

# Toxicidad del amonio cuaternario para microorganismos utilizados en el tratamiento biológico anaerobio de efluentes

C. Federico Molina\*, Walter D. Machado \*\*, Federico Marquetti\*\*\* y Eugenio A. Quaia \*\*\*\*

\* Lic. Biotecnología, Ingeniería y Proyectos Agroindustriales, EEAOC. federico.molina@eeaoc.org.ar

\*\* Bioquímico, \*\*\* Pasante, \*\*\*\* Msc. Ing. Ambiental, Ingeniería y Proyectos Agroindustriales, EEAOC.

La biodigestión anaerobia es una de las principales opciones a considerar en el diseño de un sistema de tratamiento de efluentes industriales de alta carga orgánica (Chamy M. y Jeison N., 2005).

Existen diferentes tipos de biodigestores anaeróbicos, entre los que se pueden citar los de mezcla completa, lecho empaquetado, UASB (del inglés "upflow anaerobic sludge blanket") y EGSB (del inglés "expanded granular sludge bed").

Todos ellos tienen en común un sistema microbiológico constituido por diferentes tipos de familias de microorganismos que degradan la materia orgánica, genéricamente denominados **lodos**.

Para que un biodigestor anaeróbico funcione correctamente, el equipo requiere que el sistema biológico mantenga el equilibrio ácido-base, ya que su alteración produce la acidificación del sistema. Esta alteración ocurre en las siguientes situaciones (Chernicharo de Lemos, 2007):

1. Aumento de la velocidad de carga orgánica: en este caso, las bacterias acidogénicas generan una mayor cantidad de ácidos grasos, como producto de su metabolismo. El pH tiende a bajar, afectando la actividad de las bacterias metanogénicas que, además de tener un ritmo metabólico menor, son sensibles a los medios ácidos.

2. Descenso de la temperatura del sistema: se produce una disminución del ritmo fisiológico de las bacterias

metanogénicas, disminuyendo su capacidad de metabolizar el sustrato ácido.

3. Ingreso de un agente tóxico al sistema: la presencia de sustancias tóxicas o inhibitorias del metabolismo de las bacterias desequilibran el sistema, conduciéndolo a la acidificación.

En la mayoría de los reactores anaeróbicos, los microorganismos que intervienen en las diferentes etapas de la degradación de la materia orgánica se encuentran en estado disperso o floculento, excepto en los reactores tipo UASB y EGSB, donde las bacterias se agrupan en forma de gránulos, inducidos por las condiciones del medio y la velocidad del flujo ascendente. En cada uno de estos gránulos, coexisten todas las especies microbianas necesarias para la degradación anaeróbica de la materia orgánica.

La determinación de la actividad metanogénica específica (AME) representa un método apropiado para evaluar la capacidad de un consorcio de bacterias anaeróbicas, granuladas o dispersas, para generar metano a partir de un sustrato sintético. Este ensayo también permite evaluar el efecto de ciertas sustancias tóxicas o inhibitorias en el metabolismo bacteriano.

## Sales de amonio cuaternario

Las sales de amonio cuaternario constituyen una de las principales sustancias tóxicas que ameritan estudiarse, ya que son ampliamente empleadas como desinfectantes en

diferentes etapas del proceso de la industria alimentaria agroindustrial. Dichas sales pueden producirse por síntesis química, haciendo reaccionar el amoníaco con haluros de alquilo, como por ejemplo yoduro de metilo, lo que genera una mezcla de aminas primarias, secundarias y terciarias. Utilizando un exceso de reactivo, puede obtenerse la correspondiente sal de amonio cuaternario, con cuatro grupos orgánicos unidos al átomo de nitrógeno (Seyhan, 2000).

Los compuestos de amonio cuaternario actúan sobre los microorganismos gram positivos y negativos. Además de bactericidas, son fungicidas y virucidas. Este producto ejerce su acción biocida, ingresando a través de la membrana celular de los microorganismos y causando la desnaturalización e inactivación de proteínas esenciales presentes en el citoplasma (Merianos, 2001). Se postula también que algunos de estos compuestos pueden alterar el mecanismo de transporte activo del nitrógeno y el fósforo a través de la membrana.

Las sales de amonio cuaternario se aplican como desinfectantes en la industria, en una concentración que varía entre 100 ppm (ml/l) y 250 ppm, preparadas en tanques de aproximadamente 30.000 litros. Esta solución tiene un tiempo limitado de actividad y debe renovarse diariamente, descartando el sobrante del día anterior. El direccionamiento accidental de esta corriente hacia un sistema de tratamiento biológico de efluentes puede ocasionar la inactivación de los microorganismos del biorreactor.

Por este motivo, se buscó evaluar el efecto tóxico de diferentes concentraciones de amonio cuaternario sobre la actividad metanogénica de los gránulos anaerobios provenientes de un reactor UASB piloto industrial.

### Descripción de las experiencias

El ensayo de AME se realizó preparando un sistema compuesto por el inóculo a testear (lodo anaerobio granulado o floculento), 1,5 g sólidos suspendidos volátiles (SSV), un sustrato sintético compuesto por ácidos grasos volátiles (AGV), nutrientes en cantidades establecidas y bicarbonato de sodio. Este preparado se mantuvo en viales de 100 ml, cerrados con tapón de caucho y sellados con precintos metálicos. Se incubó a 35°C y, cada dos días, se efectuó la medición del metano generado, empleando el dispositivo que se observa en la Figura 1. Se evacuó el gas generado en el vial burbujando en una botella invertida, que contenía una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 1 N. El volumen de líquido desplazado fue equivalente al volumen de metano generado.

La medición de la producción de



Figura 1. Equipo de medición de metano del Laboratorio de Estudios Ambientales de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC).

metano continuó hasta que el sistema dejó de generarlo, lo que ocurrió generalmente después de 20 a 30 días de iniciada la experiencia. Se graficó el volumen acumulado de metano producido en función del tiempo.

De la gráfica se obtuvo la máxima pendiente, con la que se calculó la AME, que se expresa como  $g\ DQO_{CH_4}/g\ SSV.día$ . Esto es, la cantidad de la materia orgánica degradada, medida como demanda química de oxígeno (DQO), que es convertida en metano por unidad de biomasa expresada en gramos, por día.

A los efectos de evaluar la toxicidad del amonio cuaternario sobre el inóculo de prueba, se prepararon viales similares a los que se prepararon para medir la AME, adicionándoles cantidades crecientes de amonio cuaternario. El primer ensayo, denominado Serie I, se formuló con concentraciones de 20 ppm, 40 ppm y 60 ppm. En todas ellas hubo inhibición total de la AME, por lo que se realizó un segundo ensayo, llamado Serie II, donde las concentraciones de amonio cuaternario fueron: 1,25 ppm; 5,2 ppm y 12,5 ppm. También



se ensayó con viales sin adición de amonio cuaternario, denominados control.

Cada dos días se midió la producción de metano en cada uno de los viales.

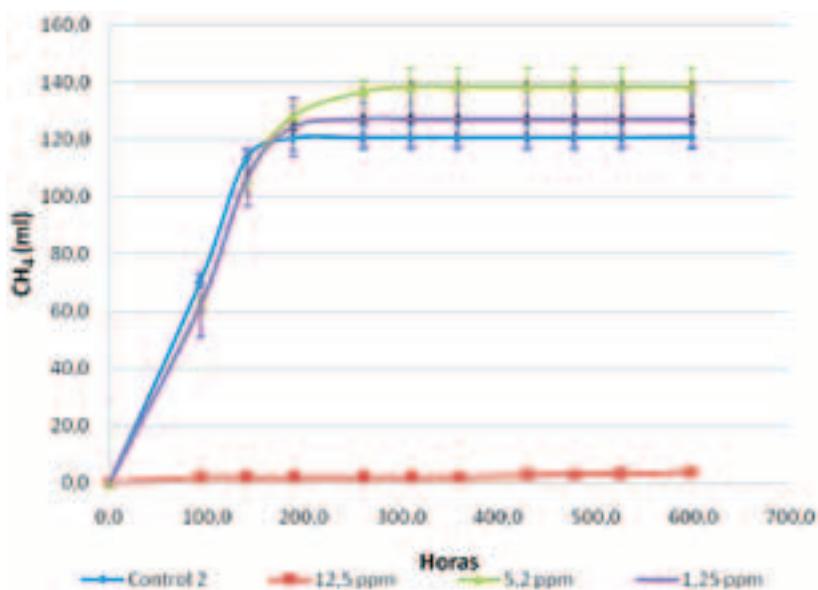
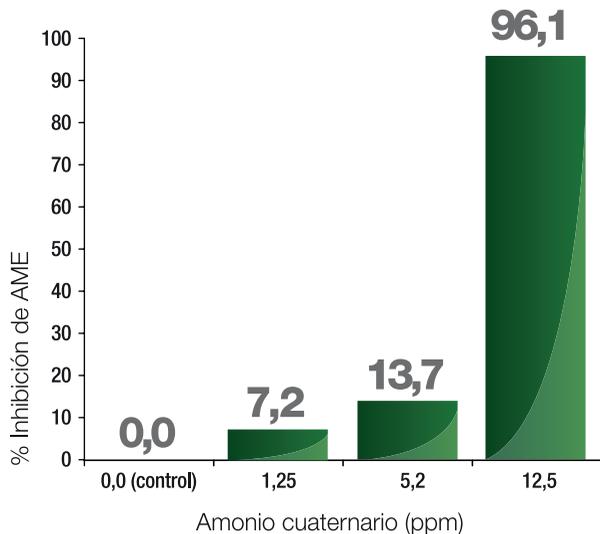


Figura 2. Producción de metano ( $CH_4$ ) a partir de distintas concentraciones de amonio cuaternario. Ensayo Serie II.



**Figura 3.** Porcentajes de inhibición de la actividad metanogénica específica (AME) con distintas concentraciones de amonio cuaternario, en ensayos con lodos granulares anaerobios de un reactor piloto. Laboratorio de Estudios Ambientales de la EEAOC, 2013.

En la Figura 2, se graficaron las producciones de metano en el ensayo Serie II. Con los datos obtenidos, se calculó el porcentaje de inhibición de la AME producido por el tóxico para cada uno de los ensayos (Figura 3). El valor del control fue la referencia y equivalió al 0% de inhibición.

#### Consideraciones finales

- En las condiciones ensayadas, se percibió una inhibición del 7,2% de la

actividad metanogénica en presencia de 1,25 ppm de amonio cuaternario.

- Concentraciones de 12,5 ppm y hasta 60 ppm de amonio cuaternario produjeron una inhibición casi total de la AME.
- Una concentración mayor a 5 ppm de amonio cuaternario en el agua de lavado podría afectar la actividad microbiológica normal de un reactor biológico anaerobio, produciendo

la inactivación parcial del consorcio microbiano.

#### Bibliografía citada

**Chamy M., R. y D. Jeison N. 2005.** Biotecnología ambiental: tecnologías de punta para un desarrollo sustentable. En: Chamy M., R. (ed.), Avances en biotecnología ambiental: tratamiento de residuos líquidos y sólidos, Ediciones Universitarias de Valparaíso, PUCV, Valparaíso, Chile, pp. 13-22

**Chernicharo de Lemos, C. A. 2007.**

Fundamento da digestão anaeróbia. En: Chernicharo de Lemos, C. A. (ed.), Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, vol. 5: Reatores anaeróbios. 2 ed. Depto. de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

**Merianos, J. J. 2001.** Surface, active agents. En: Block, S. S. (ed.), Disinfection, sterilization, and prevention. 5. ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, P.A., USA.

**Seyhan, E. 2000.** Química orgánica: estructura y reactividad, vol. 2. 3. ed. Editorial Reverté S.A., Barcelona, España. J

