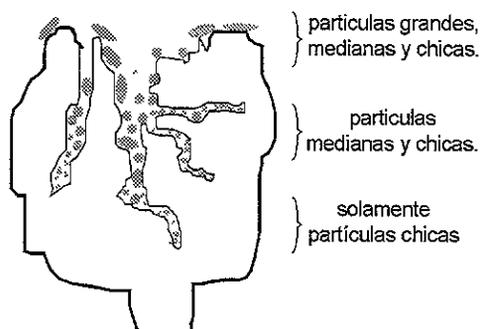


Figura A.1 Representación gráfica de una superficie porosa y sus diferentes diámetros de poro

La adsorción se lleva a cabo en 3 fases: una primera fase de transferencia del adsorbato a la capa del adsorbente, en la segunda se lleva a cabo la difusión a través de los poros del adsorbato y la tercera donde se lleva a cabo propiamente la adsorción de las moléculas por su superficie activa. Para estimar la velocidad de adsorción se toma en cuenta principalmente los dos primeras fases, ya que la adsorción en sí es un fenómeno que sucede de manera muy rápida (Winkler, 1985).

La adsorción sobre la superficie de muchos sólidos es pequeña, pero algunos materiales tales como alúmina activada, sílica gel o el carbón activado tienen gran capacidad de adsorción; estos materiales se caracterizan por ser sólidos porosos.

Existen tres métodos generales para la determinación experimental de la adsorción:

- Las *isobaras* (Concentración constante).
- Las *isosteras* (Constante las cantidades de adsorbato adsorbido).
- Las *isotermas* (Temperatura constante).

Las isotermas de adsorción han tomado mayor interés, debido al mejor control de sus variables. En ellas se ha observado que la adsorción no solo depende de la concentración del adsorbato sino también de la temperatura, por lo que la adsorción es función de la concentración a temperatura constante. Se enfatiza que la isoterma de adsorción refleja un proceso de equilibrio por el cual el adsorbato unido al adsorbente está en un estado de equilibrio con las especies iónicas en la solución, para lo que se requiere cierto tiempo. Las isotermas ofrecen entonces, la caracterización del equilibrio y la cinética del adsorbente para valorar el desempeño y el proceso al que será asignado el adsorbente.

La isoterma de adsorción es un método simple donde se grafica la cantidad de adsorbato adsorbido por gramo de peso del adsorbente (q), en mg/g ó mol/g contra la concentración en equilibrio del adsorbato (C_i) en g/l ó mol/l, entendiéndose por concentración residual, en equilibrio y/o final a aquella que se obtiene después de realizada la adsorción.

Las gráficas de las isotermas de adsorción son resultado de experimentos sencillos en donde se coloca el adsorbente en contacto con el adsorbato y se espera un tiempo adecuado para que se establezca el equilibrio. Se coloca en frascos una solución de adsorbato con un volumen (V) y una concentración (C_i), conocidas, se les agrega una cierta cantidad de adsorbente (M) y los frascos con esta suspensión son agitados hasta alcanzar el equilibrio (adsorción - desorción) a temperatura constante. Posteriormente se filtra para separar el adsorbente de la suspensión y la solución residual (C_f) se analiza para así conocer el adsorbato adsorbido por el adsorbente por medio de la fórmula:

$$q = \frac{(C_i - C_f) * V}{M}$$

donde:

- q = adsorbato adsorbido por unidad de masa de adsorbente.
- C_i = concentración inicial
- C_f = concentración final
- V = volumen de la solución
- M = masa del adsorbente

Así se obtiene un valor para determinada M y C_i, de q que se grafica contra C_f.

Varios modelos matemáticos de la adsorción han sido desarrollados. Los planteados por Freundlich, Langmuir y el de Branauer, Emmet y Teller (BET), las cuales llevan sus nombres, son entre otros los que mejor describen el fenómeno de la adsorción (Aguilar, 1985).

La isoterma de Freundlich fue al principio una ecuación empírica que posteriormente Weber (1972) desarrolló con base en ella una teoría que describe correctamente datos de la adsorción. La ecuación de Freundlich principalmente se relaciona con la capacidad del adsorbente por el adsorbato. La ecuación matemática que la expresa es:

$$q_e = KC_e^{1/n}$$

donde:

- q_e = x/m = cantidad adsorbida por masa unitaria de adsorbente
- K = constante relacionada con la capacidad del adsorbente por el adsorbato.
- C_e = la concentración de equilibrio de adsorbato en solución.
- 1/n = es una constante que refiere a la fuerza de adsorción.

Este modelo puede ser linealizado tomando los logaritmos naturales de ambos lados de la ecuación:

$$\ln q = \ln K + 1/n \ln C_e$$

*Recordando:
(y=mx+b.)
Ecuación de la línea recta*

La intersección del logaritmo K da una medida de la capacidad de adsorción y la pendiente 1/n nos muestra la intensidad de la adsorción.

Por su parte, la isoterma de Langmuir es una ecuación que describe la teoría de adsorción basándose en los siguientes postulados:

- La superficie del adsorbente es homogénea energéticamente.
- No hay interacción entre moléculas adsorbidas.
- La adsorción termina cuando se forma una monocapa.
- Las moléculas adsorbidas no se desplazan por el adsorbente.
- En condiciones dadas de concentración y temperatura alcanza el equilibrio.

La ecuación de Langmuir tiene las constantes b y q_{max} dónde la primera se relaciona con la energía de adsorción y la segunda con la concentración que se encuentra en la capa superior y que representa el máximo valor que puede alcanzar el valor de q_e. Esta ecuación se expresa:

$$q_e = \frac{q_{max} b C_e}{1 + b C_e}$$

La isoterma de BET se refiere a la adsorción en varias capas, dicha teoría postula un volumen de adsorción.

Es común encontrar múltiples divergencias a estos modelos; así por ejemplo la isoterma de Langmuir se refiere al caso ideal de la adsorción sobre una superficie homogénea, condición que no siempre se cumple, dado que las superficies reales son heterogéneas y además las moléculas adsorbidas interactúan entre sí. Podemos decir que esta isoterma es tan importante en la teoría de adsorción, como lo son las leyes de los gases ideales en la teoría cinética de

los gases. Sin embargo si queremos tomar en cuenta la heterogeneidad de la superficie y la interacción molecular, será necesario añadir factores de corrección que nos aporten datos más reales.

La isoterma de BET resulta compleja en cuanto al análisis de resultados e interpretación de los mismos, por lo que pierde popularidad en su aplicación. En cuanto la isoterma de Freundlich, como se mencionó anteriormente, se basa en resultados obtenidos experimentalmente y la base teórica que la respalda, además de su sencilla aplicación e interpretación hacen que esta isoterma sea ampliamente utilizada, pudiendo además comparar los resultados obtenidos con otros trabajos similares.

A-2 INTERCAMBIO IÓNICO

El intercambio iónico se considera como un proceso de sorción debido a que los grupos funcionales en los cuales ocurre el intercambio iónico (grupos ácidos o básicos) están en la superficie del sólido, y los iones móviles deben sufrir una transferencia desde la fase líquida a la superficie del sólido. El intercambio iónico es un proceso en el cual los iones están unidos por fuerzas electrostáticas a grupos funcionales cargados, situados en la superficie de un sólido y se cambian por iones de fuerza similar desde una solución en la cual el sólido está inmerso.

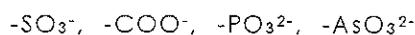
Uno de los factores importantes para que el proceso se lleve a cabo, es la solubilidad de la sustancia que se intercambiará durante el proceso, ya que cuanto más hidrofílica sea una sustancia menor es la posibilidad de trasladarse a la interfase para ser adsorbida (Pavón, 1995).

Con respecto a la cinética de intercambio, la velocidad depende de las velocidades relativas siguientes:

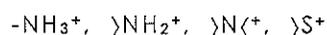
1. Transporte de los iones cambiables desde el volumen de la solución hasta la superficie externa del material poroso.
2. Transporte a través de una película o capa contigua a la superficie del material de intercambio
3. Transporte dentro de los poros internos de la partícula hacia los lugares de intercambio
4. Proceso real de intercambio
5. Transporte dentro de los poros internos de la partícula liberada desde los lugares activos hacia la capa contigua.
6. Transporte a través de la partícula o capa contigua, y
7. Transporte de los iones cambiados desde la superficie externa del material de intercambio hasta el volumen de la solución.

La velocidad de la reacción está controlada por los procesos de transporte (pasos 1 a 3 y 5 a 7). Ambos procesos son de carácter difusional, el primero se conoce como difusión de película y el segundo es llamado difusión de poro.

Existen en el mercado productos de intercambio iónico para remover de cuerpos de agua las partículas no deseadas, entre las que destacan las resinas sintéticas, las cuales su esqueleto, también llamado matriz, consiste de macromoléculas en tres dimensiones compuestas por hidrocarburos y otros compuestos como:



en el intercambio catiónico y,



en el intercambio aniónico.

Recientes investigaciones reportan a las zeolitas como materiales apropiados para realizar el intercambio iónico (Pavón, 1995); con la ventaja de que éstas frente a las resinas, presentan resistencia a la degradación química y térmica de la matriz.

A-3 COMPLEJACIÓN

Los *compuestos de coordinación* o *complejos* constan de uno o más átomos o iones centrales, casi siempre metales, rodeados por varios iones o moléculas llamados *ligandos* que están unidos a ellos. El complejo puede ser no iónico, catiónico o aniónico, dependiendo de las cargas del ion central y de los ligandos. Los ligandos están unidos a la especie central por enlaces covalentes coordinados en donde ambos electrones que participan en el enlace se derivan de los ligandos. Así, la especie central se puede considerar como un receptor de electrones y el ligando como un donador de los mismos. Como los iones metálicos tienen afinidad para aceptar electrones, todos ellos forman compuestos de coordinación. Las moléculas y los iones con pares de electrones libres tienden a formar complejos cuya resistencia es función de su capacidad para donar o compartir dicho par de electrones.

Los ligandos que se enlazan a un ion metálico central en un sólo punto como son H_2O , OH^- , Cl^- , CN^- , se llaman ligandos *monodentados*. Los ligandos que se fijan en uno o más sitios, son llamados *multidentados* o *agentes quelantes* (Ver Figura A.2). El complejo formado por un agente quelante y un ion metálico central es conocido como quelato.

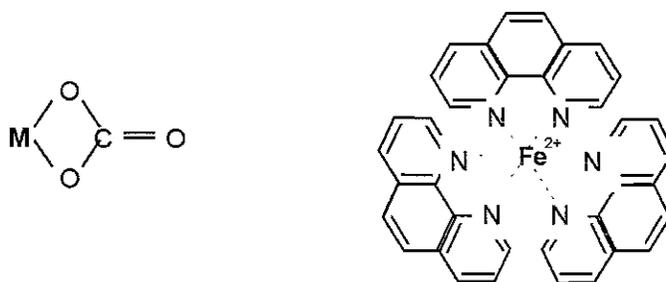


Figura A.2 Complejo bidentado con ligando de carbonato y complejo multidentado (agente quelante 1,10-fenantrolina).

Las velocidades de las reacciones de coordinación se caracterizan por los términos *lábil* (reacciones muy rápidas) o *inertes* (reacciones muy lentas), generalmente completándose las reacciones en segundos a las concentraciones típicas de las aguas naturales.

La formación de complejos es importante en la química de las aguas naturales y residuales desde diversos puntos de vista. Los compuestos modifican las especies metálicas en solución, por lo general reduciendo la concentración de iones metálicos libres, de modo que los efectos y propiedades se alteran. Los agentes quelantes son ampliamente utilizados en el análisis de aguas, como por ejemplo, el agente quelante EDTA^{4-} se emplea en la determinación de dureza a partir de la formación de complejos de los metales Ca^{2+} y Mg^{2+} . Otro ejemplo del uso de quelantes en el análisis de aguas es en la prueba volumétrica de Demanda Química de Oxígeno, (DQO) en la que se utiliza un agente formador de complejos, la 1,10-fenantrolina para detectar la presencia del Fe^{2+} y así indicar el punto final de la prueba.

ANEXO B

ÍNDICE

		página
B	LA PARED CELULAR BACTERIANA	90
B-1	LA PARED CELULAR DE LAS BACTERIAS GRAM-POSITIVAS	90
B-2	LA PARED CELULAR DE LAS GRAM NEGATIVAS	91
B-3	LA PARED CELULAR DE ARQUEOBACTERIAS	91
B-4	CAPAS SUPERFICIALES DE LAS BACTERIAS	91

PARED CELULAR

B LA PARED CELULAR BACTERIANA

Un componente celular importante es la pared celular, que es una estructura distintiva de las bacterias, que les confiere soporte mecánico y que permite que la membrana resista la alta presión osmótica interna originada por la elevada concentración de metabolitos.

La pared celular bacteriana ha recibido mucha atención desde el descubrimiento de los antibióticos. Consecuentemente una serie de trabajos han sido realizados con la finalidad de conocer la estructura química y conocer la biosíntesis de la pared bacteriana. La estructura primaria de la pared celular bacteriana ha sido descrita en los primeros trabajos de Salton y Ghuyssen, en la década de los 40's; algunos años después la biosíntesis comienza a ser comprendida (Remacle, 1995).

La pared celular bacteriana presenta características comunes a los tres principales grupos de paredes celulares que pueden ser distinguidos, basándose en el grado de importancia del peptidoglicano y las capas adyacentes: las bacterias Gram positivas, las bacterias Gram Negativas y las arqueobacterias (Ver Figura B.1). No es fácil determinar el límite externo de la pared celular. Shockman y Barret consideran que la pared celular está compuesta de peptidoglicanos con enlaces covalentes moleculares. Esta definición no considera, entre otros constituyentes, los exopolisacáridos y el material capsular, si bien este último puede estar unido por enlaces covalentes a los peptidoglicanos.

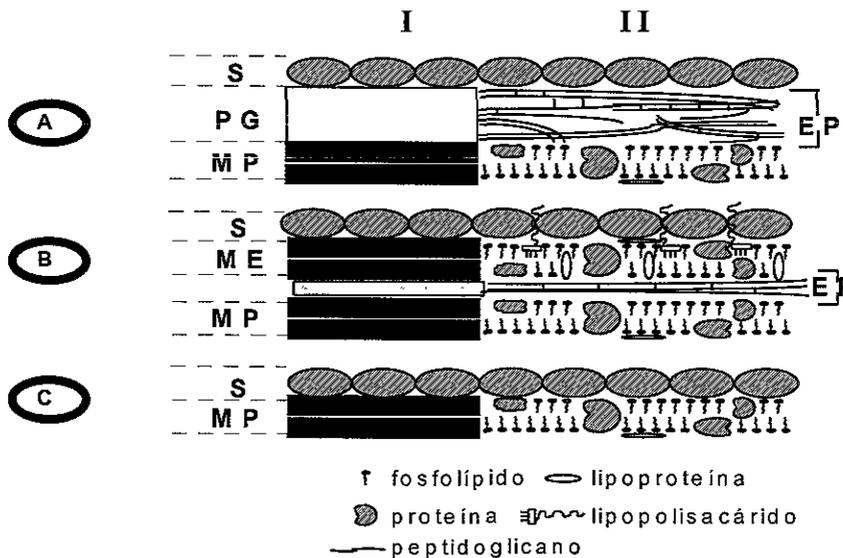


Figura B.1 Esquema de las distintas envolturas celulares bacterianas: (I) Perfil de la bacteria. (II) Arquitectura molecular, mostrando los principales componentes: **A** envoltura de células Gram - positivas; **B** envoltura de Gram-negativas; **C**. Estructura de envoltura celular carente de un componente de estructura rígida. (**ME**, membrana externa; **PG**, capa de peptidoglicano; **MP**, membrana plasmática, **EP** espacio periplasmático; **S** capa superficial). (Adaptado de: Remacle, 1995)

B-1 LA PARED CELULAR DE LAS BACTERIAS GRAM-POSITIVAS

La pared celular de las bacterias Gram positivas tienen un grosor de 50 a 150 nm y está principalmente compuesta de peptidoglicanos (40 al 90%). El peptidoglicano es un material rígido, poroso y amorfo, el núcleo de estas es muy similar en todas las bacterias. La estructura tridimensional difiere de la estructura cristalina de la quitina. La molécula de peptidoglicano generalmente consiste de cadenas de los disacáridos *N*-acetilglucosamina- β -1, 4-ácido acetil murámico. Debe notarse que la *N*-acetilglucosamina es también el principal constituyente de la quitina. Las cadenas de péptidos usualmente de 4 a 5 aminoácidos, son sustituidas en el grupo carboxil por el ácido murámico. La presencia de la forma D-isomérica de ciertos aminoácidos es una característica importante. Las unidades de péptido-disacáridos están unidas por enlaces peptídicos. Este patrón general de los diversos tipos de peptidoglicanos, depende por ejemplo, de la naturaleza y localización de los enlaces peptídicos. Los peptidoglicanos consisten de diversas capas unidas por grupos aniónicos y estas son altamente permeables a moléculas de peso molecular entre 1 200 y 70 000 daltons debido a su estructura entramada.

La regeneración de los peptidoglicanos se lleva a cabo por la síntesis continúa de unidades de peptodisacáridos en el citoplasma.

La pared celular de este tipo de bacterias es compuesta por diversas capas enlazadas por grupos aniónicos; dos constituyentes principales de la pared enlazados covalentemente a los peptidoglicanos contribuyen a la propiedad aniónica de la pared, los ácidos teicóicos y los teicurónicos. Los ácidos teicóicos son compuestos de 30 a 40 moléculas de glicerol y residuos de fosfato ribitol. Grupos éster (glicosil y D-alanina) son enlaces de la cadena lineal de los ácidos teicóicos, los cuales están ligados al ácido N-acetil murámico del peptidoglicano por un grupo fosfato. Los ácidos teicurónicos son libres de fosfato y están constituidos de cadenas lineales de ácidos hexurónicos. La proporción de ácidos teicóico y teicurónico dependen de las condiciones ambientales. Los ácidos teicóicos y teicurónicos pueden participar en el atrapamiento de metales, siendo su papel fisiológico proveer magnesio a la membrana plasmática.

B-2 LA PARED CELULAR DE LAS GRAM NEGATIVAS

La pared celular de las bacterias Gram negativas parece ser más delgada que la de las cepas Gram positivas. Esta es usualmente de 30 a 80 nm de grosor. El peptidoglicano se encuentra emparedado entre la membrana plasmática y una membrana externa, esto diferencia a los peptidoglicanos de las Gram positivas por diversas características. El grosor de la capa de peptidoglicanos es de 15 a 20 nm siendo aproximadamente el 10% de la pared celular. Sólo un tipo de enlace peptídico ocurre entre las cadenas de glicanos. La membrana externa está compuesta de una capa de lipopolosacáridos (LPS) y de proteínas y de fosfolípidos. El magnesio contribuye a mantener la estabilidad química. La carga negativa de la superficie de las Gram negativas resulta principalmente de la carga neta negativa de los LPS. La membrana externa contribuye al soporte de unión entre los peptidoglicanos enlazándolos con las lipoproteínas por puentes iónicos mediados por cationes bivalentes tales como magnesio y calcio. Los solutos no pueden atravesar fácilmente la membrana externa los fenómenos de transferencia ocurren principalmente a través de canales formados por proteínas específicas, los *porins*. Estos canales permiten el flujo de moléculas de peso molecular de 600 a 6000 daltons.

B-3 LA PARED CELULAR DE ARQUEOBACTERIAS

Existe un grupo de organismos que comparte la habilidad de crecer en ambientes extremos así como en ambientes fisiológicos y bioquímicos comunes. Estos organismos poseen características tanto de células eucariotas como de células procariotas, siendo estos organismos denominados como Arqueobacterias (Woese, 1982). Las paredes celulares de las arqueobacterias carecen de ácido murámico, un constituyente típico de las paredes celulares de las eubacterias. Una célula arqueobacteria Gram positiva, esta rodeada por una pared celular que contiene pseudomureína, metanocondeína o heteropolisacáridos. Sin embargo, diversos tipos de paredes celulares han sido descritas para las arqueobacterias Gram negativas. En general la pared celular es sencilla, está compuesta de cualquiera de las capas superficiales de proteínas o glicoproteínas, o bien por una capa de envoltura celular, donde las células se encuentran encerradas en una vaina tubular.

B-4 CAPAS SUPERFICIALES DE LAS BACTERIAS

Las células de algunas cepas bacterianas que pertenecen ya sea a las Gram positivas, Gram negativas y/o arqueobacterias, son algunas veces cubiertas por una capa no covalente asociada con la pared celular denominada *capa S*, las cuales se asume que son de vital importancia para la supervivencia de la bacteria en ambientes "naturales", pero más frecuentemente estas capas son desarrolladas en subcultivos de laboratorio. La *capa S* está usualmente compuesta de series regulares de polipéptidos homogéneos y algunas veces de carbohidratos como un componente secundario. Los polipéptidos están hechos principalmente de aminoácido ácido, confiriéndole una propiedad aniónica a la pared celular.

ANEXO C

ÍNDICE

	página
C-1 TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE POLÍMEROS EXTRACELULARES (EPC)	93
C-2 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS	94
C-3 ÍNDICE VOLUMÉTRICO DE LODO (IVL) Y VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN	96
C-4 PRUEBAS DE ACTIVIDAD METANÓGENA ESPECÍFICA AL ÁCIDO ACÉTICO Y NUMERO MÁS PROBABLE DE BACTERIAS (NMP)	97
C-5 DETERMINACIÓN DE FENOLES EN SOLUCIÓN	103
C-6 DETERMINACIÓN DE METALES Pb Y Cr POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.	104
C-7 ESPECIACIÓN DE METALES	105

TÉCNICAS ANALÍTICAS

C-1 TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE POLÍMEROS EXTRACELULARES (EPC)

Existen diversos métodos para extraer y caracterizar a los polímeros extracelulares (EPC) de los microorganismos; entre los que destacan la vaporización (Wallen y Davis, 1972); la obtención por centrifugación (Pavoni *et al.*, 1972); la obtención por procesos alcalinos (Sato *et al.*, 1980); y la extracción etílica (Foster, 1983); entre algunos otros. Esta gama de técnicas indica que no se cuenta con un método universal para la extracción de EPC, pues existe una gran variación en la obtención de los resultados al aplicar las diferentes técnicas. Sin embargo, Goodwin (1988), quién hizo estudios comparativos entre las distintas técnicas de extracción, indica que cualquier método puede ser utilizado si la técnica es adecuadamente reportada.

El método que se utilizó en el presente trabajo es descrita por diversos autores, Foster y Lewin, (1972); Brown y Lester (1980); quienes la utilizan en consorcios bacterianos aerobios (lodos activados) y Morgan (1990) quien lo utiliza con éxito en biomasa granular anaerobia. Dicha técnica se basa en la extracción térmica de los EPC y su posterior precipitación con solventes. Para tal efecto los microorganismos se someten a un medio hipertónico evitando de esta manera, que la extracción térmica rompa las membranas celulares y se cuantifique material intercelular, después se someten a una temperatura que desnaturaliza los EPC para a continuación separarlos de la biomasa por centrifugación diferencial para su posterior análisis.

A continuación se describe la técnica; cabe señalar que para los fines del presente trabajo sólo se realizó la obtención de los EPC totales, por lo que se realizó hasta el punto número 5 de la siguiente técnica normalizada a nuestras condiciones de laboratorio.

Material y Equipo:

- Cloruro de Sodio, Cloruro de potasio y Cloruro de Calcio
- Centrifuga
- Tubos de centrifuga.
- Sistema para baño María – parrilla, vasos, agua, termómetro, otros.
- Pipeta volumétrica.

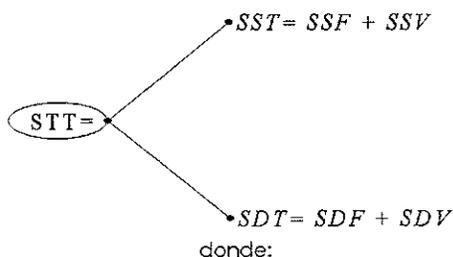
Descripción de la técnica:

1. Se obtuvo en un vaso de precipitados un cierto volumen de la biomasa granular anaerobia.
2. Se centrifugó a una velocidad de 2000 rpm por 15 minutos y se desechó el sobrenadante, para obtener la biomasa concentrada.
3. Durante una hora, se resuspendió en una solución Ringer* concentrada a $\frac{1}{4}$ (solución hipertónica) por una hora para reducir posibles lisis bacteriana al plasmolizar las células. En este punto se realizó una determinación de la concentración de sólidos (dato A).
4. En pruebas por triplicado se colocaron 10 ml de biomasa en tubos de centrifuga, se taparon los tubos y se pusieron a baño María a 80° C por 1 hora, según lo sugiere Goodwin (1988).
5. Después del tratamiento térmico, se centrifugó por 15 minutos a 3000 rpm para sedimentar la biomasa. Se colocó el sobrenadante con los EPC en un nuevo tubo y se resuspendió la biomasa con agua destilada en el mismo volumen del licor con EPC que se le retiró. De esta suspensión se determinaron nuevamente los sólidos (dato B) y se establece por diferencia de peso (dato A- dato B), el rendimiento total EPC obtenidos.
6. Para cualificar los EPC obtenidos en el sobrenadante, se precipitan en acetona y etanol (3:1) y se deja reposar por 12 horas a 10° C.
7. El precipitado es concentrado por ultracentrifugación a 15 000 rpm por 15 minutos. Se tira el sobrenadante y se rehidrata el precipitado lavándolo con acetona y éter de petróleo antes de iniciada la caracterización. Para la cuantificación de carbohidratos se puede seguir la metodología propuesta por Dubois *et al.* (1956) y para la determinación de proteínas se puede seguir el método de Lowry *et al.* (1951).

* Solución fisiológica de Ringer (farmacopea británica)			
Na ⁺	147mmol/l	CINa	8.60 g/l
Ca ⁺⁺	2.5 mmol/l	CK	0.30 g/l
K ⁺	4.0 mmol/l	Cl ₂ Ca	0.33 g/l
Cl ⁻	156 mmol/l	solución isotónica	

C-2 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS

La siguiente técnica gravimétrica es aplicada según los lineamientos de Standard Methods para la examinación de aguas y aguas residuales (APHA, 1989); donde se especifica que Sólidos Totales Totales (STT), es la expresión que se aplica a los residuos de material que quedan en un recipiente después de la evaporación de una muestra y su consecutivo secado en la estufa a temperatura definida. Los STT incluyen a los sólidos suspendidos totales (SST) porción de sólidos retenida por un filtro y a los sólidos disueltos totales en la solución (SDT).



- donde:
- SST = Sólidos Totales Totales.
 - SST = Sólidos Suspendidos Totales.
 - SSF = Sólidos Suspendidos Fijos.
 - SSV = Sólidos Suspendidos Volátiles.
 - SDT = Sólidos Disueltos Totales
 - SDF = Sólidos Disueltos Fijos
 - SDV = Sólidos Disueltos Volátiles

La técnica que se presenta en este trabajo sirve para determinar sólidos suspendidos, donde los sólidos fijos (SF), es la expresión aplicada al residuo de sólidos totales (ST), después de someterse a ignición durante un tiempo determinado y a una temperatura específica, la pérdida de peso por ignición corresponde a los sólidos volátiles (SV).

El tipo de soporte del filtro, el tamaño del poro, el área y el espesor del filtro, así como la naturaleza física y tamaño de partículas son los factores que afectan a la obtención de los sólidos.

La técnica de obtención de sólidos aporta datos sobre la cantidad de materia orgánica, a través de los SV, como puede ser la biomasa y la cantidad de las sales minerales a través de los SF.

Material y Equipo :

- Filtros GF-A de fibra de vidrio.
- Desecador provisto de material desecante.
- Estufa
- Muffa
- Sistema de vacío -- filtro millipore y matraz Kitasato-
- Laminillas de aluminio para filtros GF-A
- Pinzas de disección para tomas los filtros
- Demás cristalería

Descripción de la técnica:

Preparación de Filtros

1. Se monta sobre un sistema de vacío, un filtro tipo GF-A, donde se hace pasar 10 ml de agua destilada para lavar el filtro; posteriormente se coloca sobre una laminilla (charola) de aluminio.
2. Se introduce a la mufia a 550° C durante una hora, con la finalidad de llevarlos a peso constante
3. Inmediatamente después se colocan durante 15 minutos en la estufa (103° C) para bajar la temperatura paulatinamente. El filtro se transfiere a un desecador, provisto de un desecante, para que se termine de enfriar.

Determinación de sólidos suspendidos totales, fijos y volátiles

1. Los filtros se sacan de las laminillas y se pesan (dato M). Para todos los pesos que se realicen la laminilla y el filtro deben de estar a peso constante.
2. Los filtros pesados, se colocan en el sistema de vacío, se toma una muestra de la biomasa, en un volumen conocido y se filtra para después colocarlos en las laminillas.
3. Las laminillas con los filtros se pasan a la estufa (103° C) durante una hora, permitiendo la evaporación de agua inter e intracelular. sacar y enfriar en el desecador, para posteriormente pesar los filtros nuevamente (dato N).

Cálculo para obtener SST en mg/l:

$$mg\ de\ SST/l = \frac{(N - M) \times 1000}{volumen\ de\ la\ muestra}$$

donde:

- M = Peso constante del filtro.
- N = Peso cte. del filtro + mg de muestra
- SST = Sólidos Suspendidos Totales.

4. Después de haber pesado, introducir a la mufia (550° C), previo paso por la estufa, los filtros durante 30 minutos.
5. Inmediatamente después se colocan durante 15 minutos en la estufa (103° C) para bajar la temperatura paulatinamente. El filtro se transfiere a un desecador, provisto de un desecante, y se pesa el filtro (dato P).

Calculo para obtener SSF en mg/l:

$$mg\ de\ SSF/l = \frac{(P - M) \times 1000}{volumen\ de\ la\ muestra}$$

donde:

- M = Peso constante del filtro.
- P = Peso cte. del filtro + mg de muestra después de la mufia.
- SSF = Sólidos Suspendidos Fijos.

Calculo para obtener SSV:

$$SSV = SST - SSF$$

donde:

- SSV = Sólidos Suspendidos Volátiles.
- SST = Sólidos Suspendidos Totales.
- SSF = Sólidos Suspendidos Fijos.

C-3 ÍNDICE VOLUMÉTRICO DE LODO (IVL) Y VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN

El IVL es una prueba que valúa la capacidad de compactación o sedimentación de los denominados lodos activados y/o de la biomasa granular anaerobia. Este se define como el volumen que ocupa un gramo de biomasa después de sedimentar durante un cierto tiempo (30 minutos), expresado en unidades de ml/g de SST.

La velocidad de sedimentación indica la rapidez en la que biomasa se sedimenta y es expresada en m/h. Dichos valores aportan datos importantes para conocer el comportamiento de la comunidad microbiana granular anaerobia dentro de un UASB, como se explica en el apartado 2.4.1.

Material y Equipo :

- Probeta de vidrio de 250 ml
- Cronómetro
- 50 ml de biomasa granular
- Agua destilada
- Papel parafilm
- Hoja de calculo

Descripción de la Técnica:

1. Colocar los 50 ml de la biomasa en la probeta de 250 ml y aforar con efluente clarificado del propio reactor o con agua destilada.
2. Tapar la probeta con papel parafilm y homogeneizar la biomasa y el agua invirtiendo rápidamente dos veces la probeta.
3. Inmediatamente después colocar la probeta en una superficie plana y registrar el volumen de biomasa sedimentada con respecto al tiempo. El tiempo cero corresponde al volumen ocupado por la suspensión de granos y agua (250 ml).
4. Se registra el volumen que ocupa la columna de granos cada 15 seg. durante los primeros 2 min y cada 3 a 5 min posteriormente, hasta completar 30 min.
5. Se listan los datos de tiempo donde se realizaron las mediciones contra el volumen que ocupan los granos.

Con estos datos se procede a calcular el IVL y la Velocidad de Sedimentación.

Índice Volumétrico de Lodos IVL

El IVL se calcula aplicando la siguiente fórmula:

$$IVL = \frac{Vb_{30}}{SST}$$

donde:

- IVL = Índice Volumétrico de Lodos.
- Vb_{30} = Volumen de biomasa expresado en ml después de transcurrido los 30 min.
- SST = masa en gramos de SSV introducidos a la probeta (conc. SST X volumen introducido)

Velocidad de Sedimentación

1. Se calcula el área transversal de la probeta con que se determinó el IVL.

$$A = \pi r^2$$

donde:

A = Área de la boca de la probeta.
 π = Valor constante.
r = radio

2. Se gráfica los datos y se traza una recta tangente a la curva donde la pendiente es más pronunciada, que es donde se tiene la mayor velocidad de sedimentación. Con esta línea tangente (línea de tendencia) se calcula la pendiente.

3. La pendiente de esta recta corresponde a la velocidad máxima de sedimentación.

4. Las unidades, cm^3/min una vez divididas por área transversal de la probeta en cm^2 , y aplicando factores de conversión, se reportan en m/h considerando que:

$$\begin{aligned} 1 \text{ ml} &= 1 \text{ cm}^3 \\ 60 \text{ min} &= 1 \text{ h} \\ 100 \text{ cm} &= 1 \text{ m} \end{aligned}$$

C-4 PRUEBAS DE ACTIVIDAD METANÓGENA ESPECÍFICA AL ÁCIDO ACÉTICO Y NÚMERO MÁS PROBABLE DE BACTERIAS (NMP)

La actividad metanógena específica, se midió en el presente trabajo utilizando la metodología basada en la técnica expuesta por Moreno (1991) para medir la producción de gas metano a partir de un sustrato determinado y el NMP se basa en las técnicas descritas (Balch *et al.*, 1979 y Hungate, 1969) los cuales son adaptados para biomasa granular anaerobia por Moreno, 1994.

Ambas técnicas utilizan sustratos y soluciones en común, los cuales son descritos a continuación:

- 1 Composición de las soluciones y sustratos para el cultivo de bacterias anaerobias

1.1 Soluciones de minerales y vitaminas

La preparación de las soluciones minerales se lleva a cabo en condiciones aerobias y con agua destilada preservando a 4°C .

1.1.1	Solución mineral 1 (1000 ml)	
	KH_2PO_4	6.0 g
1.1.2	Solución mineral 2, con sulfatos (1000 ml)	
	Balch <i>et al.</i> , (1979)	
	KH_2PO_4	6.0 g
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	6.0 g (45.4 mM)
	NaCl	12.0 g
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$	2.6 g (10.55 mM)
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$	0.16 g
	CaCl_2 (cuando no hay la anterior)	0.12 g
1.1.3	Solución mineral 2, sin sulfatos (1000 ml)	

Balch <i>et al.</i> , (1979)		
	KH ₂ PO ₄	6.0 g
	(NH ₄)Cl	2.4 g
	NaCl	12.0 g
	MgCl ₂ · 6 H ₂ O	2.1 g
	CaCl ₂ · 2 H ₂ O	0.16 g
	CaCl ₂ (cuando no hay la anterior)	0.12 g
1.1.4	Solución de vitaminas (1000 ml)	
Balch <i>et al.</i> , (1979)		
	Biotina	2.0 mg
	Ácido fólico	2.0 mg
	Piridoxina HCl	10.0 mg
	Tiamina HCl	5.0 mg
	Riboflavina	5.0 mg
	Ácido nicotínico	5.0 mg
	D. L. Pantotenato de Ca	5.0 mg
	Vitamina B ₁₂	0.1 mg
	Ácido p - aminobenzóico	5.0 mg
	Ácido lipóico	5.0 mg
1.1.5	Solución de oligoelementos (1000 ml)	
Balch <i>et al.</i> , (1977)		
	Ácido nítricoacético	1.5 ml

Ajustar el pH a 6.5 con KOH antes de agregar los siguientes minerales

MgSO ₄ · 7 H ₂ O	3.0 g
MnSO ₄ · H ₂ O	0.5 g
NaCl	1.0 g
FeSO ₄ 7 H ₂ O	0.1 g
CoSO ₄	0.1 g
CoCl ₂ (cuando no hay la anterior)	0.1 g
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	0.1 g
ZnSO ₄	0.1 g
CuSO ₄ 7 H ₂ O	0.01 g
AlK(SO ₄) ₂	0.01 g
H ₃ BO ₃	0.01 g
Na ₂ Mo ₄ 2 H ₂ O	0.01 g

1.2 Sustratos y solución reductora

1.2.1 Sustratos para la determinación del NMP

La preparación de los sustratos requeridos se lleva a cabo colocando en un tubo tipo Hungate lo siguiente:

Ácido butírico:	1 ml del ácido y una lenteja de NaOH
Ácido propiónico:	1 ml del ácido más una lenteja de NaOH
Glucosa:	2.5 g de dextrosa

Procedimiento

- Los tubos se tapan con tapón rosca y septo de hule; en el septo se colocan dos agujas antes de meter a la precámara anaerobia con el propósito de permitir el cambio de atmósferas dentro del tubo.
- Poner a reducir aproximadamente 300 ml de agua destilada bajo una corriente de nitrógeno. Punto 4 del procedimiento para preparar Medio General (Ver más adelante)

3. Dejar enfriar y colocar en la pre - cámara.
4. Dentro de la cámara anaerobia poner 9 ml de agua reducida a cada tubo de los ácidos butírico y propiónico y 10 ml a los tubos de glucosa.
5. Tapar cada tubo con tapón de rosca y septo, sacar y esterilizar 15 minutos a 15 lb/pulg². Estos sustratos deben almacenarse a 4° C.

1.2.2 Solución de sulfuro de sodio

Concentración aproximada al 2.5% de Na₂S, la cual se utiliza para reducir el medio al momento de inocularlo

Preparación

1. A poco más de 100 ml de agua destilada, agregar 1 lenteja de NaOH.
2. Reducir y enfriar bajo corriente de nitrógeno.
3. Aparte, en un frasco, lavar 3 g de Na₂S con agua destilada con agua destilada. Checar que queden 2.0 a 2.5 g, de Na₂S.
4. Agregar el Na₂S al agua reducida y fría, retirar la corriente de nitrógeno y tapar.
5. En la cámara anaerobia repartir la solución en 10 tubos con ml en cada uno.
6. Esterilizar a 5 lb/pulg² durante 15 minutos

1.2.3 Sustratos para la actividad metanógena específica

Se colocan:

Ácido propiónico:	0.557 ml y dos lentejas de NaOH
Ácido butírico:	0.697 y dos lentejas de NaOH
Ácido acético:	0.30 ml y dos lentejas de NaOH

El procedimiento de preparación es el mismo que para los sustratos de enumeración bacteriana, pero adicionar 14.4, 14.30 y 9.7 ml de agua reducida a los tubos de propiónico, butírico y acético respectivamente. En el presente trabajo sólo se realizó la actividad metanógena específica al acético.

2 Preparación de los medios de cultivo anaerobios

2.1 Medio general

Cantidades para preparar 1000 ml del medio general.

Solución mineral 1	50.0 ml
Solución mineral 2*	50.0 ml
Solución de oligoelementos	10.0 ml
Solución de vitaminas	10.0 ml
Rezarzurina (0.1 %) en agua destilada	1.0 ml
Extracto de levadura	1.0 g
Peptona de caseína	1.0 g
Bicarbonato de sodio	3.0 g
Sol. FeSO ₄ · 7 H ₂ O (2%)	1.0 ml
Sol. NiCl ₂ (5 mg/100 ml)	10.0 ml
Cisteína	0.5 g

*con sulfatos o cloruros dependiendo del grupo bacteriano

2.2 Medio para bacterias acetoclasticas, fermentativas e hidrogenofilicas

Se utiliza medio general, pero se emplea la solución mineral 2 con sulfatos. En el caso de las bacterias acetoclásticas se adiciona además 5.0 g/l de acetato de sodio, antes de comenzar a reducir el medio de cultivo.

2.3 Medio para bacterias sintróficas consumidoras de propionato y butirato (OHPA_F y OHPA_B)

En este caso se emplea el medio mineral 2 sin sulfatos.

Procedimiento

1. Colocar los reactivos del medio general excepto la cisteína en un matraz de 1000 ml. Aforar con agua destilada.
2. Repartir el medio en dos matraces de 1000 ml, adicionar un excedente de 150 a 200 ml de agua destilada a cada matraz.
3. Colocar dentro de cada matraz una jeringa sin aguja, conectada con manguera a un sistema distribuidor de gas (Manifold) mantener la jeringa por encima del nivel del líquido y tapar con papel de aluminio.
4. El medio se pone a calentar y una vez que comienza a bullir se introduce la jeringa a una altura aproximada de 1.5 cm por debajo del nivel del líquido con una corriente de nitrógeno constante hasta que el medio vire de color rosa a incoloro (reducción completa).
5. Se procura mantener en caso necesario, el volumen requerido con agua destilada hasta la completa reducción del medio.
6. Reducido el medio, se enfría en un recipiente con agua manteniendo la corriente de nitrógeno, una vez tibio, (aproximadamente a 30° C), se agrega la cisteína dejándola resbalar por las paredes del matraz rápidamente. Evitar en lo posible, la introducción de aire, tapar y burbujear con la corriente de nitrógeno durante 10 minutos.
7. Quitar la corriente de nitrógeno y tapar con tapón de hule, sellando el perímetro del matraz con parafilm y/o cinta adhesiva.
8. Introducir a la cámara anaerobia los medios, tubos de cultivo y el equipo necesario para su dosificación.
9. En la cámara poner 5 ml de medio a cada tubo y 9 ml en los tubos de dilución.
10. Fuera de la cámara anaerobia, cambiar atmósferas a los medios utilizando un sistema distribuidor de gases, con la mezcla requerida durante dos minutos. Una vez introducida la corriente de gas, se coloca otra aguja que servirá para la evacuación de la atmósfera interna. Las mezclas de gas de acuerdo al grupo bacteriano son las siguientes:

Hidrogenofílicas: H₂ - CO₂ (20% - 80%)

Fermentativas, acetoclásticas

OHPA_B y P y SR: N₂ - CO₂ (20% - 80%)

11. Esterilizar 15 minutos en autoclave a 15 lb/pulg² y comprobar el pH final (≈ 6.8 - 7.5)
12. Guardar en la cámara anaerobia hasta el momento de inocular.

2.4 Medio para bacterias sulfato - reductoras (SR)

Cantidades para preparar 1000 ml de medio.

Solución mineral 1	100.0 ml
Solución mineral 2* con sulfatos	100.0 ml
Rezarzurina	1.0 ml
Extracto de levadura	1.0 g
FeSO ₄ · 7 H ₂ O (2%)	0.50 g
Sol. de ácido láctico neutralizado*	8.5 ml
Cisteína	0.25 g

* A 100 ml de ácido láctico se le agrega una lenteja de NaOH, se disuelve y posteriormente se ajusta pH con una solución de NaOH al 0.1 M

Procedimiento

1. Colocar todas las sustancias en un matraz incluyendo la cisteína.
2. Adicionar aproximadamente 300 ml de H₂O destilada y medir el pH, que generalmente es ácido, ajustar con una solución de NaOH 0.01 M, a un pH de 7.8.
3. Aforar a 1000 ml.
4. Reducir el medio de la misma forma que el medio general, hasta obtener condiciones reductoras.
5. Enfriar el medio en baño de agua manteniendo la corriente de nitrógeno. Una vez frío, medir pH y ajustar a 7.8, tapar y meter a la cámara anaerobia para su dosificación en tubos.
6. Una vez dosificados, esterilizar 15 minutos en autoclave.
7. Comprobar que el pH se encuentre en un intervalo de 6.8 a 7.5. Si el pH no se encuentra en este intervalo los medios no podrán ser utilizados para las pruebas.

*El ácido láctico se neutraliza agregando NaOH 1 M. Y cuando se encuentre cerca de pH 7 se ajusta con la solución de sosa a 0.1 M.

3 Metodología para la inoculación (NMP)

3.1 Preparación de diluciones de la muestra de biomasa granular

1. Introducir la muestra de biomasa a la cámara anaerobia. Macerar la muestra con un macerador de tejidos y vaciar en un recipiente pequeño.
2. Preparar diluciones de la biomasa en tubos con 9 ml de medio general de la siguiente manera: tomar 1 ml de lodo con jeringa estéril y aguja hipodérmica de 23 x 25 mm, inyectar en el tubo marcado como 10⁻¹ y agitar. Con otra jeringa estéril, tomar 1 ml de esta dilución e inyectarla al tubo marcado como 10⁻², seguir así sucesivamente, hasta terminar con la última dilución.

3.2 Inoculación de medios (NMP con 5 tubos -repeticiones- por dilución)

1. Inocular entre dos mecheros para asegurar condiciones asépticas.
2. Fuera de la cámara anaerobia flamear el septo de los tubos con alcohol.

3. Adicionar 0.1 ml de la solución de Na₂S a cada tubo purgando con nitrógeno entre cada adición.
4. Agregar 0.1 ml del sustrato requerido (glucosa, ácido butírico o ácido propiónico) lo más rápidamente posible, purgando la jeringa entre cada toma de sustrato. Utilizar una jeringa para cada sustrato. La inoculación de las bacterias fermentativas deberá hacerse necesariamente entre dos mecheros.
5. Con otra jeringa agregar 0.2 ml de la dilución requerida, empezando por la máxima; purgar con nitrógeno y agitar la dilución en un vortex entre cada toma de muestra.
6. Si se desconoce totalmente la muestra, trabajar con 10 diluciones, en caso contrario inocular por lo menos 6 diluciones por muestra.
7. Agitar los tubos e incubarlos a 35° C durante 1 ó 1.5 meses a excepción de las fermentativas que se incuban sólo una semana.
8. Las bacterias hidrogenófilas deben incubarse horizontalmente y alimentarse cada tercer día mediante la introducción de una corriente de CO₂ - H₂ sin colocar aguja para desalojo de gas.

La caracterización distintiva de crecimiento es la producción de metano que se cualifica por cromatografía de gases, a excepción de las bacterias fermentativas en donde se registra turbiedad en el medio.

3.3 *Inoculación de bacterias sulfato - reductoras*

1. Seguir la metodología anteriormente descrita, sin adicionar Na₂S ni sustrato, pues ya está incorporado en el medio.
2. Incubar a 35° C durante una semana.

La característica de crecimiento le da una coloración negra del medio por la formación de FeS.

3.4 *Preparación de botellas (Actividad Metanógena)*

1. Colocar 16 ml de medio general sin sulfuros en frascos de tipo antibiótico dentro de la cámara anaerobia, tapar con septo de hule. La prueba para acético se corre individualmente (a diferencia del propiónico y butírico, donde se usa la misma botella).
2. Fuera de la cámara anaerobia se colocan sellos de aluminio y se hacen cambios de atmósfera con una mezcla de N₂ - CO₂ durante 2 min.
3. Se esterilizan las botellas a 15 lb/plg² durante 15 min

Procedimiento de análisis (actividad Metanógena)

1. Se deja la muestra de biomasa durante 24 hrs. al vacío en la precámara con el objeto de abortar los sustratos residuales.
2. En las botellas con medio, dentro de la cámara anaerobia, se les adiciona 0.4 ml de Na₂S, purgando la jeringa con N₂.
3. Se adiciona 4 ml de la biomasa homogénea a cada botella, dejando una botella como control (sin adicionar lodo).
4. Se le adiciona 1 ml de sustrato (ácido acético) a todas las botellas, se tapan y se sellan.

5. Todas las botellas se incuban en una estufa a 30° C.
6. Se toman muestras de la fase gaseosa, con una jeringa y se aplican al cromatógrafo de gases para medir la producción de metano.
7. La toma de muestras se realiza en cortos intervalos de tiempo hasta que la producción de metano se estabilice.
8. Se hacen los cálculos pertinentes reportándose la actividad metanogénica en: $CH_4DQO / grSSV \times dia$.

C-5 DETERMINACIÓN DE FENOLES EN SOLUCIÓN

La siguiente técnica colorimétrica se obtuvo según los lineamientos de Standard Methods para la examinación de aguas y aguas residuales (APHA, 1989) en su técnica 5530.

La determinación de fenoles por el método de la 4-aminoantipirina es una técnica colorimétrica que se basa en la propiedad de los compuestos fenólicos a reaccionar con la 4-aminoantipirina a un pH 7.9 ± 0.1 en presencia de ferricianuro de potasio para formar un compuesto de antipirina coloreado.

Algunas de las interferencias de esta técnica son la presencia de bacterias degradadoras de fenoles, sustancias oxidantes (cloro, yodo), reductoras y valores de pH alcalinos, por lo que es importante manejar adecuadamente las muestras adicionando soluciones que propicien las condiciones necesarias para la cuantificación de fenoles. Las muestras deben ser conservadas a 4° C o menos, si es que el análisis no se realiza en un tiempo menor a 4 horas. Para una mejor conservación se debe de acidificar con una gota de solución 1:5 de ácido sulfúrico, para un volumen de 10 ml. El período máximo de almacenamiento será de 28 días.

En el presente trabajo se utilizó un espectrofotómetro tipo HACH, y se construyó la curva de calibración de fenol y de 2,4,6 tríciloro fenol, programando el espectrofotómetro para cada compuesto. Los reactivos que se utilizaron fueron:

1. Solución de fenol de reserva: disolver 1 g de fenol en agua destilada, aforar a 1 l.
2. Solución intermedia: diluir 5 ml de solución de reserva de fenol en 500 ml de agua destilada (preparación diaria)
3. Hidróxido de amonio: NH_4OH 0.5 N; tomar 35 ml de NH_4OH concentrado, y llevar a 1 l de agua destilada. Solución →
4. Solución tampón de fosfato: disolver 52.25 g de K_2HPO_4 y 36.5 g de KH_2PO_4 en agua y diluir hasta 500 ml. El pH debe de ser de 6.8. Solución ↓.
5. La Solución → se ajusta con la Solución ↓ a un pH de 7.9 ± 0.1 . Formándose la Solución °.
6. Solución de 4-aminoantipirina: disolver 2 g de 4-aminoantipirina en 100 ml de agua destilada. Solución ±.
7. Solución de ferricianuro de potasio: disolver 8 g de $K_3Fe(CN)_6$ en 100 ml de agua destilada. Solución “.

El instrumental que se utilizó fue equipo fotométrico HACH, potenciómetro y la cristalería necesaria.

Procedimiento para la determinación de fenoles en solución

1. Preparar un blanco de 50 ml con solo agua destilada.

2. Se colocó 3 ml de muestras filtradas en matraces de 50 ml y se aforó con agua destilada. La concentración máxima que puede ser leída en este tipo de espectrofotómetro es de 8 mg/l, por lo que si la concentración es mayor se deben realizar las diluciones pertinentes.
3. El blanco y las muestras se tratan de la siguiente manera: se añaden 1.25 ml de la Solución α ; 0.5 ml de la Solución β ; y 0.5 ml de la Solución γ . Mezclar bien y se deja reaccionar las muestras por 15 minutos.
4. Se enciende el espectrofotómetro y se deja estabilizar la lámpara por 5 minutos; colocándolo en el método ya programado, y se selecciona la longitud de onda de mayor absorbencia, para lo que se realizó previamente un barrido, siendo para el fenol de 480 nm y para el triclorofenol de 520 nm.
5. Colocar el blanco dentro de la celda y se le da lectura posteriormente se tara el aparato a esta última lectura.
6. Colocar la muestra dentro de la celda y se procede a tomar lectura.
7. Calcular la concentración real tomando en cuenta la dilución. Ejemplo: Si se tomó una muestra de 3 ml y se aforó a 50 ml., y la lectura que se obtuvo en el espectrofotómetro fue de 2.840 mg/l, la concentración real se determina con el siguiente cálculo:

C-6 DETERMINACIÓN DE METALES Pb Y Cr POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

Los metales en solución pueden ser determinados satisfactoriamente por métodos de absorción atómica y/o por métodos colorimétricos; cada uno de estos métodos presentan características particulares que requieren un pretratamiento para cada tipo de muestra, poseyendo distintas características de sensibilidad de acuerdo a el método elegido.

Antes de realizar una determinación, se requiere conocer que fracción de los metales se quiere analizar para realizar el pretratamiento de la muestra adecuado. El *Standard Methods* (APHA, 1989) define los siguientes términos:

<i>Metales disueltos:</i>	Los metales de una muestra sin acidificar que pasen a través de un filtro de 0.45 μm .
<i>Metales suspendidos:</i>	Son los metales de una muestra sin acidificar que se quedan retenidos en un filtro de 0.45 μm .
<i>Metales totales:</i>	Son la concentración de metales de una muestra sin filtrar después de una digestión vigorosa; es la suma de la fracción de metales disueltos y suspendidos.
<i>Metales extraíbles con ácido:</i>	Es la concentración de metal en solución después del tratamiento de una muestra sin filtrar con ácido mineral caliente.

En el presente trabajo se determinaron los metales totales, por lo que una vez obtenida la muestra, se procedió a realizar una digestión a través de la tecnología de microondas alcanzándose una completa digestión de la muestra.

Con la muestra digerida y con las diluciones pertinentes, se preservan a 10° C en frascos de plástico debidamente lavados, para posteriormente determinar los metales en el espectrofotómetro de absorción atómica, que para este caso se utilizó el modelo 11100 *Perkin Elmer*.

C-7 ESPECIACIÓN DE METALES

La técnica de especiación de metales, es un método que sirve para evaluar las formas en que los metales se fijan a la materia, principalmente en los lodos resultantes de las aguas residuales. Esto se logra recuperando los metales usando una extracción selectiva, donde los reactivos utilizados y el pH juegan un papel importante.

El procedimiento involucrado en la extracción secuencial de los metales presentes en el biosorbente, utiliza los reactivos KNO_3 ; KF; $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$; EDTA y HNO_3 de acuerdo a como lo reporta Stover *et al.* (1976).

El KNO_3 se elige para una extracción inicial para determinar a los metales unidos a sitios de intercambio en la biomasa. Si la muestra de biosorbente se encuentra saturada con K^+ los metales intercambiables pueden ser desplazados de los sitios de intercambio localizados en los distintos componentes del biosorbente.

El KF se utiliza para la extracción de metales adsorbidos a la superficie de la biomasa. El pH y la concentración de KF pueden permitir la remoción de metales adsorbidos a través de la formación de complejos solubles metal - fluoruro, pero minimizando la solubilización de metales enlazados a compuestos orgánicos.

En la extracción de metales involucrados con la materia orgánica se utiliza el $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$; esta extracción puede remover metales quelados o complejados por la fracción orgánica del biosorbente.

El reactivo EDTA se usa para la disolución de metales carbonatados. El EDTA es usado para remover elementos unidos a materia orgánica; sin embargo, si el $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ es usado previamente el metal recuperado por el EDTA puede ser principalmente en la forma carbonatada.

Por último se someten las muestras de biosorbente a HNO_3 . Basados en las propiedades de estabilidad del pH el HNO_3 puede disolver los metales en forma de sulfuros y otras especies no extraídas por el $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ y el EDTA.

Procedimiento para la técnica de especiación de metales en biomasa granular anaerobia.

1. Se toman 5 ml de una muestra de biomasa
2. Se le adicionan 25 ml de KNO_3 1 M y se deja reposar de 16 a 18 h.
3. Se centrifuga a 3000 rpm 10 min, el sobrenadante se filtra en un filtro de fibra de vidrio y se lleva, para su posterior análisis, a un volumen de 100 ml para tener una concentración de 5 en 100.
4. El precipitado se lava con 25 ml de H_2O destilada centrifugando y desechando el sobrenadante, este proceso debe seguirse para remover algún residuo del reactivo y metales presentes en la biomasa producto de la extracción previa.
5. Se repiten los pasos 2, 3 y 4 para cada uno de los reactivos, siendo estos el KF (0.5 M), el $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (0.1 M), el EDTA (0.1 M) y HNO_3 (1 M).
6. Las muestras de solución obtenidas en el paso 3, son digeridas para su posterior determinación de metales por espectrofotometría de absorción atómica, tal y como se describe en el apartado C-6 de este anexo.