

120



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

Tej

FACULTAD DE QUÍMICA

ADAPTACION DE UNA TECNICA PARA
DETERMINAR LA BIODEGRABILIDAD
ANAEROBIA EN AGUAS RESIDUALES

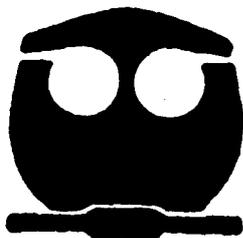
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICA FARMACEUTICA BIOLÓGICA

P R E S E N T A :

JUANA VAZQUEZ OCAMPO



MEXICO, D. F.

1995

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FALLA DE ORIGEN



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.



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: PROF: PEDRO VILLANUEVA GONZALEZ

VOCAL: Dr. ADALBERTO NOYOLA ROBLES

SECRETARIO: PROF: EDUARDO BARZANA GARCIA

PRIMER SUPLENTE: PROF: Ma. DE LOURDES ESCAMILLA
HURTADO

SEGUNDO SUPLENTE: PROF: JOSE ALEJANDRO BAEZA REYES

Sitio donde se desarrolló el tema:

INSTITUTO DE INGENIERIA , UNAM.
CIUDAD UNIVERSITARIA, MEXICO D.F.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. ADALBERTO NOYOLA ROBLES

SUSTENTANTE:

JUANA VAZQUEZ OCAMPO

INDICE

RESUMEN

I	Lista de tablas	
II	Lista de figuras	
1	INTRODUCCION	1
2.0	DIGESTION ANAEROBIA	3
2.1	Bioquímica de la Digestión Anaerobia	5
2.1.1	PRIMER ETAPA. Hidrólisis del sustrato y acidogénesis	9
2.1.2	SEGUNDA ETAPA. Acetogénesis	
2.1.3	TERCER ETAPA. Metanogénesis	10
2.2	Factores fisicoquímicos	13
2.2.1	pH	13
2.2.2	Alcalinidad	13
2.2.3	Temperatura	13
2.2.4	Nutrientes	14
2.2.5	Sustancias tóxicas	15
3.0	BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA	16
3.1	Técnicas empleadas para determinar la actividad metanogénica y la biodegradabilidad por vía anaerobia.	18
4.0	MATERIALES Y METODOS	22
4.1	Materiales	22
4.2	Metodología	27
4.2.1	Preparación de botellas	27
4.2.2	Relación de carga gDQO/gSSV	28
4.2.3	Inoculación	29
4.2.4	Medición de la producción de gas	31
5.0	RESULTADOS	33
5.1	Efluente de vinaza	33
5.2	Efluente de cañaza	44
5.3	Efluente de harinas	50
5.4	Efluente de malta	57
5.5	Efluente de tableros de madera	63

6.0	PARAMETROS IMPORTANTES EN LA APLICACION DE LA TECNICA EXPERIMENTAL.	69
6.1	Inóculo	69
6.1.2	Concentración del agua residual	70
6.1.3	Alcalinidad y pH	71
6.1.4	Nutrientes	71
6.1.5	Período de incubación y toma de muestra	72
7.0	CONCLUSIONES	74
	BIBLIOGRAFIA	75
	ANEXO 1	
	Técnicas empleadas para determinar la biodegradabilidad de un agua residual por vía anaerobia.	78
	Medios minerales empleados	88
	ANEXO 2	
	Resultados experimentales	98
	ANEXO 3	
	Actividad metanogénica específica	116
	Elaboración de la curva estándar de metano	118
	ANEXO 4	
	Catálogo de material empleado.	122

LISTA DE TABLAS

- Tabla 2.1 Principales ventajas y desventajas que presenta la digestión anaerobia.
- Tabla 2.2 Procesos de conversión que se lleva a cabo en la digestión anaerobia.
- Tabla 2.3 Ventajas de la fermentación metanogénica en la zona mesofílica y termofílica.
- Tabla 3.1 Cuadro resumen de tres técnicas para medir la biodegradabilidad de un agua residual por vía anaerobia.
- Tabla 5.1.1 Caracterización del agua residual de vinaza empleada.
- Tabla 5.1.2 Relaciones gDQO/gSSV estudiadas.
- Tabla 5.1.3 Inóculo.
- Tabla 5.1.4 Resultados de la corrida en batch por vía anaerobia del efluente de vinaza.
- Tabla 5.1.5 Producción de metano (vinaza).
- Tabla 5.1.6 Producción neta de metano (vinaza).
- Tabla 5.2.1 Caracterización del agua de carnaza empleada.
- Tabla 5.2.2 Relaciones gDQO/gSSV estudiadas sin y con nutrientes externos.
- Tabla 5.2.3 Inóculo
- Tabla 5.2.4 Producción de metano (carnaza, sin nutrientes).
- Tabla 5.2.5 Producción de metano (carnaza, con nutrientes).
- Tabla 5.3.1 Caracterización del agua residual de harinas empleada.
- Tabla 5.3.2 Relaciones gDQO/gSSV estudiadas.
- Tabla 5.3.3 Inóculo.

Tabla 5.3.4 Resultados de la corrida en batch por vía anaerobia del efluente de harinas.

Tabla 5.3.5 Producción de metano (harinas)

Tabla 5.3.6 Producción neta de metano (harinas).

Tabla 5.4.1 Caracterización del agua residual de malta empleada.

Tabla 5.4.2 Relaciones gDQO/gSSV estudiadas.

Tabla 5.4.3 Inóculo.

Tabla 5.4.4 Resultados de la corrida en batch por vía anaerobia del efluente de malta.

Tabla 5.4.5 Producción de metano (malta).

Tabla 5.4.6 Producción neta de metano (malta).

Tabla 5.5.1 Caracterización del agua residual de tableros de madera empleada.

Tabla 5.5.2 Relaciones gDQO/gSSV estudiadas.

Tabla 5.5.3 Inóculo.

Tabla 5.5.5 Resultados de la corrida en batch por vía anaerobia del efluente de tableros de madera.

Tabla 5.5.6 Producción neta de metano (fibracel).

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 2.1 Flujo de energía en los procesos de conversión aerobios y anaerobios (Noyola, 1989).
- Fig. 2.2 Flujo del sustrato durante la degradación anaerobia propuesta por Kaspar en 1972 (Gujer y Zhender, 1983).
- Fig. 2.3 Bacterias que participan en el proceso de digestión anaerobia (Stronach, 1985).
- Fig. 4.1 Botellas de suero de 60 y/o 160 ml.
- Fig. 4.2 Manifold (dosificador de gases).
- Fig. 4.3 Cámara anaerobia.
- Fig. 4.4 Incubadora VWR Scientific Inc.
- Fig. 4.5 Transductor de presión.
- Fig. 4.6 Cromatógrafo de gases.
- Fig. 5.1.1 Producción de metano (vinaza; testigo, 1.0 y 2.5 gDQO/gSSV).
- Fig. 5.1.2 Producción de metano (vinaza; 5.0 gDQO/gSSV).
- Fig. 5.1.3 Producción de metano (vinaza; 7.5 y 10 gDQO/gSSV)
- Fig. 5.1.4 Producción neta de metano (vinaza; 1.0 y 2.5 gDQO/gSSV)
- Fig. 5.1.5 Producción neta de metano (vinaza; 5.0 gDQO/gSSV).
- Fig. 5.1.6 Producción neta de metano (vinaza; 7.5 y 10 g DQO/gSSV).
- Fig. 5.2.1 Producción de metano (carnaza; testigo, 1.0, 2.0 y 5 gDQO/gSSV)
- Fig. 5.2.2 Producción de metano (carnaza; testigo, 1.0 y 5.0 gDQO/gSSV).
- Fig. 5.3.1 Producción de metano (harinas; testigo, 1.0, 2.5 y 5 gDQO/gSSV)
- Fig. 5.3.2 Producción de metano (harinas; 7.5 y 10 gDQO/gSSV).
- Fig. 5.3.3 Producción neta de metano (harinas; 1.0, 2.5 y 5 gDQO/gSSV).

Fig. 5.3.4 Producción neta de metano (harinas; 7.5 y 10 gDQO/gSSV).

Fig. 5.4.1 Producción de metano (malta; testigo, 1, 2.5 y 4 gDQO/gSSV)

Fig. 5.4.2 Producción neta de metano (malta; 1.0, 2.5 y 4 gDQO/gSSV)

Fig. 5.5.5 Producción neta de metano (fibracel; 1.0 y 5 gDQO/gSSV).

RESUMEN

En el presente trabajo se muestra una técnica estandarizada para la medición de la biodegradabilidad anaerobia de un agua residual industrial en batch.

La técnica experimental consiste en una caracterización completa del agua residual a tratar, antes de ser adicionada en botellas de suero, previamente inoculadas con lodo concentrado y activo, y medio mineral global; empleando diferentes cargas puntuales desde 1 hasta 10 gDQO/gSSV a un pH de 7.2 a 7.8 y a una temperatura de 35 °C en la obscuridad y sin agitación.

El desarrollo de la técnica se mide por el monitoreo de presión a través de un transductor de presión y la cuantificación de metano generado por la descomposición de la materia orgánica biodegradada, mediante la inyección de metano al cromatógrafo de gases a través de una jeringa Pressure Lok, comparando el pico obtenido con una curva estándar de metano elaborada experimentalmente.

El período de incubación depende de la actividad del lodo empleado así como de la composición del efluente a tratar.

En este trabajo se trataron los siguientes efluentes: efluente de vinaza (residuo de un ingenio azucarero), efluente de carnaza (residuo de una industria que elabora objetos masticables para animales), efluente de harinas (residuo de una industria harinera), efluente de malta (residuo de una industria productora de malta para la elaboración de cerveza) y el efluente de tableros de madera (residuo de una industria productora de fibracel).

I. INTRODUCCION

La necesidad de una disposición adecuada de las aguas de desecho, ha propiciado el desarrollo de diferentes sistemas de tratamiento según las particularidades del lugar y el tipo de agua residual.

Para llevar a cabo el tratamiento de aguas residuales existen dos procesos: fisicoquímicos y biológicos. Los fisicoquímicos son empleados en aguas con contaminantes inorgánicos o con materia orgánica no biodegradable, mientras que los biológicos se emplean cuando los componentes contaminantes son biodegradables.

La principal división entre los diversos procesos biológicos es la forma en que los microorganismos utilizan el oxígeno, clasificándose de esta manera en procesos biológicos aerobios y anaerobios. Los procesos aerobios son los más utilizados dadas las más rápidas tasas de remoción de materia orgánica y eficiencias del 90-95%. Estos procesos a su vez presentan algunas desventajas tales como:

- la carga orgánica no puede ser muy alta ($1.5 \text{ kg DBO/m}^3/\text{día}$) debido a limitaciones en la transferencia de oxígeno.
- requieren dispositivos mecánicos como aeradores
- son consumidores de energía
- aproximadamente el 50% de la materia removida se transforma en " lodos".

Los sistemas anaerobios presentan una alternativa ante estos inconvenientes, ya que no requieren energía y la cantidad de lodo que se produce es menor. Anteriormente, los sistemas anaerobios eran poco aplicados por que podían presentar fallas, las cuales se debían a la dificultad para tratar aguas residuales con inhibidores potenciales así como a la falta de entendimiento de las interacciones entre la biomasa y los inhibidores u otros constituyentes del residuo alimentado al reactor. En la actualidad, esto ha cambiado y la tecnología anaerobia tiene un buen sustento teórico-práctico.

El tratamiento anaerobio se puede llevar a cabo tanto en continuo como en batch (lotes) siendo el primero el que se aplica en operaciones a gran escala. Sin embargo, para estudios preliminares a nivel laboratorio, como pruebas de tratabilidad, el proceso continuo es costoso, ya que requiere mayor cantidad de recursos, en cuanto a equipo, tiempo y personal.

Los sistemas en batch tienen en este sentido menos limitaciones, lo que permite evaluar un amplio rango de variables, aunque no simulan adecuadamente las condiciones reales. Sin embargo, son muy útiles para definir que carga puede ser aplicada en continuo con los mejores resultados, que variables se deben considerar antes de arrancar, que limitaciones hay en cuanto a nutrientes y si existen o no elementos en el agua que puedan causar inhibición, así como para desarrollar y planear eficientemente ensayos en continuo.

Para evaluar la aplicación de sistemas de tratamiento anaerobio es necesario disponer de ciertas características básicas tanto del agua residual a tratar como del lodo que se va a emplear como inóculo.

Entre los parámetros destacan:

La biodegradabilidad anaerobia del agua residual

La actividad metanogénica del lodo.

La toxicidad del agua residual o de sus componentes.

La biodegradabilidad de un agua residual permite estimar la fracción de la DQO (Demanda Química de Oxígeno) que puede ser transformada en metano y dióxido de carbono, así como estimar la DQO recalcitrante que permanecerá en el efluente.

La actividad metanogénica de los lodos anaerobios es un importante parámetro que permite determinar la carga orgánica, la rapidez y seguridad en el arranque de un reactor. Además, un control periódico de la actividad del lodo permite detectar tempranamente el deterioro de éste debido a la toxicidad, deficiencia de nutrientes o acumulación de sólidos suspendidos.

La toxicidad está estrechamente relacionada con los dos puntos anteriores, ya que si el agua residual presenta compuestos tóxicos la actividad metanogénica y la biodegradabilidad se verán inhibidas. El objetivo de este trabajo es proponer una metodología en el sistema en batch por vía anaerobia para evaluar la actividad metanogénica del lodo y la biodegradabilidad.

2 DIGESTION ANAEROBIA

La digestión anaerobia, es un proceso natural que ocurre cuando compuestos biodegradables son expuestos a la acción biológica en ausencia de oxígeno molecular, siendo convertidos principalmente a dióxido de carbono y metano (biogás).

La aplicación de la digestión anaerobia y la producción de gas ($\text{CH}_4 + \text{CO}_2$) no constituyen un descubrimiento reciente, ya que en el siglo pasado se empleaban sistemas rústicos como la fosa séptica. En los últimos años, gracias al desarrollo de la tecnología del proceso anaerobio, son cada vez más los tipos de aguas residuales susceptibles de ser tratadas mediante esta vía, tales como efluentes de procesadores de alimentos, y efluentes complejos como los de la industria del papel y de la extracción del carbón, e inclusive aguas de desecho muy diluidas como las aguas negras urbanas. (Speece, 1983).

Debido a las ventajas que ofrece la digestión anaerobia, se le ha clasificado como un método de tratamiento de aguas de desecho que ahorra y produce energía, así como una alternativa de tratamiento sería, confiable y eficiente, siendo en muchos casos superior a los procesos aerobios. La Tabla 2.1 resume las principales ventajas y limitaciones de los tratamientos anaerobios de aguas residuales.

La descomposición anaerobia de la materia orgánica, involucra procesos metabólicos que son desde el punto de vista bacteriano menos eficientes que el metabolismo aerobio.

Los organismos anaerobios fermentativos liberan materia orgánica rica en energía contenida en los enlaces de los compuestos orgánicos producidos. En el caso del tratamiento anaerobio de residuos orgánicos, la energía se encuentra en el metano.

Es decir, una bacteria anaerobia metanogénica utilizará sólo del 10 al 15% de la energía contenida en su alimento o sustrato para reproducirse y para llevar a cabo sus funciones vitales dando origen a nuevas células; el 90% restante lo destinará a metano. Por otra parte, la bacteria aerobia empleará en presencia de oxígeno, un 60 a 65% de energía en síntesis de nuevos organismos, mientras la fracción restante es utilizada para llevar a cabo otras funciones metabólicas y disipada en forma de calor.

TABLA 2.1 PRINCIPALES VENTAJAS Y DESVENTAJAS QUE PRESENTA LA DIGESTION ANAEROBIA

DESVENTAJAS	VENTAJAS
La digestión anaerobia es más sensible a compuestos como CHCl_3 , CCl_4 , CN^- y metales pesados, así como a cambios bruscos en su alimentación.	Baja producción de sólidos biológicos de desecho
Se requieren períodos relativamente largos para el arranque del proceso, debido a las lentas tasas de crecimiento bacteriano anaerobio	Producción de energía en forma de metano
Puede ser fuente de olores desagradables	Bajo requerimiento de nutrientes
Frecuentemente se requiere de un post-tratamiento del efluente	No requiere de aereación
	Se pueden aplicar altas cargas orgánicas
	La actividad de los lodos anaerobios pueden preservarse después de varios meses sin alimentación

De esta manera, hay menos energía disponible para el crecimiento de las bacterias anaerobias y por esto, los microorganismos anaerobios producen menos materia celular por unidad de sustrato consumido. Por otro lado, la energía no utilizada por el microorganismo se encuentra en el metano, que puede ser recuperado y aprovechado por el hombre. En la Fig. 2.1 se da una representación esquemática del flujo de energía en los procesos de conversión aerobios y anaerobios (Noyola, 1989).

2.1 BIOQUIMICA DE LA DIGESTION ANAEROBIA

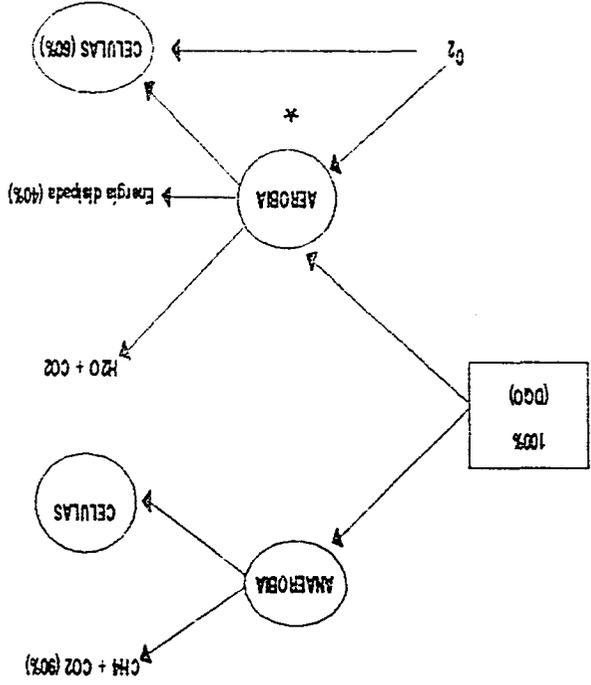
La materia orgánica particulada (biopolímeros) que eventualmente puede ser utilizada como sustrato en un ambiente anaerobio, es convertida a metano y dióxido de carbono por un consorcio bacteriano relativamente complejo. La Fig 2.2 muestra el diagrama de flujo del sustrato durante la degradación anaerobia propuesta por Kaspar en 1972 (Gujer y Zehnder, 1983).

En general, las bacterias son incapaces de alimentarse de materia orgánica particulada, por lo que todos los biopolímeros (proteínas, carbohidratos y lípidos) inicialmente son hidrolizados por enzimas extracelulares a polímeros solubles o monómeros (azúcares, aminoácidos y ácidos grasos). Estos a su vez son utilizados como sustrato por bacterias fermentadoras (azúcares y aminoácidos) y por oxidadoras anaerobias de los ácidos grasos superiores.

Los productos de estas reacciones son: acetato, hidrógeno, biomasa y productos intermedios como el propionato y butirato, los cuales son degradados hasta hidrógeno y acetato por las bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA por sus siglas en inglés). Estos dos últimos compuestos son finalmente los verdaderos sustratos de las bacterias metanogénicas. En la Tabla 2.2 se resumen los seis procesos de conversión que se llevan a cabo en la digestión anaerobia y que se esquematizan en la Fig. 2.2.

El mecanismo descrito anteriormente se lleva a cabo globalmente en tres etapas, (Mc Inerney y Bryant, 1981) bajo tres condiciones básicas.

- anaerobiosis estricta
 - condiciones reductoras rigurosas (alrededor de -330 mV)
- ausencia o presencia de aceptores minerales de electrones finales que favorezcan otras vías, en competición con la metanogénesis como SO_4^{2-} y NO_3^- .



* en caso de contar con digestión aerobia de lodos de purga

Fig. 2.1 Esquema del flujo de energía en los procesos biológicos aerobios y anaerobios

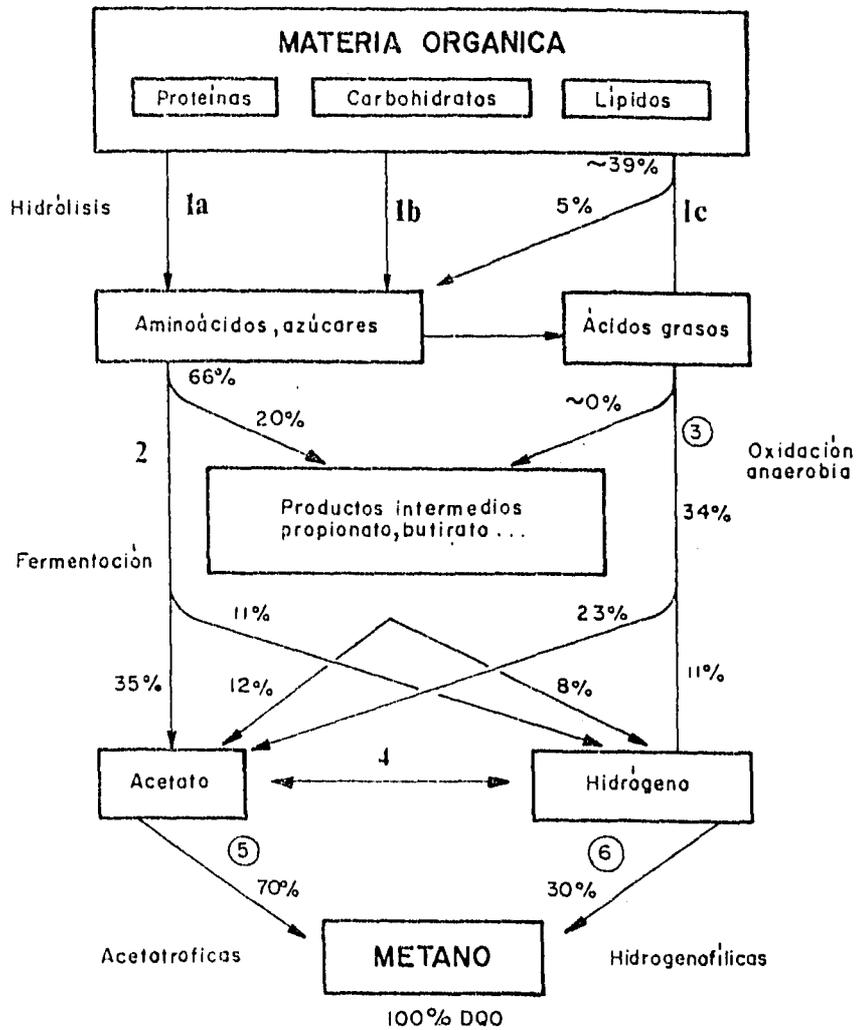


Fig. 2.2 Flujo del sustrato durante la degradación anaerobia propuesta por Kaspar en 1972 (Gujer y Zhender, 1983)

TABLA 2.2 PROCESOS DE CONVERSION QUE SE LLEVAN ACABO EN LA DIGESTION ANAEROBIA (Ver Fig. 2.2)

1.- HIDROLISIS DE BIOPOLIMEROS 1a) Hidrólisis de proteínas 1b) Hidrólisis de carbohidratos 1c) Hidrólisis de lípidos
2.- FERMENTACION DE AMINOACIDOS Y AZUCARES
3.- OXIDACION ANAEROBIA DE ACIDOS GRASOS DE CADENA LARGA Y ALCOHOLES (BETA-OXIDACION)
4.- OXIDACION ANAEROBIA DE PRODUCTOS INTERMEDIOS TALES COMO ACIDOS VOLATILES (EXCEPTO ACETATO)
5.- CONVERSION DE ACETATO A METANO
6.- CONVERSION DE HIDROGENO A METANO

2.1.1 PRIMER ETAPA. Hidrólisis del sustrato y acidogénesis

El sustrato compuesto de grandes moléculas (proteínas, lípidos y polisacáridos) es despolimerizado por bacterias quimioheterótrofas no metanogénicas primeramente a azúcares, aminoácidos y ácidos grasos, alcoholes y posteriormente a ácidos grasos volátiles de cadena corta así como hidrógeno y dióxido de carbono (reacciones 1, 2 y 3 de la Fig. 2.2). Las bacterias responsables de esta etapa pertenecen a diferentes géneros y pueden ser anaerobias facultativas o estrictas. El material no biodegradable como la lignina y ceras pueden retrasar la hidrólisis de partículas con las cuales se encuentra asociadas.

2.1.2 SEGUNDA ETAPA. Acetogénesis

En esta etapa, los productos intermedios de fermentación mencionados anteriormente, son convertidos en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por un grupo de bacterias denominadas "bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno o OHPA por sus siglas en inglés (Obligat Hydrogen Producing Acetogen). La particularidad de estas bacterias, es que son inhibidas por el hidrógeno que producen, por lo que es necesario que éste no se acumule en el medio. Debido a esto, las bacterias OHPA mantienen una estrecha relación con las bacterias que remueven el hidrógeno, como las metanogénicas hidrogenoflicas.

Las bacterias hidrogenoflicas deben de mantener extremadamente baja la presión parcial de hidrógeno en el sistema, de otra manera los ácidos grasos volátiles, tales como el propiónico y el butírico se acumularían en el sistema abatiendo el pH del medio, lo que inhibiría la metanogénesis. Afortunadamente, los metanógenos que utilizan hidrógeno en esta asociación son en general muy eficientes, lo que permite que las reacciones procedan hasta la producción de metano; esta simbiosis fué descubierta por Bryant (en Speece, 1983). La relación sintrófica que se establece entre bacterias productoras de hidrógeno y bacterias hidrogenoflicas, recibe el nombre de transferencia de hidrógeno entre especies.

En esta etapa puede surgir competencia por sustrato frente a las metanogénicas. Las bacterias homoacetogénicas son capaces de transformar una mezcla H_2-CO_2 y algunos sacáridos, tales como glucosa y fructosa en acetato únicamente.

La reacción de la homoacetogénesis es la siguiente:



Algunas bacterias homoacéticas capaces de realizar esta etapa son: *Clostridium formicoaceticum*, (Andreisen et al, 1979) y *Acetobacterium wodii* (Balch et al. 1977).

Las bacterias sulfatorreductoras (BSR) se caracterizan por su capacidad para reducir los sulfatos a ácido sulfídrico. La importancia de este grupo en los digestores depende principalmente de la presencia de sulfatos en el efluente por tratar. Si el medio contiene sulfatos, las bacterias BSR compiten favorablemente con las metanogénicas. Sin embargo, cabe señalar que cuando el medio no contiene sulfatos, ciertos grupos de bacterias sulfato-reductoras son capaces de establecer una relación sintrófica con las metanogénicas hidrogenofílicas de la misma manera que las bacterias OHPA (Guyot, 1990).

2.1.3 TERCER ETAPA . Metanogénesis.

La metanogénesis, es la última etapa en el proceso de la degradación anaerobia de la materia orgánica y es llevada a cabo por las bacterias metanogénicas anaerobias estrictas que requieren de potenciales de oxidación-reducción del orden de -320 mV.

Las bacterias metanogénicas tienen en común la presencia de coenzimas que no se encuentran en otros géneros de las bacterias tales como:

- (a) Coenzima M o HS-CoM que forma un complejo metil-coenzima ($\text{CH}_3\text{-S-CoM}$); este grupo metil se reduce a metano y se regenera la coenzima M.
- (b) El cofactor F_{420} que es un 5-deazaflavin, análogo a la Flavina Mononucleótido (FMN), es un transportador de electrones de bajo potencial; en los medios anaerobios se encuentra sólo en las bacterias metanogénicas.

El F_{420-2} se encuentra predominante en las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas. mientras que las formas F_{420-3} a 5 predominan en las metanogénicas metilotróficas.

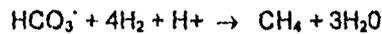
El cofactor F_{420} es fluorescente a 420 nm en el estado oxidado, dando a las bacterias metanogénicas observadas en microscopía de epifluorescencia un color azul-verde.

Las bacterias metanogénicas oxidan un número reducido de sustratos; hidrógeno, formol, metanol, metilaminas, acetato, etanol, propanol-2 y ciclopentanol (Rouviere y Wolfe, 1988; Widel, 1986):

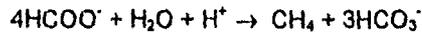
Estas bacterias se pueden dividir en dos grandes grupos tróficos:

(i) Bacterias hidrogenofílicas no acetoclásticas

Estas bacterias oxidan el hidrógeno en presencia del dióxido de carbono como aceptor de electrones, obteniendo así su energía. La mayoría de las bacterias de este grupo pueden utilizar el ácido fórmico.



$$\Delta G^\circ = -135 \text{ KJ/reacción}$$

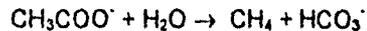


$$\Delta G^\circ = -130 \text{ KJ/reacción}$$

Estas bacterias no pueden aceptar el acetato como fuente de energía pero algunas si lo pueden ocupar como fuente de carbono.

(ii) Bacterias metanogénicas acetoclásticas

Estas bacterias producen metano a partir del metilo del ión acetato según la siguiente ecuación.



$$\Delta G^\circ = -31 \text{ KJ/reacción}$$

Esta reacción es de suma importancia para la digestión anaerobia, dado que el 70% del metano producido proviene del acetato. Algunas bacterias de este grupo pueden utilizar el metanol, las metilaminas y el hidrógeno.

En la Fig. 2.3 se muestran algunos géneros de bacterias que participan en el proceso de digestión anaerobia.

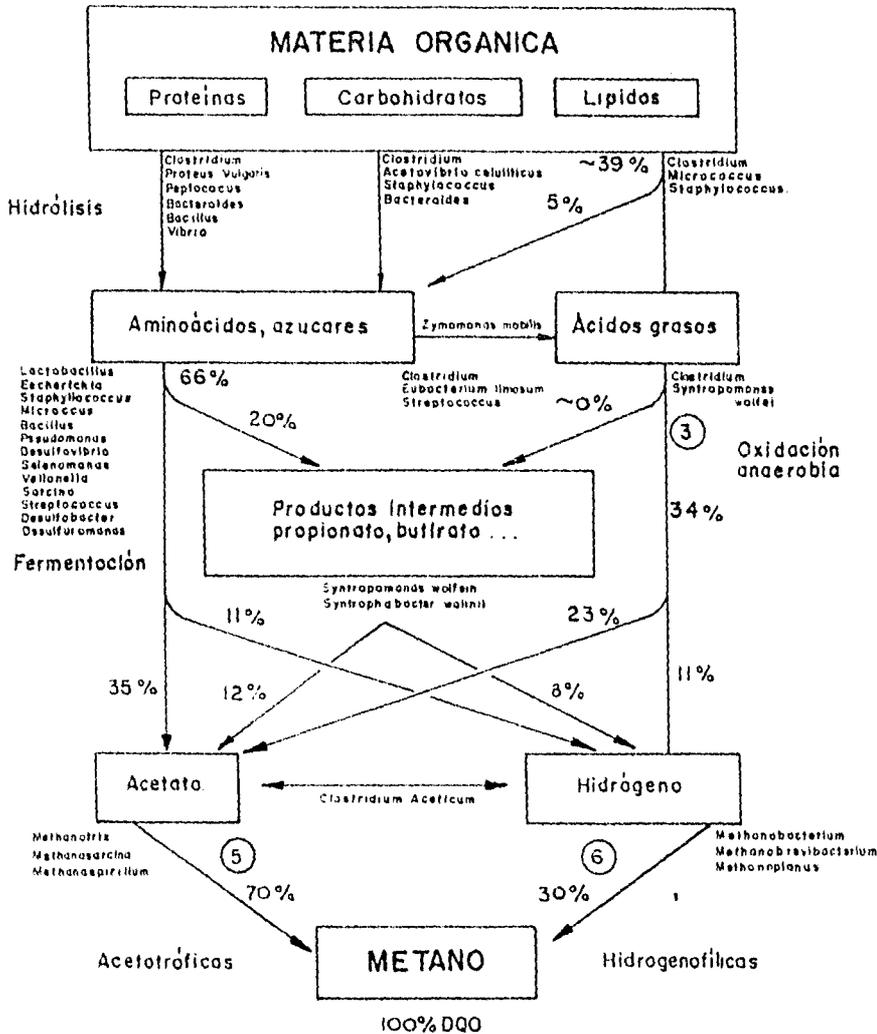


Fig. 2.3 Bacterias que participan en el proceso de digestión anaerobia. (Stronach, 1985)

2.2 FACTORES FISICOQUIMICOS

Los principales factores fisicoquímicos que inciden en un proceso anaerobio de tratamiento de aguas residuales, están relacionados con aquellos parámetros cuyo control permite una mayor actividad de la biomasa, puesto que lleva a un alto porcentaje de remoción de la materia orgánica. Estos factores son:

2.2.1 pH

El intervalo de pH en que se realiza la actividad metanogénica es de 6.2 a 7.8. Valores por abajo de este se pueden deber a la acumulación de ácidos grasos volátiles; valores por arriba pueden ser causados por la formación de amoníaco en exceso. El pH óptimo se sitúa entre 7 y 7.2.

2.2.2 ALCALINIDAD

La alcalinidad es una medida de la capacidad buffer en un agua, debido fundamentalmente al sistema del ácido carbónico. En las aguas residuales existen compuestos carbonatados que impiden las fluctuaciones bruscas de pH. En los reactores anaerobios, la capacidad "buffer" de la alcalinidad puede ser sobrepasada cuando ocurre una alta producción de AGV (ácidos grasos volátiles). Por lo tanto, el buen funcionamiento, de un reactor metanogénico en relación con la acumulación de estos ácidos puede seguirse por la determinación de este parámetro.

2.2.3 TEMPERATURA

La temperatura es un factor ambiental que influye de manera importante en la eficiencia del tratamiento anaerobio. La temperatura a la que se lleva a cabo se sitúa entre entre los 10 y 65 °C. Dentro de este intervalo se realiza más adecuadamente en dos zonas: la mesofílica (20-40°C) y la termófila (50-60°C). Ambas zonas presentan ciertas ventajas, las cuales se resumen en la Tabla 2.3.

TABLA 2.3 VENTAJAS DE LA FERMENTACION METANOGENICA EN LA ZONA MESOFILICA Y TERMOFILICA

ZONA MESOFILICA (20-40 °C)	ZONA TERMOFILICA (50-60 °C)
Menos vapor de agua en el gas	Actividad más grande y menor TRH
Menos CO ₂ en el gas	Disminución de los volúmenes de lodo que se forman
Mayor cantidad de especies microbianas metanogénicas	Dstrucción de microorganismos patógenos
Balance energético más favorable	Mantenimiento más fácil de las condiciones anaerobias
Mayor experiencia en su aplicación	

Adaptado por SCRIBAN, 1985.

2.2.4 NUTRIENTES

Cualquier proceso de tratamiento biológico requiere además de la fuente de carbono, de ciertos elementos químicos en concentraciones adecuadas, para llevar a cabo sus funciones incrementándose la actividad específica de utilización del sustrato.

El requerimiento de nitrógeno para el proceso anaerobio es sólo del 20 al 50% de lo requerido en los procesos aerobios. El requerimiento del fósforo es aproximadamente del 15% del requerimiento de nitrógeno (Speece, 1983). La relación DQO:N:P para procesos anaerobios puede situarse en 400:5:1. Otro elemento esencial para el óptimo desarrollo microbiano es el azufre, siendo los sulfuros la mayor fuente de este elemento. A bajas concentraciones estimulan la actividad metanogénica, mientras que elevadas concentraciones la inhibe. La concentración óptima de sulfuro de hidrógeno desionizado reportado en la literatura para el crecimiento metanogénico varía de 1 a 25 mg/l (Speece, 1983).

2.2.5 SUSTANCIAS TOXICAS

Existen muchas sustancias orgánicas e inorgánicas que pueden ser inhibitorias o tóxicas para los sistemas anaerobios; aún a concentraciones pequeñas algunas de ellas tienen un efecto bacteriostático irreversible. El compuesto es inhibidor cuando la reacción biológica es menor que la lograda en ausencia de la sustancia y se les agrupa en:

- Compuestos cuya inhibición está relacionada con el pH, por ejemplo ácidos grasos volátiles, amoníaco y H_2S .
-
- Compuestos con una inmediata o reversible toxicidad, como muchos solventes orgánicos (compuestos clorados, cianuro, formaldehído).

Compuestos que al aumentar la concentración se vuelven inhibitorios, como los iones metálicos.

3. BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA

3.1 GENERALIDADES

Se define Potencial Bioquímico de Metano (BMP BIOCHEMICAL METHANE POTENTIAL, por sus siglas en inglés) la biodegradabilidad de un sustrato determinada mediante el seguimiento de la producción de gas metano acumulado en una botella que ha sido inoculada anaerobiamente con un medio químico definido. (Owen et al; 1979).

La determinación de la biodegradabilidad de un agua residual permite también estimar la fracción de la DQO recalitrante que queda en el efluente.

El grado de biodegradabilidad que presentan los compuestos se puede clasificar en (Grady, 1984):

- Compuestos biodegradables: son aquellos compuestos orgánicos que pueden ser fácilmente mineralizados.
- Compuestos persistentes: este tipo de compuestos sólo experimentan biodegradación bajo condiciones específicas.
- Compuestos recalitrantes: estos compuestos presentan una resistencia inherente a algún grado de biodegradación.

Antes de aplicar cualquier tipo de técnica para medir el grado de biodegradabilidad de un agua residual es necesario considerar ciertos parámetros básicos. A continuación se citan algunos de ellos:

Biodegradabilidad del lodo de inóculo como sustrato
Concentración del lodo de inóculo
Concentración del agua residual
pH y alcalinidad
Temperatura
Tiempo de ensayo

Biodegradabilidad del lodo de inóculo como sustrato.- La digestión parcial del lodo semilla, da como resultado la formación de ácidos grasos volátiles y metano por lo cual se debe incluir en el ensayo un blanco, con objeto de eliminar su aportación en las botellas prueba.

Concentración del lodo de inóculo.- Se adiciona lodo en exceso evitando con ello la limitación de la degradación del agua residual por falta de biomasa. Se recomienda emplear un lodo con una concentración de 5 gSSVI, pero si la actividad metanogénica es mayor de 0.2 gDQO.CH₄/gSSV.d se pueden emplear

concentraciones menores, siendo 1.5 gSSV/l la mínima aplicable. (Field, *et al*; 1988).

Con la concentración de la materia orgánica en la muestra se puede determinar el volumen de agua que debe introducirse, en función de las cargas orgánicas seleccionadas y de la cantidad de inóculo utilizado. pH y Alcalinidad. La formación de ácidos grasos volátiles (AGV) durante el inicio de la prueba puede provocar un descenso de pH y causar inhibición, por lo que debe añadirse aproximadamente 1 gNaHCO₃/gDQO biodegradable. Si se desconoce la biodegradabilidad del agua residual, se añade 1 gNaHCO₃/gDQO. Sin embargo, un exceso de esta sal también podría provocar inhibición por sodio (Na⁺).

Temperatura.- La temperatura de ensayo debe de ser igual a la temperatura mantenida en la planta de tratamiento de la que proviene el lodo o bien a 37°C. Este último es el caso más común ya que permite comparar resultados con otras pruebas y se ha tomado como la temperatura estándar.

Tiempo de ensayo.- El grado de biodegradabilidad depende del tiempo de ensayo, por lo que siempre es necesario indicarlo junto con la DQO. La biodegradabilidad determinada en el séptimo día de ensayo es indicativa de la encontrada en el tratamiento anaerobio continuo del agua residual (Field *et al*; 1988).

Se pueden identificar dos tipos de ensayos batch anaerobios. La prueba de actividad metanogénica específica y la prueba de biodegradabilidad-toxicidad de un compuesto. La primera es importante porque permite evaluar las condiciones anaerobias en las que se encuentra un lodo anaerobio. Para ello se utiliza un sustrato simple, como acético, o inclusive propiónico y butírico en caso que se desee establecer la capacidad del lodo para degradar estos productos intermedios. Esta prueba se emplea para caracterizar lodos de inóculo o purgados de reactores.

El segundo tipo de prueba pretende determinar la biodegradabilidad de un compuesto simple o una mezcla (agua residual), así como identificar posibles efectos inhibidores o tóxicos. Es un elemento valioso en estudios de tratabilidad anaerobia.

3.2 TECNICAS EMPLEADAS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD METANOGENICA Y LA BIODEGRADABILIDAD POR VIA ANAEROBIA.

Generalmente la carga orgánica de un reactor anaerobio se expresa con base en el volumen del reactor sin referirse a la cantidad de lodo presente, o más aún a su actividad. La cuantificación de la biomasa se lleva a cabo en términos de sólidos suspendidos volátiles. Los sólidos suspendidos volátiles sólo son un aproximación de la cantidad de biomasa microbiana activa e inactiva así como del material orgánico inerte.

El llevar a cabo técnicas de enumeración de las varias poblaciones o grupos tróficos presentes en los lodos no es práctico, debido a que se requieren largos tiempos de incubación, condiciones anaerobias estrictas y a la dificultad en el cultivo de algunas especies involucradas. Además la presencia de bacterias de determinado grupo no asegura que estén activas o que las relaciones metabólicas se hayan establecido adecuadamente en el lodo.

Dado que el cofactor F_{420} se ha encontrado sólo en especies metanogénicas (Cheeseman *et al.*, 1972; Keltjens y Vogels, 1981), se ha empleado como un índice de la actividad metanogénica específica de los lodos, sugerido por Delafontaine *et al.*, 1979 y por Zeew y Lettinga. Sin embargo, debido a la variación del contenido del cofactor F_{420} en los diferentes metanógenos así como el efecto de las condiciones ambientales sobre éste, no es tomado como un índice confiable de la actividad metanogénica (Dolfing y Mulder, 1985; Reynolds y Collieran, 1987). Se pueden obtener más datos de la actividad metanogénica mediante extracción, separación y cuantificación de tipos individuales de F_{420} u otros cofactores y coenzimas únicos (Gorris y Van der Drift, 1986), pero dada la complejidad de las técnicas no pueden ser empleadas como análisis de rutina. Se han desarrollado muchos métodos para medir la actividad metanogénica específica de lodos, y para conocer que porcentaje de la materia orgánica de un desecho industrial puede ser degradado a metano y dióxido de carbono por vía anaerobia. La mayoría de los métodos desarrollados se basan en la medida del metano producido por el consumo del sustrato (Van der Berg *et al.*, 1974; Owen *et al.*, 1979; Valcke y Verstraete, 1983; Dolfing y Bloeman, 1985).

Todos estos métodos cuantifican la cantidad de metano producido, ya sea por desplazamiento del líquido en colectores externos (Valcke y Verstraete, 1983) o por desplazamiento del pistón en jeringas de vidrio cuando se inserta la aguja a través del tapón de hule de la botella (Owen *et al.*, 1979).

Van der Berg y colaboradores (1974) usaron el respirómetro de Warburg para seguir la producción de metano; este método fué evaluado recientemente por James *et al.*, (1990) empleando un Warburg modificado. El método desarrollado por Dolfing y Bloeman (1985), se basa en el análisis cromatográfico de metano contenido en la fase gas de las botellas selladas. Este método requiere de una muestra de gas tomada con una jeringa de presión, la cual permite hacer la cuantificación independientemente de la presión que prevalezca en las botellas.

Reynolds (1986) y Concannon *et al.*, (1988) modificaron el método desarrollado por Shelton y Tiedje (1984) que emplea un transductor electrónico de presión para monitorear su incremento en las botellas selladas, resultado del biogás producido durante la digestión de sustratos prueba no gaseosos, tales como acetato, propionato, butirato, etc. Inicialmente se desarrolló un transductor portátil que permitía medir con frecuencia la presión de la botella con pérdidas no significativas de gas durante las lecturas (Reynolds, 1986; Concannon *et al.*, 1986). El sistema más reciente permite medir la presión en forma continua o discontinua en una serie de botellas selladas. El análisis cromatográfico del gas que se retira de la fase gaseosa permite correlacionar la presión con el volumen de metano producido, como describe Shelton y Tiedje (1984).

Young desarrolló un procedimiento basado en una medición del biogás producido en botellas de suero con un medidor de flujo de gas. El aparato comercial desarrollado (Challenge ANR-1000 Respirómetro anaerobio), está ligado a una computadora para medir la producción de gas y procesar los datos obtenidos. La principal diferencia entre este último y el método del transductor de presión, es que el Challenge permite que los tubos viales permanezcan a la presión atmosférica durante toda la prueba. Como consecuencia, el cálculo de la producción de gas metano más dióxido de carbono en los tubos viales, no se afecta por cambios en la solubilidad como resultado de la presión generada en ellos.

En una evaluación inter-laboratorio del método de Shelton y Tiedje, para biodegradabilidad anaerobia, Birch *et al.*, (1989) concluyeron que es dudosa la validez del uso de los cálculos teóricos basados en la aplicación de la ecuación de Buswell, con corrección para la solubilidad de los gases. Estos autores desarrollaron una prueba modificada, la cual incluye la medición de carbono inorgánico disuelto (DIC por sus siglas en inglés) en la fase líquida, además de la medida del transductor de presión, que involucra el biogás en la fase gas (Birch *et al.*, 1989). La determinación separada de la fase líquida (DIC) elimina la necesidad de hacer alguna corrección por solubilidad del dióxido de carbono y omite la necesidad de conocer la fórmula química del compuesto a probar o el uso de la ecuación de Buswell; sólo se requiere conocer el contenido de carbono del compuesto prueba. En el Anexo 1 se describen con más detalle los principales

métodos encontrados en la literatura; y en la tabla 3.1 se presentan los principales elementos de tres técnicas para medir la biodegradabilidad anaerobia en batch.

TABLA 3.1 CUADRO RESUMEN DE TRES TECNICAS EMPLEADAS PARA MEDIR LA BIODEGRADABILIDAD DE UN AGUA RESIDUAL POR VIA ANAEROBIA.

PARAMETROS	SHELTON Y TIEDJE (1984)	OWEN et al., (1988)	FIELD et al., (1988)
MEDIO DE CULTIVO	RAMM	MINERAL	MINERAL
TIPO DE REACTOR	BOTELLAS SEROLOGICAS DE 100 ml DE CAPACIDAD	BOTELLAS SEROLOGICAS DE 260 ml DE CAPACIDAD	BOTELLAS SEROLOGICAS DE 2 l DE CAPACIDAD
ACONDICIONAMIENTO DE MUESTRA	SI	NO	SI
T DE ENSAYO	35 ° C	35 ° C	35-37 ° C
t DE ENSAYO	9 SEMANAS	30 DIAS	HASTA QUE LA PRODUCCION DE METANO CESE
MEZCLA DE GASEO	CO ₂ -N ₂ (10:90)	CO ₂ -N ₂ (90:70)	N ₂
INOCULO	DILUIDO AL 10 % CON MEDIO MINERAL	DILUIDO AL 20 % CON MEDIO MINERAL	EL SUFICIENTE PARA ALCANZAR LA CARGA DESEADA
VOLUMEN DE MUESTRA	50 µg DE C/ml	2-20 ml	CALCULAR LA NECESARIA PARA LA CARGA REQUERIDA
No. DE ENSAYOS	TRIPLICADO	DUPLICADO	UNO
SE EMPLEA TESTIGO	SI	SI	SI
MEDICION Y ANALISIS DEL GAS PRODUCIDO	MEDIANTE EL TRANSDUCTOR DE PRESION, ANALIZANDOSE EL METANO POR CROMATOGRAFIA DE GASES	POR DESPLAZAMIENTO DEL EMBOLO DE UNA JERINGA ANALIZANDOSE EL METANO POR CROMATOGRAFIA DE GASES	MEDIANTE EL DESPLAZAMIENTO DE UNA SOLUCION ALCALINA CONTENIDA EN UN FRASCO DE MARIOTTE, MIDIENDO EL VOLUMEN DEL ESPACIO LIBRE DEL RECIPIENTE QUE CORRESPONDE AL METANO
RESULTADOS	SE EXPRESAN COMO PORCIENTO DE MATERIA ORGANICA CONVERTIDA A METANO	SE EXPRESAN COMO PORCIENTO DE MINERALIZACION A METANO Y DIOXIDO DE CARBONO MEDIANTE LA ECUACION DE BUSWELL	SE EXPRESAN COMO PORCENTAJE DE BIODEGRADACION DE MATERIA ORGANICA A METANO

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 MATERIALES

En el Anexo 4 se presentan las características de algunos de los materiales que a continuación se citan:

- Botellas de suero con capacidad de 60 y/o 160 ml (Fig. 4.1)
- Tapones de hule de 1 cm de espesor
- Sellos de aluminio
- Agujas de calibre 23 * 32 mm
- Jeringa serológica de 1 ml de capacidad
- Jeringa Pressure Lok de capacidad de 1 ml y divisiones de 0.1 ml.
- Dispensette de plástico
- Espátula
- Tubos eppendorf de 1.5 ml de capacidad
- Papel indicador pH

Manifold (dosificador de gases) conectado a los tanques de nitrógeno puro y a la mezcla de nitrógeno-dióxido de carbono (80:20).(Fig. 4.2); se construyó en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental.

- Cámara anaerobia COY Laboratory Products Inc. (Fig. 4.3)
Condiciones de operación: Tres cambios de atmósfera entre cambios con nitrógeno a 20 mm de Hg. Atmósfera controlada con N₂ y trazas de H₂.
-
- Incubadora VWR Scientific Inc. 1540 (Fig. 4.4)
Condiciones de operación : 37°C sin agitación.
-
- Centrífuga IEC HN-SII
Condiciones de operación: 2000 rpm, 10 min.
-
- Transductor de presión Cole Palmer equipado con un modulo de Codiciones de operación. Escala de 0 a 20 lb/pulg con registro de céntesimas de unidad. (Fig. 4.5
-
-
- Cromatógrafo de gases Fisher Gas Partitioner Model 1200 con detector de conductividad térmica (FIG. 4.6).

Condiciones de operación: Temperatura de la columna 50°C, atenuador 4; corriente del puente 150 mA. Se trabajó con una columna Porapak Q con gas acarreador Helio a un flujo de 25 ml/min.

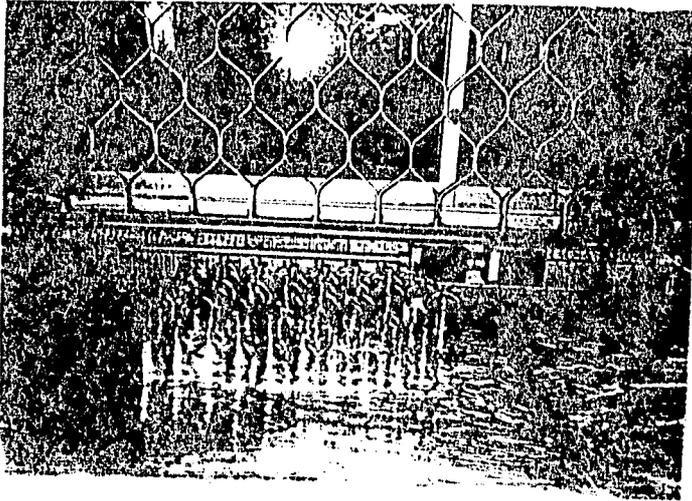


Fig. 4.1 Botellas de suero de 60 y/o 160 ml

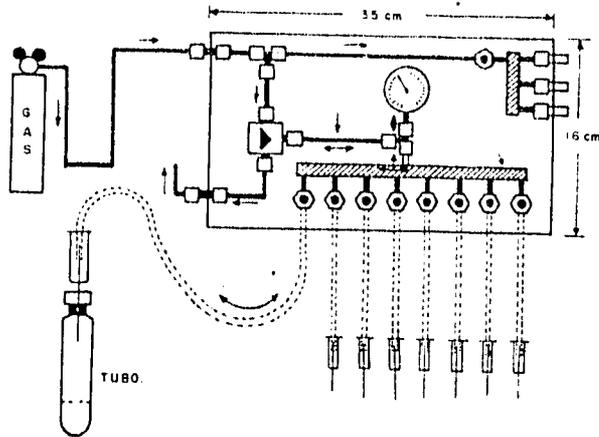


Fig. 4.2 Manifold (dosificador de gases)

FALLA DE ORIGEN

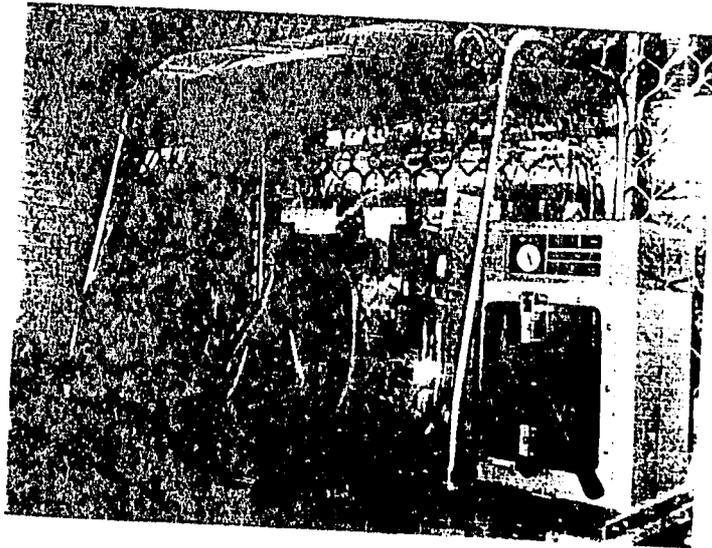


Fig. 4.3 Cámara Anaerobia COY

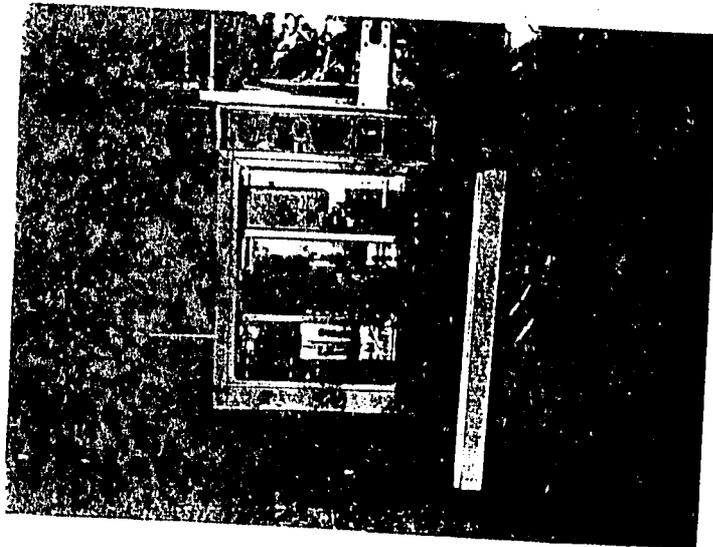


Fig. 4.4 Incubadora VWR Scientific Inc.

FALLA DE ORIGEN

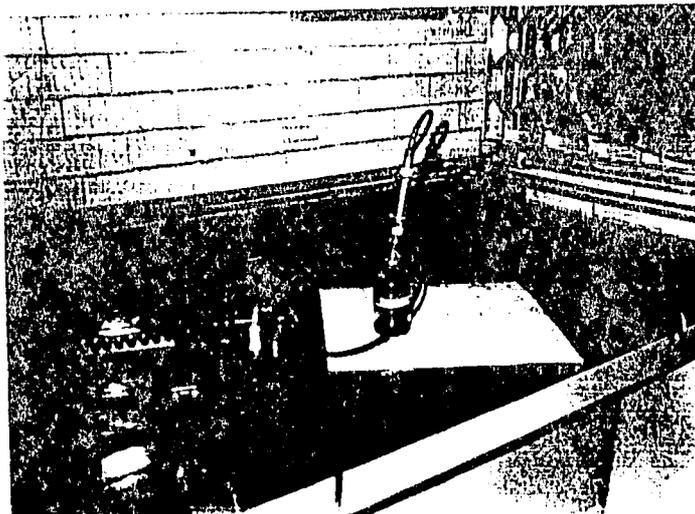


Fig. 4.5 Transductor de presión

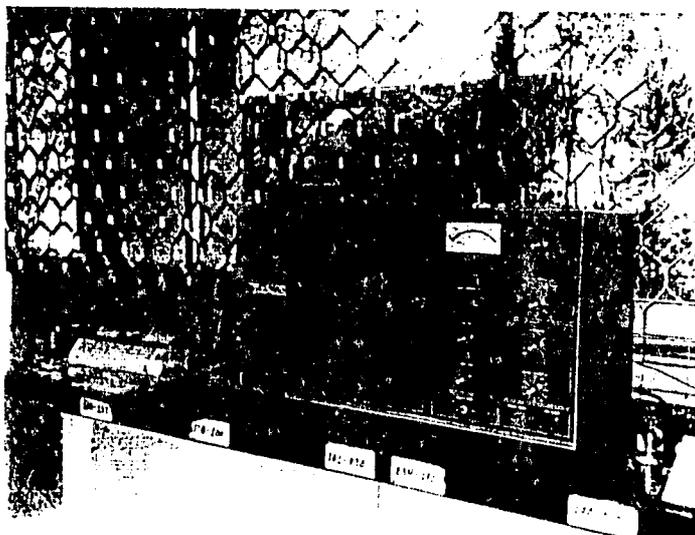


Fig. 4.6 Cromatógrafo de gases

FALLA DE ORIGEN

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 PREPARACION DE BOTELLAS

- 1.-Se prepara el Medio Mineral Global requerido como se indica en el Anexo 1.
- 2.-Se introduce a la pre-cámara anaerobia el matraz con el medio mineral reducido, el número de botellas necesarias de la capacidad adecuada, dispensette (dosificador de líquidos), tapones de hule de 1 cm de espesor y suficiente sílica gel para absorber la humedad que haya dentro de la cámara anaerobia.
- 3.-Listo el material se cierra la pre-cámara y se hacen los tres cambios de atmósfera (vacío y llenado de nitrógeno), e inmediatamente se introduce el material a la cámara la cual tiene una atmósfera de N_2 con trazas de H_2 .
- 4.-Se llena el frasco del dispensette con el medio mineral, se elige el volumen (10 ml) y se purga (se dejan salir los primeros 10 ml con el fin de eliminar el aire y que el tubo del dispensette se llene completamente).
- 5.-Con ayuda del dispensette se adicionan a todas las botellas de suero, sin importar su capacidad, 10 ml del medio mineral.
- 6.-Se tapan las botellas con los tapones de hule y se sacan de la cámara anaerobia.
- 7.-Fuera de la cámara se les coloca el sello de aluminio a las botellas con ayuda de unas pinzas y se les hace nuevamente cambio de atmósfera de la siguiente manera:
 - a) Se colocan agujas con las terminales del Manifold (dosificador de gases); el número depende de cuantas botellas quieran ser gaseadas a un mismo tiempo.
 - b) Se insertan las agujas a las botellas a través del tapón de hule, una aguja por botella; a su vez se le inserta otra aguja que está abierta a la atmósfera ambiente.

Esto se hace con el objeto de que haya un desplazamiento de la atmósfera que hay en la botella (N_2) por la de N_2 - CO_2 (80:20)

c) Se abre la llave del tanque del gas que contiene la mezcla N_2 - CO_2 (80:20) y se comienza a tomar el tiempo de gaseo el cual debe de ser para las botellas de suero de capacidad de 60 ml 3 min y para las de capacidad de las de 160 ml de 5 min.

d) Terminado el tiempo de gaseo se sacan primero todas las agujas abiertas a la atmósfera, se cierra la llave del gas y por último se sacan las agujas conectadas al Manifold.

8.-Se introducen a esterilizar todas las botellas en autoclave a $110\text{ }^\circ\text{C}$, 14 lb/pulg² durante 15 min.

9.-Se sacan las botellas de esterilización (el medio mineral debe ser incoloro, las botellas cuyo medio mineral sea de color rosa se eliminan), se dejan enfriar y se toma una de ellas para verificar el pH del lote de botellas el cual debe de estar entre 6.8 y 7.8. La medición se hace mediante papel indicador pH, destapando la botella e introduciendo el papel; esto se debe hacer dentro de la cámara anaerobia.

10.-Si el pH no es el adecuado se colocan las botellas en baño maría hasta que hierva el medio mineral y se gasean nuevamente con N_2 - CO_2 (80:20) y se les verifica de nuevo el pH.

11.-Con esto las botellas quedan listas para emplearse en el arranque de la prueba y pueden guardarse por un período prolongado de tiempo en la cámara anaerobia o bien en refrigeración.

4.2.2 RELACION DE CARGA gDQO/gSSV

La relación DQO/SSV fija la cantidad de materia orgánica introducida (agua residual) en forma puntual y única con relación a la cantidad de biomasa (sólidos suspendidos volátiles, SSV) existente en el inóculo (lodo). El dato de DQO

(Demanda Química de Oxígeno) proviene de la caracterización del agua residual, (DQO total). El dato de sólidos suspendidos volátiles se toma de la caracterización del inóculo (lodo).

La relación gDQO/gSSV = 1 se tomó como base para a partir de ahí, aumentar la carga de agua residual manteniendo siempre fija la cantidad de sólidos suspendidos volátiles del lodo. El objeto de manejar diferentes valores de carga es el poder determinar que relación es la que presenta mayor porcentaje de biodegradación. A su vez, este rango de relaciones nos permite saber en que carga hay eventualmente inhibición y cual es la máxima carga soportada por el inóculo.

Las cargas seleccionadas fueron de 1, 2.5, 5, 7.5 y 10 gDQO/gSSV. las relaciones manejadas dependen en particular del tipo de agua residual, básicamente del dato de DQO total de ésta, así como del tipo de inóculo que se empleó. En algunas de las corridas sólo se manejaron tres de las relaciones mencionadas.

4.2.3 INOCULACION

El inóculo proviene de lodos de purga de reactores anaerobios UASB que poseen buena actividad microbiológica, la cual puede ser determinada mediante la prueba de actividad metanogénica específica (Anexo 3).

Los lodos, para poder ser empleados como inóculo en la prueba de biodegradabilidad en batch, deben ser caracterizados mediante un análisis de sólidos suspendidos totales, volátiles y fijos. Es importante que los lodos no hayan estado en contacto anteriormente con algún sustrato que pueda afectar la prueba causando inhibición. Para evitar esto, antes de llevar a cabo la caracterización se lavan los lodos con agua destilada de tal manera que con ello se elimine sales o cualquier otro tipo de compuesto, es conveniente mantenerlos durante una noche a 37°C y posteriormente 12 hrs. en la pre-cámara anaerobia bajo vacío. Con ello se favorecerá el consumo de sustratos residuales y la eliminación del metano formado. Una vez realizados los lavados, se homogenizan los lodos y se centrifugan a 2000 rpm durante 10min. tomándose un volumen de 1.5 ml de lodo homogéneo para realizar la caracterización la cual se lleva a cabo siguiendo la técnica de determinación de sólidos por gravimetría.

Caracterizado el lodo se procede a la inoculación de la siguiente manera:

1.-Se llenan suficientes tubos eppendorf o algún dispositivo (jeringa) de 1.5 ml con lodo homogéneo y caracterizado para inocular las botellas requeridas (un tubo eppendorf por cada botella a inocular).

2.- Se sacan las botellas de suero preparadas anteriormente de refrigeración y se dejan equilibrar a la temperatura ambiente.

3.- Se les retira el sello de aluminio con ayuda de unas pinzas, quedando sólo con el tapón de hule.

4.-Se introducen las botellas a la cámara anaerobia junto con el lodo de inóculo y el agua residual o sustrato; se realizan los cambios de atmósfera como se explicó anteriormente.

5.-Ya en la cámara anaerobia se les retira el tapón de hule a las botellas y se procede a inocular el lodo con ayuda de una espátula delgada que penetre muy bien tanto en el tubo eppendorf como en la botella de suero, ya que de otra manera, se corre el riesgo de perder lodo fuera de la botella o bien que quede pegado en las paredes del tubo.

6.-La inoculación se puede llevar a cabo antes o después de agregar el volumen requerido de agua residual, aunque existe una ventaja de que el agua se adicione antes del inóculo ya que el volumen de la fase líquida aumenta y por lo tanto es más fácil de enjuagar la espátula, habiendo menos error por pérdida de lodo.

7.-Ya sea que se haya inoculado antes o después de agregar el agua, esta se hace con ayuda del dispensette o con pipetas, agregando a cada botella el volumen requerido de acuerdo a la carga manejada. Hay dos tipos de botellas de diferente capacidad (60 y 160 ml), por lo que al hacer los cálculos para el volumen de agua que se requiere, es importante no rebasar el volumen máximo de capacidad de estas botellas, considerando que este volumen también debe de comprender la fase gaseosa. Se procura dejar siempre un volumen de entre 45 ml como máximo y de 15 ml como mínimo, de dicha fase, por lo que en ocasiones se requiere hacer modificaciones a las cargas manejadas como se mencionaba anteriormente.

8.-En el caso del testigo, sólo se inocula el lodo, no se agrega agua residual; con esto se pretende corregir las botellas prueba con la cantidad de metano aportada por el inóculo, cuantificando sólo la cantidad de metano generada por el sustrato.

9.-Inoculadas las botellas se tapan nuevamente con el tapón de hule, se agitan y se sacan de la cámara anaerobia manejando las mismas condiciones que en el punto (7) de la preparación de las botellas (inciso 4.2.1).

10.-Ya fuera, se les coloca nuevamente el sello de aluminio y se incuban nuevamente a una temperatura de 37 °C.

11.-A la media hora de su inicio de incubación, y ya que su temperatura se ha estabilizado, se les mide la presión a las botellas, valor que se considera inicial (tiempo cero).

4.2.4 MEDICION DE LA PRODUCCION DE GAS.

1.-La medición de la producción de gases monitoreada en intervalos regulares, dependiendo de la rapidez de su producción. Por lo general, se hace diariamente durante los primeros 7 días de incubación y después se realiza cada tercer día.

Para sustratos muy biodegradables y lodos muy activos, la frecuencia aumenta a dos o cuatro veces al día durante los primeros 5 días y una vez al día los siguientes.

2.-Se mide la presión del gas generado (metano y dióxido de carbono) con ayuda de un transductor de presión acoplado a una aguja. Se introduce a través del tapón de hule (septo) de la botella. Se recomienda hacer esta determinación con las botellas a la temperatura de incubación sin permitir que se enfríen. Las lecturas son reportadas en psi (lb/pulg²) con valores hasta de centésimas de unidad, registrando como valor máximo 20 psi (para el caso del equipo empleado en este estudio).

3.-Antes de realizar cada medición es necesario agitar las botellas con el fin de medir también el gas que está atrapado en los lodos. Así mismo, es importante evitar pérdidas al momento de sacar la aguja después de haber hecho la medición, retirando la aguja lentamente. También se debe evitar que en las botellas se acumulen presiones por arriba de los 15 psi, por lo que al rebasar

estos valores es necesario purgar las botellas con ayuda de una aguja abierta a la atmósfera insertada en el tapón de hule, hasta una presión de aproximadamente 2 psi.

Esto sucede sobre todo cuando el sustrato es fácilmente biodegradable en la primera semana de incubación, después la presión tiende a elevarse ya muy poco por lo que ya no es necesario purgar. Se purgan las botellas después de que se ha inyectado al cromatógrafo de gases una muestra y se anotan los valores de las presiones antes y después de la purga, así como la temperatura de la botella, con objeto de calcular posteriormente la masa de metano purgado. En los pasos posteriores se explica la toma de muestra.

4.-Como se mencionó, la medición de presión se debe hacer a la misma temperatura de incubación (37 °C). Esto se logra retirando de la incubadora sólo la botella que va a ser medida en forma inmediata. Con esto se evita cambios en la presión y se elimina una variable que puede introducir errores.

5.-Después de medir la presión y si existe un incremento mayor con relación a la medida anterior a ese día de al menos 0.5 psi, se toma un volumen de muestra de la fase gaseosa con ayuda de una jeringa de presión llamada "Pressure Lok" de 1ml. El volumen de muestra que se toma depende de la presión que tenga la botella; es decir si la botella tiene una presión mayor a 15 psi se inyecta un volumen de muestra de 0.3 ml mientras que si la presión es menor a 15 psi se inyecta un volumen de 0.5 ml. En caso de que la respuesta sea mayor al máximo punto de la curva de calibración, se deberá inyectar un volumen menor a pesar de tener una presión menor en la botella.

6.-La muestra se inyecta en el cromatógrafo de gases en las condiciones señaladas en el Anexo 3; ahí mismo se presenta el procedimiento de cálculo.

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 VINAZA

La miel incristalizable o melaza es un subproducto del proceso de elaboración de azúcar de caña. Este material aún rico en azúcares, es utilizado como sustrato en la fermentación alcohólica. El desecho líquido de la destilación del mosto es conocido como vinaza.

La melaza a una concentración de 85 °Bx se diluye hasta una concentración de 20 a 22 °Bx con agua caliente, burbujeando aire en esta operación. Posteriormente se añade ácido sulfúrico ajustando el pH entre 4.0 y 4.5 quedando la mezcla entre 16 y 18 °Bx esta mezcla se le conoce como mosto fresco.

Obtenido el mosto fresco se pasa al pasteurizador donde se agrega sulfato de amonio y fosfato de amonio como nutrientes para la levadura. La mezcla del pasteurizador es pasada al tanque de preparación de la levadura, donde se hace crecer mediante el suministro de aire; una vez que alcanza la madurez necesaria, se pasa el mosto con levadura a un mezclador con mosto fresco para de ahí enviarlo a las tinajas de fermentación.

En las tinajas de fermentación se llevan a cabo las reacciones bioquímicas para la producción de alcohol etílico, que se realizan entre 20-30 °C. Sin embargo, casi al finalizar la fermentación, la temperatura puede situarse alrededor de 38 °C por lo que se debe asegurar su enfriamiento. La fermentación requiere de 28 a 72 hrs. (45 hrs. promedio).

Una vez terminada la fermentación y obtenido el mosto muerto, este es enviado a la operación de destilación. Ahí el mosto muerto es alimentado por la parte central de la primera columna de destilación (destrozadora); en el fondo de la columna se alimenta vapor directo, lo cual genera un sistema de destilación por arrastre de vapor originado la separación de los componentes de más bajo punto de ebullición, que salen por la parte superior de la columna.

Por debajo del domo de la columna sale una corriente denominada de alcoholes diluidos (8 a 10 ° G.L.). En la base de la columna salen los fondajes o residuos conocidos como vinazas, siendo estos residuos los que presentan los más altos índices de contaminación de todo el complejo ingenio-azucarero.

Los volúmenes de vinazas son 12 veces mayores que el volumen de alcohol de 96° producido. Las vinazas, arrastran además de sales orgánicas e inorgánicas materia en suspensión, debido a que la levadura no se separa antes de la destilación. La separación de la levadura podría abatir en cierto grado la carga contaminante de las vinazas, pero en México las fábricas de alcohol no cuentan con el equipo necesario para realizar esta operación.

En la tabla 5.1.1 se muestran los resultados obtenidos de la caracterización de la vinaza con la que se trabajó. En las tablas 5.1.2 y 5.1.3 se muestran las diferentes cargas de DQO/SSV que se aplicaron así como la cantidad de medio mineral e inóculo que se empleó y la caracterización de este último.

TABLA 5.1.1 CARACTERIZACION DEL AGUA RESIDUAL DE VINAZA EMPLEADA

PARAMETROS	UNIDADES (mg/l)
pH	3.6*
Sólidos Totales Totales	31776
Sólidos Totales Volátiles	22759
Sólidos Totales Fijos	9017
Sólidos Suspendidos Totales	1513
Sólidos Suspendidos Volátiles	1187
Sólidos Suspendidos Fijos	326
Sólidos Disueltos Totales	30263
Sólidos Disueltos Volátiles	21572
Sólidos Disueltos Fijos	8691
DQO total	51561
DQO soluble	45274
Sulfuros	149
Sulfatos	2993
Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK)	1815
Nitrógeno Amoniacal (N-NH ₄)	463
Potasio (K ⁺)	6120
Sodio (Na ⁺)	4300
Litio (Li ⁺)	128
Conductividad	7800**

* pH es adimensional

** Reportada en µmhos/cm

TABLA 5.1.2 RELACIONES gDQO/gSSV EMPLEADAS

RELACION gDQO/gSSV	LODO (ml)	VINAZA (ml)	MEDIO MINERAL (ml)	FASE GASEOSA (ml)	FASE LIQUIDA (ml)	FACTOR
TESTIGO	10	---	10	37	20.0	74.0
1.0	10	2.6	10	34.4	22.6	68.8
2.5	10	6.5	10	30.5	26.5	61.0
5.0	10	13.0	10	24.0	33.0	48.0
7.5	10	19.5	10	17.5	34.5	35.0
10.0	10	26.0	10	11.0	46.0	22.0

TABLA 5.1.3 INOCULO

PARAMETROS	UNIDADES (mg/l)
Sólidos Suspendidos Totales	37562
Sólidos Suspendidos Volátiles	13320
Sólidos Suspendidos Fijos	24242

NOTA: El inóculo empleado de un reactor UASB piloto ubicado en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Ciudad Universitaria

VINAZA

VINAZA

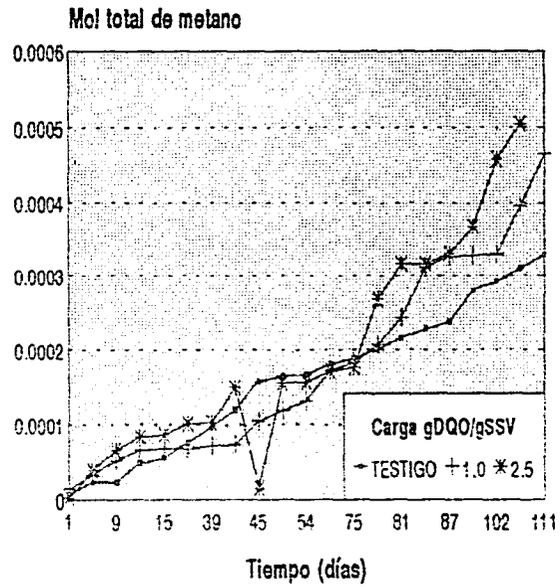


Fig. 5.1.1 Producción de metano

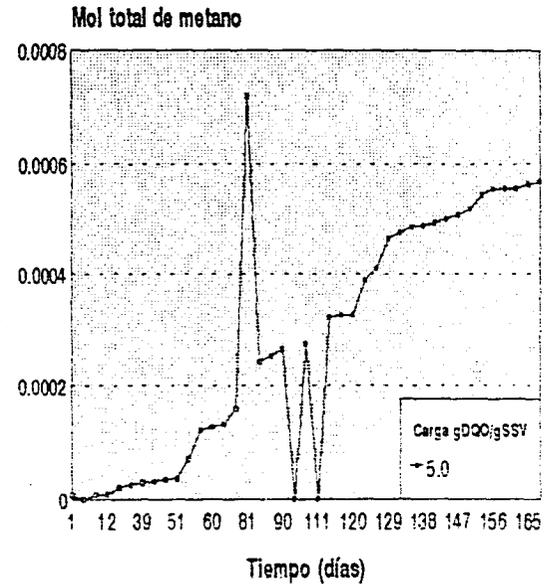


Fig. 5.1.2 Producción de metano

VINAZA

VINAZA

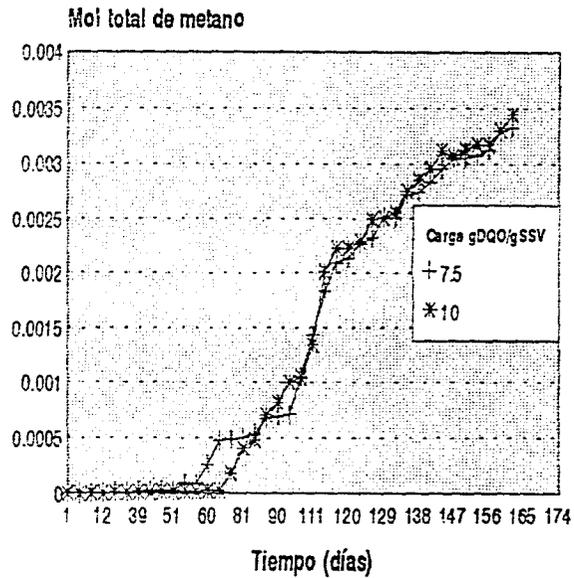


Fig. 5.1.3 Producción de metano

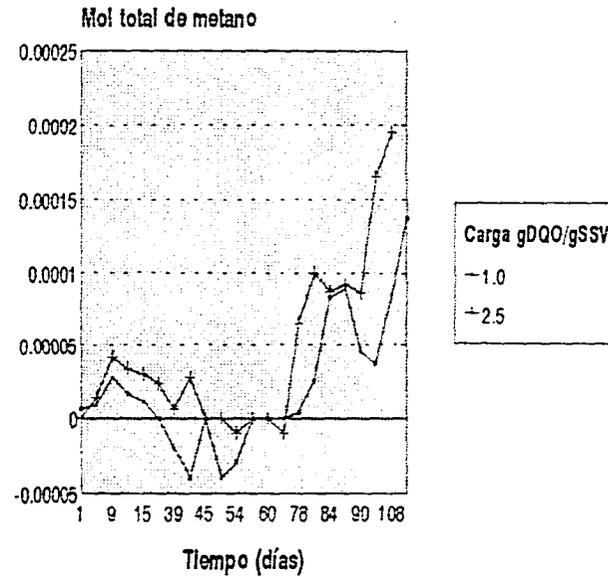


Fig. 5.1.4 Producción neta de metano

VINAZA

VINAZA

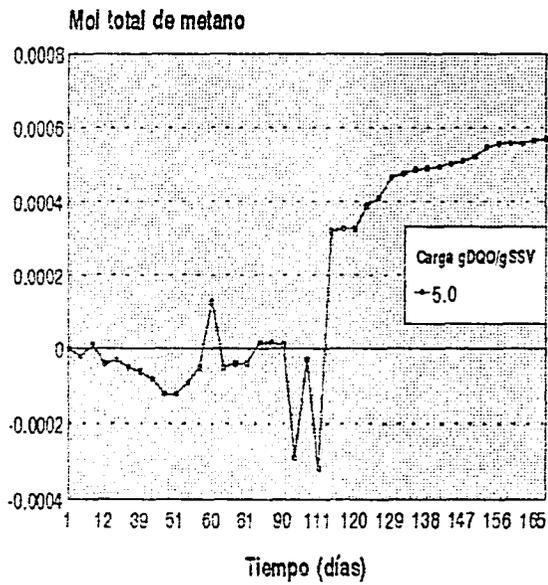


Fig. 5.1.5 Producción neta de metano

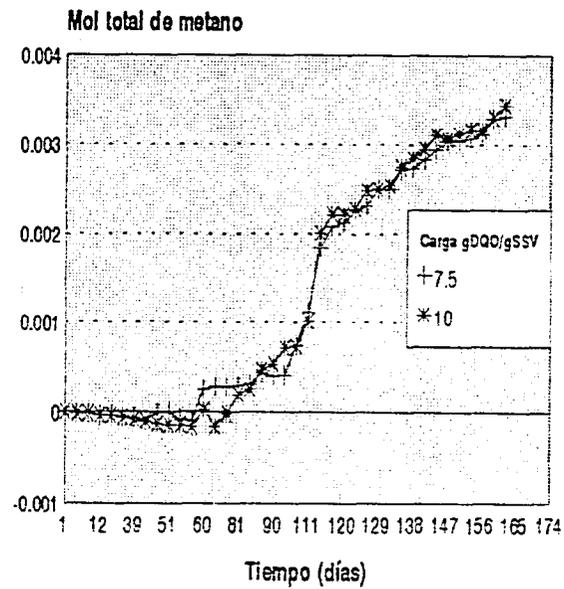


Fig. 5.1.6 Producción neta de metano

Con el efluente de vinaza las botellas se incubaron bajo diferentes tiempos, de 108 y 111 días para las cargas de 1 y 2.5 gDQO/gSSV respectivamente y de 162 y 168 días para las cargas de 5, 7.5 y 10 gDQO/gSSV .

Al inicio de la corrida se tuvo que neutralizar la vinaza ya que presentaba un pH inicial de 3.6 . La DQO inicial para cada una de las cargas se muestra en la Tabla 5.1.4 al igual que la DQO soluble final.

La carga de 1 gDQO/gSSV presentó un incremento en la producción de gas desde el inicio de la prueba hasta el día 15 manteniéndose sin cambio hasta el día 42, por abajo inclusive del testigo; esto resulta en valores netos negativos de producción de biogás (Fig. 5.1.1).

El comportamiento inesperado se pudo deber a que la neutralización no se llevó a cabo con la cantidad y concentración adecuada presentándose una baja en el pH lo que detuvo temporalmente la producción de gas. Se adicionó nuevamente una solución de bicarbonato de sodio al 10% en el día 45, llevándose la mezcla (vinaza, inóculo y medio mineral) a un pH de 6.8-7.0 lo cual estimuló la producción de metano. Se observa un claro aumento hasta el final del periodo de incubación de 111 días obteniéndose una producción total de metano de $1.37E-4$ mol. Como resultado sólo se degradó un 6% de la materia orgánica de acuerdo con los cálculos en la Tabla 5.1.4.

En la carga de 2.5 gDQO/gSSV la producción de metano se incrementó a partir del día 3 y hasta el día 42, teniendo una caída en el día 45 posiblemente debido a una fuga en la toma de muestra. En el periodo del día 51 al día 78 la producción de metano fue muy a la par con el testigo aunque por abajo de la producción de este; en el día 78 la producción se incrementó por arriba del testigo como de la carga de 1 gDQO/gSSV (Fig. 5.1.1) siendo el incremento constante hasta el día 111. Como resultado se obtuvo una producción neta de metano de $1.953E-4$ mol con un porcentaje de biodegradabilidad de 32.22% de la materia orgánica (Tabla 5.1.4).

En la carga de 5 gDQO/gSSV la mezcla inicial presentó un pH ácido de 4.5 debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles. Por lo que no era propicia la producción de metano siendo ésta inferior al testigo por espacio de 108 días. Se tuvo un valor positivo en el día 60, el cual se debió seguramente a errores de muestreo o análisis en el comatógrafo de gases.

En los días 93 y 111, el valor de producción de metano cayó a cero posiblemente debido a que hubo pérdida de gas al momento de la toma de muestra. Esto se confirma por los valores negativos de presión obtenidos en la toma de muestra, y el poco gas generado era perdido en tomas de muestra innecesarias. En el día 111 se realizó una segunda neutralización con la solución de bicarbonato de sodio al 10% inyectándose aproximadamente 1.5 ml, con lo cual se regeneró la producción de metano dando un salto muy grande en el día 114, lo cual no puede considerarse del todo normal ya que el valor obtenido en este punto fue bastante alto; a partir de este día y hasta el final del período de incubación día 168 (Fig. 5.1.5) la producción de metano fue en incremento obteniéndose un 39.88% de materia orgánica biodegradable con una producción neta de metano de $5.69E-4$ mol. (Tabla 5.1.4).

El comportamiento en la producción de metano de las cargas 7.5 y 10 gDQO/gSSV desde el día 1 y hasta el día 60 fue muy similar, obteniéndose valores inferiores a cero. Se sospechó de una inhibición por acidificación ya que aparentemente la carga orgánica puntual fué muy grande y las bacterias acidogénicas produjeron AGV's a una tasa mayor que el consumo de éste intermediario por las metanogénicas, provocando su acumulación y el abatimiento del pH de la mezcla de ambas cargas (4.5 y 4.3 respectivamente). Otro factor pudo ser un posible período de aclimatación de las bacterias metanogénicas al sustrato, retardándose como consecuencia la producción de metano, recuperándose ésta una vez neutralizada la mezcla con la solución de bicarbonato de sodio (día 60). El desarrollo de ambas cargas fué semejante, aunque la carga de 10 gDQO/gSSV presentó ligeramente una mayor producción total de metano ($3.44E-3$ mol) sobre la carga de 7.5 gDQO/gSSV ($3.319E-3$ mol) degradándose un 80% y un 73.68% de materia orgánica en ambas cargas, respectivamente. (Tabla 5.1.4).

Aunque la carga de 1 gDQO/gSSV fué en la que menor porcentaje de materia orgánica biodegradable se obtuvo, fué la que presentó un mayor factor de conversión de sustrato (0.615). A la anterior le siguieron la carga de 7.5 gDQO/gSSV con un factor de 0.2164, la carga de 2.5 gDQO/gSSV con un valor de 0.220, la carga de 5 gDQO/gSSV con un valor de 0.116 y finalmente la carga de 10 gDQO/gSSV con un factor de conversión de 0.113.

Por último, la carga que presentó una mayor velocidad de reacción fue la de 5gDQO/gSSV con un valor de $22.45E-3$ gDQO-CH₄/gSSV.d, seguida de la carga de 10gDQO/gSSV con una tasa de reacción de $20.81E-3$ gDQO-CH₄/gSSV.d. En el caso de la carga de 7.5 gDQO/gSSV se obtuvo un valor de $18.7E-3$ gDQO-CH₄/gSSV.d, para la carga de 1gDQO/gSSV el valor obtenido fue de $6.67E-4$ gDQO-CH₄/gSSV.d mientras que la carga que se degradó más lentamente fue la de 2.5 gDQO/gSSV con un valor de $1.43E-4$ gDQO/gSSV.d.

La carga de 10 gDQO/gSSV fué la que mayor porcentaje de degradación obtuvo, ya que era la que contenía más agua residual por lo tanto el sustrato no fue el factor limitante. Sin embargo, también contenía una mayor cantidad de sulfatos por lo que la cantidad de sustrato que se convirtió a metano fue menor y no se degradó tan rápidamente como la carga de 5 gDQO/gSSV.

TABLA 5.1.4 RESULTADOS DE LA CORRIDA EN BATCH POR VIA ANAEROBIA DEL EFLUENTE DE VINAZA

PARAMETRO	CARGA gDQO/gSSV				
	1.0	2.5	5.0	7.5	10
DQO inicial (mg/l)	11200	12000	16000	34000	52873
DQO final (mg/l)	10575	8134	6509	8949	10576
DQO removida (g)	14.13	10.25	31.32	989.5	1.945
PNM (mol)	1.3586E-4	1.953E-4	5.69E-4	3.319E-3	3.44E-3
F.C.S. a CH ₄ (gDQO-CH ₄ /gDQO removida)	0.615	0.1220	0.116	0.2164	0.113
PORCENTAJE BIODEGRADABLE (%)	6.0	32.22	39.83	73.68	80.0
TASA DE REACCION (gDQO-CH ₄ /gSSV.d)	6.67E-4	1.43E-4	22.45E-3	18.7E-3	20.81E-3

NOTA: DQO (Demanda Química de Oxígeno)
 PNM (Producción Neta de Metano)
 F.C.S. (Factor de Conversión de Sustrato a Metano)

5.2 CARNAZA

El agua de carnaza proviene de una serie de tres lavados que se realizan en el proceso de elaboración de "galletas" (objetos masticables).

Durante los tres lavados se llevan a cabo las siguientes operaciones:

1.- Primer lavado: Eliminación de las impurezas que contiene la carnaza y de los residuos propios de su tratamiento previo con cal, etc. En esta primer etapa sólo se utiliza agua sin agregar ninguna sustancia.

2.- Segundo lavado: Enjuague con sulfato de amonio (se le agregan 112 kg para procesar 3,500 kg de carnaza).

3.- Tercer lavado: Para eliminar los excedentes de las siguientes sustancias que se agregan en esta etapa del proceso: 30 litros de agua oxigenada, 105 kg de sal, 85 g de tartrazina (color natural) y 1 kg de bióxido de titanio, todo por cada 3,500 kg de carnaza.

Se caracterizó una mezcla homogénea de los tres lavados, generando los resultados que se muestran en la Tabla 5.2.1. Con esta misma mezcla se experimentó la prueba en batch a diferentes cargas de DQO/SSV. En la Tabla 5.2.2 se muestran los valores de las diferentes cargas manejadas, incluyendo los valores de inóculo y medio mineral empleados. En la Tabla 5.2.3 se muestra la caracterización del inóculo.

TABLA 5.2.1 CARACTERIZACION DEL AGUA DE CARNAZA EMPLEADA

PARAMETROS	UNIDADES (mg/l)
pH	9.2*
Sólidos Totales Totales	9000
Sólidos Totales Volátiles	2895
Sólidos Totales Fijos	6105
Sólidos Suspendidos Totales	1280
Sólidos Suspendidos Volátiles	427
Sólidos Suspendidos Fijos	853
Sólidos Disueltos Totales	7720
Sólidos Disueltos Volátiles	2648
Sólidos Disueltos Fijos	5252
DQO total	2110
DQO soluble	1514
Fósforo total	13.7
Sulfatos	4100
Nitrógeno Amoniacal (N-NH ₄ ⁺)	720

* pH es adimensional

TABLA 5.2.2 RELACIONES gDQO/gSSV ESTUDIADAS SIN NUTRIENTES EXTERNOS

RELACION gDQO/gSSV	LODO (ml)	CARNAZA (ml)	MEDIO MINERAL (ml)	FASE GASEOSA (ml)	FASE LIQUIDA (ml)	FACTOR:	NUT
TESTIGO	1.0	---	10	46.0	11.0	92.0	----
1.0	1.0	16.3	10	29.7	27.3	59.4	----
2.0	1.0	33.0	10	116.0	44.0	232	----
5.0	1.0	82.5	10	66.5	93.5	133	----

CON NUTRIENTES

RELACION gDQO/gSSV	LODO (ml)	CARNAZA (ml)	MEDIO MINERAL (ml)	FASE GASEOSA (ml)	FASE LIQUIDA (ml)	FACTOR	NUT. (ml)
TESTIGO	1.0	---	10	44.5	12.5	89.0	1.5
1.0	1.0	16.3	10	28.2	28.8	56.2	1.5
5.0	1.0	82.5	10	65.0	95.0	130	1.5

TABLA 5.2.3. INOCULO

PARAMETROS	UNIDADES (mg/l)
Sólidos Suspendidos Totales	43660
Sólidos Suspendidos Volátiles	34448
Sólidos Suspendidos Fijos	8812

Nota: El inóculo empleado proviene de un reactor UASB de laboratorio alimentado en continuo con el agua de cañaza.

CARNAZA
sin nutrientes

CARNAZA
con nutrientes

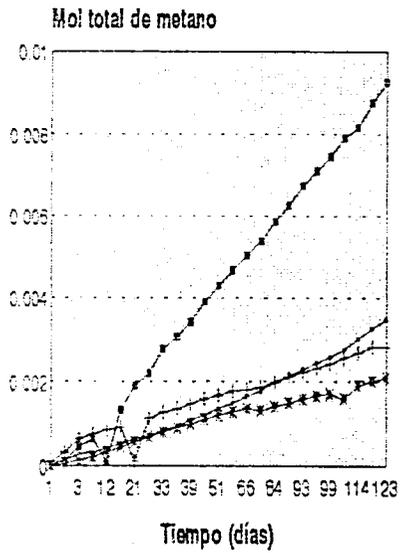


Fig. 5.2.1 Producción de metano

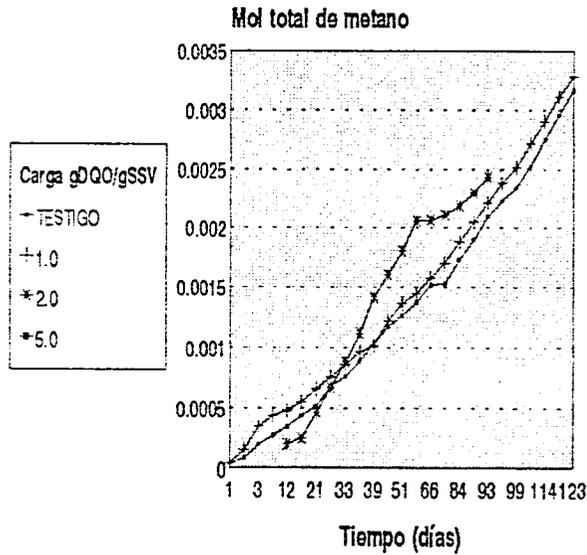


Fig. 5.2.2 Producción de metano

La prueba de tratabilidad con el efluente de cañaza presentó dos variantes denominadas "sin nutrientes" y "con nutrientes": A las botellas denominadas "con nutrientes" se les agregó una mezcla de metales traza necesarios para llevar a cabo el proceso de digestión anaerobia; ya que el efluente carecía de ellos. Estos metales fueron Cu 100 µg/l; Zn 100 µg/l; Co 200 µg/l; Mo 100 µg/l; Fe 400 µg/l y Ni 100 µg/l; se preparó una solución de ellos agregándose a cada botella 1.5 ml de esta solución. Para la serie de botellas denominadas "sin nutrientes" se empleó la misma metodología que para las demás pruebas de tratabilidad: En esta última serie se corrieron tres cargas (1, 2 y 5 gDQO/gSSV) reportándose sólo datos de producción de metano, al igual que en la corrida de "con nutrientes" en la cual se trabajaron dos cargas 1 y 5 gDQO/gSSV.

El hecho de no reportar datos de producción neta de metano fue debido a que la prueba se prolongó después del punto reportado como final del período de incubación, donde se hicieron algunas modificaciones experimentales en ambas series de botellas.

En el período experimental que se trabajó en la corrida "sin nutrientes" (123 días) en la carga de 1 gDQO/gSSV se observó una producción de metano ligeramente mayor que la del testigo desde el día 1 hasta el día 75 y del día 75 al 93 se iguala con éste, cayendo por debajo de él a partir del día 96 hasta el día 123. Por otra parte, la carga de 2 gDQO/gSSV presentó durante toda la corrida una producción inferior al testigo ($2.1E-3$ mol) lo cual indicó que el agua poseía elementos inhibidores como sodio. Sin embargo, esto no se observó en la carga de 5 gDQO/gSSV ya que presentó una mayor producción total de metano ($9.24E-3$ mol). En la corrida "con nutrientes" esta misma carga (5 gDQO/gSSV) presentó una baja producción de metano de sólo $2.43E-3$ mol, mientras que la carga de 1 gDQO/gSSV generó una producción de metano de $3.27E-3$ mol. Con base en lo anterior, se puede afirmar que la adición de nutrientes traza para este efluente y solo en esta carga estimuló la producción de metano cumpliendo la función para la cual fueron agregados. Este efecto es contrario para la carga de 5 gDQO/gSSV.

5.3 HARINAS

El agua de harinas proteicas proviene del cocimiento, en autoclaves y digestores, de materiales como desorille de cuero, hueso, cuerno y pezuña y en menor proporción pluma de pollo y pelo, así como las descargas provenientes del lavado de los gases de secado de la harina.

El agua proteica o de harinas que se trabajó fué una mezcla de los digestores y autoclaves que se manejaron en las siguientes proporciones: autoclaves 14%, digestores 46% y agua potable 40% (esto último como simulación de la aportación del lavador de gases).

Estas descargas contienen grasas y aceites, por lo que además de una caracterización general (Tabla 5.3.1) se realizó un análisis de grasas y aceites. En las Tablas 5.3.2 y 5.3.3 se muestran las cargas de DQO/SSV manejadas, así como las características del inóculo empleado.

TABLA 5.3.1 CARACTERIZACION DEL AGUA RESIDUAL DE HARINAS EMPLEADA

PARAMETROS	UNIDADES (mg/l)
pH	6.8*
Alcalinidad Total	714
Sólidos Totales Totales	4710
Sólidos Totales Volátiles	2380
Sólidos Totales Fijos	2330
Sólidos Suspendidos Totales	1180
Sólidos Suspendidos Volátiles	280
Sólidos Suspendidos Fijos	900
DQO total	10212
Sulfatos	884
Nitrógeno Amoniacal (N-NH4)	735
Grasas y Aceites	132

* pH es adimensional

TABLA 5.3.2. RELACIONES gDQO/gSSV ESTUDIADAS

RELACION gDQO/gSSV	LODO (ml)	HARINAS (ml)	MEDIO MINERAL (ml)	FASE GASEOSA (ml)	FASE LIQUIDA (ml)	FACTOR
TESTIGO	1.5	---	10	45.5	11.5	91
1.0	1.5	3.3	10	42.2	14.8	84.4
2.5	1.5	8.3	10	37.2	19.8	74.4
5.0	1.5	16.5	10	29.0	28.0	58.0
7.5	1.5	24.8	10	20.7	36.3	41.4
10.0	1.5	33.0	10	12.5	44.5	25.0

TABLA 5.3.3. INOCULO

PARAMETROS	UNIDADES (mg/ml)
Sólidos Suspendidos Totales	70467
Sólidos Suspendidos Volátiles	22667
Sólidos Suspendidos Fijos	48200

Nota: El inóculo proviene del lodo previamente lavado utilizado en la corrida de vinaza

HARINAS

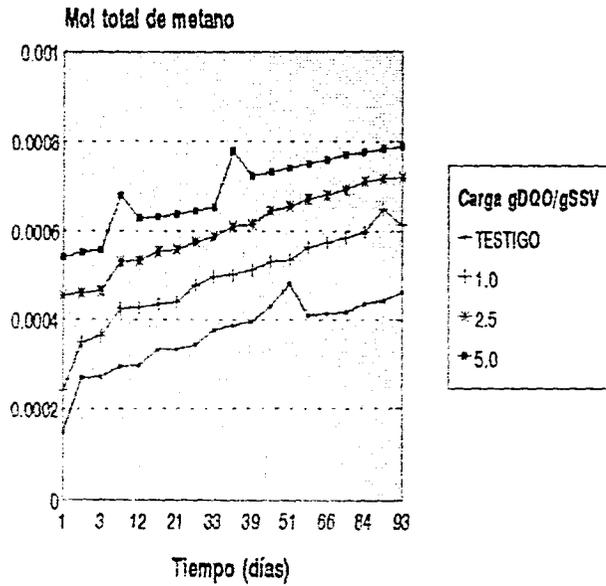


Fig. 5.3.1 Producción de metano

HARINAS

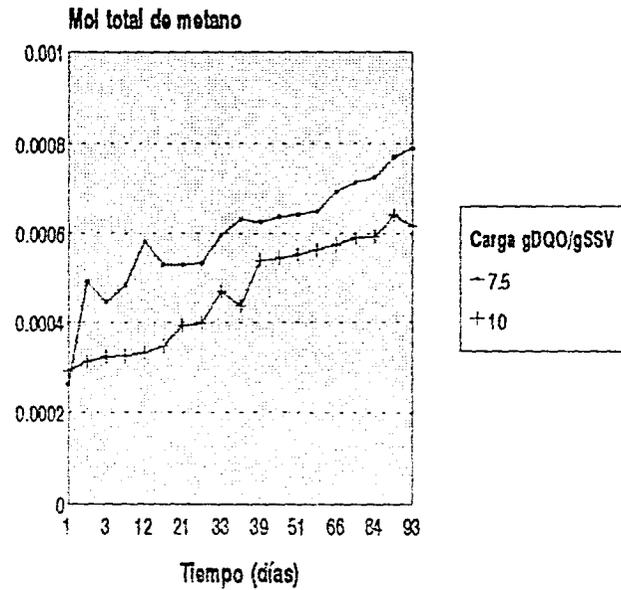


Fig. 5.3.2 Producción de metano

HARINAS

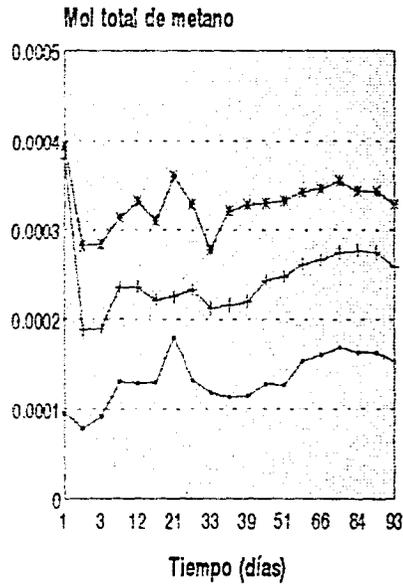


Fig. 5.3.3 Producción neta de metano

HARINAS

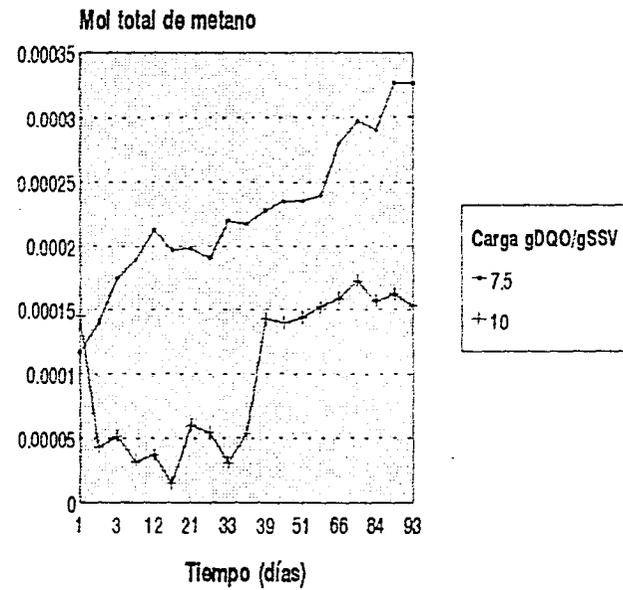


Fig. 5.3.4 Producción neta de metano

El agua de harinas con un pH inicial de 6.8 así como una composición proteica la identificaron como un sustrato de fácil degradación. De hecho a partir del primer día de incubación, todas las cargas presentaron una producción de metano superior al testigo. (Figs. 5.3.1 y 5.3.2).

A su vez la carga de 1 gDQO/gSSV presentó una producción total de metano inferior al resto de las cargas. El incremento en la producción total de metano fue constante, con pequeños ascensos y descensos en las primeras tres cargas. El período de incubación fué de 98 días para todas las cargas obteniéndose una producción final de metano de $1.53E-4$ mol en la carga de 1 gDQO/gSSV; para la carga de 2.5 gDQO/gSSV de $2.59E-4$ mol y finalmente en la carga de 5 gDQO/gSSV se reporta una producción de $3.3E-4$ mol.

Aún cuando la carga de 1 gDQO/gSSV presentó el mayor factor de conversión de sustrato a metano (0.306) fué la que menor porcentaje biodegradable de materia orgánica obtuvo (94.72%). (Tabla 5.3.4). El factor de conversión se presentó en descenso para el resto de las cargas obteniéndose en la carga de 10 gDQO/gSSV tan sólo un factor de 0.029, siendo a su vez esta última la que mayor porcentaje de materia orgánica biodegradable presentó (99.14%). Por otra parte, a medida que se incrementaba la carga, aumentaba el volumen de agua residual y, a su vez, la cantidad de grasas y aceites contenidos en esta, sin embargo, no fué un elemento que impidiera la tratabilidad del efluente. Esto quizá fué favorecido por el sistema batch sin agitación, ya que el contacto de estas sustancias con el inóculo fué limitado, sin afectar la función de las bacterias metanogénicas.

En la carga de 10 gDQO/gSSV se observó una producción total de metano inferior a la carga de 7.5 gDQO/gSSV (Fig. 5.3.4); ambas cargas presentaron un comportamiento poco uniforme. En la carga de 10 gDQO/gSSV la producción neta de metano comenzó con un valor elevado al primer día de incubación, descendiendo en el período del día 2 al 33 recuperándose en el día 39 para mantenerse constante hasta el día 93, punto final del periodo de incubación. Durante este intervalo se generó una producción total de metano de $1.53E-4$ mol, con un 99.14% de materia orgánica biodegradada lo cual indica que no todos los elementos resultantes de la degradación era metano. En la carga de 7.5 gDQO/gSSV la producción de metano fué más uniforme teniendo ligeros descensos con una producción total de metano casi el doble de la carga de 10 gDQO/gSSV; esto es de $3.27E-4$ mol con un porcentaje biodegradable de materia orgánica de 98.08%.

TABLA 5.3.4. RESULTADOS DE LA CORRIDA EN BATCH POR VIA ANAEROBIA DEL EFLUENTE DE HARINAS

PARAMETRO	CARGA gDQO/gSSV				
	1.0	2.5	5.0	7.5	10.0
DQO inicial (mg)*	33.7	84.76	168.5	253.26	336.97
DQO final (mg)*	1.78	2.87	5.35	4.86	2.90
DQO removida (mg)*	31.92	81.89	163.15	248.4	334
PNM (mol)	1.53 E-4	2.59 E-4	3.3 E-4	3.27 E-4	1.53 E-4
F.C.S. a CH4 (g DQO-CH4/g DQO removida)	0.306	0.202	0.13	0.084	0.029
PORCENTAJE BIODEGRADABLE (%)	94.72	96.6	96.8	98.08	99.14
TASA DE REACCION (g DQO-CH4/g SSV.d)	1.413 E-3	10.35 E-3	0.691 7 E-3	3.3505 E-3	2.691 E-3

Nota: DQO (Demanda Química de Oxígeno)
 PNM (Producción Neta de Metano)
 F.C.S. (Factor de conversión de Sustrato a Metano)
 *DQO expresada como masa (mg)

5.4 MALTA

Se conoce como malta a la cebada que bajo ciertas condiciones de humedad y temperatura lleva a cabo su proceso de germinación. La malta contiene dextrinas, maltosa, glucosa y enzimas. Se emplea en la fabricación de la cerveza, siendo esta una bebida alcohólica, que contiene de 3.5 a 7% de etanol, la cual se obtiene por fermentación de la malta con *Saccharomyces* spp. y es aromatizada con lúpulo.

En la Tabla 5.4.1 se muestra la caracterización del agua residual de una maltería. En las tablas 5.4.2 y 5.4.3 se muestran las relaciones de carga DQO/SSV manejadas y las características del inóculo empleado.

TABLA 5.4.1 CARACTERIZACION DEL AGUA RESIDUAL DE MALTA EMPLEADA

PARAMETROS	UNIDADES (mg/l)
pH	6.7*
Alcalinidad	430
Sólidos Totales Totales	1520
Sólidos Totales Volátiles	800
Sólidos Totales Fijos	720
Sólidos Suspendidos Totales	540
Sólidos Suspendidos Volátiles	440
Sólidos Suspendidos Fijos	100
Sólidos Disueltos Totales	980
Sólidos Disueltos Volátiles	360
Sólidos Disueltos Fijos	620
DQO total	1763
Grasas y Aceites	21.2
Conductividad	1800**

* pH es adimensional

** Reportada en $\mu\text{hos/cm}$

TABLA 5.4.2. RELACIONES gDQO/gSSV

RELACION gDQO/gSSV	LODO (ml)	MALTA (ml)	MEDIO MINERAL (ml)	FASE GASEOSA (ml)	FASE LIQUIDA (ml)	FACTOR
TESTIGO	1.5	---	10	45.5	11.5	91
1.0	1.5	28.6	10	16.9	40.1	33.8
2.5	1.5	71.6	10	76.9	83.1	153.8
4.0	1.5	114.5	10	34.0	126.0	68

TABLA 5.4.3. INOCULO

PARAMETROS	UNIDADES
Sólidos Suspendidos Totales	92133
Sólidos Suspendidos Volátiles	33660
Sólidos Suspendidos Fijos	58473

Nota: El inóculo proviene de reactores UASB ubicados en la planta de tratamiento de la compañía productora de malta.

MALTA

MALTA

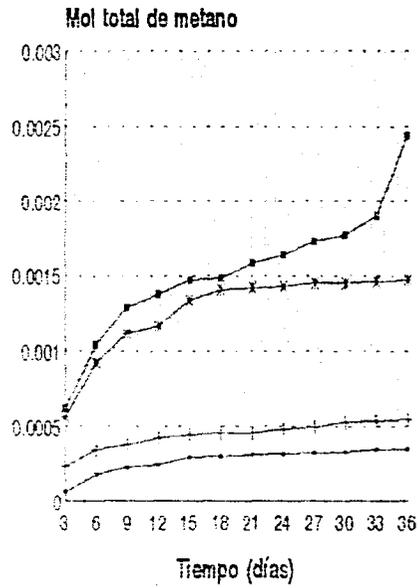


Fig. 5.4.1 Producción de metano

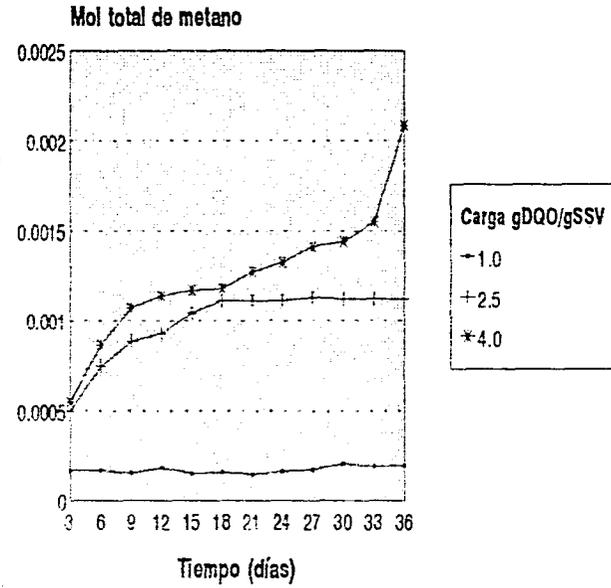


Fig. 5.4.2 Producción neta de metano

En el efluente de malta sólo se aplicaron tres cargas debido a que la cantidad de efluente requerido era superior a la capacidad de las botellas (Tabla 5.4.2).

El período de incubación para las tres cargas fué de 36 días. La carga de 1gDQO/gSSV presentó la menor producción de metano ($1.94E-4$ mol), siguiendo en forma ascendente las cargas de 2.5 y 4 gDQO/gSSV, con una producción de metano de $1.11E-3$ mol y $2.09E-3$ mol respectivamente. (Figs. 5.4.1 y 5.4.2).

El porcentaje de biodegradabilidad de la carga de 1 gDQO/gSSV fué de 96.51%, muy similar a la de la carga de 2.5 gDQO/gSSV con 98.83% y por último en la carga de 4gDQO/gSSV se obtuvo un porcentaje de 89.53%. Aún cuando en esta última carga se haya obtenido la mayor producción de metano el porcentaje de biodegradabilidad fué menor. Así mismo, esta carga presentó el mayor factor de conversión de sustrato a metano (0.76) y la mayor velocidad de degradación de las tres cargas ($39.84E-3$ gDQO-CH₄/gSSV.d) (ver tabla 5.4.4.).

El corto período de incubación pudo deberse a que era un efluente muy biodegradable, rico en carbohidratos, que no presentaba elementos inhibitorios y además tenía un pH adecuado para llevar a cabo la digestión anaerobia. Por lo tanto, no hubo período de aclimatación generando una producción de metano casi inmediata al comenzar la incubación.

TABLA 5.4.4 RESULTADOS DE LA CORRIDA EN BATCH POR VIA ANAEROBIA DEL EFLUENTE DE MALTA

CARGA gDQO/gSSV			
PARAMETRO	1.0	2.5	4.0
DQO Inicial (mg)*	50.46	126.14	201.88
DQO final (mg)*	1.76	1.47	21.14
DQO removida (mg)*	48	124	180
PNM (mol)	1.93 E-4	1.11 E-3	2.09 E-3
F.C.S. a CH4 (g DQO-CH4/g DQO removida)	0.254	0.573	0.76
PORCENTAJE BIODEGRADABLE (%)	96.51	98.83	89.53
TASA DE REACCION (g DQO-CH4/g SSV.d)	1.17 E-3	18.80 E-3	39.84 E-3

Nota: DQO (Demanda Química de Oxígeno)
 PNM (Producción Neta de Metano)
 F.C.S. (Factor de conversión de Sustrato a Metano)
 * DQO expresada como masa (mg)

5.5 TABLEROS DE MADERA

Para la elaboración de tableros de madera (Fibracel) se emplea el siguiente proceso: la madera pasa por una operación de molienda con presión y temperatura hasta obtener pequeñas fibras menores que el aserrín: El producto generado de esta operación se mezcla con resinas, aditivos y agua para formar una pasta, la cual es moldeada en rodillos por presión en forma de lámina. Una vez obtenida la lámina se seca en un horno, obteniéndose finalmente el tablero. El agua que requiere de tratamiento es fundamentalmente la que se elimina en el prensado y formado del tablero.

En la Tabla 5.5.1 se muestra la caracterización del agua residual de tableros de madera. En las Tablas 5.5.2 y 5.5.3 se muestran las cargas de DQO/SSV manejadas y las características del inóculo empleado.

TABLA 5.5.1 CARACTERIZACION DEL AGUA RESIDUAL DE TABLEROS DE MADERA EMPLEADA

PARAMETROS	UNIDADES (mg/l)
pH	4.3*
Sólidos Totales Totales	6560
Sólidos Totales Volátiles	4280
Sólidos Totales Fijos	2280
Sólidos Suspendidos Totales	1590
Sólidos Suspendidos Volátiles	1530
Sólidos Suspendidos Fijos	60
DQO total	9900
Nitrógeno Amoniacal (N-NH ₄)	16.1
Nitrógeno Total Orgánico	22.1
Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK)	38.2
Fósforo	148
Sulfatos	1500

* pH es adimensional

TABLA 5.5.2. RELACIONES gDQO/gSSV

RELACION gDQO/gSSV	LODO (ml)	TABLEROS DE MADERA (ml)	MEDIO MINERAL (ml)	FASE GASEOSA (ml)	FASE LIQUIDA (ml)	FACTOR
TESTIGO	1.5	---	10	148.5	11.5	297
1.0	1.5	10	10	138.5	21.5	277
5.0	1.5	50	10	98.5	61.5	197.3
10.0	1.5	100	10	48.5	111.5	97

TABLA 5.5.3. INOCULO

PARAMETROS	UNIDADES
Sólidos Suspendidos Totales	133600
Sólidos Suspendidos Volátiles	65400
Sólidos Suspendidos Fijos	68200

Nota: El inóculo proviene de una mezcla de lodos tanto del reactor UASB Industrial alimentado con el agua de tableros de madera, como de lodos lavados utilizados en la corrida de vinaza.

El agua de tableros de madera presentó un pH inicial de 4.3, por lo que antes de comenzar la prueba de tratabilidad tuvo que ser neutralizado, empleando la solución de bicarbonato de sodio al 10%. También, presentó una DQO total inicial alta, con una concentración de sulfatos considerable, así como un valor de fósforo alto. (Tabla 5.5.1). Además contenía pequeñas partículas de la celulosa y lignina lo cual hacía un efluente difícil de tratar.

En este efluente se trabajaron tres cargas 1, 5 y 10 gDQO/gSSV. El testigo no presentó producción de metano, por lo cual se consideró, nula para el cálculo de producción neta.

A pesar de que el efluente contenía elementos inhibidores, el desarrollo de las tres cargas fué adecuado, teniendo un comportamiento muy similar (Fig. 5.5.1) entre ellos. Las tres cargas presentaron una producción ascendente de metano, con un período de descenso en los días 58 a los 62 restableciéndose nuevamente en el día 67 donde comenzó la estabilización de la producción de metano.

Se obtuvo un porcentaje biodegradable de 89.9% en la carga de 1 gDQO/gSSV, en la carga de 5 gDQO/gSSV de 89.5% y finalmente de 87.94% en la carga de 10 gDQO/gSSV. Fué en la carga de 1 gDQO/gSSV donde se obtuvo el mayor factor de conversión de sustrato (0.65), mientras aumentaba la carga disminuía la cantidad de materia orgánica convertida a metano (Tabla 5.5.4). El hecho de que haya sido la carga de 1 gDQO/gSSV la que mayor porcentaje biodegradable obtuvo no significó que también hubiera sido la que más rápido se degradó ya que en este caso la carga de 10 gDQO/gSSV fue la que presentó una mayor tasa de reacción.

FIBRACEL

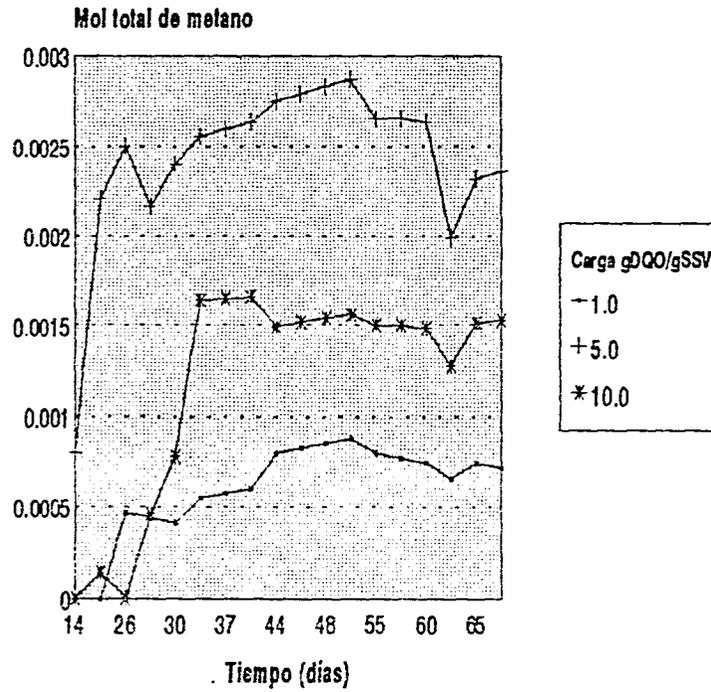


Fig. 5.5.1 Producción neta de metano

TABLA 5.5.4 RESULTADOS DE LA CORRIDA EN BATCH POR VIA ANAEROBIA DEL EFLUENTE DE TABLEROS DE MADERA

PARAMETRO	CARGA gDQO/gSSV		
	1.0	5.0	10.0
DQO Inicial (mg)*	81.36	406.8	813.6
DQO final (mg)*	10.66	42.67	98.13
DQO removida (mg)*	70.7	364	715
PNM (mol)	7.146 E-4	2.364 E-3	1.53 E-3
F.C.S. a CH ₄ (g DQO-CH ₄ /g DQO removida)	0.65	0.4155	0.137
PORCENTAJE BIODEGRADABLE (%)	89.9	89.5	87.94
TASA DE REACCION (g DQO-CH ₄ /g SSV.d)	2.55 E-2	15.79 E-2	18.32 E-2

Nota: DQO (Demanda Química de Oxígeno)
 PNM (Producción Neta de Metano)
 F.C.S. (Factor de conversión de Sustrato a Metano)
 * DQO expresada en masa (mg)

6.0 PARAMETROS IMPORTANTES EN LA APLICACION DE LA TECNICA EXPERIMENTAL.

6.1 INOCULO

El inóculo es de vital importancia para el arranque de cualquier tratamiento biológico y por consiguiente debe considerarse tanto su composición como su actividad específica.

En las técnicas reportadas de la literatura aquí descritas, se manejan variantes al respecto. Hay autores que consideran su concentración en forma de sólidos suspendidos (Field *et al.*, 1988), otros lo manejan simplemente como volumen (Owen *et al.*, 1988) lo cual presenta una desventaja puesto que impide comparaciones, pero sobre todo no permite una estandarización. En este trabajo se manejó la concentración del inóculo en miligramos de sólidos suspendidos por litro de inóculo (mgSSV/l). Es importante conocer la cantidad de biomasa introducida en las pruebas de biodegradabilidad para calcular los diversos resultados que pueden obtenerse de los datos en bruto. Por lo tanto, es importante antes de correr cualquier prueba en tratamiento aerobio y anaerobio, conocer las características del inóculo realizando un análisis de sólidos suspendidos por gravimetría, así como efectuar la prueba de actividad bioquímica específica (Ver Anexo 3 para el caso de anaeróbiosis). El conocer estas dos características lleva a decidir la cantidad de lodo que se debe inocular y permite acercarse a una estandarización de la prueba.

En las pruebas realizadas, las cantidades de inóculo variaron en cuanto a su procedencia, composición y volumen para los diferentes efluentes. El volumen del inóculo varió desde 10 ml para el efluente de vinaza hasta 1.5 ml para el resto de los efluentes: carnaza, harinas, malta y tableros de madera, pero siempre conociendo su concentración de SSV. La cantidad de lodo empleado, se redujo en estas pruebas a fin de evitar una dilución importante del efluente. Por otra parte, es importante el realizar una pre-incubación o autodigestión del lodo con el objeto de reducir o eliminar la cantidad de sustrato interno, evitando con ello un aporte adicional de metano en la botella prueba, generando resultados poco confiables. De cualquier forma, es por esta razón que se debe correr un testigo o blanco, que permita evaluar el aporte de metano a partir del lodo para hacer la correcciones correspondientes y obtener la producción neta del sustrato estudiado.

Se recomienda emplear una concentración de inóculo de 5 gSSV/l, si la actividad metanogénica del lodo es mayor a 0.2 gDQO.CH₄/gSSV.d. (Field *et al.*, 1988). Con objeto de facilitar la comparación de resultados, es conveniente correr en paralelo una prueba de actividad metanogénica específica (sobre ácido acético) con el lodo de inóculo, lo que daría información sobre la "salud" del lodo.

6.1.2 CONCENTRACION DE MATERIA ORGANICA DEL AGUA RESIDUAL.

De la concentración de materia orgánica del efluente a tratar (Demanda Química de Oxígeno) depende el volumen de agua que se va introducir en las botellas para la prueba. Idealmente, antes de comenzar la prueba de biodegradabilidad es necesario hacer una caracterización completa del efluente a tratar, ya que es conveniente conocer de antemano si hay algún compuesto tóxico o inhibidor que afecte a las bacterias metanogénicas. Conociendo el o los elementos inhibitorios se puede dar un pre-tratamiento al agua antes de adicionarla a las botellas; por ejemplo el agua de vinaza se neutralizó con una solución de bicarbonato de sodio al 10%. Sin duda, una adecuada caracterización permitirá apoyar y explicar los resultados obtenidos. Adicionalmente, es importante considerar el grado de dilución del agua residual, que se realiza en la botella, sobre todo cuando está presente algún tipo de compuesto inhibidor. En efecto la prueba en realidad no simula el tratamiento del agua en continuo (sin dilución) a nivel industrial, puesto que la dilución que aporta el inóculo y el medio mineral puede falsear los resultados de la prueba batch. En este trabajo se manejaron diferentes cargas puntuales expresadas como gDQO/gSSV manteniendo fijas las variables de inóculo y nutrientes (medio mineral) y variando sólo la concentración de cada uno de los efluente.

Como se ha mencionado, hubo limitaciones en cuanto al valor de la carga para algunos efluentes debido a la capacidad de las botellas de suero; tal es el caso de los efluentes diluidos ya que había que introducir un volumen importante para alcanzar la masa de DQO deseada. En tales casos se recomienda emplear botellas de mayor capacidad. Sin embargo, pueden manifestarse problemas de transferencia de sustrato del medio líquido al lodo, ya que la prueba se realiza sin agitación.

6.1.3 ALCALINIDAD Y pH .

Se debe considerar que el intervalo de pH en el cual es factible la digestión anaerobia es de 6.2 a 8.0., así como el que algunos compuestos como el amoníaco, el ácido sulfhídrico y los ácidos grasos volátiles causan toxicidad en su forma no ionizada, que depende del valor de pH del medio.

La formación de ácidos grasos volátiles durante el proceso de digestión puede ocasionar la acumulación de ácidos no neutralizados, provocando con ello un descenso en el pH causando a su vez inhibición en el metabolismo de las bacterias metanogénicas. Esto evita que actúen normalmente deteniéndose el proceso de degradación por factores ajenos a las características originales del agua residual. Esta acumulación ocurre cuando existe una sobrecarga en sistema en continuo y cuando no se tiene buena alcalinidad en el reactor, por lo que el pH desciende hasta valores ácidos siendo lenta la recuperación del sistema en estas condiciones.

En el sistema a pH alto la situación es menos crítica, ya que una vez que se han establecido las condiciones de pH la producción de metano se recupera rápido. El sistema amortiguador presente en el medio mineral está formado en su mayoría por fosfatos tanto básicos como dibásicos. El sistema buffer más utilizado en digestión anaerobia para contrarrestar las caídas de pH es el bicarbonato de sodio.

Las bases fuertes como el hidróxido de sodio, y el hidróxido de calcio reaccionan con el CO₂ soluble, dando como resultado su eliminación de la solución. Como el equilibrio químico debe mantenerse entre la fase gaseosa y la fase líquida parte del CO₂ en fase se disuelve manifestándose en una presión negativa del sistema con la probable entrada de aire. Por lo tanto, es importante utilizar un amortiguador adecuado en la composición requerida. Se recomienda bicarbonato de sodio.

6.1.4 NUTRIENTES

En las técnicas reportadas se emplean diferentes medios minerales, cada uno de ellos tiene la finalidad de cubrir las necesidades nutritivas de las bacterias para evitar limitaciones y con ello, la biodegradación del agua no se verá afectada por carencia de alguno de ellos.

Los medios presentados difieren en cuanto a concentración y presencia de elementos esenciales (ver Anexo 1). La producción de metano puede llevarse a cabo en ausencia de algunos elementos como las vitaminas, pero la tasa de actividad se reduce notablemente y se produce una marcada disminución en el porcentaje de eficiencia del proceso.

Para una buena estimulación de la actividad bacteriana en el tratamiento anaerobio los nutrientes más importantes, en orden decreciente, son: nitrógeno, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio, riboflavina y vitamina B₁₂. Los dos primeros son llamados macronutrientes esenciales porque necesariamente deben estar presentes en cualquier sustrato disponible para la digestión anaerobia. Los dos últimos, riboflavina y vitamina B₁₂, aunque aumentan en alto grado la tasa de producción de metano no se emplean a nivel industrial debido a que no son económicamente rentables. La principal fuente de azufre para las bacterias anaerobias es el S²⁻.

Con vista a la aplicación industrial, algunos efluentes carecen de ciertos elementos esenciales por lo que es necesario detectar cuales son y en que concentración los requieren mediante la caracterización completa del agua. Una vez conocido el requerimiento es necesario agregarlos.

6.1.5 PERIODO DE INCUBACIÓN Y TOMA DE MUESTRA

Aunque no sea posible fijarlo previamente con exactitud, es necesario prever conocer el período de incubación. Al conocer la composición del efluente a tratar así como las características del inóculo a emplear, se tiene una base para el cálculo de dicho período de incubación. Se proponen ocho semanas prolongándose hasta que la producción de metano sea mínima (punto de estabilización).

La lectura de presión que se lleva a cabo mediante el transductor, permite dar un seguimiento a las reacciones que ocurren dentro de la botella es decir; es una medida indirecta del proceso de degradación sin ser necesaria la toma de muestra. Cuando se requiere ajustar el pH, la adición de bicarbonato genera una alza en la lectura de presión debido a la formación de CO₂.

Al tomarse la lectura de presión, es importante evitar que se rebase el límite marcado por el transductor por dos razones:

- 1.- Para el equipo empleado en este trabajo a partir del valor de 15 lb/pulg² el comportamiento ya no es lineal y
- 2.- la posible pérdida de biogás debido a la diferencia de presión interna con la del ambiente.

La toma de presión previa al muestreo es útil debido a que permite decidir si se toma o no muestra de la fase gaseosa para inyectarla al cromatógrafo y de ésta manera determinar el porcentaje de metano presente en la muestra. Si la presión no se incrementó, implica que no hubo producción de biogás y por lo tanto no es necesario extraer una muestra para el cromatógrafo.

En caso de que la presión indique que se ha rebasado el límite superior recomendado (en este caso 10 lb/pulg²), será necesario purgar la botella para evitar pérdida de biogás no cuantificado hasta un valor mínimo de 2 lb/pulg² después de haberse inyectado la muestra al cromatógrafo a la temperatura de incubación de la botella (37 °C).

7.0 CONCLUSIONES

La prueba de biodegradabilidad anaerobia en batch permite decidir si un efluente puede ser o no tratado en continuo por vía anaerobia, a través del monitoreo de dos variables importantes; presión y cantidad de metano producido.

La prueba de biodegradabilidad en batch por vía anaerobia es económica, ya que requiere de cantidades pequeñas tanto de reactivos como de agua residual. Por otro lado los resultados se pueden obtener en períodos de tiempo cortos comparados con las pruebas en continuo.

Para llevar a cabo la prueba se requiere de una caracterización adecuada del efluente para dar o no un pretratamiento (detección de elementos inhibidores). Además con ello podemos predecir el tiempo de incubación o enriquecer el medio mineral por falta de nutrientes, entre otros factores y fundamentalmente decidir las cargas puntuales que se trabajarán para cada efluente, dependiendo de la DQO.

Se recomienda se trabajen tres cargas puntuales como mínimo, para así tener una mayor visión de la tratabilidad del efluente así como valores representativos de la prueba experimental realizada. La carga de 1 gDQO/gSSV no se recomienda, a menos que la DQO del agua sea baja o se sospeche de un efecto inhibidor claro.

De ser posible debe emplearse un sólo tipo de inóculo suficientemente activo y concentrado evitando con ello dilución del efluente y variaciones de biomasa.

Se recomienda correr en paralelo una actividad metanogénica específica a partir de ácido acético con el lodo de inóculo, a fin de conocer su "salud". No deberá iniciarse ninguna prueba con un lodo de dudosa calidad (baja actividad).

El medio mineral global empleado en este trabajo es lo suficientemente completo por lo que no se requiere la adición de nutrientes extra a las botellas de prueba.

Las tomas de muestra de gas deben hacerse periódicamente sin que haya períodos de tiempo muy grandes entre cada punto de muestreo que reflejen caídas o alzas en la producción de metano sin que hayan sido cuantificadas. La frecuencia dependerá de la rapidez de respuesta de la prueba.

La técnica presentada en este trabajo es una recopilación de las técnicas reportadas en la literatura que emplea una metodología más estandarizada que puede ser aplicada a nivel industrial.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Balch, W. E., Schoberth, S. Tanner, R.S. y Wolfe, R. S. *Acetobacterium*, a new genus of hydrogen-oxidizing, carbon dioxide-reducing, anaerobic bacteria. Int. J. Syst. Bact., **27**. 355-361. (1977).
- 2) Chessman, P., Tons-Wood, A. and Wolfe, R. S. Isolation and properties of a fluorescent compound, factor F-420 from methanobacterium strain M.O.H. J. Bacteriol. **112**. 527-531. (1972).
- 3) Concannon, F., Reynolds, P.J., Hennigan, A. y Collieran, E. Development of a computerized continuous assay for specific methanogenic activity measurement. En: Proceedings of 5th International Symposium on Anaerobic Digestions: Poster Papers. A. Tilche and A. Rozzy (Eds). Monduzo Editor Bologna, Italy. pp. 177-181. (1988).
- 4) Delafontaine, M.J., Naveau, H.P. and Nyns, E.J. Fluorometric monitoring of methanogenesis in anaerobic digesters. Biotechnol. Lett., 71-73. (1979).
- 5) Dolfing, J. y Mulder, J. W. Comparison of methane production rate and coenzyme F-420 content of methanogenic consortia in anaerobic granular sludge. App. Environ. Microbiol. **49**: 1142-1145. (1985).
- 6) Dolfing, J. and Bloemen, W. G. B. M. Activity measurement as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. J. Microbiol. Methods. **4**, 1-12. (1985).
- 7) Gorris, I. and Van Der Drift, C. Methanogenic cofactors in pure cultures methanogens in relation to substrate utilisation. In: Biology of Anaerobic Bacteria. H. Dubouquier, (Eds). Elsevier Science Publishers. Amsterdam. pp. 144-150. (1986).
- 8) Gujer, W. and Zehnder, H. J. B. Conversion processes in anaerobic digestion. Wat. Sci. Technol., **15**. 127-167. (1983).

- 9) Guyot, J. P. Introducción a la microbiología de los digestores anaerobios. En: Taller de Tratamiento Anaerobio de aguas residuales en América Latina. UNAM, México pp. 83-95. (1990).
- 10) Hungate, R.E. A roll tube method for cultivation for strict anaerobes. In: Methods in Microbiology. J. R. and D.W. Ribbons. Eds. Academic Press .N.Y. USA (3) 8: 117-132 (1969).
- 11) James, A., Chernicharo. C.A. L. Y Campos, C.M.N. The Development of a new methodology for assesment of specific methanogenic activity. Wat. Res., 24. 813-825.
- 12) Jim, F., Gatzte L., Ensayos anaerobios. En: 3er. Seminario depuración anaerobia de aguas residuales. Universidad de Valladolid. España. pp. 51-54. (988).
- 13) Keltjens, J. T. and Vogels, G. D. Novel coenzymes of methanogens. In: Microbiol Growth on C. Compounds. H. Dalton (ED). Heyden. London. pp. 152-158. (1981).
- 14) Lara Magaña, Marcela. Arranque y operación de reactores UASB a escala piloto bajo diferentes condiciones de alimentación. Tesis, Universidad Veracruzana, México. (1990).
- 15) Mc. Inerney. M., Bryant, M. and Stafford. D. Metabolic stages and energetics of microbial anaerobic digestion. In: Anaerobic Digestion. D. Stafford, B. Wheatley and D. Hughes (Eds). Applied Science Publishers, London. pp. 91-98. (1980).
- 16) Mc. Inerney, M. J. and Bryant, M. P. Basic principles bioconversion in anaerobic digestion and methanogenesis. In: Biomass Conversion Processes for energy and fuels. Sofer S. S. Zabovsky O. R. (eds). Plenum Publishing Corp. pp. 277-296.(1981).

- 17) Murray, W. D., and Van der Berg L. Effects of nickel, cobalt and molybdenum on performance of methanogenic fixed-film reactor., Appl. Environ. Microb. **42**:502. (1981).
- 18) Noyola A., Briones, R. y Jiménez, C. Tratamiento anaerobio de vinazas a nivel planta piloto con dos tipos de reactores avanzados. 1ra. y 2a. parte. Informe, Instituto de Ingeniería, UNAM.
- 19) Owen, W. F., Stuckey D.C., Healy, J.B., Young L. Y. and Mc. Carty, P.L. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. Wat. Res., **13**: 485-492. (1979).
- 20) Reynolds, P. J. Support matrix and feed-flow effects in anaerobic fixed-bed reactors. Ph. D. Thesis. National University of Ireland. (1986).
- 21) Reynolds, P. J. and Colleran, E. Evaluation and improvement of methods for coenzyme F-420 analysis in anaerobic sludges. J. Microbiol. Methods. **2**: 115-130.
- 22) Shelton, D. R. and Tiedje, J. M. General method for determining anaerobic biodegradation potential. Appl. Environ. Microbiol., **47**: 850-857.
- 23) Speece, R. E. and Parkin, G. F. The response of methane bacteria to toxicity. In: Proceedings of the Third International Symposium on anaerobic digestion. Cambridge Massachusetts, U.S.A. pp. 23-36. (1983).
- 24) Stronach, S. M. T. Rudd and J. N. Lester. Anaerobic digestion process In: Industrial Wastewater Treatment. Ed. Springer Verlag. Germany. 120 pp.
- 25) Valcke, D. and Verstrate. W. A practical method to estimate the acetoclastic methanogenic biomass in anaerobic sludges. J. Wat. Poll. Control. Fed., **55**: 1191-1195.

ANEXO 1

**Técnicas empleadas para determinar
la biodegradabilidad de un agua
residual por vía anaerobia.**

Medios minerales empleados

1.- BIOENSAYO PARA MONITOREAR EL POTENCIAL BIOQUIMICO DE METANO.

OWEN, W. F.; STUCKEY, D.C.; HEALY, J.B., L.Y. YOUNG Y Mc. CARTY (1988)

- 1.- Preparar el Medio Mineral Definido como se indica en el Anexo 1.
- 2.-Se emplean botellas de suero de 250 ml de capacidad (Corning No. 1460). Se burbujan las botellas a un flujo de 0.5 l/min durante 15 min con una mezcla de CO₂-N₂ 30:70 y se equilibran a la temperatura de incubación antes de introducir la muestra, el medio mineral y el inóculo.
- 3.-El medio mineral definido se equilibra a la temperatura de ensayo y se inocula anaerobiamente, mediante la inserción de una aguja con una mezcla de gas (CO₂-N₂ 30:70), adicionándose 200 ml de lodo a 1800 ml de medio por lo tanto el inóculo se maneja al 20%. El medio mineral y el inóculo pueden ser transferidos separadamente a las botellas.
- 4.-Agregar un volumen de muestra de 2-20 ml que contenga 150 mg de DQO.
- 5.-Una vez que se ha obtenido el volumen adecuado en la botella se tapa con un septum de hule y un sello de aluminio removiéndose simultáneamente la aguja conectada al gas.
- 6.-Después de equilibrarse por una hora a la temperatura de incubación se iguala la presión de la botella con la presión atmosférica mediante una jeringa.
- 7.-Se incuban a 35°C durante 30 días con lo cual se asegura una completa biodegradación del compuesto.
- 8.-La muestra y el testigo o blanco se prueban por duplicado.

MEDICION DE LA PRODUCCION DE GAS

- 1.-El metano resultante, proviene de la biodegradación de la muestra y se determina por sustracción de los valores del testigo a las de la muestra prueba.

2.-El muestreo del gas durante la incubación se lleva a cabo con jeringa de vidrio tomándose la lectura por desplazamiento del émbolo (jeringa 5-50 ml de capacidad dependiendo del volumen a muestrear) equipadas con agujas de calibre 20.

3.-La jeringa es inicialmente gaseada con la mezcla de $\text{CO}_2\text{-N}_2$ 30:70 y se lubrica con agua desionizada.

4.-Las lecturas se toman a la temperatura de 35°C colocando la jeringa horizontalmente para llevar a cabo la medición del gas.

5.-Llevada a cabo la medición del gas, se puede reinyectar a las botellas procurando que no haya contaminación en ese punto o bien, se puede desechar.

6.-Las muestras de gas son analizadas por cromatografía de gases.

7.-El volumen de gas se monitorea periódicamente para prevenir una fuga inadvertida de gas debido a una excesiva presión la cual se manifiesta cuando hay una diferencia entre la presión atmosférica mayor que 0.5 atm.

8.-Los resultados se pueden expresar en función del porcentaje de materia orgánica convertida a metano usando el factor de $0.350\text{ m}^3\text{ CH}_4$ a condiciones normales de temperatura y presión (NTP) producidos por kilogramo de DQO convertido.

NOTA: 350 ml de CH_4 ($T = 0^\circ\text{C}$, $P = 1\text{ atm} = 1\text{ g de DQO}$)

2.- METODO GENERAL PARA DETERMINAR EL POTENCIAL DE BIODEGRADACION ANAEROBIA

SHELTON, D.R. Y TIEDJE, M.J. (1984)

- 1.-Prepara el Medio Mineral RAMM como se indica en el Anexo 1.
- 2.-Se emplean botellas serológicas de 160 ml de capacidad (Wheaton 160 ml botellas de suero).
- 3.- Acondicionar la muestra de la siguiente manera:
 - si el compuesto (muestra) es soluble en agua se disuelve en la misma.
 - si la muestra es insoluble en agua se disuelve en éter dietílico, evaporándose el éter por espacio de dos horas.
 - si son polímeros insolubles se pesan aparte y se adicionan a las botellas como sólidos .
- 4.-Se adicionan 50 mg de C/ml del compuesto a probar, a las botellas de suero (160 ml de capacidad) mediante una jeringa serológica.
- 5.-Se inoculan las botellas con inóculo preparado al 10% (1 parte de lodo mezclado con 9 partes de medio mineral frío y se agita) mientras las botellas se gasean con una mezcla de gases CO₂-N₂ 10:90. Los lodos se pueden obtener de digestores primarios o secundarios cuyo porcentaje de materia orgánica (SV) varía de 0.89% con un valor medio de 1.53%.
- 6.- Tapar las botellas con septum de hule de 1 cm de espesor y con sello de aluminio.
- 7.- Incubar estáticamente en la obscuridad a 35° C durante 8 semanas o bien hasta que la producción de metano haya cesado.
- 8.- Se corre un testigo por triplicado el cual sólo debe contener medio mineral y lodo; la muestra o el compuesto prueba se corre por duplicado.

9.- Después de que las botellas se han equilibrado a la temperatura de incubación 35 °C se equilibran a la presión atmosférica con ayuda de una aguja.

MEDICION DE LA PRODUCCION DE GAS

1.- El gas generado (metano y dióxido de carbono) se monitorea midiendo la presión, con ayuda de un transductor de presión (Unimeasure Grant Press Ore o similar) equipado con adaptador P-8 reportándose la lectura en psi (lb/pulg²) teniendo como límite máximo 8 psi.

2.- Se inserta la aguja a través del tapón de hule de las botellas y la señal en milliohms del transductor, se cuantifica con un multímetro Fluke o similar (Moutlake Terrace, Wash).

3.- Las botellas se agitan vigorosamente antes, de tomar la lectura de presión y el gas en exceso se elimina una vez terminada esta, para evitar con ello que quede fuera del rango del transductor.

4.- La respuesta en milliohms se relaciona a los mililitros de gas producido mediante la construcción de una curva estándar por adición de cantidades conocidas de gas a las botellas de suero mediante una jeringa. La producción neta de gas se calcula restando a las botellas del compuesto prueba, la producción de gas de las botellas testigo.

5.- Se cuantifica el metano producido por inyección de un volumen de muestra de 0.3 ml de la fase gaseosa al cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización de flama.

6.- La degradación se expresa como porcentaje de la producción teórica de gas, basada en la estequiometría de mineralización a metano y dióxido de carbono propuesta por Buswell y corrigiendo por la solubilidad de los gases,

3.- ENSAYOS ANAEROBIOS

FIELD, J., REYES S. A. Y LETINGA G. (1988)

- 1.- Preparar el Medio Mineral como se indica en el Anexo 1.
- 2.- Hacer una evaluación de los siguientes parámetros para poder aplicar el tratamiento.
 - a) Concentración de la materia orgánica como DQO
 - b) Concentración de nutrientes y elementos traza
 - c) Alcalinidad
 - d) Concentración de sólidos suspendidos
 - e) Presencia de compuestos tóxicos
 - f) Temperatura
 - g) Concentración de sólidos suspendidos en el lodo
 - h) Actividad metanogénica específica
- 3.- Se emplea un inóculo a una concentración de 5 gSSV/l siendo la mínima aplicable de 1.5 gSSV/l. Para el agua residual se emplea una concentración de 5gDQO/l; si el agua contiene inhibidores se debe diluir hasta 2 gDQO/l empleando un reactor de mayor volumen.
- 4.- Etiquetar dos botellas con capacidad de dos litros una llamada "tratamiento" y otra "blanco".
- 5.- Dependiendo del sistema, si es con o sin agitación, se recomiendan las siguientes características.

Si la actividad del lodo es menor a 0.1 gDQO-CH₄/gSSV.d se debe utilizar un sistema agitado y una concentración de lodo de 5 gSSV/l y 2 gDQO/l
- 6.-Al reactor marcado con la etiqueta "tratamiento" se le agrega el agua residual a tratar (el volumen necesario para completar la carga requerida) y el inóculo. A el reactor etiquetado como "blanco" sólo se le agrega lodo.

7.- Para evitar un descenso de pH, debe añadirse aproximadamente 1 g de $\text{NaHCO}_3/\text{gDQO}$ biodegradable. Cuando no sea posible estimar la biodegradabilidad del agua residual, añádase 1 g $\text{NaHCO}_3/\text{gDQO}$.

8.- Llevar a un volumen final con agua en ambos reactores.

9.- Burbujear ambos reactores con N_2 o CH_4 durante tres minutos.

10.- Se mide al principio y al final del experimento los AGV (ácidos grasos volátiles) y DQO soluble.

11.- Si el sistema es estático, es necesario agitar antes de tomar las muestras.

12.- El volumen de metano producido en reactores de pequeño volumen se puede medir por desplazamiento de un líquido.

El sistema de medición más común utiliza un frasco de Mariotte (Fig.1) pero, opcionalmente se puede usar una botella de suero invertida, tal como se muestra en la Fig.2: El sistema contiene una disolución de NaOH o KOH con una concentración de 15 a 50 g/l. El biogás es dirigido al sistema de medición: en donde el CO_2 contenido en el gas es absorbido en el medio básico por formación de carbonato y sólo el metano alcanza el espacio libre del recipiente de medición, desplazando un volumen equivalente de líquido.

El metano producido se puede calcular midiendo el volumen o el peso del líquido desplazado. Si se determina por peso se debe introducir una corrección por la densidad de la disolución. El líquido debe ser fuertemente alcalino y será reemplazado si su pH es inferior a 12.

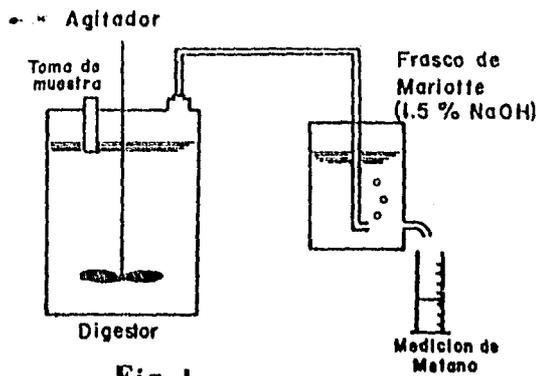


Fig. 1

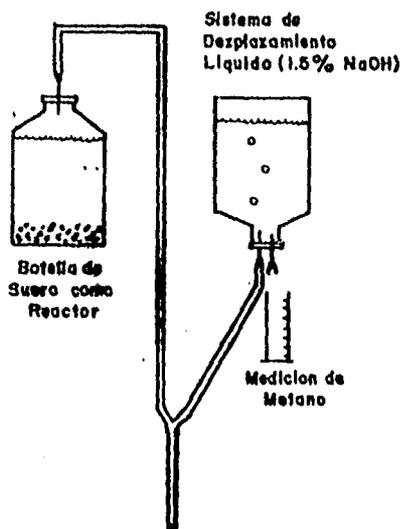


Fig. 2

Figura 1 (arriba). El sistema utilizado en ensayos anaeróbicos agitados con frasco de Mariotte para la medición del volúmen de metano producido.

Figura 2. (abajo). Sistema utilizado en los ensayos anaeróbicos no agitados. Este consta de botella de suero y un sistema de desplazamiento de liquido para la medición del volúmen de metano producido.

4.- DESARROLLO DE UNA NUEVA METODOLOGIA PARA LA VALORACION DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECIFICA.

JAMES, A.; CHERNICHARO C.A. L. Y CAMPOS C. M. (1990)

La prueba se lleva a cabo en un respirómetro de Warburg, los reactores son agitados a 140 rpm.

- 1.- Preparar la solución mineral stock como se indica en el Anexo 1
- 2.- Caracterizar el lodo que se va emplear como inóculo mediante el análisis de sólidos suspendidos volátiles, un día antes de comenzar la prueba.
- 3.- Tomar muestra de lodo del digestor, 12 hrs antes de empezar la corrida. Si los lodos son frescos o la temperatura del baño de agua es diferente al de los digestores, se debe esperar de 12-24 hrs antes de comenzar.
- 4.- Colocar grasa en las juntas de los manómetros conectados a los matraces. Gasear nitrógeno por un período de 5 a 10 min.
- 5.- Dejar aclimatar las muestras por un período de 12 hrs cuidando que la temperatura del baño sea la deseada.
- 6.- Checar que la tapa del manómetro no quede abierta para evitar contaminación por oxígeno.
- 7.- Agitar hasta que se haya accionado el switch del respirómetro.
- 8.- Burbujear con nitrógeno una vez para mantener la atmósfera anaerobia.
- 9.- Tapar los matraces e inyectar el sustrato a través del septum de látex. Es importante asegurarse que la temperatura del baño sea la misma que la del sustrato antes de inyectarse.

10.- Corregir el desplazamiento positivo registrado en el brazo izquierdo del manómetro, por remoción del gas del brazo lateral de cada matraz usando una jeringa.

11.- Referir ambas lecturas derecha e izquierda a un mismo nivel (punto de referencia 15 cm).

12.- Agitar y tomar lecturas a intervalos de 10 a 20 min.

13.- Corregir el desplazamiento positivo del manómetro nuevamente después de tomar la lectura.

14.- Analizar el metano y el bióxido de carbono, que hay en el gas a intervalos regulares durante las primeras horas de la prueba, y después más frecuentemente (cada hora).

15.- Determinar el volumen de metano producido por unidad de tiempo, con ayuda de un cromatógrafo de gases.

16.- Por cada lote de muestras se corre un blanco (control) con el propósito de detectar cambios externos en temperatura y presión. Las lecturas de los manómetros se convierten a volumen de biogás producido a través de la siguiente ecuación:

$$V = K (H_f - H_c)$$

Donde V = volumen del biogás producido

K = factor constante de calibración

H_f = lectura del manómetro conectado al matraz de reacción.

H_c = lectura del manómetro conectado al matraz de control.

K, es un factor de calibración que permite observar los cambios de presión registrados en los manómetros. La teoría de esta determinación se estudio a detalle, fue estudiada con detalle a continuación se muestra el desarrollo para la determinación de K.

$$K = \frac{Vg \cdot 273}{T \cdot Po} + \frac{Vf \cdot a}{Po}$$

Donde: Vg = volumen de la fase gaseosa en el matraz incluyendo los tubos conectados bajo el punto de referencia en el manómetro

Vf = volumen de líquido en el frasco de reacción

T = temperatura absoluta del baño de agua
(273 + °C).

a = solubilidad del líquido involucrado en el volume de gas.

Po = presión estándar del líquido que llena
el manómetro. (para fluido Brodies)

Po = 10000 mm

Esta prueba se puede emplear para evaluar el comportamiento del lodo bajo los efectos de compuestos inhibidores, para establecer los grados de biodegradabilidad de varios sustratos o para determinar la carga mínima aplicable a cierto lodo, lo cual influye en la velocidad de arranque del proceso.

MEDIO MINERAL GLOBAL
Hungate (1969) y Balch *et al* (1977)

La preparación de las soluciones minerales, de oligoelementos y vitaminas es bajo condiciones de aerobiosis y con agua destilada, se preservan a 4 °C.

SOLUCION MINERAL 1
(para 1000 ml)

KH ₂ PO ₄	6 g
---------------------------------	-----

SOLUCION MINERAL 2 de BALCH *et al*, (1977)
(para 1000 ml)
sin sulfatos

K ₂ HPO ₄	6.0 g
NaCl	12.0 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	2.10 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.16 g
CaCl ₂ (cuando no hay la anterior)	0.12 g
NH ₄ Cl	2.40 g

SOLUCION DE VITAMINAS de BALCH *et al*, (1977)
(para 1000 ml)

Biotina	2.0 mg
Acido fólico	2.0 mg
Piridoxina HCl	10.0 mg
Tiamina HCl	5.0 mg
Riboflavina	5.0 mg
Acido nicotínico	5.0 mg
D.L. Pantotenato de calcio	5.0 mg
Vitamina B ₁₂	0.1 mg
Acido p-aminobenzoico	5.0 mg
Acido lipóico	5.0 mg

SOLUCION DE OLIGOELEMENTOS DE BALCH *et al*, (1979)
(para 1000 ml)

Acido nitrilotriacético 1.5 ml

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

SOLUCION DE OLIGOELEMENTOS de BALCH *et al*,
(para 1000 ml)

MgSO ₄ .7H ₂ O	3.0 g
MnSO ₄ .H ₂ O	0.5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.1 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.01 g
NaCl	1.0 g
CoSO ₄	0.1 g
CoCl ₂ (cuando no hay el anterior)	0.1 g
ZnSO ₄	0.1 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.1 g
AlK(SO ₄) ₂	0.01 g
H ₃ BO ₃	0.01 g
Na ₂ Mo ₄ .2H ₂ O	0.01 g

La solución de oligoelementos se debe preparar con agua destilada neutralizada con KOH, en aerobiosis y preservar a una temperatura de 4 °C.

COMPOSICION DEL MEDIO MINERAL GLOBAL
(para un litro de medio)

Solución Mineral 1	50 ml
Solución Mineral 2	50 ml
Solución de vitaminas	10 ml
Solución de oligoelementos	10 ml
Solución de NiCl ₂ (5 mg/100 ml)	10 ml
Solución de resazurina (100 mg/100ml)	1 ml
Solución de FeSO ₄ .7H ₂ O (2 g/100 ml)	1 g
Extracto de levadura	1 g
Peptona de caseína	3 g
Bicarbonato de sodio	0.5 g
Cisteína	

PROCEDIMIENTO

- 1.- Colocar, excepto a la cisteína, en un matraz aforado de 1000 ml y aforar con agua destilada.
- 2.- Repartir el medio en dos matarces 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 de líquido y tapar con papel aluminio.
- 4.- El medio se pone a calentar en parrilla y una vez que comienza a ebulir 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 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.- Una vez reducidos se enfrían en un recipiente con agua, manteniendo la corriente de nitrógeno.
- 7.- Una vez tibio el medio (aproximadamente a 30 °C), se agrega la cisteína rápidamente dejándola resbalar por las paredes del matraz. Evitar en lo posible, la introducción de aire, tapar y burbujear con la corriente de nitrógeno durante 10 min adicionales.
- 8.- Quitar la corriente de nitrógeno y tapar con tapón de hule, sellando el perímetro del matraz con cinta adhesiva. Dejar un extremo libre de la cinta para quitarlo una vez dentro de la cámara anaerobia.
- 9.- Introducir a la cámara anaerobia los medios, las botellas de suero y el equipo necesario para dosificación. Hacer tres cambios de vacío antes de introducir el material.
10. Poner 10 ml de medio a cada botella de suero incluyendo el testigo.
- 11.-Fuera de la cámara anaerobia, cambiar atmósferas utilizando un sistema distribuidor de gases, con la mezcla CO₂-N₂ (80:20) de 3 a 5 min para cada botella. Una vez introducida la corriente de gas, se coloca otra aguja que servirá para la evacuación de la atmósfera interna.
- 12.-Esterilizar 15 min en autoclave a 15 lb/pulg²
- 13.-Medir el pH final el cual debe estar en un rango de 6.8-7.5.
- 14.-Guardar en la cámara anaerobia hasta el momento de inocular.

MEDIO MINERAL DEFINIDO

Adaptado por Speece y Mc. Carty (1984) usando las vitaminas adicionales señaladas por Wolin et al, (1963).

El medio mineral definido contiene nutrientes y vitaminas para la mezcla de cultivos anaerobios, fué adaptado por Speece y Mc. Carty (1964) usando vitaminas adicionales señaladas por Wolin et al, 1963.

Se emplean soluciones stock concentradas y almacenadas a 4 °C. La resazurina se adiciona para detectar contaminación por oxígeno (es de color rosa cuando está oxidada).

El sulfuro de sodio es adicionado como agente reductor del medio.

El procedimiento para preparar 1.8 l del medio es el siguiente:

Las concentraciones finales del nitrógeno, fósforo y alcalinidad son respectivamente: 122 mg/l como N₂, 19 mg/l como P y 2500 mg/l como CaCO₃.

SOLUCION STOCK

SOLUCION	COMPUESTO	CONCENTRACION (g/l)
S ₁	Resarzurina	1.0
S ₂	(NH ₄).2HPO ₄	26.7
S ₃	CaCl ₂ .2H ₂ O	16.7
	NH ₄ Cl	26.6
	MoCl ₂ .4H ₂ O	120
	KCl	86.7
	MnCl ₂ .4H ₂ O	1.33
	CoCl ₂ .6H ₂ O	2.0
	H ₃ BO ₃	0.38
	CuCl ₂ .2H ₂ O	0.18
	Na ₂ Mo ₄ .2H ₂ O	0.17
	ZnCl ₂	0.14
S ₄	FeCl ₂ .4H ₂ O	370
S ₅	Na ₂ S.9H ₂ O	500
S ₆	Ac. Fólico	0.002
	Ac. nicotínico	0.005
	Ac. pantoténico	0.005
	Ac. p-aminobenzoico	0.005
	Ac. tioctíco	0.005
	Biotina	0.002
	Hidrocloruro de piridoxina	0.01
	Tiamina	0.005
	Vitamina B ₁₂	0.005

PREPARACION DEL MEDIO MINERAL DEFINIDO

1.- Adicionar 1l de agua desionizada a un matraz volumétrico de 2 l.

2.- Adicionar lo siguiente:

1.8 ml de S₁
5.4 ml de S₂
27 ml de S₃

3.- Adicionar agua desionizada hasta un volumen de 1800 ml

4.- Hervir por 15 min mientras se burbujea N₂, aproximadamente 1 l/min. a través de un difusor poroso.

5.- Enfriar en el cuarto de temperatura a 35 °C (continuar burbujeando con nitrógeno).

6.- Adicionar lo siguiente:

1.8 ml de S₄
1.8 ml de S₅
1.8 ml de S₆

7.- Adicionar 8.4 g de NaHCO₃.

8.- Cambiar el gas nitrógeno, por la mezcla CO₂-N₂ (30:70) y continuar burbujeando a 1 l/min, hasta que el pH del medio se establezca a aproximadamente 7.1

9.- Cuidadosamente sellar el matraz minimizando la introducción de aire.

El medio se prepara en un matraz volumétrico de 2 l marcado a un nivel de 1800 ml.

El medio puede ser almacenado indefinidamente procurando evitar la introducción de oxígeno.

MEDIO RAMM

Para preparar un litro de medio mineral

SOLUCION 1

BUFFER DE FOSFATOS	
KH_2PO_4	0.27 g
K_2HPO_4	0.35 g

SOLUCION 2

SALES MINERALES	
NH_4Cl	0.53 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.075 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.100 g
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.020 g

SOLUCION 3

METALES TRAZA modificación de Zehnder y Wuhrmann	
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.50 mg
H_3BO_3	0.05 mg
ZnCl_2	0.05 mg
CuCl_2	0.03 mg
$\text{NaMo}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.01 mg
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.50 mg
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.05 mg
Na_2SeO_3	0.05 mg

Solución 4

EXTRACTO DE LEVADURA	0.2 g/l
----------------------	---------

De la solución 1 y 2 se añade 1 ml por litro de medio de ensayo.
Si la DQO es mayor que 3000 mg/l se añaden 2 ml.

SOLUCION MINERAL STOCK

Composición de acuerdo a Valcke Y Verstraete (1988)

COMPOSICION POR LITRO

KH_2PO_4	2.5 g
K_2HPO_4	1.0 g
NH_4Cl	1.0 g
MgCl_2	0.1 g
$\text{Na}_2\text{S}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.1 g
Extracto de levadura	0.2 g

El pH de la solución debe ser 6.8

MEDIO MINERAL

Adaptado por Jim Field et al, (1988)

Para un litro de medio mineral

SOLUCION 1 MACRO-NUTRIENTES (g/l)		SOLUCION 2 ELEMENTOS TRAZA (g/l)	
NH ₄ Cl	170	FeCl ₃ .4H ₂ O	2.0
KH ₂ PO ₄	37	CoCl ₂ .6H ₂ O	2.0
CaCl ₂ .2H ₂ O	8	MnCl ₂ .2H ₂ O	0.5
MgSO ₄ .4H ₂ O	9	CuCl ₂ .2H ₂ O	0.03
		NiCl ₂ .6H ₂ O	0.05
		(NH ₄) ₂ MoO ₇ .4H ₂ O	0.09
		Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O	0.10
		ZnCl ₂	0.05
		H ₃ BO ₃	0.05
		HCl al 36%	1 ml
		EDTA	1.0
		Resarzurina	0.5

ANEXO 2

Resultados experimentales

PARAMETROS EXPERIMENTALES CALCULADOS

VINAZA

Relación: 1gDQO/gSSV

DQO inicial = 11200 mg/l
DQO final = 10574.7 mg/l
DQO removida = $(11200 - 10574.7 \text{ mg/l}) (2.26 \times 10^{-2} \text{ l}) = 14.13 \text{ mg}$
= $14.13 \text{ mg} / 1000 \text{ mg/g} = 0.01413 \text{ g}$
Producción neta de metano = $1.3586 \times 10^{-4} \text{ mol}$
 $1.3586 \times 10^{-4} \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.0087 \text{ gDQO.CH}_4$
 $0.0087 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.01413 \text{ g DQO removida} = 0.615 \text{ gDQO-CH}_4/\text{g DQO rem.}$
DQO final/DQO inicial = $10574.7 \text{ mg/l} / 11200 \text{ mg/l} * 100 = 94\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 94 = 6\%$

Relación: 2.5 gDQO/gSSV

DQO inicial = 12000 mg/l
DQO final = 8134 mg/l
DQO removida = $(12000 - 8134 \text{ mg/l}) (2.65 \times 10^{-2} \text{ l}) = 102.45 \text{ mg}$
= $102.45 \text{ mg} / 1000 \text{ mg/g} = 0.10245 \text{ g}$
Producción neta de metano = $1.95 \times 10^{-4} \text{ mol}$
 $1.95 \times 10^{-4} \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.01250 \text{ g DQO-CH}_4$
 $0.01250 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.10245 \text{ gDQO removida} = 0.1220 \text{ g DQO-CH}_4/\text{g DQO removida}$
DQO final/DQO inicial = $8134 \text{ mg/l} / 12000 \text{ mg/l} * 100 = 67.78\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 67.78 = 32.22\%$

Relación: 5 gDQO/gSSV

DQO inicial = 16000 mg/l
DQO final = 8508.5 mg/l
DQO removida = $(16000 - 8508.5 \text{ mg/l}) (3.3 \times 10^{-2} \text{ l}) = 313.22 \text{ mg}$
= $313.22 \text{ mg} / 1000 \text{ mg/g} = 0.31322 \text{ g}$
Producción neta de metano = $5.69 \times 10^{-4} \text{ mol}$
 $5.69 \times 10^{-4} \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.03642 \text{ gDQO-CH}_4$
 $0.03642 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.31322 \text{ g DQO removida} = 0.116 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gDQO removida}$
DQO final/DQO inicial = $8508.5 \text{ mg/l} / 16000 \text{ mg/l} * 100 = 40.67\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 40.67 = 59.33\%$

Relación: 7.5 gDQO/gSSV

DQO inicial = 34000 mg/l

DQO final = 8949.14 mg/l

DQO removida = $(34000 - 8949.14 \text{ mg/l}) (3.95\text{E-}2 \text{ l}) = 989.5 \text{ mg}$

= $989.5 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.9895 \text{ g}$

Producción neta de metano = $3.319\text{E-}3 \text{ mol}$

$3.319\text{E-}3 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.21242 \text{ gDQO-CH}_4$

$0.21242 \text{ gDQO-CH}_4/0.9895 \text{ gDQO removida} = 0.2164 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gDQO removida}$

DQO final/DQO inicial = $8949.14 \text{ mg/l}/34000 \text{ mg/l} * 100 = 26.32\%$

Porcentaje biodegradable = $100 - 26.32 = 73.68\%$

Relación: 10 gDQO/gSSV

DQO inicial = 52873.6 mg/l

DQO final = 10576.3 mg/l

DQO removida = $(52873.6 - 10576.3 \text{ mg/l}) (4.6\text{E-}2 \text{ l}) = 1945.67 \text{ mg}$

= $1945.67 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 1.945 \text{ g}$

Producción neta de metano = $3.444\text{E-}3 \text{ mol}$

$3.444\text{E-}3 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.22016 \text{ gDQO-CH}_4$

$0.22016 \text{ gDQO-CH}_4/1.945 \text{ gDQO removida} = 0.113 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gDQO removida}$

DQO final/DQO inicial = $10576.3 \text{ mg/l}/52873.6 \text{ mg/l} * 100 = 20\%$

Porcentaje biodegradable = $100 - 20 = 80\%$

TASA DE REACCION

Relación: 1 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 1.39\text{E-}6 \text{ mol/día} \\g\text{SSV} &= 13.320 \text{ g/l} * 1\text{E-}2 \text{ l} = 0.1332 \text{ gSSV} \\1.39\text{E-}6 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 8.89\text{E-}5 \text{ gDQO-CH4/d.} \\8.89\text{E-}5 \text{ gDQO-CH4/d./}0.1332 \text{ gSSV} &= 6.67\text{E-}4 \text{ gDQO-CH4 /gSSV.d}\square\end{aligned}$$

Relación: 2.5 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 2.97\text{E-}7 \text{ mol/día} \\g\text{SSV} &= 13.320 \text{ g/l} * 1\text{E-}2 \text{ l} = 0.1332 \text{ gSSV} \\2.97\text{E-}7 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 1.9059\text{E-}5 \text{ gDQO-CH4/d.} \\1.9059\text{E-}5 \text{ gDQO-CH4/d./}0.1332 \text{ gSSV} &= 1.438\text{E-}4 \text{ gDQO-CH4 /gSSV.d}\end{aligned}$$

Relación: 5 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 4.6732\text{E-}6 \text{ mol/día} \\g\text{SSV} &= 13.320 \text{ g/l} * 1\text{E-}2 \text{ l} = 0.1332 \text{ gSSV} \\4.6732\text{E-}6 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 2.990\text{E-}4 \text{ gDQO-CH4/d.} \\2.990\text{E-}4 \text{ gDQO-CH4/d./}0.1332 \text{ gSSV} &= 22.45\text{E-}3 \text{ gDQO-CH4 /gSSV.d}\end{aligned}$$

Relación: 7.5 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 3.9029\text{E-}5 \text{ mol/día} \\g\text{SSV} &= 13.320 \text{ g/l} * 1\text{E-}2 \text{ l} = 0.1332 \text{ gSSV} \\3.9029\text{E-}5 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 2.4978\text{E-}3 \text{ gDQO-CH4/d.} \\2.4978\text{E-}3 \text{ gDQO-CH4/d./}0.1332 \text{ gSSV} &= 18.75\text{E-}3 \text{ gDQO-CH4 /gSSV.d}\end{aligned}$$

Relación: 10 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 4.3326\text{E-}5 \text{ mol/día} \\g\text{SSV} &= 13.320 \text{ g/l} * 1\text{E-}2 \text{ l} = 0.1332 \text{ gSSV} \\4.3326\text{E-}5 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 2.7728\text{E-}3 \text{ gDQO-CH4/d.} \\2.7728\text{E-}3 \text{ gDQO-CH4/d./}0.1332 \text{ gSSV} &= 20.81\text{E-}3 \text{ gDQO-CH4 /gSSV.d}\end{aligned}$$

HARINAS

Relación: 1gDQO/gSSV

DQO inicial = $10212 \text{ mg/l} * 3.3\text{E-}3 \text{ l} = 33.7 \text{ mg}$
DQO final = $540.54 \text{ mg/l} * 3.3\text{E-}3 \text{ l} = 1.78 \text{ mg}$
DQO removida = $33.7 \text{ mg} - 1.78 \text{ mg} = 31.92 \text{ mg}$
= $31.92 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.03192 \text{ g}$
Producción neta de metano = $1.53\text{E-}4 \text{ mol}$
 $1.53\text{E-}4 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.00979 \text{ gDQO-CH}_4$
 $0.00979 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.03192 \text{ g DQO removida} = 0.306 \text{ gDQO-CH}_4/\text{g DQO rem.}$
DQO final/DQO inicial = $1.78 \text{ mg}/33.7 \text{ mg} * 100 = 5.28\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 5.28 = 94.72\%$

Relación: 2.5 gDQO/gSSV

DQO inicial = $10212 \text{ mg/l} * 8.3\text{E-}3 \text{ l} = 84.76 \text{ mg}$
DQO final = $345.95 \text{ mg/l} * 8.3\text{E-}3 \text{ l} = 2.87 \text{ mg}$
DQO removida = $84.76 \text{ mg} - 2.87 \text{ mg} = 81.89 \text{ mg}$
= $81.89 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.08189 \text{ g}$
Producción neta de metano = $2.59\text{E-}4 \text{ mol}$
 $2.59\text{E-}4 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.01658 \text{ g DQO-CH}_4$
 $0.01658 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.08189 \text{ gDQO removida} = 0.202 \text{ g DQO-CH}_4/\text{g DQOremovida}$
DQO final/DQO inicial = $2.87 \text{ mg}/84.76 \text{ mg} * 100 = 3.4\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 3.4 = 96.6\%$

Relación: 5 gDQO/gSSV

DQO inicial = $10212 \text{ mg/l} * 0.0165 \text{ l} = 168.5 \text{ mg}$
DQO final = $324.33 \text{ mg/l} * 0.0165 \text{ l} = 5.35 \text{ mg}$
DQO removida = $168.5 \text{ mg} - 5.35 \text{ mg} = 163.15 \text{ mg}$
= $163.15 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.16315 \text{ g}$
Producción neta de metano = $3.3\text{E-}4 \text{ mol}$
 $3.3\text{E-}4 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.02112 \text{ gDQO-CH}_4$
 $0.02112 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.16315 \text{ g DQO removida} = 0.13 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gDQO removida}$
DQO final/DQO inicial = $5.35 \text{ mg}/168.5 \text{ mg} * 100 = 3.2\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 3.2 = 96.8\%$

Relación: 7.5 gDQO/gSSV

DQO inicial = 10212 mg/l * 0.0248 l = 253.26 mg

DQO final = 196 mg/l * 0.0248 l = 4.86 mg

DQO removida = 253.26 mg - 4.86 mg = 248.4 mg

= 248.4 mg/1000 mg/g = 0.2484 g

Producción neta de metano = 3.27E-4 mol

3.27E-4 mol * 16 g/mol * 4 = 0.020928 gDQO-CH₄

0.020928 gDQO-CH₄/0.2484 gDQO removida = 0.084 gDQO-CH₄/gDQO removida

DQO final/DQO inicial = 4.86 mg/253.26 mg * 100 = 1.92%

Porcentaje biodegradable = 100 - 1.92 = 98.08%

Relación: 10 gDQO/gSSV

DQO inicial = 10212 mg/l * 0.033 l = 336.97 mg

DQO final = 87.78 mg/l * 0.033 l = 2.90 mg

DQO removida = 336.97 mg - 2.90 mg = 334.07 mg

= 334.07 mg/1000 mg/g = 0.334 g

Producción neta de metano = 1.53E-4 mol

1.53E-4 mol * 16 g/mol * 4 = 0.009792 gDQO-CH₄

0.009792 gDQO-CH₄/0.334 gDQO removida = 0.029 gDQO-CH₄/gDQO removida

DQO final/DQO inicial = 2.90 mg/336.97 mg * 100 = 0.86%

Porcentaje biodegradable = 100 - 0.86 = 99.14%

TASA DE REACCION

Relación: 1 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 7.51E-7 \text{ mol/día} \\gSSV &= 22.667 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 3.4E-2 \text{ gSSV} \\7.51E-7 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 4.8064E-5 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d.} \\4.8064E-5 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d./}3.4E-2 \text{ gSSV} &= 1.41E-3 \text{ gDQO-CH}_4\text{/gSSV.d}\end{aligned}$$

Relación: 2.5 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 5.50E-7 \text{ mol/día} \\gSSV &= 22.667 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 3.4E-2 \text{ gSSV} \\5.50E-7 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 3.52E-5 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d.} \\3.52E-5 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d./}3.4E-2 \text{ gSSV} &= 10.35E-3 \text{ gDQO-CH}_4\text{/gSSV.d}\end{aligned}$$

Relación: 5 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 3.68E-7 \text{ mol/día} \\gSSV &= 22.667 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 3.4E-2 \text{ gSSV} \\3.68E-7 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 2.352E-5 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d.} \\2.352E-5 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d./}3.4E-2 \text{ gSSV} &= 0.6917E-3 \text{ gDQO-CH}_4\text{/gSSV}\end{aligned}$$

Relación: 7.5 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 1.78E-6 \text{ mol/día} \\gSSV &= 22.667 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 3.4E-2 \text{ gSSV} \\1.78E-6 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 1.1392E-4 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d.} \\1.1392E-4 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d./}3.4E-2 \text{ gSSV} &= 3.3505E-3 \text{ gDQO-CH}_4\text{/gSSV.d}\end{aligned}$$

Relación: 10 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 1.43E-6 \text{ mol/día} \\gSSV &= 22.667 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 3.4E-2 \text{ gSSV} \\1.43E-6 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 9.152E-5 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d.} \\9.152E-5 \text{ gDQO-CH}_4\text{/d./}3.4E-2 \text{ gSSV} &= 2.6917E-3 \text{ gDQO-CH}_4\text{/gSSV}\end{aligned}$$

MALTA

Relación: 1gDQO/gSSV

DQO inicial = $1763 \text{ mg/l} * 0.02862 \text{ l} = 50.46 \text{ mg}$
DQO final = $61.57 \text{ mg/l} * 0.02862 \text{ l} = 1.76 \text{ mg}$
DQO removida = $50.46 \text{ mg} - 1.76 \text{ mg} = 48.7 \text{ mg}$
= $48.7 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.0487 \text{ g}$
Producción neta de metano = $1.93\text{E-}4 \text{ mol}$
 $1.93\text{E-}4 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.01235 \text{ gDQO.CH}_4$
 $0.01235 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.0487 \text{ g DQO removida} = 0.254 \text{ gDQO-CH}_4/\text{g DQO rem.}$
DQO final/DQO inicial = $1.76 \text{ mg}/50.46 \text{ mg} * 100 = 3.49\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 3.49 = 96.51\%$

Relación: 2.5 gDQO/gSSV

DQO inicial = $1763 \text{ mg/l} * 0.07155 \text{ l} = 126.14 \text{ mg}$
DQO final = $20.51 \text{ mg/l} * 0.07155 \text{ l} = 1.47 \text{ mg}$
DQO removida = $126.14 \text{ mg} - 1.47 \text{ mg} = 124.67 \text{ mg}$
= $124.67 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.12467 \text{ g}$
Producción neta de metano = $1.11\text{E-}3 \text{ mol}$
 $1.11\text{E-}3 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.07142 \text{ g DQO-CH}_4$
 $0.07142 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.124 \text{ gDQO removida} = 0.573 \text{ g DQO-CH}_4/\text{g DQOremovida}$
DQO final/DQO inicial = $1.7 \text{ mg}/126.14 \text{ mg} * 100 = 1.17\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 1.17 = 98.83\%$

Relación: 4 gDQO/gSSV

DQO inicial = $1763 \text{ mg/l} * 0.1145 \text{ l} = 201.88 \text{ mg}$
DQO final = $184.61 \text{ mg/l} * 0.1145 \text{ l} = 21.14 \text{ mg}$
DQO removida = $201.88 \text{ mg} - 21.14 \text{ mg} = 180.74 \text{ mg}$
= $180.74 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.18074 \text{ g}$
Producción neta de metano = $2.091\text{E-}3 \text{ mol}$
 $2.091\text{E-}3 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.13382 \text{ gDQO-CH}_4$
 $0.13382 \text{ gDQO-CH}_4 / 0.180 \text{ g DQO removida} = 0.76 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gDQO removida}$
DQO final/DQO inicial = $21.14 \text{ mg}/201.88 \text{ mg} * 100 = 10.47\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 10.47 = 89.53\%$

TASA DE REACCION

Relación: 1 gDQO/gSSV

$$m = 9.46E-7 \text{ mol/día}$$

$$gSSV = 34.467 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 5.17E-2 \text{ gSSV}$$

$$9.46E-7 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 6.0544E-5 \text{ gDQO-CH}_4/\text{d.}$$

$$6.0544E-5 \text{ gDQO-CH}_4/\text{d.} / 5.17E-2 \text{ gSSV} = 1.17E-3 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gSSV.d}$$

Relación: 2.5 gDQO/gSSV

$$m = 1.52E-5 \text{ mol/día}$$

$$gSSV = 34.467 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 5.17E-2 \text{ gSSV}$$

$$1.52E-5 \text{ mol/d.} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 9.728E-4 \text{ gDQO-CH}_4/\text{d.}$$

$$9.728E-4 \text{ gDQO-CH}_4/\text{d.} / 5.17E-2 \text{ gSSV} = 18.80E-3 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gSSV.d}$$

Relación: 4 gDQO/gSSV

$$m = 3.22E-5 \text{ mol/día}$$

$$gSSV = 34.467 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 5.17E-2 \text{ gSSV}$$

$$3.22E-5 \text{ mol/d.} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 2.06E-3 \text{ gDQO-CH}_4/\text{d.}$$

$$2.06E-3 \text{ gDQO-CH}_4/\text{d.} / 5.17E-2 \text{ gSSV} = 39.84E-3 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gSSV.d}$$

TABLEROS DE MADERA

Relación: 1 gDQO/gSSV

DQO inicial = $8136 \text{ mg/l} * 0.01 \text{ l} = 81.36 \text{ mg}$
DQO final = $1066.7 \text{ mg/l} * 0.01 \text{ l} = 10.66 \text{ mg}$
DQO rem. = $81.36 \text{ mg} - 10.66 \text{ mg} = 70.7 \text{ mg}$
= $70.7 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.0707 \text{ g}$
Producción Neta de Metano = $7.1466\text{E-}4 \text{ mol}$
 $7.1466\text{E-}4 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.04574 \text{ gDQO-CH}_4$
 $0.04574 \text{ gDQO-CH}_4/0.0707 \text{ gDQO removida} = 0.65 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gDQOrem.}$
DQO final/DQO inicial = $10.66 \text{ mg}/81.36 \text{ mg} * 100 = 13.10\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 13.10 = 86.9\%$

Relación: 5 gDQO/gSSV

DQO inicial = $8136 \text{ mg/l} * 0.05 \text{ l} = 406.8 \text{ mg}$
DQO final = $853.33 \text{ mg/l} * 0.05 \text{ l} = 42.67 \text{ mg}$
DQO rem. = $406.8 \text{ mg} - 42.67 \text{ mg} = 364.13 \text{ mg}$
= $364.13 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.364 \text{ g}$
Producción Neta de Metano = $2.364\text{E-}3 \text{ mol}$
 $2.36\text{E-}3 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.1513 \text{ gDQO-CH}_4$
 $0.1513 \text{ gDQO-CH}_4/0.364 \text{ gDQO removida} = 0.4155 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gDQOrem.}$
DQO final/DQO inicial = $42.67 \text{ mg}/406.8 \text{ mg} * 100 = 10.5\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 10.5 = 89.5\%$

Relación: 10 gDQO/gSSV

DQO inicial = $8136 \text{ mg/l} * 0.1 \text{ l} = 813.6 \text{ mg}$
DQO final = $981.33 \text{ mg/l} * 0.1 \text{ l} = 98.13 \text{ mg}$
DQO rem. = $813.6 \text{ mg} - 98.13 \text{ mg} = 715.47 \text{ mg}$
= $715.47 \text{ mg}/1000 \text{ mg/g} = 0.715 \text{ g}$
Producción Neta de Metano = $1.53\text{E-}3 \text{ mol}$
 $1.53\text{E-}3 \text{ mol} * 16 \text{ g/mol} * 4 = 0.09792 \text{ gDQO-CH}_4$
 $0.09792 \text{ gDQO-CH}_4/0.715 \text{ gDQO removida} = 0.137 \text{ gDQO-CH}_4/\text{gDQOrem.}$
DQO final/DQO inicial = $98.13 \text{ mg}/813.6 \text{ mg} * 100 = 12.06\%$
Porcentaje biodegradable = $100 - 12.06 = 87.94\%$

TASA DE REACCION

Relación: 1 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 3.2409E-5 \text{ mol/día} \\gSSV &= 54.2 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 8.13E-2 \text{ gSSV} \\3.2409E-5 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 2.0741E-3 \text{ gDQO-CH4/d.} \\2.0741E-3 \text{ gDQO-CH4/d.}/8.13E-2 \text{ gSSV} &= 2.551E-2 \text{ gDQO-CH4/gSSV.d}\end{aligned}$$

Relación: 5 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 2.0058E-5 \text{ mol/día} \\gSSV &= 54.2 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 8.13E-2 \text{ gSSV} \\2.0058E-5 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 1.2837E-2 \text{ gDQO-CH4/d.} \\1.2837E-2 \text{ gDQO-CH4/d.}/8.13E-2 \text{ gSSV} &= 15.79E-2 \text{ gDQO-CH4/gSSV.d}\end{aligned}$$

Relación: 10 gDQO/gSSV

$$\begin{aligned}m &= 2.32E-4 \text{ mol/día} \\gSSV &= 54.2 \text{ g/l} * 1.5E-3 \text{ l} = 8.13E-2 \text{ gSSV} \\2.32E-4 \text{ mol/día} * 16 \text{ g/mol} * 4 &= 1.4899E-2 \text{ gDQO-CH4/d.} \\1.4899E-2 \text{ gDQO-CH4/d.}/8.13E-2 \text{ gSSV} &= 18.32E-2 \text{ gDQO-CH4/gSSV.}\end{aligned}$$

VINAZA

TABLA 5.1.5 PRODUCCION DE METANO

DIA	TESTIGO		1gDQO/gSSV		2.5gDQO/gSSV		5gDQO/gSSV		7.5gDQO/gSSV		10gDQO/gSSV	
	PRESSION lb/pulg2	nCH4 mol										
1	3.60	7.34E-06	12.60	1.43E-05	15.18	2.70E-06	16.23	7.37E-06	8.55		6.14	
3	5.46	2.31E-05	7.54	3.25E-05	15.52	3.79E-05	1.30		10.64		12.32	
9	6.20	2.35E-05	9.35	5.15E-05	11.30	6.58E-05	9.20	7.80E-06	5.02	2.35E-06	5.32	
12	6.70	4.81E-05	11.52	6.54E-05	11.12	8.25E-05	9.51	7.80E-06	5.54	6.43E-06	6.10	4.39E-06
15	6.22	5.54E-05	8.08	6.68E-05	8.75	8.59E-05	8.50	2.06E-05	5.04	8.86E-06	5.64	6.51E-06
18	6.30	7.58E-05	7.77	6.70E-05	8.70	1.01E-04	7.15	2.49E-05	4.99	1.10E-05	5.52	6.89E-06
39	5.87	9.61E-05	3.87	7.05E-05	12.04	1.02E-04	6.50	2.83E-05	17.50	1.73E-05	18.60	1.00E-05
42	4.54	1.20E-04	3.24	7.33E-05	9.60	1.49E-04	5.38	3.09E-05	18.60	2.40E-05	18.90	1.17E-05
45	3.29	1.57E-04	3.25	1.04E-04	9.06	1.49E-05	15.30	3.39E-05	18.90	2.70E-05	18.70	1.68E-05
51	2.95	1.64E-04	3.53	1.19E-04	6.15	1.55E-04	13.00	3.61E-05	10.50	2.90E-05	10.80	1.78E-05
54	2.91	1.66E-04	3.25	1.31E-04	5.71	1.56E-04	18.30	7.01E-05	18.31	8.53E-05	18.50	1.94E-05
57	2.46	1.81E-04	2.90	1.72E-04	4.86	1.71E-04	18.36	1.22E-04	17.40	8.91E-05	18.50	1.99E-05
62							12.14	1.28E-04	10.12	2.58E-04	16.51	2.30E-05
75	1.90	1.89E-04	2.29	1.83E-04	3.76	1.76E-04	12.40	1.32E-04	8.26	4.74E-04	11.00	2.40E-05
78	1.56	2.01E-04	1.92	2.06E-04	3.46	2.67E-04	13.00	1.59E-04	8.32	4.87E-04	11.61	1.76E-04
81	2.24	2.15E-04	2.46	2.41E-04	3.97	3.15E-04	14.36	1.72E-04	9.90	5.03E-04	12.31	4.05E-04
84	1.90	2.27E-04	2.25	3.11E-04	3.65	3.15E-04	14.20	2.43E-04	10.04	5.33E-04	12.82	4.76E-04
87	2.10	2.36E-04	2.40	3.25E-04	3.83	3.29E-04	14.16	2.53E-04	11.70	6.71E-04	13.05	7.02E-04
90	2.24	2.79E-04	2.60	3.26E-04	3.83	3.66E-04	14.60	2.64E-04	11.45	6.86E-04	16.35	8.18E-04
102	2.42	2.92E-04	2.99	3.29E-04	4.12	4.59E-04	14.80		15.04	7.07E-04	14.62	1.00E-03
108	1.34	3.09E-04	1.91	3.95E-04	4.73	5.05E-04	15.09	2.74E-04	10.01	1.05E-03	11.36	1.04E-03
111	1.29	3.28E-04	2.01	4.66E-04	3.60				11.04	1.43E-03	13.54	1.34E-03
114							12.90	3.21E-04	10.80	1.84E-03	13.40	2.01E-03
117							13.00	3.26E-04	10.17	2.09E-03	12.30	2.22E-03
120							13.60	3.26E-04	11.20	2.13E-03	12.12	2.22E-03
123							12.80	3.89E-04	11.42	2.26E-03	11.39	2.28E-03
126							12.62	4.10E-04	11.62	2.32E-03	11.37	2.49E-03
129							12.20	4.65E-04	13.27	2.51E-03	10.34	2.50E-03
132							12.40	4.76E-04	12.31	2.51E-03	10.99	2.55E-03
135							13.88	4.86E-04	13.80	2.72E-03	10.80	2.75E-03
138							13.50	4.88E-04	14.30	2.74E-03	10.90	2.85E-03
141							12.90	4.93E-04	14.01	2.83E-03	10.78	2.95E-03
144							13.07	5.01E-04	14.90	2.95E-03	12.06	3.11E-03
147							12.71	5.08E-04	14.70	3.04E-03	10.95	3.06E-03
150							12.23	5.20E-04	14.80	3.05E-03	10.98	3.12E-03
153							12.70	5.44E-04	14.40	3.07E-03	10.83	3.16E-03
156							12.66	5.56E-04	14.16	3.12E-03	10.63	3.16E-03
159							12.04	5.57E-04	14.38	3.29E-03	10.42	3.30E-03
162							11.80	5.57E-04	14.01	3.32E-03	10.46	3.44E-03
165							12.03	5.64E-04				
168							11.76	5.69E-04				
171												
174												

VINAZA

TABLA 5.1.6 PRODUCCION NETA DE METANO

DIA	1gDQO/gSSV		2.5gDQO/gSSV		5gDQO/gSSV		7.5gDQO/gSSV		10gDQO/gSSV	
	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol								
1	12.60	6.00E-6	15.18	-0.00	16.23	0.00	8.55	0.00	6.14	0.00
3	7.54	9.00E-6	15.52	1.4E-5	1.30	-2.00E-5	10.64	-2.00E-5	12.32	-2.00E-5
9	9.35	2.80E-5	11.30	4.20E-5	9.20	-1.00E-5	5.02	-2.00E-5	5.32	-2.00E-5
12	11.52	1.70E-5	11.12	3.40E-5	9.51	-4.00E-5	5.54	-4.00E-5	6.10	-4.00E-5
15	8.08	1.10E-5	8.75	3.00E-5	8.50	-3.00E-5	5.04	-4.00E-5	5.64	-4.00E-5
18	7.77	-0.00	8.70	2.40E-5	7.15	-5.00E-5	4.99	-6.00E-5	5.52	-6.00E-5
39	3.87	-2.00E-5	12.04	6.00E-6	6.50	-6.00E-5	17.50	-7.00E-5	18.60	-8.00E-5
42	3.24	-4.00E-5	9.60	2.80E-5	5.38	-8.00E-5	18.60	-9.00E-5	18.90	-1.00E-4
45	3.25	-5.00E-5	9.06	-0.00	15.00	-1.20E-4	18.90	1.20E-4	18.70	-1.30E-4
51	3.53	-4.00E-5	6.15	-0.00	13.00	-1.20E-4	10.50	-1.30E-5	18.70	-1.40E-4
54	3.25	-3.00E-5	5.71	-1.00E-5	18.30	-9.00E-5	18.31	-8.00E-5	18.50	-1.40E-4
57	2.90	-0.00	4.86	-0.00	18.36	-5.00E-5	17.40	-9.00E-5	18.24	-1.60E-4
62					12.14	1.27E-4	10.12	2.57E-4	16.51	2.30E-5
75	2.29	-0.00	3.76	-1.00E-5	12.40	-5.00E-5	8.26	2.85E-4	11.00	-1.60E-4
78	1.92	4.00E-6	3.46	6.50E-5	13.80	-4.00E-5	8.32	2.85E-4	11.61	-2.00E-5
81	2.46	2.60E-5	3.97	1.00E-4	14.36	-4.00E-5	9.90	2.87E-4	12.31	1.90E-4
84	2.25	8.30E-5	3.65	8.70E-5	14.20	1.50E-5	10.04	3.05E-4	12.82	2.48E-4
87	2.40	8.90E-5	3.83	9.20E-5	14.16	1.70E-5	11.70	4.35E-4	13.05	4.66E-4
90	2.60	4.60E-5	4.12	8.60E-5	14.60	-1.00E-5	11.45	4.07E-4	16.35	5.38E-4
102	2.99	3.70E-5	4.73	1.66E-4	14.80	-2.90E-4	15.04	4.15E-4	14.62	7.11E-4
108	1.91	8.50E-5	3.60	1.95E-4	15.09	-3.00E-5	10.01	7.40E-4	11.36	7.26E-4
111	2.01	1.37E-4				-3.20E-4	11.04	1.11E-3	13.54	1.01E-3
114					12.90	3.21E-4	10.80	1.84E-3	13.40	2.01E-3
117					13.00	3.27E-4	10.17	2.09E-3	12.30	2.22E-3
120					13.60	3.27E-4	11.20	2.13E-3	12.12	2.22E-3
123					12.80	3.89E-4	11.42	2.26E-3	11.39	2.28E-3
126					12.62	4.10E-4	11.62	2.32E-3	11.37	2.49E-3
129					12.20	4.65E-4	13.27	2.51E-3	10.34	2.50E-3
132					12.40	4.76E-4	12.31	2.51E-3	10.99	2.55E-3
135					13.88	4.86E-4	13.80	2.72E-3	10.80	2.75E-3
138					13.50	4.89E-4	14.30	2.74E-3	10.90	2.85E-3
141					12.90	4.94E-4	14.01	2.83E-3	10.78	2.95E-3
144					13.07	5.01E-4	14.90	2.95E-3	12.06	3.11E-3
147					12.71	5.09E-4	14.70	3.04E-3	10.95	3.06E-3
150					12.23	5.21E-4	14.80	3.05E-3	10.98	3.12E-3
153					12.70	5.45E-4	14.40	3.07E-3	10.83	3.16E-3
156					12.66	5.56E-4	14.16	3.12E-3	10.63	3.16E-3
159					12.40	5.57E-4	14.38	3.29E-3	10.42	3.30E-3
162					11.80	5.57E-4	14.01	3.32E-3	10.46	3.44E-3
165					12.03	5.64E-4				
168					11.76	5.69E-4				
171										
174										

CARNAZA

TABLA 5.2.4 PRODUCCION DE METANO
SIN NUTRIENTES

DIA	TESTIGO		1gDQO/gSSV		2gDQO/gSSV		5gDQO/gSSV	
	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol
1	2.67	0.000049	4.48	0.000105	2.96	0.000012	1.97	
2	2.50	0.000114	3.73	0.000322	2.25	0.000056	2.53	0.000107
3	2.72	0.000306	3.55	0.000639	4.30	0.000129	4.65	0.000467
4	2.90	0.000319	3.20	0.000751	4.25	0.000214	4.55	0.000647
12	2.20	0.000418	3.01	0.000856	4.17	0.000330	4.65	0.000104
18	2.50	0.000512	3.23	0.000930	4.30	0.000446	4.43	0.001347
21	2.70	0.000632	3.87	0.000107	4.45	0.000573	4.76	0.001896
30	2.81	0.000726	4.25	0.001147	4.56	0.000689	4.98	0.002200
33	2.90	0.000845	3.98	0.001291	4.98	0.000816	4.39	0.002794
36	2.53	0.000940	5.25	0.001374	2.50	0.000919	3.90	0.003074
39	2.91	0.001094	2.90	0.001483	1.89	0.001011	3.85	0.003428
42	2.94	0.001224	4.98	0.001607	2.25	0.001124	4.29	0.003897
51	2.51	0.001378	5.43	0.001687	2.23	0.001216	4.18	0.004302
60	1.96	0.001513	3.90	0.001786	1.29	0.001303	3.99	0.004677
66	2.52	0.001662	5.75	0.001817	3.45	0.001382	4.25	0.005024
75	2.65	0.001792	4.23	0.001863	2.89	0.001328	3.89	0.005363
84	2.71	0.001986	5.76	0.001989	2.58	0.001421	3.87	0.005848
87	2.93	0.002150	4.45	0.002109	1.98	0.001508	3.25	0.006261
93	2.81	0.002298	3.52	0.002228	1.71	0.001601	3.57	0.006738
96	2.77	0.002452	4.21	0.002330	1.23	0.001676	3.98	0.007092
99	2.85	0.002588	3.21	0.002431	1.15	0.001721	3.76	0.007453
102	2.71	0.002769	3.87	0.002562	1.67	0.001613	3.57	0.007906
114	2.91	0.003027	3.32	0.002699	1.11	0.001914	3.43	0.008165
117	2.25	0.003269	3.28	0.002836	1.19	0.002015	3.28	0.008753
123	2.52	0.003499	3.22	0.002837	1.18	0.002108	3.76	0.009246

CARNAZA

TABLA 5.2.5 PRODUCCION DE METANO
CON NUTRIENTES

DIA	TESTIGO		1gDQO/gSSV		5gDQO/gSSV	
	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol
1	2.71	0.000038	2.49	0.000036	1.55	
2	2.10	0.000081	2.65	0.000148	1.23	
3	3.86	0.000196	2.79	0.000350	1.94	
4	3.46	0.000268	2.68	0.000441	2.00	
12	3.32	0.000349	2.60	0.000480	2.06	
18	3.05	0.000441	2.24	0.000548	2.98	0.000197
21	3.78	0.000513	2.37	0.000655	2.65	0.000246
30	3.98	0.000677	2.76	0.000755	2.42	0.000465
33	3.46	0.000753	2.12	0.000861	2.87	0.000669
36	3.65	0.000888	2.37	0.000964	2.41	0.000880
39	3.24	0.001040	2.42	0.001014	2.65	0.001120
42	3.98	0.001170	2.54	0.001222	2.43	0.001416
51	4.56	0.001262	2.97	0.001362	2.35	0.001606
60	3.67	0.001372	2.21	0.001447	2.71	0.001803
66	3.98	0.001526	1.98	0.001581	2.31	0.002059
75	2.45	0.001530	1.87	0.001708	2.21	0.002065
84	3.87	0.001732	1.45	0.001882	2.45	0.002110
87	3.51	0.001897	1.67	0.002046	2.54	0.002187
93	2.98	0.002098	1.65	0.002217	2.15	0.002302
96	2.21	0.002231	1.97	0.002384	2.12	0.002436
99	2.08	0.002342	1.32	0.002519		
102	2.00	0.002528	1.21	0.002720		
114	1.65	0.002756	1.76	0.002911		
117	1.58	0.002961	1.16	0.003112		
123	1.43	0.003171	1.24	0.003279		

HARINAS

TABLA 5.3.5 PRODUCCION DE METANO

DIA	TESTIGO		1gDQO/gSSV		2.5gDQO/gSSV		5gDQO/gSSV		7.5gDQO/gSSV		10gDQO/gSSV	
	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol										
1	3.05	1.46E-04	3.96	2.42E-04	4.46	4.54E-04	4.86	5.40E-04	5.22	2.63E-04	6.58	2.92E-04
2	3.81	2.69E-04	5.64	3.48E-04	7.92	4.59E-04	10.25	5.51E-04	10.38	4.09E-04	12.43	3.12E-04
3	4.19	2.72E-04	6.66	3.63E-04	9.77	4.63E-04	15.27	5.56E-04	19.68	4.46E-04	19.63	3.23E-04
4	3.16	2.94E-04	5.20	4.24E-04	8.42	5.30E-04	13.66	6.08E-04	19.31	4.83E-04	19.53	3.26E-04
12	4.79	2.96E-04	6.55	4.26E-04	10.37	5.32E-04	16.42	6.29E-04	19.82	5.08E-04	19.34	3.33E-04
18	5.14	3.32E-04	7.12	4.34E-04	10.35	5.52E-04	17.54	6.32E-04	19.66	5.29E-04	19.14	3.47E-04
21	5.62	3.32E-04	7.37	4.39E-04	11.04	5.57E-04	17.59	6.38E-04	19.54	5.29E-04	19.27	3.92E-04
30	5.54	3.43E-04	7.27	4.76E-04	10.99	5.75E-04	16.45	6.46E-04	19.87	5.33E-04	19.54	3.98E-04
33	5.60	3.76E-04	7.80	4.95E-04	10.80	5.87E-04	15.50	6.53E-04	18.99	5.95E-04	19.30	4.07E-04
36	5.81	3.86E-04	7.21	5.00E-04	10.75	6.01E-04	15.26	7.08E-04	18.62	6.03E-04	19.25	4.37E-04
39	3.80	3.96E-04	5.71	5.11E-04	8.60	6.15E-04	13.20	7.25E-04	11.53	6.23E-04	17.60	5.39E-04
42	4.70	4.03E-04	6.65	5.31E-04	10.11	6.46E-04	15.80	7.34E-04	13.33	6.36E-04	19.95	5.43E-04
51	5.40	4.08E-04	6.21	5.35E-04	11.61	6.56E-04	16.25	7.42E-04	14.04	6.42E-04	18.60	5.52E-04
60	3.61	4.10E-04	5.78	5.63E-04	8.64	6.72E-04	13.92	7.53E-04	11.30	6.49E-04	18.70	5.62E-04
66	3.90	4.14E-04	5.82	5.74E-04	8.80	6.81E-04	14.01	7.61E-04	11.41	6.93E-04	18.78	5.73E-04
75	4.24	4.17E-04	6.01	5.85E-04	9.05	6.92E-04	14.11	7.72E-04	11.47	7.14E-04	16.34	5.89E-04
84	3.80	4.35E-04	5.57	5.98E-04	8.51	7.12E-04	13.50	7.79E-04	10.60	7.25E-04	17.84	5.92E-04
87	4.06	4.42E-04	5.74	6.05E-04	8.59	7.18E-04	13.06	7.86E-04	10.63	7.69E-04	17.95	6.04E-04
93	4.00	4.62E-04	5.66	6.15E-04	8.42	7.21E-04	12.96	7.92E-04	13.02	7.89E-04	17.16	6.15E-04

HARINAS

TABLA 5.3.6 PRODUCCION NETA DE METANO

DIA	1gDQO/gSSV		2.5gDQO/gSSV		5DQO/gSSV		7.5DQO/gSSV		10gDQO/gSSV	
	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol								
1	3.96	9.57E-5	4.46	3.08E-4	4.86	3.94E-4	5.22	1.17E-4	6.58	1.45E-4
2	5.64	7.84E-5	7.92	1.89E-4	10.25	2.82E-4	10.38	1.40E-4	12.43	4.30E-5
3	6.66	9.16E-5	9.77	1.91E-4	15.27	2.84E-4	19.68	1.74E-4	19.63	5.16E-5
4	5.20	1.31E-4	8.42	2.36E-4	13.66	3.14E-4	19.31	1.89E-4	19.53	3.20E-5
12	6.55	1.29E-4	10.37	2.36E-4	16.42	3.33E-4	19.82	2.12E-4	19.34	3.68E-5
18	7.12	1.03E-4	10.35	2.21E-4	17.54	3.01E-4	19.66	1.97E-4	19.14	1.47E-5
21	7.37	1.08E-4	11.04	2.25E-4	17.59	3.06E-4	19.54	1.98E-4	19.27	5.98E-5
30	7.27	1.33E-4	10.99	2.33E-4	16.45	3.03E-4	19.87	1.90E-4	19.54	5.48E-5
33	7.80	1.19E-4	10.80	2.12E-4	15.50	2.78E-4	18.99	2.19E-4	19.30	3.13E-5
36	7.21	1.14E-4	10.75	2.15E-4	15.26	3.22E-4	18.62	2.17E-4	19.25	5.04E-5
39	5.71	1.15E-4	8.60	2.19E-4	13.20	3.29E-4	11.53	2.27E-4	17.60	1.43E-4
42	6.65	1.28E-4	10.11	2.43E-4	15.80	3.31E-4	13.33	2.34E-4	19.95	1.40E-4
51	6.21	1.27E-4	11.61	2.48E-4	16.25	3.34E-4	14.04	2.34E-4	18.60	1.44E-4
60	5.78	1.53E-4	8.64	2.62E-4	13.92	3.43E-4	11.30	2.39E-4	18.70	1.52E-4
66	5.82	1.60E-4	8.80	2.67E-4	14.01	3.47E-4	11.41	2.79E-4	18.78	1.59E-4
75	6.01	1.68E-4	9.05	2.75E-4	14.11	3.55E-4	11.47	2.97E-4	16.34	1.72E-4
84	5.57	1.63E-4	8.51	2.77E-4	13.50	3.44E-4	10.60	2.90E-4	17.84	1.57E-4
87	5.74	1.63E-4	8.59	2.76E-4	13.06	3.44E-4	10.63	3.27E-4	17.95	1.62E-4
93	5.66	1.53E-4	8.42	2.59E-4	12.96	3.30E-4	13.02	3.27E-4	17.16	1.53E-4

MALTA

TABLA 5.4.5 PRODUCCION DE METANO

DIA	TESTIGO		1gDQO/gSSV		2.5gDQO/gSSV		4gDQO/gSSV	
	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol
3	2.53	6.45E-5	7.57	2.32E-4	4.12	5.61E-4	8.47	6.15E-4
6	2.84	1.74E-4	9.65	3.40E-4	5.36	9.21E-4	12.65	1.04E-3
9	3.63	2.23E-4	13.64	3.74E-4	7.78	1.11E-3	16.83	1.29E-3
12	4.03	2.39E-4	15.28	4.22E-4	8.73	1.16E-3	17.88	1.38E-3
15	4.34	2.94E-4	18.63	4.44E-4	11.91	1.34E-3	18.47	1.47E-3
18	4.45	2.97E-4	18.28	4.53E-4	11.86	1.41E-3	16.25	1.48E-3
21	4.37	3.10E-4	17.74	4.55E-4	11.87	1.42E-3	17.23	1.58E-3
24	4.22	3.17E-4	16.97	4.80E-4	11.79	1.43E-3	18.25	1.64E-3
27	4.27	3.21E-4	16.61	4.92E-4	11.83	1.45E-3	16.43	1.73E-3
30	4.21	3.27E-4	15.83	5.29E-4	11.74	1.45E-3	15.25	1.77E-3
33	3.73	3.43E-4	14.83	5.32E-4	11.39	1.46E-3	14.32	1.90E-3
36	3.91	3.48E-4	14.30	5.42E-4	11.33	1.47E-3	15.52	2.44E-3

TABLA 5.4.6 PRODUCCION NETA DE METANO

DIA	1gDQO/gSSV		2.5gDQO/gSSV		4gDQO/gSSV	
	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol
3	7.57	1.68E-4	4.12	4.97E-4	8.47	5.51E-4
6	9.65	1.66E-4	5.36	7.48E-4	12.65	8.64E-4
9	13.64	1.51E-4	7.78	8.83E-4	16.83	1.07E-3
12	15.28	1.82E-4	8.73	9.22E-4	17.88	1.14E-3
15	18.63	1.50E-4	11.91	1.04E-3	18.47	1.17E-3
18	18.28	1.56E-4	11.86	1.11E-3	16.25	1.18E-3
21	17.74	1.45E-4	11.87	1.11E-3	17.23	1.27E-3
24	16.97	1.63E-4	11.79	1.11E-3	18.25	1.32E-3
27	16.61	1.71E-4	11.83	1.13E-3	16.43	1.41E-3
30	15.83	2.02E-4	11.74	1.12E-3	15.25	1.44E-3
33	14.83	1.89E-4	11.39	1.12E-3	14.32	1.55E-3
36	14.30	1.94E-4	11.33	1.12E-3	15.52	2.09E-3

FIBRACEL

TABLA 5.5.5 PRODUCCION NETA DE METANO

DIA	TESTIGO	1gDQO/gSSV		5gDQO/gSSV		10gDQO/gSSV	
		PRESION lb/pulg2	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2	nCH4 mol	PRESION lb/pulg2
14	1.24	2.97	1.61E-6	6.38	8.00E-4	12.28	4.70E-6
23	1.70	5.20	3.56E-6	18.63	2.21E-3	16.98	1.44E-4
26	1.88	5.40	4.66E-4	18.95	2.50E-3	19.99	9.00E-6
28	1.74	5.29	4.39E-4	18.60	2.17E-3	19.96	4.61E-4
30	1.85	5.16	4.11E-4	18.32	2.40E-3	19.81	7.78E-4
33	1.82	5.07	5.48E-4	18.01	2.56E-3	14.52	1.64E-3
37	1.72	5.11	5.76E-4	15.98	2.60E-3	19.15	1.65E-3
41	1.77	4.86	6.03E-4	16.76	2.64E-3	8.62	1.66E-3
44	1.36	4.31	7.95E-4	10.66	2.75E-3	7.11	1.49E-3
46	1.34	3.99	8.23E-4	9.84	2.79E-3	6.69	1.52E-3
48	1.17	3.67	8.50E-4	8.72	2.83E-3	6.29	1.54E-3
53	1.37	3.64	8.78E-4	8.57	2.87E-3	7.14	1.56E-3
55	1.31	3.41	7.95E-4	8.30	2.66E-3	6.85	1.50E-3
58	1.24	3.43	7.68E-4	8.31	2.66E-3	6.73	1.50E-3
60	1.11	3.26	7.41E-4	8.15	2.64E-3	6.52	1.48E-3
62	1.21	3.16	6.58E-4	7.89	1.99E-3	6.06	1.27E-3
65	1.13	3.98	7.41E-4	8.40	2.32E-3	6.86	1.51E-3
67	1.07	3.06	7.13E-4	8.35	2.36E-3	7.16	1.53E-3

* SOLO SE REPORTA EL DATO DE PRESION YA QUE LA PRODUCCION DE METANO FUE NULA

ANEXO 3

Actividad metanogénica específica

Elaboración de la curva estándar de metano

ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECIFICA

Esta prueba sirve para determinar la actividad específica del lodo.

PROCEDIMIENTO

Se toma una muestra de lodo y se deja en la pre-cámara de la cámara anaerobia durante 12 hrs. bajo un vacío de 20 mm de Hg, con el fin de agotar los sustratos residuales del lodo y facilitar la evacuación del gas producido evitando con ello interferencia de estos sustratos en la prueba. Eventualmente, para tener seguridad de que todo el sustrato residual fue degradado.

Dentro de la cámara anaerobia se agregan 4 ml de lodo a una botella de suero con una capacidad de 60 ml, que contiene 16 ml de medio mineral global (la preparación es idéntica a la prueba de tratabilidad en batch) se cierra la botella con septo de hule y ya fuera de la cámara se le coloca el sello de aluminio. El sustrato (acético y eventualmente ác. propiónico y ác. butírico) que se añade, se calcula de acuerdo con los sólidos suspendidos volátiles, la cantidad de inóculo que se agrega (4 ml) y la concentración del sustrato, dicha concentración es de 10 mM a esta concentración se saturan los sistemas microbianos (Guyot; 1988). Estas soluciones deben ser preparadas en condiciones anaerobias.

En cada muestreo, se maneja un testigo (sin sustrato) y tres pruebas con sustrato; esto es con la finalidad de seguir el proceso de la degradación por vía líquida y gaseosa. De esta forma en una botella se cuantifica la presión y la producción de metano, tomando las muestras con una jeringa "Pressure Lok" la cual esta graduada con divisiones de 0.1 ml. Las muestras se analizan en el cromatógrafo de gases, para lo cual se emplea un cromatógrafo con detector de conductividad térmica (Ver Fig. 4.6) de doble columna. Las columnas están acopladas en serie; la primera es de tipo Porapak Q y la segunda de malla molecular 5 °A, que separa el nitrógeno del oxígeno. El gas acarreador y las condiciones de operación se describen en el apartado de elaboración de la curva estándar de metano.

La segunda botella con sustrato se guarda en la incubadora para poder cuantificar al final de la corrida la presión y la producción de metano. con el propósito de determinar la cantidad de gas que se escapa en cada medición de presión durante la toma de muestra que se hace diariamente.

La tercera botella se utiliza para seguir la cinética de consumo del ácido empleado mediante la toma de muestras a intervalos regulares de tiempo para determinar los ácidos grasos volátiles (AGV). Se toma el tiempo cero (al momento de agregar el sustrato) y posteriormente cada hora o bien cada 12 hrs. dependiendo de que tan activo sea el lodo, la muestra se preserva con 10

· microlitros de ácido clorhídrico al 50% en tubos eppendorf y se centrifuga a 14000 rpm durante 10 min en una microcentrífuga (eppendorf-centrifuge).

El sobrenadante se analiza en cuanto al sustrato consumido (AGV) por cromatografía, utilizando un cromatógrafo de gas con detector de ionización de flama (SRI 8610), con nitrógeno como gas acarreador, además de hidrógeno y aire para la flama. La temperatura de la columna se mantiene a 121 °C y el volumen de muestra inyectado es de 0.15 microlitros.

ELABORACION DE LA CURVA ESTANDAR DE METANO

1.- Abrir el tanque de gas acarreador, Helio a un flujo de 25 l/min y a una presión de 2.2 kg/cm².

2.- Encender el cromatógrafo de gases marca Fisher Gas Partitioner model 1200, verificando que se encuentre en las siguientes condiciones:

- Temperatura de la columna 50 °C
- Temperatura del inyector 150 °C ó 300 °F
- Atenuador en 4
- Corriente del puente (Bridge Current) 150 mA
- A una columna

3.- Conectar una manguera al tanque de gas metano y a su vez sumergirla en un recipiente con agua.

4.- Abrir el tanque de gas metano y comenzar a burbujearlo en el agua.

5.- Encender el graficador (ON) y verificar que se encuentre en las siguientes condiciones:

- Atenuador en 0.1
- Velocidad del papel 2 cm/min

6.- Colocar la plumilla del graficador en la línea de base.

7.- Muestrear el gas metano a través de la manguera con ayuda de una jeringa graduada de 1 ml con divisiones de 0.1 ml.

8.- Tomar un mililitro de metano para purgar la jeringa, esta operación se repite tres veces, a la cuarta vez se toma nuevamente 1 ml de muestra y se desechan 0.5 ml.

9.- Los 0.5 ml restantes se inyectan al cromatógrafo (este paso se debe llevar a cabo lo más rápido posible), otro punto importante es checar que el septo del inyector este en condiciones optimas para evitar pérdidas de muestra.

10.-Se inyecta el mismo volumen (0.5 ml) las veces necesarias, hasta que el pico de metano coincida por lo menos tres veces en la altura.

11.-Una vez que se han obtenido tres alturas iguales del pico de metano de un mismo volumen, se toman 0.4, 0.3, 0.2 y 0.1 ml y se repite la misma operación.

12.-Teniendo las alturas de cada volumen se miden y se saca un valor promedio, obteniéndose por lo tanto cinco valores de alturas correspondientes a cinco valores de porcentaje de metano.

13.-Se elabora una tabla como la siguiente:

Vol. de metano inyectado (ml)	% metano	altura (cm)
0.5	100	17.7
0.4	80	15.9
0.3	60	12.9
0.2	40	9.9
0.1	20	5.6

14.-Se le practica regresión lineal a los datos de altura y porcentaje de metano, tanto para obtener puntos intermedios como para elaborar una gráfica de altura vs. % metano.

Esto se realiza sólo cuando nos interesa evaluar cualitativamente el metano presente en la muestra de gas, si se requiere reconocer la cantidad de metano cuantitativamente como en nuestro caso se hace lo siguiente;

15.-Al elaborar la curva se debe registrar tanto la temperatura como la presión atmosférica, en nuestro caso tomamos la presión de 586 mm de Hg.

16.-Una vez obtenidas las alturas, con su respectivo volumen, se emplea la fórmula de gases ideales

$$PV = nRT$$

Donde: P = Presión atmosférica 586 mm de Hg
V = Volumen de metano inyectado (0.5, 0.4, 0.3, 0.2 y 0,1 ml)
n = Variable que deseamos conocer
R = Constante de los gases ideales (0.8205 atm * l/ mol °K)
T = Temperatura absoluta a la cual se realizó la curva.

Ejemplo:

P = 586 mm de Hg
V = 0.5 ml = 5E-4 l
T = 25 °C = 298 °K
R = 0.8205 atm * l/mol °K
n = ?

$$n = PV/RT \quad n = \frac{(0.771 \text{ atm}) (5E-4 \text{ l})}{(0.8205 \text{ atm} * \text{l/mol} \text{ } ^\circ\text{K}) (298 \text{ } ^\circ\text{K})}$$

$$n = 1.5766E-5 \text{ mol}$$

Por lo tanto 0.5 ml de metano contiene 1.5766E-5 mol

17.-Este mismo procedimiento se sigue con los otros volúmenes de metano inyectados.

18.-Se elabora una tabla como la siguiente:

Vol de metano inyectado (ml)	Número de mol de metano (mol)
0.5	1.5766×10^{-5}
0.4	1.2613×10^{-5}
0.3	9.4597×10^{-6}
0.2	6.3065×10^{-6}
0.1	3.1532×10^{-6}

19.-A estos datos se les trata matemáticamente de la misma manera que los datos de la curva anterior

20.-Se elabora una curva de altura vs. número de mol total de metano.

I = Lectura del pico de metano del cromatograma

n = No. de mol (curva estándar) = n correspondiente a I

V_1 = Volumen de muestra de la fase gaseosa inyectada al cromatógrafo a una temperatura igual a 37 °C.

V_2 = Volumen total de la fase gaseosa en la botella

$$\begin{array}{l} n \text{-----} V_1 \\ x \text{-----} V_2 \end{array} \quad x = n \cdot \frac{V_2}{V_1}$$

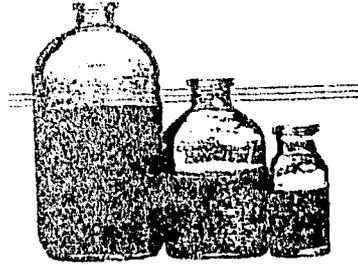
x = No. de mol total de la fase gaseosa en la botella.

ANEXO 4

Catálogo del material empleado

MATERIAL

- 1.- Botellas de suero de capacidad de 60 y/o 160 ml.
Wheaton "400" vidrio translúcido de borosilicato.



- 2.- Tapones de hule de 1 cm de espesor.



- 3.- Sellos de aluminio sin cubierta central. Wheaton 244178 para bocas de 1D * OD 20 mm.



- 4.- Jeringa Pressure Lok

Equipada con una válvula pequeña que permite almacenar muestras hasta con una presión de 250 psi la aguja que posee puede ser removible cuya longitud es de 2 1/4 pulgada. La jeringa además posee un sello de teflón para evitar fugas, así como un tope para evitar que el émbolo sufra modificaciones a altas o bajas presiones

