

ESTUDIO DE LA BIODEGRADACIÓN Y POSIBLE EFECTO TÓXICO DEL FORMALDEHÍDO EN UN LODO ANAERÓBICO

Anne Botella*, Ariana Rossen, Carolina Casserly, Agustín Corujeira, Néstor Volonté y Jorge Duran

Laboratorio Experimental de Tecnologías Sustentables. Instituto Nacional del Agua

*Ecole de Mines D 'Albi, Toulouse, Francia

Au. Ezeiza Cañuelas, tramo Newbery. Km 1,6. Pcia Ezeiza (CP 1804). Argentina. Teléfono 4480-4500/ Fax. 4480-4501 E-mail: arossen@gov.ar

INTRODUCCIÓN

El problema de los efluentes industriales y cloacales está íntimamente relacionado con la contaminación ambiental, ya que constituye una de sus causas. La denominación de efluentes industriales se aplica a un conjunto muy variado de residuos líquidos que se generan como consecuencia de la actividad industrial. El objetivo del tratamiento de las aguas residuales es disminuir la concentración de los contaminantes presentes de manera tal que la cantidad resultante se encuentre dentro de los límites aceptables para cada parámetro según lo establece la legislación vigente para cada tipo de efluente.

En el caso que los contaminantes del efluente se degraden por acción bacteriana, se denomina tratamiento biológico o secundario y puede ser tanto aeróbico como anaeróbico. La capacidad de realizar un control adecuado de los lodos biológicos de las plantas de tratamiento desde el punto de vista microbiológico, es una alternativa que toma cada vez más auge, ya que permite comprender la intimidad del funcionamiento de los mismos.

Los reactores anaeróbicos presentan ciertas ventajas en comparación con los aeróbicos: necesitan menos energía, presentan una mayor simplicidad en la operatividad y tienen una velocidad de duplicación menor, por lo tanto producen una menor cantidad de lodo, así como también permite tratar líquidos residuales con cargas orgánicas más elevadas. Más aún, los microorganismos que intervienen en el proceso generan metano, un producto secundario que se puede usar como fuente energética. Otra ventaja remarcable que poseen los tratamientos anaeróbicos es que permiten a varias empresas químicas tratar efluentes potencialmente tóxicos.

Dentro del gran número de sustancias que se encuentran presentes en los efluentes industriales y cuyo potencial tóxico esta ampliamente demostrado (Gonzales G, et al. 1999) , podemos mencionar el formaldehído. Este compuesto es utilizado en la industria química y petroquímica como componente de resinas y pegamento, así como también en el procesamiento de productos textiles, en la manufactura de papel y madera, y más aún como ingrediente activo en desinfectantes y preservativos, en la producción de herbicidas, colorantes, conservadores y plásticos. Se ha registrado que estas industrias pueden generar efluentes que contienen hasta 10 g/L de formaldehído y de acuerdo con el ranking de sustancias de gran impacto ambiental, de 45 productos químicos propuestos por Edwards et al (1999) el formaldehído ocupa el primer lugar. En este sentido la INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY- Environmental Health Criteria 89 lo ha catalogado como un compuesto muy peligroso para el ser humano, incluso se han registrado efectos carcinogénicos a altas concentraciones.

Esta sustancia es también usada como desinfectante y actúa como bacteriostático, es decir, inhibe el metabolismo energético sin matar a los organismos. Por este motivo, el formaldehído presenta la característica de ser difícilmente biodegradable.

Con el objeto de disminuir el impacto generado por este contaminante se han investigado extensamente diversas tecnologías apropiadas para su tratamiento. Los sistemas anaeróbicos han

sido ampliamente estudiados, principalmente por su bajo consumo energético y producción de barros. Sin embargo, en la bibliografía no se encuentra un consenso acerca del comportamiento de los lodos anaeróbicos en presencia del tóxico. Así, Omil, F. et al. (1999) utilizaron digestores *batch* en presencia y ausencia de co-sustratos como los ácidos orgánicos volátiles (VFA), concluyendo que la remoción de formaldehído en presencia de co-sustrato se encuentra favorecida; además, para una concentración de 125 mg/L de formaldehído se produjo un 50% de inhibición, mientras que para un rango de 150-200 mg/L se observó una acumulación de metanol en el medio, siendo este compuesto el intermediario clave para la degradación.

Otros autores como Zijin, LU & Hegemann, W, 1996 han ensayado sistemas *batch* utilizando glucosa como co-sustrato, y Oliveira et al (2004) con un reactor anaeróbico de flujo horizontal inmovilizado, obtuvieron una remoción de formaldehído mayor al 90% con una concentración de 400 mg/L y una concentración máxima de 1158 mg/L respectivamente. Por otro lado, Garrido et al. (1999) utilizaron con un filtro de corriente ascendente multi alimentación (MUF) bajo condiciones de anoxia y anaeróbicas acoplado con un sistema de biofilm aeróbico (BAS) para tratar efluentes con concentraciones de formaldehído de 1.5 g/L en combinación con urea. Obtuvieron una buena remoción de urea y formaldehído con una concentración de 50 mg/L, mientras que para una concentración de 300 mg/L este proceso se vio altamente afectado con acumulación de metanol.

OBJETIVO DE LA EXPERIENCIA

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el grado de remoción del formaldehído utilizando un reactor anaeróbico de mezcla completa de 4 litros. Se estudia la influencia del efecto inhibitorio de este compuesto sobre la producción de metano y la velocidad de degradación de materia orgánica mediante el seguimiento de la demanda química de oxígeno (DQO).

METODOLOGÍA

Actividad metanogénica

Esta técnica se emplea para determinar la capacidad de generar metano por parte de un determinado cultivo anaeróbico. La metanogénesis es la etapa limitante del procesos degradativo anaeróbico. Estos ensayos permiten determinar la velocidad del cultivo para degradar materia orgánica de concentración y composición conocida. Básicamente el ensayo consiste en medir el volumen de gas generado por las bacterias a partir de la transformación de materia orgánica (expresada en términos de gramos de DQO por día). Durante la realización del trabajo, las condiciones ambientales tales como la temperatura, el pH y los nutrientes fueron controladas.

El principio de la experiencia consiste en aclimatar las bacterias alimentándolas con una suspensión de leche descremada y medir durante cada alimentación la producción de metano generado y la carga orgánica a través de la DQO.

Procedimiento experimental

Se utilizó un reactor anaeróbico discontinuo (*Fed-batch*) de mezcla completa de 4L operado a 35° C +/- 2°C. Diariamente se sacó una muestra de 200 mL sobre la cual se midió el pH y la

temperatura. El pH se mantuvo entre 6.8 y 7.9. El cultivo biológico se suspendió en una solución conformada por agua destilada y la adición de alícuotas de una solución stock de macro y micro nutrientes (Corujeira A. & Durán J., 2002). La concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en la suspensión se mantuvo en 2 g/L (Standard Methods-Ed 20, 2540 E). En la Figura 1 se muestra un esquema del sistema experimental empleado.

La solución de leche descremada se preparó con una concentración de 3.83 g/L de leche y 0.38 g/L de bicarbonato de sodio de forma de amortiguar cambios en el pH producto de la actividad acidogénica.

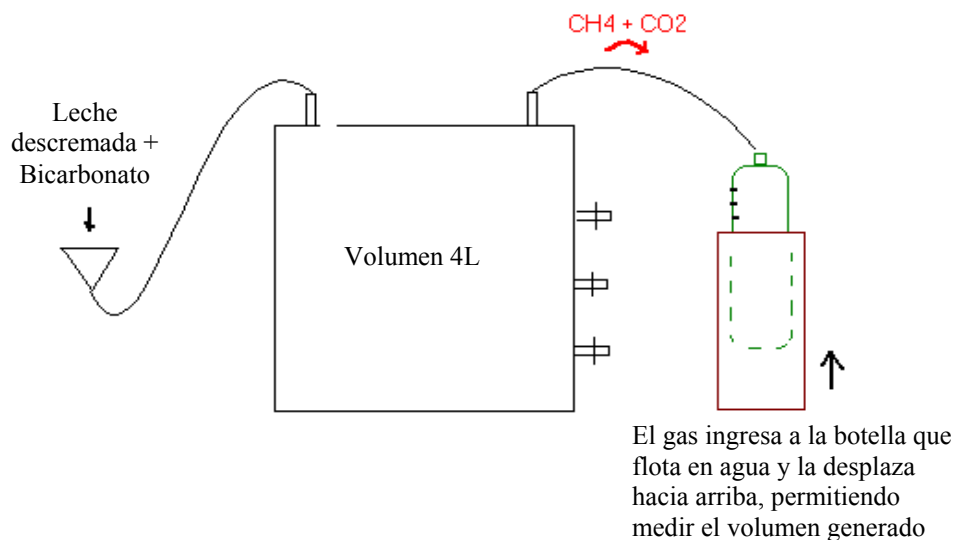


Figura 1 – Esquema del sistema experimental

Evaluación de la biodegradabilidad y la toxicidad del sistema

En los sistemas anaeróbicos la biodegradabilidad se evalúa a través de la actividad metanogénica e indica la máxima velocidad de transformación de materia orgánica para las condiciones del ensayo. Esta actividad se puede comparar con respecto a otro ensayo bajo condiciones similares pero incluyendo la presencia de un compuesto que se presume tóxico o inhibidor. De esta manera, podemos estudiar la influencia del formaldehído sobre el sistema y así, verificar cómo responden las bacterias cuando se les agrega una sustancia inhibitoria.

Se evalúan varias concentraciones del compuesto tóxico, y se sigue la adaptación de las bacterias a esta mezcla a través de la DQO para conocer la velocidad de degradación de la materia orgánica y su impacto en la producción de metano.

Cada ensayo realizado duró 5 horas con monitoreos cada 30 minutos de DQO, pH, temperatura y ocasionalmente SSV. La DQO residual fue mediada 24 horas después y se tomó una muestra por día hasta llegar a valores constantes, luego de lo cual se sometía al lodo a un nuevo ensayo. En este trabajo se utilizaron concentraciones de formaldehído en un rango de 108 mg/L a 450mg/L.

RESULTADOS

1. Línea de base: Alimentación con un sustrato fácilmente degradable

En la Figura 2 se observa que durante las dos primeras horas de funcionamiento del reactor los valores de DQO se mantienen constantes, lo cual significa que las bacterias consumen, o al menos absorben y/o adsorben, la DQO proveniente de la suspensión de leche en polvo que se agrega gradualmente. A partir de las dos horas se comienza a observar una acumulación progresiva de materia orgánica.

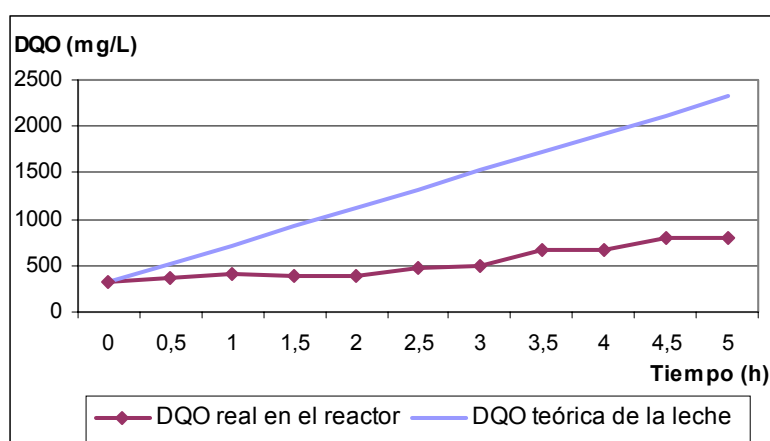


Figura 2: Acumulación de la DQO en el reactor respecto del tiempo de alimentación

En la Figura 3 se grafica la producción de biogas generado durante el tiempo del ensayo. Es interesante notar que durante las dos primeras horas hay un consumo rápido de DQO de leche sin producción de biogas. Durante este período la generación de gas es muy lenta, lo cual sugiere que la materia orgánica que “desapareció” de la fase líquida no se transformó en biogas sino que fue absorbida o adsorbida por los microorganismos anaeróbicos. Un fenómeno semejante se da con la biomasa aeróbica y en este caso se denomina “biosorción” (Speece, 1996)

De esta manera, con el dato de la variación de DQO es posible obtener la velocidad de consumo de materia orgánica en DQO.

$$\begin{aligned}\Delta \text{DQO consumido} &= 1513.5 \text{ mg/L} \\ \Delta \text{ tiempo} &= 5 \text{ horas,} \\ V &= \Sigma \text{DQO} / \Delta \text{ tiempo} \\ V &= \mathbf{293 \text{ mg DQO/L/h}}\end{aligned}$$

Después de dos horas, la producción de biogas aumenta rápidamente y de manera casi lineal ($R^2=0.98$). Se produjeron 800 mL de biogas en 4 horas (a 35°C), de forma que la velocidad de producción es de 200 ml/h. La alta velocidad de producción de gas se justifica ya que la leche es un sustrato fácil y rápidamente degradable.

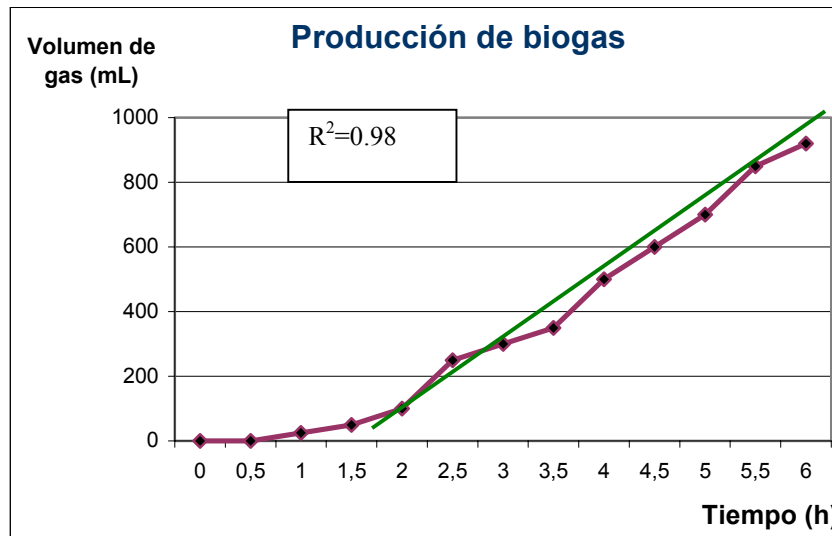


Figura 3: Variación de la actividad metanogénica respecto del tiempo de alimentación

En la Figura 4 se observa que durante las dos primeras horas de alimentación hay un crecimiento marcado en el consumo del sustrato, luego del cual el porcentaje máximo de consumo permanece constante durante el resto del ensayo (65%). Este fenómeno se corresponde con el modelo de MONOD. Cuando la concentración de sustrato es baja, pequeñas variaciones de concentración tienen un fuerte efecto sobre la velocidad de reacción mientras que cuando la concentración de sustrato es elevada la utilización del mismo alcanza el máximo valor posible.

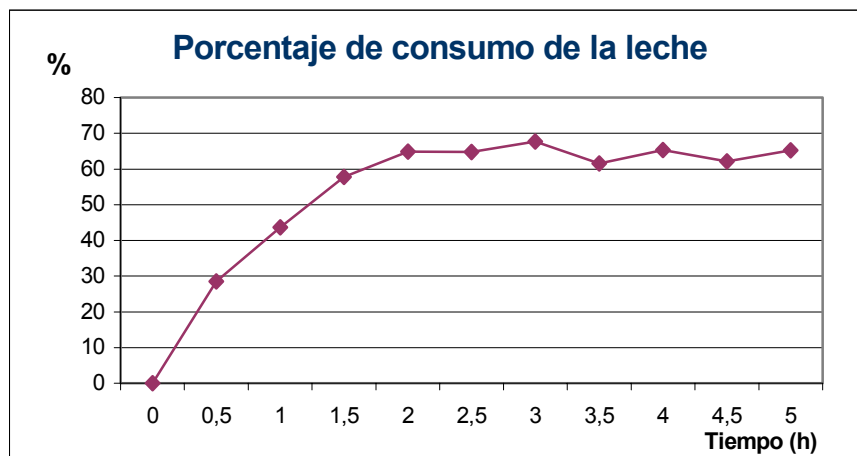


Figura 4: Porcentaje de consumo de la leche durante la alimentación

2. Curva de variación de la DQO en el reactor para cada día

En la Figura 5 se grafica la variación de DQO en el reactor durante cada día en función de cada tipo de alimentación, sea leche sola como única fuente de carbono o bien la mezcla con distintas concentraciones de formaldehído y se registró el aumento de la DQO un día después de alimentar. En el mismo gráfico se puede observar también que el tiempo de degradación de la leche dura entre dos y tres días, luego de lo cual el valor de DQO baja aproximadamente hasta el valor de

DQO inicial. La línea rosa corresponde al valor inicial de DQO en el reactor antes de empezar los ensayos. La representación gráfica de este valor permite determinar cuando hay acumulación de DQO en el sistema. Las flechas en naranja corresponden a las alimentaciones con leche en polvo como único sustrato. Las flechas en verde corresponden a las alimentaciones con leche y formaldehído en concentraciones crecientes donde se observa como los picos de DQO aumentan proporcionalmente con la concentración del formaldehído.

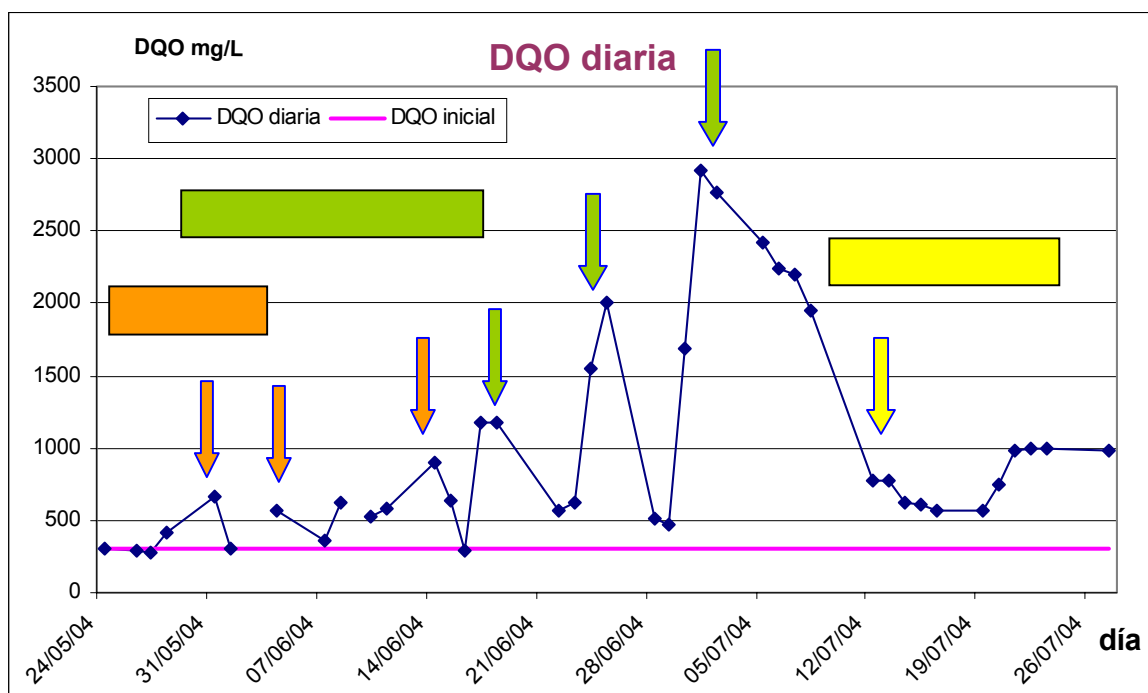


Figura 5 : Evolución de la DQO en el tiempo y comparación con el valor inicial

Cuando se alimenta únicamente con leche, no se observa acumulación, los picos bajan rápidamente a 300 mg/L que es el valor de DQO inicial. Por el contrario, cuando se alimenta con formaldehído, la DQO nunca vuelve al valor inicial sino que se mantiene en un valor más alto, alrededor de 500-600 mg/L de DQO. Esto puede justificarse por efecto de la acumulación del formaldehído en el reactor.

Por otro lado se observa que al incrementar la concentración de formaldehído tarde más el sistema en regresar a valores de DQO iniciales, lo cual explica que la degradación de materia orgánica se ve inhibida por la concentración de formaldehído

3. Efecto de la toxicidad del formaldehído

En forma similar al procedimiento empleado para trazar la línea de base explicada en el punto anterior, se llevaron a cabo experimentos con concentraciones crecientes de formaldehído. La Figura 6 representa la evolución de la DQO para diferentes concentraciones de formaldehído. Se observa que la velocidad de acumulación de DQO crece cuando aumenta la concentración del formaldehído.

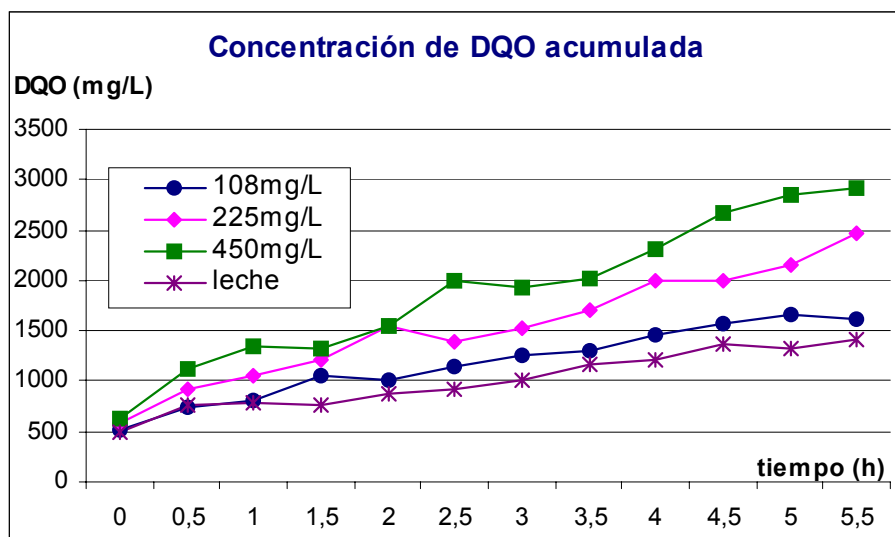


Figura 5 : Variación de la DQO acumulada respecto de la concentración de formaldehído

Se puede evaluar la velocidad de degradación de la materia orgánica para los ensayos con leche sola y formaldehído. En la tabla 2 y en la Figura 7 se presenta la variación de la velocidad de degradación de DQO con respecto a la concentración del formaldehído

Concentración del formaldehído	Velocidad de degradación en DQO
Leche Sola	293 mg/L/h
108 mg/L	114.5 mg/L/h
225 mg/L	55 mg/L/h
450 mg/L	40 mg/L/h

Tabla 2 : Velocidades de degradación respecto en la concentración de formaldehído

Se observa en la Figura 7 que la velocidad de degradación disminuye al crecer la concentración del formaldehído. Lo cual indica que el formaldehído inhibe el proceso degradativo tanto de leche como del mismo compuesto tóxico. Cabe destacar en este gráfico que la caída en velocidad entre 108 mg/L (114.5 mg/L/h) y 225 mg/L (55 mg/L/h) es casi del 50% mientras que entre las concentraciones de 225 y 450 mg/L (55 mg/L/h y 40 mg/L/h) no es significativa.

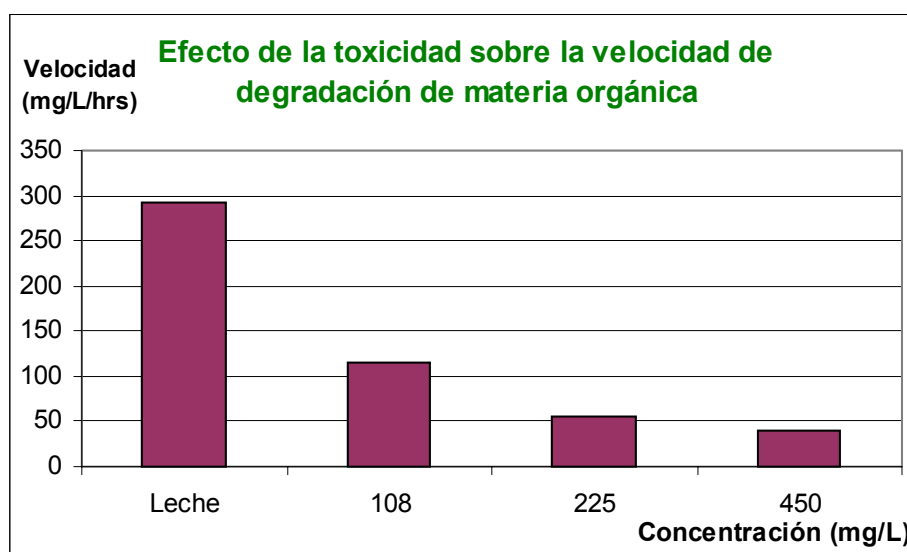


Figura 7: Velocidad de degradación respecto de la concentración del formaldehído

Así como es posible el análisis de la acumulación de DQO para cada día de ensayo, es válido estudiar el efecto de la toxicidad sobre la producción de metano. La Figura 8 muestra las tres curvas de producción de las tres concentraciones crecientes de formaldehído ensayadas. Todas las curvas tienen una forma lineal, solo varía la pendiente, la cual disminuye al crecer la concentración del inhibidor.

Las curvas de generación de biogas decreciente se corresponden con las de a Figura 5 que indican acumulación de DQO para valores de formaldehído mayores.

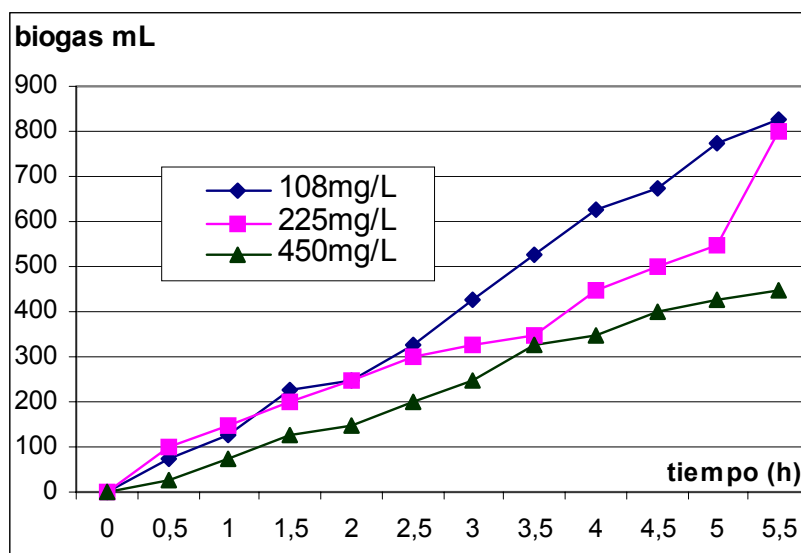


Figura 8 : Efecto de la concentración del formaldehído sobre la producción de biogas

En la Figura 9 se presenta el porcentaje de consumo de la DQO para los ensayos realizados en función de la concentración teórica del formaldehído agregada por cada 30 minutos, el tiempo que corresponde a cada alimentación. En el mismo se observa que al aumentar la concentración de formaldehído el consumo expresado como DQO disminuye dramáticamente, para una concentración de 108 mg/L de formaldehído el consumo llega a 40%, mientras que para una concentración de 225 mg/L se mantiene alrededor de 18% y para 450 mg/L oscila alrededor de 10% de consumo del total de la materia orgánica.

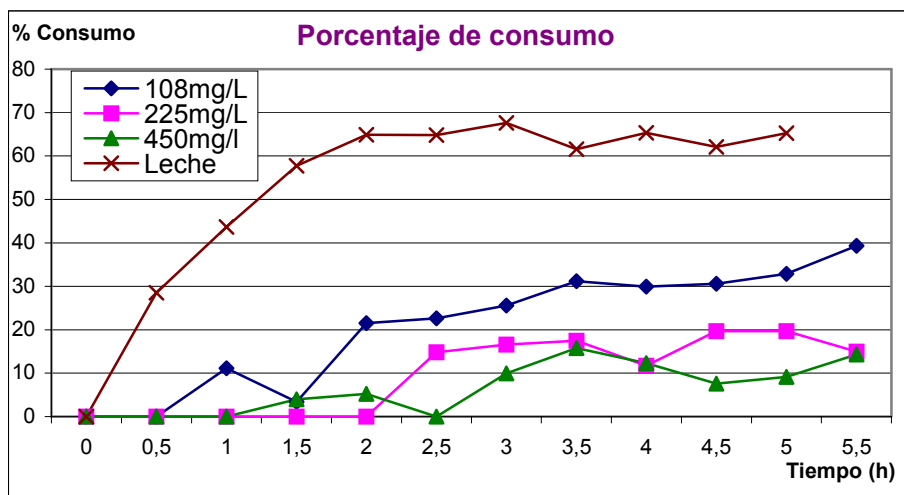


Figura 9 : Variación del porcentaje de consumo según la concentración del formaldehído

4. Influencia del formaldehído sólo sobre el sistema

Se realizó un ensayo agregando 450 mg/L pero sin el agregado del co-sustrato (sin leche) al reactor anaeróbico. No se observó producción de biogas durante todo el ensayo lo cual indica que no hubo consumo de formaldehído. Por otro lado los resultados obtenidos de DQO se acercaron a los valores de la acumulación teórica indicando que no hubo proceso degradativo.

5. Observaciones macroscópicas

Un aspecto importante para destacar son las observaciones macroscópicas que presenta el lodo biológico al comienzo y como se va transformando a lo largo de la experiencia. Se observa la evolución del color, del olor, de la consistencia y del aspecto general del lodo.

Lo mas significativo es el olor y la consistencia del lodo, ya que son dos parámetros específicos de las condiciones en el reactor. En efecto, al comienzo del ensayo el lodo tenía un aspecto mas granuloso, espeso y con color negro oscuro (Foto 1), luego de los ensayos con 225 mg/L y 450 mg/L, y los gránulos se fueron rompiendo y el líquido mezcla fue perdiendo consistencia, al mismo tiempo que adquiría un aspecto menos denso con un color gris claro. Además, se observó un cambio del olor característica del lodo anaeróbico que disminuyó para dejar lugar al olor del formaldehído. Mas aún, el olor fuerte del formaldehído a 450 mg/L, desapareció con el tiempo (Foto 2)

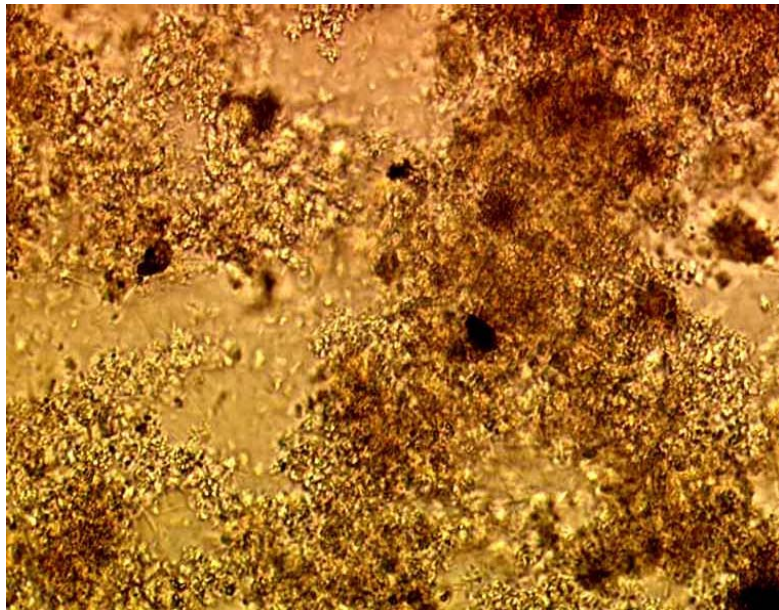


Foto 1: Lodo anaeróbico al comienzo del ensayo

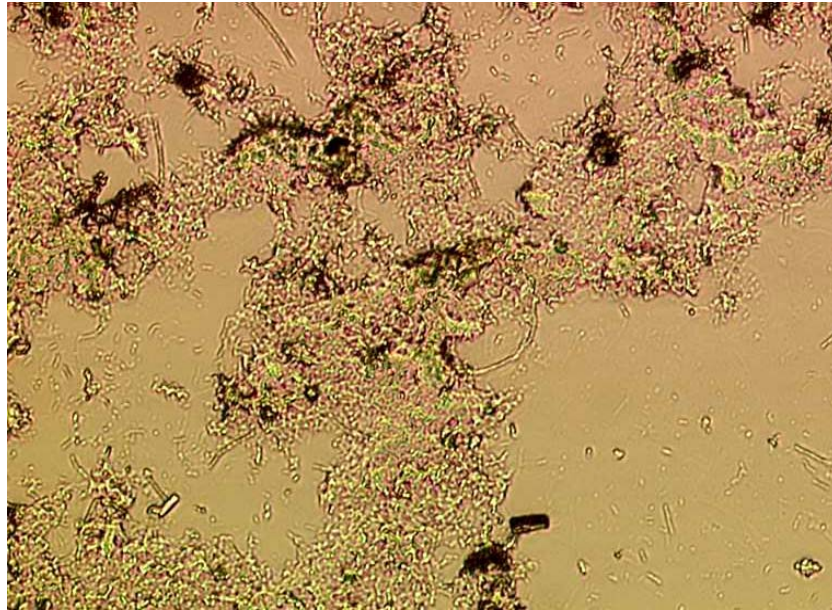


Foto 2: Lodo anaeróbico al final del ensayo con 450 mg/L solo

CONCLUSIONES

Del presente trabajo pueden extraerse varias conclusiones interesantes sobre el reactor anaeróbico y la influencia del formaldehído sobre su funcionamiento:

- Sobre el metabolismo de las bacterias anaeróbicas el formaldehído es un inhibidor en la degradación de materia orgánica ya que se acumula la DQO mientras que baja la producción de biogas a medida que se incrementa la concentración de este tóxico. Sin embargo, para concentraciones inferiores a 450 mg/L, las bacterias se recuperan en cuatro días posterior a la administración. Por otro lado, el sistema necesita de diez días para degradar la materia orgánica hasta valores cercanos a la DQO inicial.
- La administración de formaldehído no afecta a la biomasa, sino sólo al mecanismo de degradación de la materia orgánica fácilmente degradable (leche descremada) ya que las bacterias se recuperan después de cada alimentación con el tóxico.

En la bibliografía se ha encontrado (Oliveira et al, 2004; Speece, 1996; Mingbo Qu et al, 1997) que el proceso degradativo se ve favorecido cuando se aclimata previamente a ese lodo con la sustancia tóxica. Tal como lo plantean otros autores (Digestion Archives for May 2002) una característica destacable del formaldehído es la toxicidad ejercida es en parte reversible y una vez depletado del medio las bacterias pueden recuperarse. Este fenómeno se ha observado en el lodo utilizado para los ensayos ya que luego de dos meses de reposo y superado el tiempo de retención celular el lodo recuperó la producción de biogas. Sin embargo parte de la biomasa original se pierde, indicando que la toxicidad también presenta un rasgo de irreversibilidad, pero dependiente de la concentración (Mingbo Qu et al, 1997; Digestión Archive for May 2002). Este hecho sugiere que para el tratamiento de efluentes que contienen formaldehído se tiene que mantener un balance entre la concentración de forma de no perder biomasa.

Este trabajo a contribuido para establecer una línea de investigación aportando datos preliminares acerca del proceso de inhibición de la degradación de materia orgánica por parte de un lodo anaeróbico, en presencia de formaldehído.

En la actualidad nos encontramos profundizando sobre esta temática estudiando el efecto de este compuesto no sólo sobre un lodo anaeróbico sino también un lodo aeróbico (Acuña-Arguelles,2003). Se ha puesto a punto la técnica colorimétrica para la medición de formaldehído (Bricker, C & Jonson, H. 1945) con lo cual podemos determinar que fracción de consumo de materia orgánica corresponde al formaldehído. Más aún, se compara los lodos aclimatados a este compuesto y como este proceso mejora la tratabilidad de este toxico.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuna-Arguelles, ME; Olguin-Lora, P; Razo-Flores, E.** (2003) *Toxicity and kinetic parameters of the aerobic biodegradation of the phenol and alkylphenols by a mixed culture.* Biotechnol Lett. 2003 Apr 25 Vol 7:559-64
- Bricker, C and Johnson, H.** (1945) *Spectrophotometric Method for Determining Formaldehyde.* J. Biol. Chem, 158, 107.
- Corujeira A. y Duran J** (2002) *La actividad metanogénica y toxicidad de productos de la industria química.* Congreso de Aidis 2002
- Digestion Archive for May 2002.** *Anaerobic Digestion of Aldehydes and acrylates*
- Edwards F.G., Egemen E., Brennan R, and Nirmlakhandan N.** (1999). *Ranking of Toxic Release Inventory Chemicals Using a Level III.* Water Sci. Technol Vol39 pp, 83-90
- Garrido J.M., Méndez R and Lema J.M.** (2001). *Simultaneous Urea Hydrolysis, Formaldehyde Removal and Denitrification and Anaerobic Conditions.* Wat. Res. Vol 35 N°3 pp, 691-698
- Gonzales G., Kleerebezem R., Van Aelst A., Zoutberg GR, Versprille AI and Lettinga G.**(1999) *Toxicity effects of formaldehyde on methanol degrading sludge and its anaerobic conversion in biodegraded expanded Granular Sludge bed (EGSB).* Water Science and Technology, Vol 40, Issue 8, pages 195-202
- Hugenholtz, P. and Pace, N. R.** (1996) *Identifying Microbial Diversity in the Natural Environment: A Molecular Phylogenetic Approach.* Tibtech. Junio Vol. 14
- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY-** Environmtal Health Criteria
89
- OECD Guidelines for the Testing of Chemicals.** Vol 2. Organization for economic Co-operation and Development. Section 3- Degradation and Accumulation.
- Oliveira S.V.W.B, Moraes E.M, Adorno M.A, Varesche M.B.A, Foresti E and Zaiat M.** (2004). *Formaldehyde degradation in an Anaerobic packed-bed Bioreactor.* Wat Res 38 pp. 1685-1694

Omil F., Mendez F., Vidal G., Mendez R. and. Lema JM. (1999). *Biodegradation of formaldehyde under anaerobic conditions*. Enzyme and microbial technology, 24:255-262.

Mingbo Qu and Sanjoy K. Bhattacharya (1997). *Toxicity and Biodegradation of Formaldehyde in Anaerobic Methanogenic Culture*. Biotechnol Bioeng 55 pp 727-736.

Speece RE. *Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters*. Vanderbilt university 1996

Toh, S.K., Tay, .JH., Moy, B.Y., Ivanov, V. and Tay, S. T (2003) *Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR*. Appl Microbiol Biotechnol. Feb;60(6):687-95. Epub 2002 Dec 21.

White, D.C.; Davis, W.M; Nickels, J.S., King, J.D., and Bobbie, R.J. (1979) *Determination of the Sedimentary Microbial Biomass by Extractible Lipid Phosphate*. Oecology (bert) 40,51-62

Zijin, L.U. and Hegemann, W. (1996). *Anaerobic Toxicity and Biodegradation of Formaldehyde in Batch Cultures*. Wat. Res. Vol 32 N°1 pp 209-215

Consulta en Paginas WEB

http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/17_micro.htm

<http://www.unavarra.es/genmic/micind-0.htm>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://www.uib.es/depart/dba/MolBio/collection.html>

<http://www.bact.wisc.edu/MicrotextBook/ControlGrowth/antibiotic.html>

<http://www.microbiologiaclinica.com/antibioticos.htm>

<http://www.brunel.ac.uk/depts/bl/project/microbio/bactax/main.htm>

<http://www.nhhe.com.links/1253/1228/634/660/>

<http://www.biologia.edu.ar>

<http://www.wadsworth.org/databank/bacteria.htm>

<http://fai.unne.edu.ar/microgeneral/>

<http://www.bact.wisc.edu/microtextbook/>

<http://www.unavarra.es/genmic/micind.0.htm>

<http://pubs.acs.org/ac>