

3. Resultats i discussió

«De la discussió naix la llum», diuen. I l'experiència demostra que, efectivament, cadascú sol quedar-se amb les mateixes conviccions que tenia abans de discutir, però més clares

Joan Fuster

3.1.- INTRODUCCIÓ

Aquest capítol té per objectiu sintetitzar els resultats dels experiments realitzats en el decurs d'aquesta tesi, que vénen recollits en forma d'articles al capítol posterior. Com s'ha dit, aquests experiments pretenien estudiar més detalladament, a escala de laboratori, els processos fisicoquímics i biològics involucrats en el tractament d'aigües àcides de mina (AAM) d'un sistema com el de la barrera permeable reactiva (BPR) instal·lada a Aznalcóllar.

La tesi recull de forma exhaustiva tota aquella informació emmarcada en el camp de les BPR per al remei d'AAM (**Article I**). D'altra banda, i davant la urgència d'aprofundir en el funcionament de la BPR d'Aznalcóllar, es va procedir a simular-la en experiments en columna. En aquests, es va avaluar la capacitat de mesclades reactives similars a les emprades a Aznalcóllar -a base de compost vegetal, calcita i, puntualment, Fe^0 - en el tractament d'aigües contaminades representatives de l'aquífer del riu Agrio (**Article II**) i, atesa la complexitat del sistema, es van estudiar per separat els diferents mecanismes que hi tenen lloc (**Article III**). D'entre aquests, l'adsorció de metalls a la matèria orgànica va ser objecte d'un estudi més detallat (**Article IV**). Posteriorment, constatada la poca idoneïtat de l'ús del compost per engegar el procés de sulfato-reducció bacteriana, i allunyant-se del sistema d'Aznalcóllar, l'objecte d'estudi es va orientar cap a la recerca d'altres matèries orgàniques capaces de promoure l'activitat dels bacteris sulfato-reductors (BSR) i, més concretament, d'una metodologia per predir-ne la biodegradabilitat (**Article V**). D'entre les matèries orgàniques assajades (compost vegetal, fulles vegetals i fems d'ovella i de cavall), la mostra de fem d'ovella va resultar ser la més favorable en termes de sulfato-reducció, per la qual cosa es va seleccionar per a la seva avaluació en un nou experiment com a material reactiu en el tractament d'AAM (**Article VI**).

Per tal de donar una visió més global, en aquest capítol no es discutiran separatament ni en ordre cronològic els resultats corresponents a cada article (cosa d'altra banda feta en cada un d'ells), sinó que s'exposaran de manera conjunta, ordenats per blocs conceptuals i amb referències creuades, la qual cosa permetrà, al darrer capítol, generalitzar conclusions comunes a articles diferents. Per facilitar-ne la comprensió, s'hi han inclòs les gràfiques i taules que s'han considerat més rellevants i, quan s'ha considerat necessari, s'ha completat amb aquella informació que, per normes editorials de les revistes referents a la brevetat, no es va poder incloure als articles.

3.2.- AVALUACIÓ D'UNA MESCLA DE COMPOST VEGETAL I CALCITA PER AL TRACTAMENT D'UNA AAM MITJANÇANT BSR

Els primers experiments es van dur a terme amb el propòsit d'avaluar, a escala de laboratori, el material emprat a la BPR instal·lada a Aznalcóllar (**Article II**). Ateses les dificultats en la interpretació dels resultats, l'objecte d'estudi es va concretar en un sistema que fou, des del punt de vista dimensional i hidrodinàmic, més semblant a la BPR (**Article III**). Fonamentalment, aquests experiments van consistir en l'assaig en columna de mescles reactives -a base de compost vegetal, calcita, font de BSR i, puntualment, Fe^0 , materials similars als utilitzats a la BPR d'Aznalcóllar- en el tractament d'aigües contaminades representatives de l'aquífer del riu Agrio. Aquestes aigües contenien altes concentracions de sulfats (prop de 1000 mg dm^{-3}), continguts variables ($2\text{-}20 \text{ mg dm}^{-3}$) de metalls pesants i no metalls (Zn, Fe, Al, Cd, Cu, As) i un pH de 3. Les característiques més representatives dels experiments vénen resumides a la Taula 3.1.

		Columna 1	Columna 2	Columna 3	
Dimensions de la columna	Diàmetre (cm)	2,5	2,5	5	
	Longitud (cm)	20	20	50	
	Volum (cm^3)	98	98	982	
Composició de la mescla reactiva (vol %)	Calcita	50	55	50	
	Compost	45	30	40	
	Font BSR	5	10	10	
	Ferro metàl·lic	-	5	-	
Composició de l'aigua a tractar	Metalls i no metalls (mg dm^{-3})	Fe	10	10	10
		Al	10	10	10
		Zn	20	20	20
		Cu	20	20	20
		Cd	2	2	-
		As	2	2	-
	SO_4^{2-} (mg dm^{-3})	960	960	1000	
pH	3,0	3,0	3,0		
Dades hidrodinàmiques	Cabal (ml min^{-1})	0,075	0,075	0,5	
	Flux (m d^{-1})	0,44	0,44	0,73	
	Temps residència (d)	0,46	0,46	0,68	
		Article II		Article III	

Taula 3.1: Resum dels paràmetres i condicions operacionals dels experiments realitzats en la simulació, a escala de laboratori, de la BPR d'Aznalcóllar mitjançant experiments en columna.

L'eficàcia de les mescles utilitzades a les columnes es va basar en el seguiment dels següents paràmetres: 1) pH de l'aigua tractada; 2) concentració de metalls -especialment el Zn, considerat el millor metall indicador a l'escenari d'Aznalcóllar (ITGE, 2001; Manzano *et al.*, 1999)-; 3) concentració de SO_4^{2-} . Un cop finalitzats els experiments, es va extraure sòlid a diferents alçades de la columna per a l'observació dels precipitats formats per microscòpia electrònica de rastreig (SEM), equipada amb un detector d'energia dispersada de raigs X (EDS), i difracció de raigs X (XRD). A més, per a la columna 2, es va analitzar químicament el precipitat mitjançant atac total.

3.2.1.- Neutralització de l'acidesa

En tots tres experiments, les mescles reactives van mostrar una gran capacitat de neutralització de pH, amb valors a l'aigua de sortida al voltant de 6,7. Com es justificarà més endavant, aquesta neutralització va ser deguda a la dissolució de la calcita més que no pas a l'activitat bacteriana (eq 1.5). Quan l'aigua entra en contacte amb la calcita, aquesta es dissol fins a assolir les concentracions d'equilibri a l'aigua o fins que es consumeix tot el mineral segons la reacció:



Si bé el pH esperat de la reacció 3.1 és proper a 8, la presència de ions Ca^{2+} a les aigües a tractar (360 mg dm^{-3}) limita la dissolució de la calcita i condueix a valors de pH entre 6,5 i 7.

3.2.2.- Reducció de sulfats

En cap d'aquests experiments en columna no es va observar cap davallada de la concentració de sulfats ni la subsegüent generació de sulfurs a l'aigua tractada, la qual cosa va suggerir que el compost és una font massa poc biodegradable per promoure i sostenir l'activitat dels BSR. La falta de condicions sulfato-reductores va venir corroborada pels valors mesurats de potencial redox (E_{H}), amb un valor de +400mV al llarg de tot l'experiment, poc aptes per al metabolisme dels BSR. Aquest fet va indicar que, com s'ha avançat a l'apartat anterior, la neutralització de pH va ser deguda a la dissolució de la calcita.

3.2.3.- Eliminació de metalls

Tot i l'absència de condicions sulfato-reductores, es va observar una eliminació significativa de metalls a l'aigua tractada (concentracions $<0,2 \text{ mg dm}^{-3}$, nivells d'eliminació $>99\%$) durant els experiments, amb l'excepció de la columna 3, per a la qual es va detectar, a

partir del 50è dia, una concentració de Zn a l'aigua tractada de 8 mg dm^{-3} (nivell d'eliminació del 60%).

La Figura 3.1 mostra el perfil de l'evolució de pH, potencial redox (E_H), metalls i sulfats a l'aigua de sortida de la columna 3 (**Article III**).

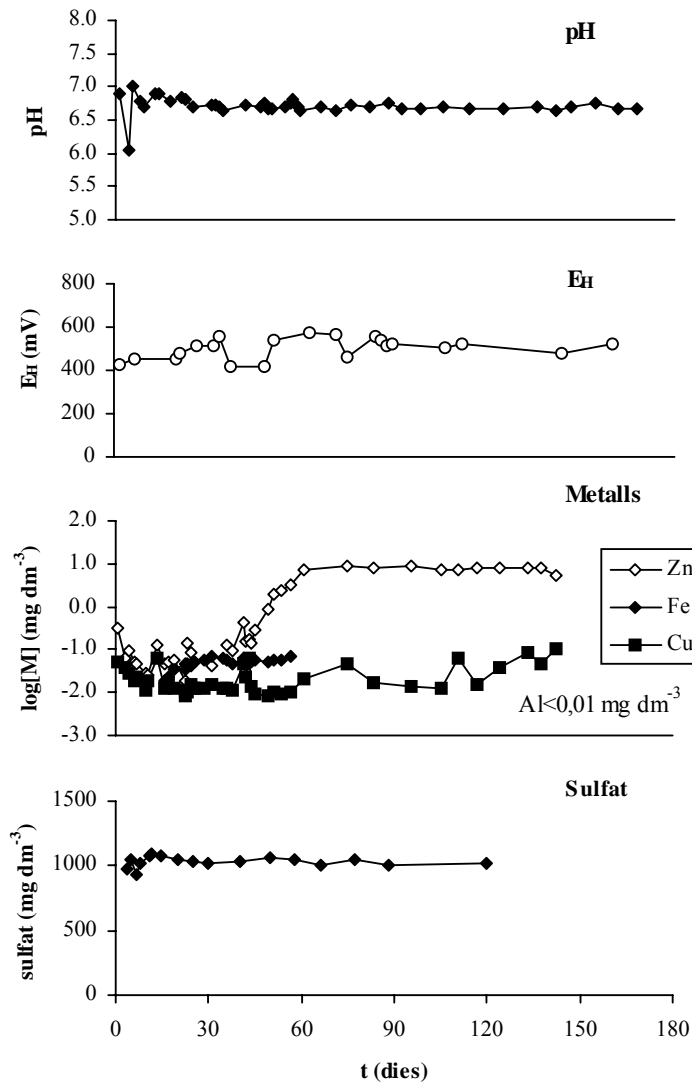


Figura 3.1: Perfil de l'evolució dels paràmetres d'interès d'una aigua representativa d'AAM tractada amb una mescla compost/calcita mitjançant experiment en columna (extreta de l'**Article III**)

Dels nivells d'eliminació de metalls obtinguts es desprèn que (1) mecanismes diferents a la precipitació de sulfurs metàl·lics van ser responsables de la retenció dels metalls dins la columna; i que (2) aquests mecanismes no van ser capaços d'eliminar totalment el Zn a llarg termini, tal com va mostrar la columna 3. Aquestes observacions van motivar una indagació posterior dels mecanismes d'eliminació de metalls (apartat 3.4).

3.3.- PERFIL DE RETENCIÓ DE METALLS AL LLARG DE LA COLUMNA

Per a l'experiment 2 (**Article II**), es va estudiar la distribució de la retenció de metalls al llarg de la columna, mitjançant una anàlisi química per atac total dels precipitats extrets a diferents alçades (5, 10 i 15 cm de la base). Un atac total consisteix en la destrucció total de la mostra sòlida per l'addició d'àcids forts (bàsicament HNO_3 , HF, HClO_4 i/o H_2SO_4 , adicionats en ordre creixent d'efecte oxidant) i l'anàlisi posterior del contingut de metalls en la fracció líquida. El procediment de l'atac químic utilitzat en aquest estudi ve precisat a l'**Article II**.

La Figura 3.2 mostra els perfils del contingut de cada metall retingut dins de la columna.

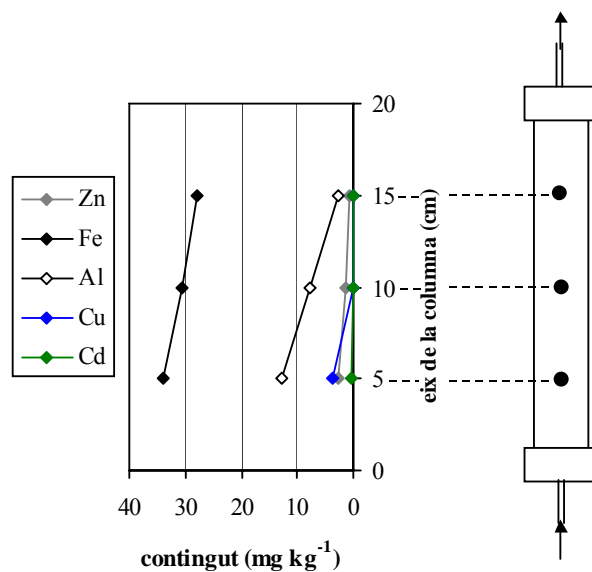


Figura 3.2: Perfil de retenció dels metalls estudiats al llarg de la columna 2, a partir dels resultats de l'anàlisi química d'atac total dels precipitats.

Per a tots els metalls, el contingut va ser superior a la base de la columna (punt d'entrada) que a la capçalera (punt de sortida). Els continguts de Fe i Al són molt superiors als dels altres metalls, per tal com el farciment inicial per a aquesta columna contenia aluminosilicats en els sediments de bassa i encenalls de Fe^0 (Taula 3.1). Com que aquests continguts inicials no eren coneguts, no es va poder quantificar el Fe i Al retingut en el decurs de l'experiment. Per al Zn, Cu i Cd, per als quals se suposa un contingut negligible a la mescla inicial, la retenció a la part inferior va ser del 55%, 99%, 72%, a la part central del 31%, 1%, 25%, i a la part superior del 14%, 0%, 3%, respectivament (**Article II**). La distribució d'aquests metalls és congruent amb el seu ordre de precipitació amb el pH (Figura 3.3, pàgina 49).

3.4.- MECANISMES DE RETENCIÓ DE METALLS

3.4.1.- Precipitació d'(oxi)hidròxids i carbonats metàl·lics

Una conseqüència immediata de la dissolució de la calcita és l'augment del pH i l'alcalinitat. A aquests nous valors de pH, alguns metalls poden precipitar en forma d'(oxi)hidròxids i carbonats metàl·lics.

La Figura 3.3 mostra el diagrama de distribució d'espècies en funció del pH per a a) Fe; b) Al; c) Zn; d) Cu; e) Cd; f) As en un medi amb presència de carbonats (60 mg dm^{-3}) i sulfats (1000 mg dm^{-3}), representatiu d'una AAM sintètica com la dels experiments anteriors que circula a través d'una mescla de calcita i compost.

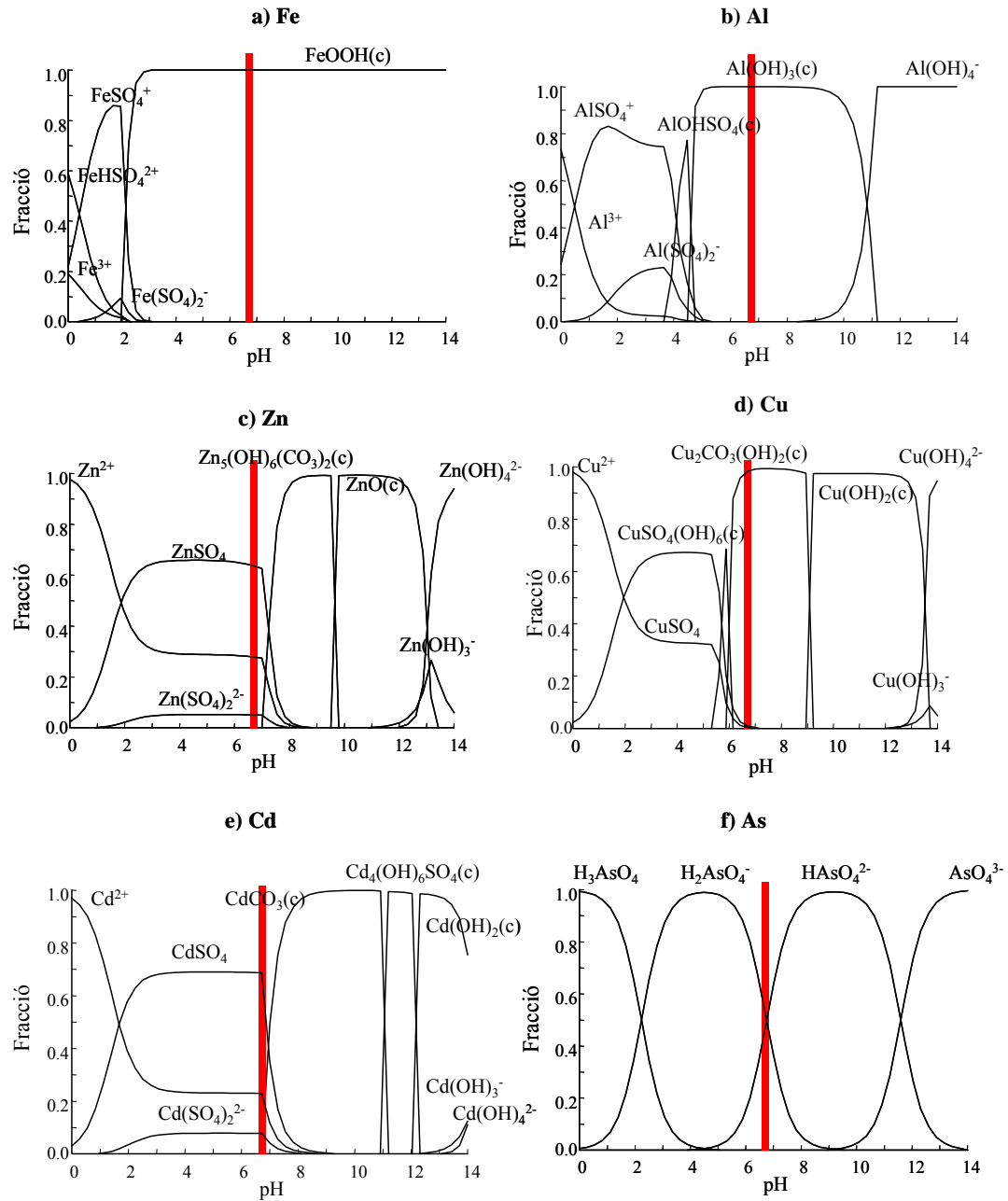


Figura 3.3: Diagrama de distribució d'espècies en funció del pH per a a) Fe; b) Al; c) Zn; d) Cu; e) Cd; f) As en un medi amb presència de carbonats (60 mg dm^{-3}) i sulfats (1000 mg dm^{-3}). La concentració d'element en cada diagrama és la mateixa que la present en els experiments ($\text{Fe}=10 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{Al}=10 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{Zn}=20 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{Cu}=20 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{Cd}=2 \text{ mg dm}^{-3}$, $\text{As}=2 \text{ mg dm}^{-3}$). La franja vermella indica el pH de les aigües tractades a la sortida de les columnes.

Com indica la Figura 3.3, és d'esperar que, als pH a les aigües a la sortida de les columnes ($6,7 \pm 0,2$), el Fe i l'Al precipitin en forma d'(oxi)hidròxids metàl·lics i el Cu ho faci en forma d'hidroxicarbonat de Cu ($\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$). Aquestes prediccions termodinàmiques expliquen satisfactòriament la retenció d'aquests metalls dins la columna (Figura 3.1). De més a més, vénen corroborades per l'observació visual de l'aparició de precipitats marró i gris pàl·lid, característics dels (oxi)hidròxids de Fe i Al, i per l'anàlisi SEM dels precipitats extrets de les columnes al final de l'experiment, que va revelar agregats esfèrics constituïts bàsicament per Al, Fe, S i O, i en menor quantitats per Zn, Cu (**Articles II i III**). Els espectres de raigs X no van detectar cap presència de minerals de Fe i Al, probablement a causa de la poca cristal·linitat dels precipitats formats.

Per contra, a aquests valors de pH les prediccions termodinàmiques indiquen una total dissolució del Zn (majoritàriament en les espècies $\text{Zn}(\text{SO}_4)_{(\text{aq})}$, Zn^{2+} i $\text{Zn}(\text{SO}_4)_2^{2-}$), una parcial dissolució del Cd (predominantment en forma de $\text{Cd}(\text{SO}_4)_{(\text{aq})}$, i en menor mesura de Cd^{2+} i $\text{Cd}(\text{SO}_4)_2^{2-}$) i de l'As (com a H_2AsO_4^- i HAsO_4^{2-}), i no expliquen, per tant, la total (o parcial, per al Zn) retenció d'aquests metalls en el transcurs dels experiments (Figura 3.1).

És clar, doncs, que s'han de considerar altres mecanismes -diferents a la precipitació d'(oxi)hidròxids i carbonats metàl·lics- que expliquin l'eliminació d'aquests metalls. Els mecanismes plantejats en aquesta memòria són la co-precipitació amb els (oxi)hidròxids de Fe i Al i l'adsorció al compost.

Els experiments que es van dur a terme a continuació es van centrar en la identificació (i en la quantificació fins on fou possible) de la contribució d'aquests mecanismes en l'eliminació de metalls (**Article III**). Per fer-ho, els treballs es van focalitzar en el Zn (com a metall que presenta dificultats de ser eliminat -Nuttall i Younger, 2000- i per ser el metall indicador en l'escenari d'Aznalcóllar -ITGE, 2001; Manzano *et al.*, 1999-) i, amb propòsits comparatius, el Cu (metall fàcilment eliminat per l'augment de pH).

3.4.2.- Co-precipitació amb (oxi)hidròxids metàl·lics

Un presumpte procés responsable, almenys parcialment, de la retenció de metalls com el Zn (per al qual cap fase sòlida no és esperable a un rang de pH de 6-7) és la co-precipitació amb (oxi)hidròxids metàl·lics amorfs. Aquesta hipòtesi ve confirmada, com s'ha dit, per l'anàlisi SEM, que va mostrar la presència de Zn associat a una matriu de precipitats d'(oxi)hidròxids de Fe i Al amorfs.

A fi d'estudiar l'efecte de la precipitació d'(oxi)hidròxids de Fe i Al en l'eliminació de Zn i Cu d'una dissolució aquosa, es van fer circular tres dissolucions amb continguts A) Zn; B) Zn, Al; C) Zn, Fe; a través de tres columnes de calcita, respectivament. Les concentracions

d'aquestes dissolucions vénen especificades a la Taula 3.2. A efectes comparatius, es va dur a terme un sistema anàleg de tres columnes per al Cu, les composicions del qual vénen recollides també a la Taula 3.2. Quan va caldre, es va afegir Ca (1000 mg dm^{-3}) a l'aigua d'entrada per ajustar el pH al valor d'estudi (6,7) segons l'equació 3.1.

	Sistema del Zn			Sistema del Cu		
	Zn(II)	Fe (III)	Al(III)	Cu(II)	Fe(III)	Al(III)
Column A	17	-	-	11	-	-
Column B	18	22	-	16	22	-
Column C	15	-	14	16	-	14

Concentracions expressades en mg dm^{-3}

Taula 3.2: Concentracions (en mg dm^{-3}) de les aigües a tractar en l'estudi de l'efecte de la precipitació d'(oxi)hidròxids de Fe i Al en l'eliminació de Zn i Cu per co-precipitació (extreta de l'**Article III**).

La Figura 3.4 mostra l'evolució del pH i de les concentracions a l'aigua de sortida dels metalls d'estudi (i, puntualment, de l'alcalinitat) al llarg de l'experiment. En síntesi, els resultats van demostrar que la precipitació d'(oxi)hidròxids de Fe i Al comportava un major descens de la concentració de Zn (en un 50% en presència de Fe, i en un 75% en presència d'Al) respecte als sistemes en absència de Fe i Al (nivell d'eliminació del 15%). Una discussió detallada d'aquests resultats ve explicada a l'**Article III**. En contrast amb el sistema del Zn, els nivells d'eliminació de Cu per a les tres columnes van ser >86%, causada per la precipitació en forma de malaquita ($\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$) i paratacamita ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$) -d'acord amb les prediccions d'equilibri químic, i tal com es va detectar per anàlisis de XRD- més que no pas per co-precipitació.

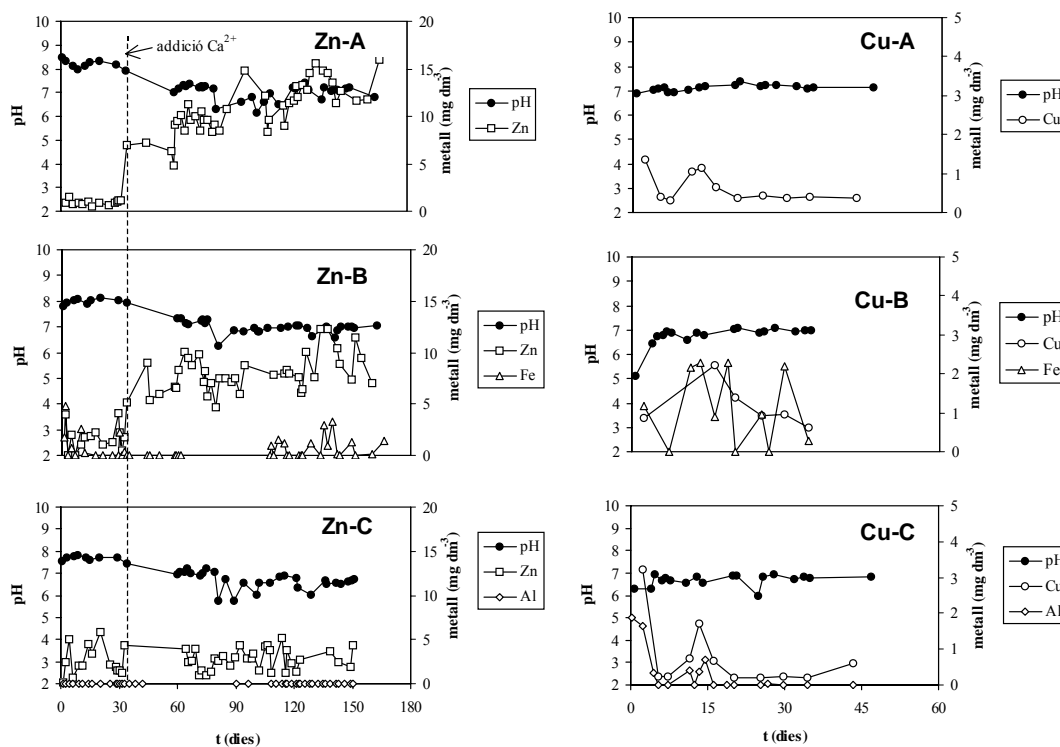


Figura 3.4: Evolució de les concentracions de les espècies d'interès a la sortida de les columnes durant els experiments sobre la co-precipitació (extreta de l'Article III).

La capacitat dels (oxi)hidròxids de Fe i Al amorfs d'actuar com a fases secundàries sorbents i d'incorporar metalls pesants per co-precipitació en condicions no reductores, és concordant amb estudis previs publicats (Cravotta i Trahan, 1999; McGregor *et al.*, 1998a, 1998b; Strömberg i Banwart, 1999; Corwin *et al.*, 1999; Voight *et al.*, 1996; Savage *et al.*, 2000; Kent *et al.*, 2000).

3.4.3.- Adsorció a la matèria orgànica

Tenint en compte el perfil de la concentració de Zn a l'aigua sortint de la columna 3 (Figura 3.1), característic d'un procés de saturació dels setis reactius de la superfície d'un material en un sistema en continu, es va contemplar l'adsorció com un tercer presumpte mecanisme responsable de l'eliminació dels metalls.

Es va realitzar una sèrie d'experiments en discontinu per tal d'examinar la capacitat del compost a adsorbir Zn i Cu a la seva superfície (Article III). La Figura 3.5 mostra la concentració de metall a la fase sòlida (Γ) en equilibri amb la concentració a la fase líquida (c_L) a pH 6,5 per al Zn i 5,5 per al Cu (essent aquest darrer menor per evitar la precipitació de Cu per hidròlisi). L'ajust dels resultats mitjançant una isoterma de Langmuir va quantificar una

capacitat màxima d'adsorció (Γ_{\max}) en el compost de 3,9 i 12,1 $\text{mg g}_{\text{compost}}^{-1}$ per al Zn i Cu, respectivament.

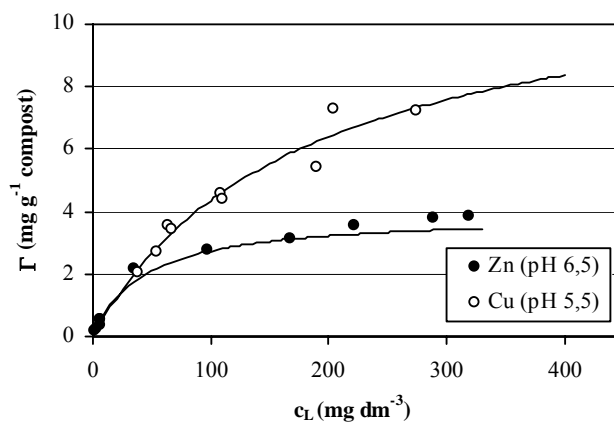


Figura 3.5: Isoterms d'adsorció al compost per al Zn i Cu a pH constant. Les corbes contínues s'han traçat assumint el compliment del model de Langmuir amb les constants apropiades (extreta de l'**Article III**).

Malgrat que nombrosos treballs han estudiat el fenomen d'adsorció de metalls, en absència de condicions sulfato-reductores, sobre una llarga llista de substrats orgànics naturals en el tractament d'aigües industrials (Aderhold *et al.*, 1996; Artola *et al.*, 2001; Chen i Peng, 2000; Pradhan i Rai, 2001; Chandra i Rempel, 1993; Maranon i Sastre, 1992; Leusch *et al.*, 1995; Lister i Line, 2001; Valdman i Leite, 2000), no hi ha fins al moment cap estudi publicat sobre la contribució d'aquest mecanisme en el tractament d'AAM per BPR.

3.4.4.- Precipitació de sulfurs metàl·lics

En cap experiment en columna, en què es va utilitzar compost com a font de carboni, no es van assolir condicions sulfato-reductores de forma significativa. No obstant això, l'anàlisi SEM dels precipitats de totes tres columnes va detectar, de forma ocasional, framboids esfèrics (mida mitja de 12 μm de diàmetre) constituïts per Fe, S i menors quantitats de Zn (**Article II, III**), com el mostrat a la Figura 3.6. Aquesta precipitació de sulfurs metàl·lics va ocórrer només de forma local i sempre a la part superior de la columna, en espais de porus on es van poder crear condicions prou reductores per a la formació d'aquests minerals.

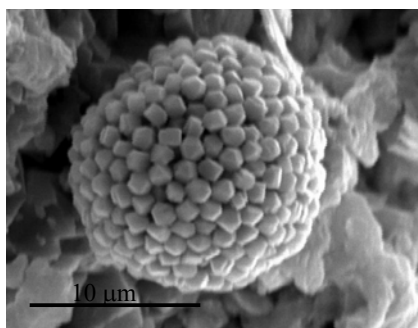


Figura 3.6: Agregats esfèrics de Fe i S, amb menors quantitats de Zn (extreta de l'Article III).

3.4.5.- Cementació en presència de Fe^0 a la mescla inicial

Per a la columna 2 es va detectar, mitjançant anàlisi SEM, cristalls octaèdrics de Cu^0 als precipitats de la columna (Figura 3.7). La presència de Cu^0 , observada a la columna 2 però no a les altres, va fer palès que el Fe^0 a la mescla inicial pot eliminar el Cu(II) per cementació allà on s'assoleixen condicions més reductores. Com amb la precipitació de sulfurs metàl·lics, aquestes condicions es van atènyer probablement de forma molt local, i es pot considerar que el mecanisme de cementació no va contribuir de forma significativa a l'eliminació de metalls. L'obtenció de Cu^0 per cementació està en concordança amb treballs previs sobre l'eliminació de metalls en presència de Fe^0 (Diels *et al.*, 2002).

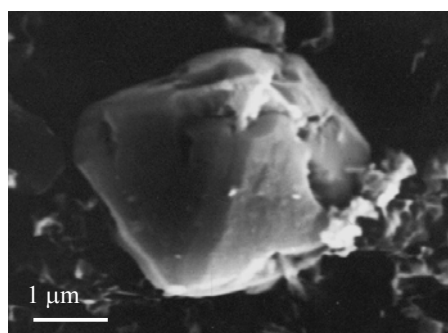


Figura 3.7: Cristalls octaèdrics de Cu^0 formats per cementació observats als precipitats de la columna 2 (extreta de l'Article II).

3.4.6.- Contribució dels diferents mecanismes en l'eliminació de Zn

Els resultats dels tests de co-precipitació i adsorció a la matèria orgànica es van aplicar per interpretar el perfil de la concentració de Zn al llarg de l'experiment representat a la Figura 3.1, corresponent a la columna 3. Com s'ha dit, aquest experiment es pot considerar, pel seu dimensionament i per les condicions hidrodinàmiques amb què es va conduir, un bon assaig per a l'estudi del comportament de la BPR d'Aznalcóllar.

Inicialment, l'eliminació de Zn pot ser atribuïda a l'efecte combinat de la co-precipitació amb els (oxi)hidròxids de Fe i Al amorfs i l'adsorció al compost, que explicaria la concentració marginal de Zn a l'aigua de sortida ($<1 \text{ mg dm}^{-3}$). Al llarg de l'experiment, els setis del compost van anar ocupant-se fins que, al 50è dia, es van saturar, amb el consegüent increment de la concentració de Zn al voltant de 8 mg dm^{-3} . A partir d'aquest moment, el Zn no va continuar adsorbint-se en el compost, però sí co-precipitant amb els (oxi)hidròxids de Fe i Al amorfs de nova formació. La Figura 3.8 representa la contribució de cada un d'aquests mecanismes a l'eliminació de Zn durant l'experiment. Es pot estimar que, durant els primers 50 dies, aproximadament el 60% del contingut de Zn entrat a la columna va ser eliminat per co-precipitació amb (oxi)hidròxids de Fe i Al amorfs, mentre que el 40% restant ho va ser per adsorció al compost (**Article III**).

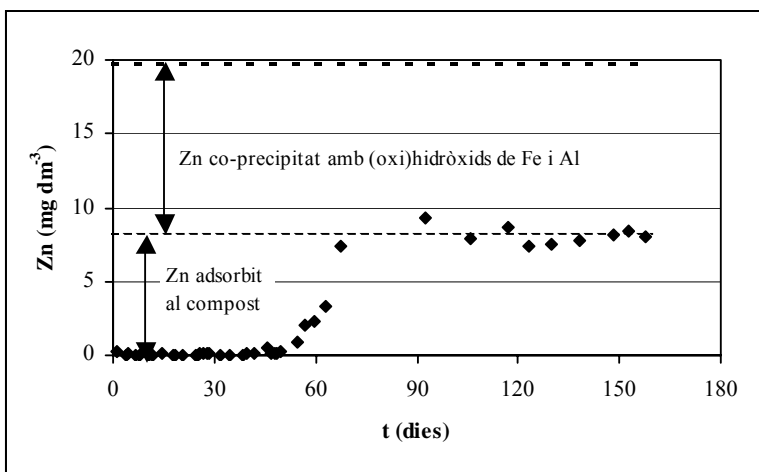


Figura 3.8: Contribució de la co-precipitació amb (oxi)hidròxids de Fe i Al i l'adsorció al compost a la retenció de Zn al llarg de l'experiment (extreta de l'**Article III**).

El Zn retingut per adsorció durant els primers 50 dies (288 mg Zn, calculat per la diferència entre la quantitat de Zn co-precipitat i la quantitat total de Zn eliminat) pot ser comparat amb el calculat a partir de la capacitat màxima d'adsorció (Γ_{\max}) del compost (739 mg Zn). La diferència (del 60%) entre aquests dos còmputos posa de manifest que no tots els setis potencials del compost són utilitzats per l'adsorció de Zn, sinó que també d'altres metalls. Tot i que en aquest estudi no es van investigar els efectes de la competició entre metalls, cal tenir en compte que hi són presents i que poden ser importants (Aderhold *et al.*, 1996; Pradhan i Rai, 2001; Chong i Volesky, 1995).

3.5.- APROFUNDIMENT DEL MECANISME D'ADSORCIÓ A LA MATÈRIA ORGÀNICA

Els experiments que segueixen a continuació van tenir com a objectiu el d'aprofundir en el mecanisme d'adsorció de Zn i Cu al compost, per tal de desenvolupar un model que en predigués la distribució. Aquests experiments vénen descrits detalladament a l'**Article IV**.

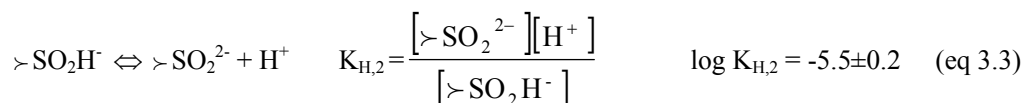
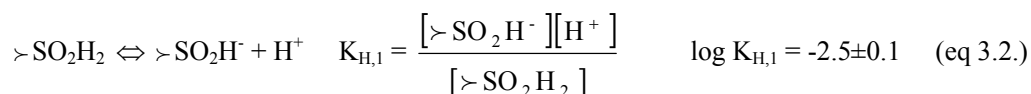
Els metalls de transició dissolts poden adsorbir-se a una fase sòlida a través de la formació de complexos amb els grups funcionals presents a la superfície del sòlid. Per això, en un primer pas, es van estudiar les propietats àcid-base del compost, per tal d'identificar la naturalesa dels grups funcionals àcids de la superfície implicats i la seva densitat. En un segon pas, es va determinar el coeficient de distribució (K_D) per al Zn i Cu en funció del pH i de la concentració de metall. A continuació, es va proposar un model per explicar les reaccions de complexació superficial que descrivissin l'adsorció del Zn i Cu al compost. Els resultats experimentals van ser llavors tractats numèricament mitjançant el programa LETAGROP-DISTR per determinar els complexos superficials predominants en les condicions experimentals i les seves corresponents constants de complexació (K).

3.5.1.- Caracterització àcid-base del compost

La caracterització àcid-base es va realitzar mitjançant una valoració potenciomètrica àcid-base del compost, en la qual es va determinar el pH a què tingué lloc la protonació/desprotonació dels grups àcids de la superfície del compost. Els detalls del procediment d'aquesta caracterització vénen recollits a l'**Article IV**.

D'aquesta valoració es va deduir l'existència de dos tipus de setis protonables a la regió de pH d'estudi (1-7). Segons s'ha descrit a la bibliografia (Gamble *et al.*, 1980; De Wit *et al.*, 1990), aquests setis àcids es poden considerar pertanyents a un únic grup funcional amb dos O⁻

reactius (referit en endavant com a $\gamma\text{-SO}_2\text{H}_2$), per als quals les constants d'equilibri ($K_{H,1}$ i $K_{H,2}$) poden definir-se segons les equacions següents:



on els valors de $K_{H,1}$ i $K_{H,2}$ es van trobar experimentalment a partir de la valoració àcid-base. Els valors obtinguts de $\text{p}K_{\text{H}}$ (eqs 3.2 i 3.3) s'aproximen als corresponents als grups carboxílics de l'àcid ftàlic i salicílic, que s'han utilitzat com a anàlegs a les substàncies húmiques per simular les propietats adsorptives de matèries orgàniques naturals (Gamble *et al.*, 1980), com el compost utilitzat en aquest experiment.

Els $\text{p}K_{H,1}$ (2.5) i $\text{p}K_{H,2}$ (5.5) corresponents als setis àcids del compost poden ser atribuïts, per tant, a la protonació del primer grup carboxílic de l'o-ftàlic, i al segon grup carboxílic de l'o-ftàlic o al primer de l'àcid salicílic, respectivament. La presència de grups carboxílics al compost s'ha confirmat per espectroscòpia infrarroja basada en la transformada de Fourier (FTIR).

Aquests resultats coincideixen amb treballs que descriuen que els grups carboxílics i fenòlics són els principals grups presents a les matèries orgàniques naturals (Boily *et al.*, 2000; Čežíková *et al.*, 2001; Dupuy *et al.*, 2001). Aquests estudis han ajustat les dades experimentals a un rang de grups acídics, de més àcid (grup carboxílic) a més bàsic (grup fenòlic), en substàncies húmiques i fúlviqües, i han conclòs que les dades experimentals es poden modelitzar, a la majoria dels casos, considerant un o dos tipus de setis àcids (Čežíková *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 1998; Gamble *et al.*, 1980).

3.5.2.- Adsorció de metalls al compost

L'extensió de l'adsorció de metall es va descriure en termes del coeficient de distribució (K_{D}), que es pot definir de la següent manera:

$$K_{\text{D}} = \frac{[\text{M}]_{\text{s}}}{[\text{M}]_{\text{aq}}} = \frac{([\text{M}]_0 - [\text{M}]_{\text{aq}})(V/m_{\text{s}})}{[\text{M}]_{\text{aq}}} \quad (\text{eq 3.4})$$

on $[\text{M}]_{\text{s}}$ i $[\text{M}]_{\text{aq}}$ representen la concentració total de metall a la fase sòlida (en mol kg^{-1}) i a la fase aquosa (mol dm^{-3}) un cop assolit l'equilibri, $[\text{M}]_0$ és la concentració inicial de metall a la fase

aquosa, V denota el volum de la fase aquosa (dm^3), i m_s és la massa de compost vegetal en base seca (kg). Cal assenyalar que l'ús apropiat de K_D és vàlid només mentre preval una relació lineal entre les concentracions a la fase sòlida i aquosa, és a dir, mentre no hi ha saturació de la capacitat d'adsorció.

En els experiments següents es va investigar la dependència de K_D amb el pH i amb la $[M]_{\text{aq}}$ per a una relació donada d'adsorbent/adsorbat (V/m_s) (Figura 3.9), seguint els procediments estàndards en aquest tipus d'experiments (**Article IV**).

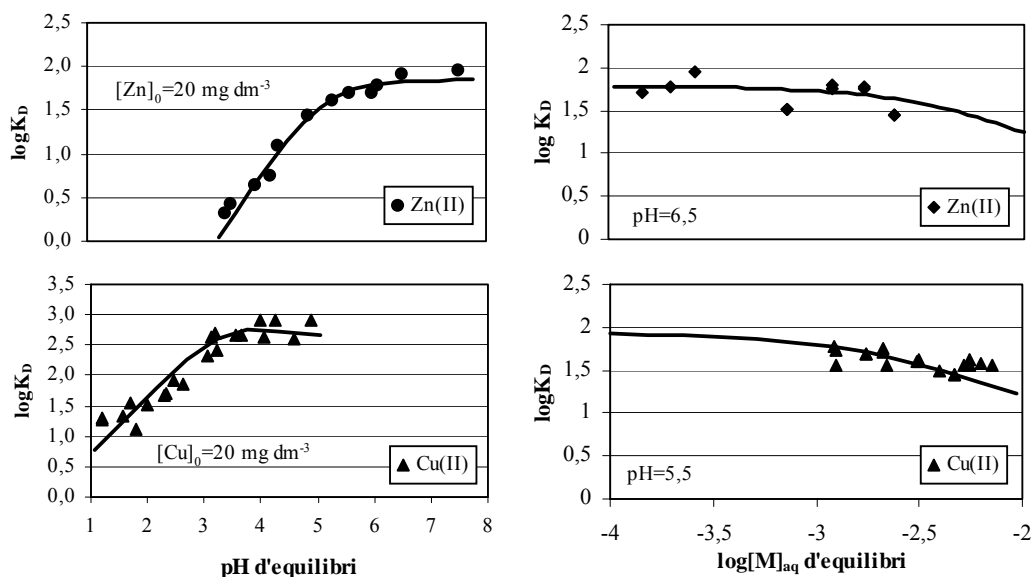


Figura 3.9: Variació de $\log K_D$ amb el pH d'equilibri i $[M]_{\text{aq}}$ per a una relació donada d'adsorbent/adsorbat (V/m_s) (massa de compost: 0.3 g; volum dissolució: 20 cm^3). Les corbes s'han traçat segons el model proposat a l'apartat següent.

Respecte a la dependència de $\log K_D$ amb el pH, s'observa una variació lineal fins a assolir un valor estable a partir d'un pH de 6 per al Zn i de 4 per al Cu. Aquesta tendència indica una forta competició entre els protons i els ions metàl·lics pels setis presents a la superfície del compost, tal com es descriu en treballs previs (Boily *et al.*, 2000; Čežíková *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2001; Pagnanelli *et al.*, 2000).

La isoterma d'adsorció de Zn i Cu en el compost (Figura 3.5) mostra un rang lineal per a concentracions de fins a 40 mg dm^{-3} ($10^{-3.2} \text{ M}$) per al Zn i 110 mg dm^{-3} ($10^{-2.7} \text{ M}$) per al Cu. Aquests límits són necessaris a l'hora d'interpretar la dependència de K_D amb la concentració de metall. Així, la Figura 3.9 mostra que mentre les concentracions de Zn i Cu es troben inequívocament dins la regió lineal de la isoterma d'adsorció, els valors experimentals de

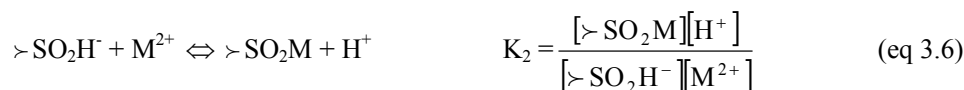
$\log K_D$ prenen un valor constant (prop de 1.6 per al Zn i prop de 1.8 per al Cu). A concentracions més altes, però, s'observa una desviació de K_D , deguda a la saturació del compost.

3.5.3. Desenvolupament d'un model d'adsorció de metalls al compost

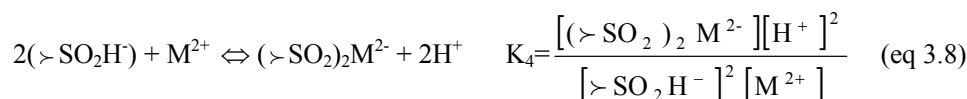
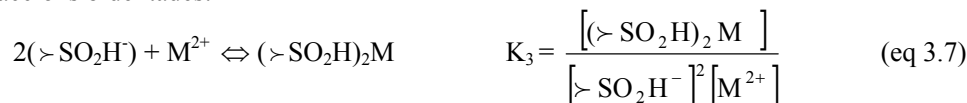
Les espècies preses en consideració en el desenvolupament del model van ser aquelles que caracteritzaven el sistema d'estudi, i van incloure els protons, els ions metàl·lics (Zn^{2+} i Cu^{2+}), els sulfats i els carbonats -tots ells presents a la fase aquosa-, i el compost, que constituïa la fase sòlida. El conjunt de reaccions contemplat va incloure la complexació metall-compost, la complexació lligand aquós-metall, i la precipitació de metall.

Els mecanismes de complexació proposats en aquest estudi són descrits per mitjà de les següents reaccions monodentades i bidentades:

Reaccions monodentades:



Reaccions bidentades:



on M representa Zn o Cu, i K_i la constant estequiomètrica d'equilibri a la força iònica de treball (que es va mantenir constant per la presència de 0,1 M de NaClO_4 a totes les dissolucions utilitzades).

Respecte a la complexació lligand aquós-metall i la precipitació de metall, es va estudiar la predominància d'espècies en les condicions experimentals. Aquestes van ser molt semblants a les dels experiments de l'apartat 3.2, per la qual cosa els diagrames d'espècies per al Zn i Cu en aquest experiment fou molt semblant als de la Figura 3.3. Als pH de treball, les espècies dissoltes predominants -tant per al Zn com per al Cu- van ser $\text{M}^{2+}_{(\text{aq})}$ i $\text{M-SO}_{4(\text{aq})}$. La

contribució de complexos $M\text{-CO}_{3(\text{aq})}$ i $M\text{-OH}_{(\text{aq})}$ és inferior al 5%, de manera que es van negligir en els càlculs posteriors.

Els metalls també poden reaccionar amb la matèria orgànica dissolta (MOD) per formar complexos del tipus M-MOD. No obstant això, els assaigs per avaluar la dissolució de la matèria orgànica amb el pH van quantificar valors de MOD $<7 \text{ mg dm}^{-3}$ per a $\text{pH} < 9$, per la qual cosa es va considerar aquest mecanisme com un procés minoritari, i també va ser negligit en els càlculs posteriors.

Quant a la hidròlisi de metalls, els càlculs termodinàmics van mostrar que la precipitació té lloc a $\text{pH} > 6.5$ pel Cu^{2+} i $\text{pH} > 8$ pel Zn^{2+} , superiors als pH en els nostres experiments (entre 3 i 6 pel Zn^{2+} i entre 1 i 5 pel Cu^{2+}).

Tenint en compte el model proposat, la quantitat a la fase sòlida (numerador) a l'eq 3.4 pot ser desglossada en termes d'equilibris de complexació superficial (eqs 3.5-3.8), mentre que la quantitat a la fase líquida (denominador) pot ser-ho en termes d'espècies dissoltes predominants:

$$\begin{aligned}
 [M]_s &= [>\text{SO}_2\text{HM}^+]_s + [>\text{SO}_2\text{M}]_s + [(>\text{SO}_2\text{H})_2\text{M}]_s + [(>\text{SO}_2)_2\text{M}^{2-}]_s \\
 &= [M^{2+}]_s [>\text{SO}_2\text{H}] \left(K_1 + \frac{K_2}{[\text{H}^+]} + K_3 [>\text{SO}_2\text{H}^-] + \frac{K_4 [>\text{SO}_2\text{H}^-]}{[\text{H}^+]^2} \right) \quad (\text{eq 3.9})
 \end{aligned}$$

$$[M]_{\text{aq}} \approx [M^{2+}]_{\text{aq}} + [\text{MSO}_4]_{\text{aq}} = [M^{2+}]_{\text{aq}} (1 + \beta_s [\text{SO}_4^{2-}]) \quad (3.10)$$

on $\beta_{M,S} = [\text{MSO}_4] / [M^{2+}][\text{SO}_4^{2-}]$ és la constant de complexació aquosa per al $M\text{-SO}_{4(\text{aq})}$ i K_i les constants d'equilibri a una força iònica de 0,1.

La introducció de les eqs 3.9 i 3.10 a l'eq 3.4 dóna lloc a:

$$K_D = \frac{[>\text{SO}_2\text{H}^-] \left(K_1 + \frac{K_2}{[\text{H}^+]} + K_3 [>\text{SO}_2\text{H}^-] + \frac{K_4 [\text{SO}_2\text{H}^-]}{[\text{H}^+]^2} \right)}{1 + \beta_s [\text{SO}_4^{2-}]} \quad (\text{eq 3.11})$$

Segons l'eq 3.11, el coeficient de distribució K_D , per a una relació donada d'adsorbent/adsorbat (V/m_s) i una $[\text{SO}_4^{2-}]$ determinada, depèn només del pH. Cal recordar que l'eq 3.11 és vàlida sempre i quan (1) la concentració total de metall sigui petita en relació a la concentració de grups de superfície, és a dir, no hi hagi saturació dels setis d'adsorció; (2) es

pugui negligir la complexació de metall amb OH^- i CO_3^{2-} ; (3) la força iònica i els coeficients d'activitat termodinàmics romanguin pràcticament constants.

Les dades experimentals de la Figura 3.9 van ser tractades numèricament mitjançant el programa LETAGROP-DISTR (Liem, 1974), que troba el millor conjunt de constants d'equilibri (K_i) que minimitza la suma d'errors quadràtics, definida com a:

$$U = \sum (\log K_{D,\text{exp}} - \log K_{D,\text{calc}})^2 \quad (\text{eq 3.12})$$

on $K_{D,\text{exp}}$ és el coeficient de distribució de metall determinat experimentalment i $K_{D,\text{cal}}$ és el valor calculat pel programa.

El model ajustat va establir els complexos superficials implicats en l'adsorció de Zn i Cu en el compost, que van resultar ser $>\text{SO}_2\text{Zn}$ per al Zn i $>\text{SO}_2\text{HCu}^+$ i $(>\text{SO}_2\text{H})_2\text{Cu}$ per al Cu, amb valors de $\log K$ de $-2,10$, $3,36$ i $4,65$, respectivament.

3.6.- EFECTE DE Fe^0 EN LA MESCLA REACTIVA

Els resultats dels experiments de les columnes 1 (sense Fe^0 en el farciment inicial) i 2 (amb presència de Fe^0) (Taula 3.1) van indicar que la inclusió de Fe^0 va afavorir la neutralització del pH de l'aigua tractada (Figura 3.10).

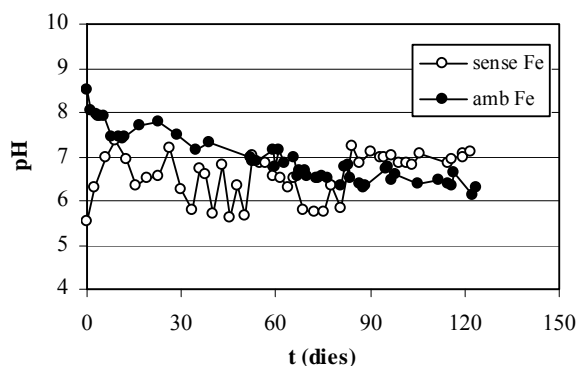


Figura 3.10: Efecte de la presència de Fe^0 en l'evolució del pH a l'aigua tractada als experiments en columna simulant la barrera d'Aznalcóllar (extreta de l'**Article II**).

Aquest increment addicional de pH ve explicat per la corrosió del Fe^0 segons l'eq 1.8. Cal afegir que una limitació potencial de la tecnologia basada en l'ús de Fe^0 és la seva

passivació amb el pas del temps pels precipitats de $\text{Fe}(\text{OH})_2/\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Fe}_2\text{O}_3$ (Gu *et al.*, 1998; Klausen *et al.*, 2001; Powell *et al.*, 1995; Roh *et al.*, 2001). Aquesta passivació de la superfície de les partícules de Fe^0 explicaria per què el valor de pH per a la mescla que inclou Fe^0 va créixer gradualment fins, al cap de dos mesos, assolir els valors obtinguts per a la mescla sense Fe^0 . Després de la passivació, el pH va venir controlat per la dissolució de la calcita.

Com s'ha explicat en els mecanismes de retenció de metalls, una segona conseqüència de la presència de Fe^0 a la mescla reactiva és que, si bé no va estimular l'activitat bacteriana mitjançant la generació d' H_2 , sí que va contribuir a l'afavoriment de condicions reductores. Aquest fet va ser corroborat per la detecció per SEM de cristalls octaèdrics de Cu^0 als precipitats de la columna (apartat 3.4.5).

3.7.- ESTABLIMENT D'UNA METODOLOGIA DE PREDICCIÓ DE LA BIODEGRADABILITAT D'UNA MATÈRIA ORGÀNICA

3.7.1.- Introducció

La digestió anaeròbia d'un substrat orgànic, en especial quan aquest consisteix en una matèria natural, és un procés molt complex. Aquesta complexitat, sumada a una dinàmica inherentment incerta, dificulta en gran manera qualsevol predicció del rendiment d'un procés biològic anaeròbic. Mentre nutreïdors d'animals han desenvolupat mètodes químics i enzimàtics per estimar la digestibilitat de diverses matèries orgàniques per a les dietes dels ruminants (Rahn *et al.*, 1999; Harper i Lynch, 1981; Jung *et al.*, 1997), i enginyers de processos han intentat quantificar la degradabilitat de residus orgànics per predir la generació de metà per fermentació (Chandler *et al.*, 1980; Haug, 1993), en el camp de l'enginyeria ambiental s'ha desenvolupat desafortunadament molt poca pràctica amb aquest propòsit (Prasad *et al.*, 1999).

Tot i que és acceptat que la composició química d'un substrat orgànic controla el comportament de la seva biodegradabilitat, no s'ha establert encara cap mètode estàndard per pronosticar-la. Els enfocaments químics per estimar el valor nutricional d'un material orgànic es solen basar en la quantificació de fraccions poc digestibles (principalment orgànics estructurals com la lignina i la cel·lulosa, que són resistents a la descomposició microbiana) i les fraccions digeribles (Chandler *et al.*, 1980; Rahn *et al.*, 1999; Prasad *et al.*, 1999), si bé s'han reconegut també altres criteris com a factors determinants en la degradabilitat d'un substrat orgànic, com ara la relació C/N (Kayhanian i Tchobanoglous, 1992) o la presència de substàncies específiques (proteïnes, carbohidrats, greixos, etc) (Jung *et al.*, 1997). Els resultats procedents d'aquest conjunt de mètodes tan divergents mostren que (1) la seva aplicació porta a

resultats molt diversos i sovint poc comparables, i (2) els resultats han de ser presos com a valors aproximats, amb un relatiu valor predictiu.

Chandler *et al.* (1980) han proposat l'equació empírica següent per estimar la fracció biodegradable (B) d'un substrat orgànic a partir del seu contingut en lignina:

$$B = -0,028X + 0,830 \quad (\text{eq 3.13})$$

on X és el contingut de lignina en els sòlids volàtils (SV), expressat en percentatge en pes sec.

3.7.2.- Correlació entre la fracció biodegradable i l'eliminació de sulfats

En aquesta tesi es va estudiar l'aplicabilitat de l'eq 3.13 a la predicció de la biodegradabilitat de mostres de quatre matèries orgàniques naturals (compost vegetal, fulles de roure, fems d'ovella i fems de cavall). Amb aquest objectiu, es va dur a terme en primer lloc una caracterització química de cada una de les matèries orgàniques seleccionades, i amb posterioritat se'n va avaluar, en experiments en discontinu, la capacitat d'actuar com a font de carboni en el sosteniment de l'activitat bacteriana. Les aigües a tractar es van preparar amb un alt contingut de SO_4^{2-} (prop de 1000 mg dm^{-3}) i acidesa (pH de 2,4) i, per simplificar el sistema -i atès que l'objectiu de l'estudi es va centrar en el procés de la sulfato-reducció-, en absència de metalls. Els resultats d'aquests experiments es descriuen i discuteixen detalladament a l'**Article V**.

En termes generals, els experiments van mostrar una correlació inversa entre el contingut de lignina als SV i la seva capacitat de promoure l'activitat bacteriana. Dels quatre materials, els fems d'ovella i cavall i les fulles de roure van desenvolupar per si sols condicions reductores i van generar sulfidogènesi, constatada per una davallada de la concentració de sulfats. D'entre ells, els fems d'ovella van ser clarament la matèria orgànica més adequada com a donador d'electrons (nivells d'eliminació de sulfats >99%), seguida dels fems de cavall i les fulles de roure (nivells d'eliminació de sulfats del 80%). Per contra, el compost va ser una font massa pobra de carboni per estimular per si sol l'activitat de BSR.

La Figura 3.11 mostra la relació de la fracció biodegradable (B) -calculada segons l'eq 3.13- i el percentatge de SO_4^{2-} eliminat en aquests experiments.

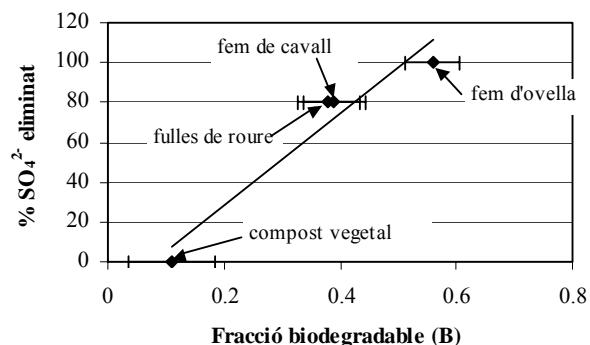


Figura 3.11: Nivell d'eliminació de sulfat assolit en experiments en continu en funció de la fracció biodegradable (B) dels substrats orgànics avaluats (extreta de l'Article V).

3.8.- INFLUÈNCIA DEL TEMPS DE RESIDÈNCIA EN EL RENDIMENT DE LA SULFATO-REDUCCIÓ BACTERIANA EN SISTEMES EN CONTINU

De les matèries orgàniques examinades, la mostra de fems d'ovella va resultar ser la més favorable en termes de sulfato-reducció, per la qual cosa es va seleccionar per a la seva avaluació en un sistema en continu.

El muntatge experimental va ser idèntic al realitzat en les columnes 1 i 2 de l'apartat 3.2, amb les proporcions dels components de la mescla reactiva següents (en vol %): 30% de matèria orgànica (fem d'ovella), 55% de calcita, 15% de sediments de bassa. Anàlogament a l'experiment anterior, i atès que l'objectiu de l'experiment fou la quantificació de la sulfato-reducció per part dels BSR, l'aigua a tractar es va preparar amb un elevat contingut de SO_4^{2-} (prop de 1000 mg dm^{-3}) i d'acidesa (pH de 3), però lliure de metalls. Es va fer circular l'aigua a través de la columna per mitjà d'una bomba peristàltica de velocitat variable, i amb un cabal inicial de $0,058 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ (temps de residència t_R de 0,73 dies), que al 69è dia va ser abaixat a $0,018 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ (t_R de 2,4 dies) i al 112è dia a $0,005 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ (t_R de 9,0 dies).

L'experiment va evidenciar la importància de considerar el temps de residència com un factor clau en el funcionament d'un sistema en continu. Amb un temps de residència de 0,73 dies, el sistema no va ser capaç de promoure activitat sulfato-reductora. No obstant això, allargar el temps de residència a 2,4 i 9,0 dies va traduir-se en un augment del nivell d'eliminació de sulfats del 18% i 27%, respectivament (Figura 3.12).

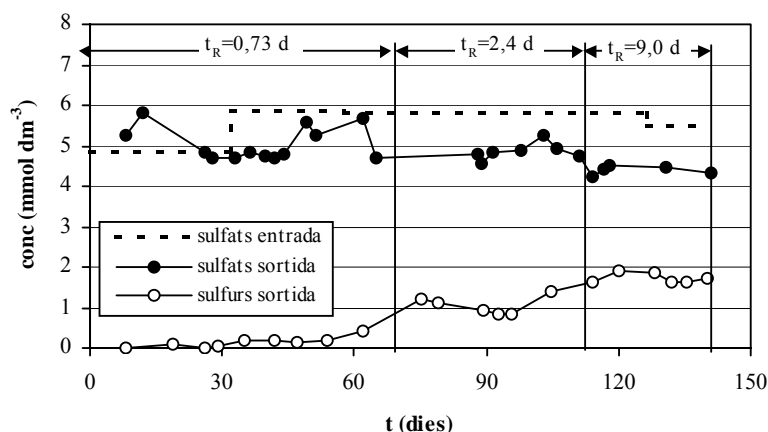


Figura 3.12: Evolució de la concentració de sulfats i sulfurs en el tractament d'una aigua per mitjà de BSR utilitzant fems d'ovella com a substrat orgànic. El cabal va ser reduït el dia 69 i 112, amb el corresponent augment del temps de residència de 0,73 dies a 2,4 i 9,0 dies respectivament (extreta de l'Article V).

La dependència del rendiment del tractament mitjançant BSR amb el temps de residència ha estat assenyalada per treballs previs (Dvorak *et al.*, 1992; Benner *et al.*, 2002; Bécharad *et al.*, 1994; Glombitza, 2001) i ha de ser presa en consideració en el disseny d'una BPR (Benner *et al.*, 2002).

3.9.- AVALUACIÓ D'UNA MESCLA DE FEM D'OVELLA I CALCITA PER AL TRACTAMENT D'UNA AAM MITJANÇANT BSR

Com a continuació de l'últim experiment, es va procedir a avaluar els fems d'ovella en el tractament d'una AAM per determinar-ne la capacitat d'eliminació de metalls (**Article VI**).

El muntatge experimental va ser idèntic al de l'experiment anterior. La mescla reactiva fou similar a les usades prèviament (proporcions en vol %: 25% matèria orgànica -fems d'ovella-, 70% calcita, i 5% sediment de bassa, com a font de BSR) i l'aigua a tractar semblant a les preparades per als experiments de l'apartat 4.2 representatives de l'aquífer del riu Agrio (concentracions de sulfats prop de 1000 mg dm⁻³, continguts variables -entre 2 i 20 mg dm⁻³- dels metalls Zn, Fe, Al, Cd i Cu, i un pH de 2,80). Aquesta aigua es va fer circular per mitjà d'una bomba peristàtica a un cabal de 0,072 cm³ min⁻¹ (t_R de 0,5 dies), que es va abaixar el 69è dia d'experiment a 0,013 cm³ min⁻¹ (t_R de 2,9 dies) i de nou el 112è dia a 0,003 cm³ min⁻¹ (t_R de 12,1 dies) per afavorir l'activitat bacteriana

3.9.1.- Neutralització de l'acidesa

La mescla reactiva va mostrar de nou una gran capacitat de neutralització de pH, amb valors a l'efluent al voltant de 7.

3.9.2.- Reducció de sulfats

No es va observar cap davallada significativa de la concentració de sulfats ni cap generació de sulfurs a l'aigua tractada. Aquesta diferència amb l'experiment anterior (apartat 3.8) va evidenciar que la presència de metalls incideix de forma notable a l'activitat bacteriana, tal com es discutirà a continuació. Aquest fet va indicar que, com s'ha avançat a l'apartat anterior, la neutralització de pH va ser deguda novament a la dissolució de la calcita.

3.9.3.- Eliminació de metalls

Tot i l'absència de condicions sulfato-reductores, es va observar una eliminació significativa de metalls en l'aigua tractada (concentracions $<0,2 \text{ mg dm}^{-3}$, nivells d'eliminació $>99\%$), amb l'excepció del Zn, per al qual es va obtenir una concentració a la sortida de $12,6 \text{ mg dm}^{-3}$ (nivells d'eliminació del 37%). Aquesta retenció parcial de Zn s'explica pels mateixos mecanismes que per al compost (apartat 3.4): co-precipitació amb (oxi)hidròxids de Fe i Al (confirmada per anàlisi SEM), adsorció a la matèria orgànica (confirmada per FTIR) i, amb una contribució negligible, i de forma molt local, precipitació com a sulfurs metàl·lics.

3.9.4.- Influència de la presència de metalls en l'activitat dels BSR

A diferència de l'experiment de l'apartat 4.8 (on es van ometre deliberadament els metalls de l'aigua a tractar, i en què es va assolir un nivell de reducció de SO_4^{2-} de fins al 27% amb un t_R de 9,0 dies), en aquest experiment el sistema no va ser capaç (ni amb un t_R de 12,1 dies) de promoure condicions sulfato-reductores.

L'absència d'activitat dels BSR en aquest experiment és deguda, sens dubte, als efectes adversos que els metalls pesants exerceixen sobre el seu metabolisme. Estudis previs remarquen que els metalls pesants poden ser l'origen d'efectes tan tòxics (causants de mortalitat) com inhibitoris (causants d'una reducció en l'activitat metabòlica) als BSR per interaccions de caràcter bioquímic (desactivació d'enzims, desnaturalització de proteïnes i competició amb cations essencials) i físic (precipitació de sulfurs metàl·lics damunt la cèl·lula bacteriana, que actuen de barrera física i impedeixen l'activitat bacteriana) (Utgikar *et al.*, 2002; Utgikar *et al.*, 2003).

La determinació de la concentració d'un metall a partir de la qual aquest comença a ser tòxic no és senzilla. Utgikar *et al.* (2003) reporten una concentració crítica per a una dissolució multimetall (Zn, Cd, Cu, Pb, Co) de 20 mg dm^{-3} , a partir de la qual és esperable que apareguin efectes tòxics sobre els BSR.

El contingut de metalls en l'aigua dels experiments realitzats excedia clarament aquesta concentració llindar, i la feia, per tant, altament tòxica per als BSR. Tanmateix, i com s'ha anat explicant anteriorment, els metalls són retinguts de forma majoritària a l'entrada de la columna (apartat 3.3) per mecanismes associats a la precipitació, co-precipitació o adsorció (apartat 3.4). D'aquesta manera, és d'esperar que, més enllà de la zona inferior de la columna, les concentracions de metall assoleixin valors inferiors a les concentracions tòxiques i que les condicions siguin favorables per a l'activitat bacteriana des d'un punt de vista toxicològic. Aquesta observació és consistent amb el fet que els framboids (formats per sulfurs metàl·lics) ocasionals van ser localitzats sempre al final de la columna.

