



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

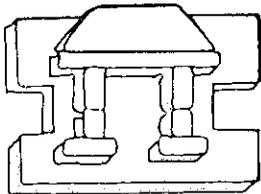
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES CAMPUS - IZTACALA

"EFECTOS DE FARMACOS CADUCOS SOBRE LA ACTIVIDAD DE CONSORCIOS METANOGENICOS"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G A
P R E S E N T A
PATRICIA MENDOZA LORENZO

230884

DIRECTOR DE TESIS: DR. HECTOR MARIO POGGIVARALDO



IZTACALA

MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

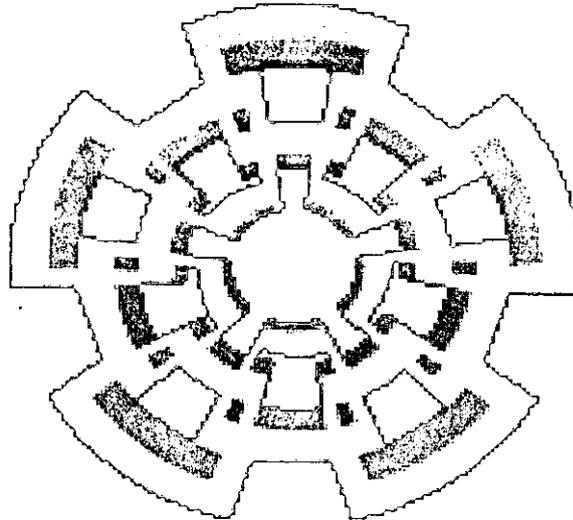


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.



ESTE TRABAJO SE REALIZO EN SU TOTALIDAD EN EL CENTRO
DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL (CINVESTAV-IPN)
BAJO LA DIRECCION DEL
DR. HECTOR MARIO POGGI VARALDO
INVESTIGADOR TITULAR DEL LABORATORIO 33 DEL
DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA Y BIOINGENIERIA.

INDICE

	Página
Agradecimientos	IV
Notación	V
Lista de figuras	VI
Lista de tablas	VIII
Resumen	1
Abstract	2
I. Capítulo 1. Introducción.	3
1,1 La problemática de los residuos sólidos.	3
1.1.1 Residuos sólidos municipales (RSM) en México.	3
1.1.2 Residuos sólidos industriales (RSI) en México.	3
1.1.2.1 Residuos industriales peligrosos.	4
1.1.2.1.1 Residuos industriales farmacéuticos en México.	4
1,2 Sistemas de disposición final y tratamiento de residuos sólidos.	5
1.2.1 Rellenos sanitarios.	5
1.2.2 Confinamiento controlado.	6
1.2.3 Co-disposición controlada: rellenos sanitarios acelerados (RESACEL) y digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS).	6
1.2.3.1 Manejo de DASS.	7
1.2.3.1.1 Temperatura.	7
1.2.3.1.2 pH.	7
1.2.3.1.3 Biogás.	7
1.2.3.1.4 Substrato.	7
1.2.3.1.5 Evaluación de la actividad metanogénica específica (AME).	8
1,3 Fases en la degradación biológica de los residuos vía digestión anaerobia metanogénica.	8
1,3,1 Las bacterias de la fermentación anaerobia.	9
1,4 Agentes que afectan la degradación biológica de los residuos.	11
1.4.1 Efecto de residuos farmacéuticos en procesos de digestión anaerobia.	11
1.4.1.1 Sitios de acción de los fármacos.	12
1.4.1.2 La bacteria metanogénica (BM).	13
1.4.1.2.1 Sensibilidad a los antibióticos.	13
II. Capítulo 2. Justificación.	15
III. Capítulo 3. Objetivo general.	16
4.1. Objetivos particulares.	16
IV. Capítulo 4. Hipótesis.	17

V. Capitulo 5.	Metodología	18
5.1.	Actividades	18
5,2	Diseño experimental y métodos	19
5,2,1	Familiarización con las técnicas ya existentes de AME, metano, biogás, ST, pH, AOV, etc.	19
5,2,2	Preparación física de los digestores inoculadores y colectores de biogás (DASS).	19
5,2,3	Arranque de los digestores inoculadores y colectores de biogás (DASS): características del inoculo.	20
5,2,4	Preparación, composición y preservación de la alimentación que se uso en los DASS.	20
5,2,5	Seguimiento y análisis de los digestores inoculadores y colectores de biogás (DASS).	20
5,2,5,1	Medición de biogás en DASS.	20
5,2,5,2	Porcentaje de metano (%CH ₄) en biogás de DASS	21
5,2,5,3	Otras determinaciones.	21
5,2,6	Implementación de la técnica de actividad metanogénica específica (AME) en bioreactores de digestión anaerobia de sustrato sólido DASS.	21
5,2,6,1	Diseño experimental de las pruebas de actividad metanogénica específica (AME).	22
5,2,7	Determinación de AME-butírica de consorcios metanogénicos	22
5,2,8	Determinación de AME-glucosa de consorcios metanogénicos	22
5,2,9	Determinación de AME-celulosa de consorcios metanogénicos	22
VII. Capitulo 6.	Resultados y Discusión.	23
6,1	Comportamiento DASS a temperatura mesofílica y termofílica.	23
6.1.1	Inoculo.	23
6.1.2	p H	25
6.1.3	Biogás.	26
6.1.4	Porcentaje de metano (%CH ₄) en biogás.	29
6.1.5	Acidos orgánicos volátiles (AOV).	32
6.1.6	Contenido de sólidos totales (ST).	36
6,2	Evaluación de la actividad metanogénica específica (AME).	40
6,2,1	Valores netos de AME obtenidos desde los diferentes sustratos, temperaturas y concentración de la MFC.	40
6,2,2	AME frente al diseño estadístico (análisis de varianza y pruebas de intervalos múltiples de DUNCAN).	41
6,2,2,1	AME frente a temperatura y sustrato	41
6,2,2,2	AME frente a temperatura -sustrato-MFC.	41
6,2,2,3	AME frente a los porcentajes de inhibición (PI).	42

6,2,3	Comparación de AME en DASS frente a otros sistemas.	42
6,2,3,1	AME en presencia de algún tipo de fármaco.	43
6,2,3,2	AME frente a la MFC en bacterias sintólicas, fermentativas y metanogénicas.	44
VIII	Conclusiones.	68
IX.	Bibliografía.	70
X.	Anexo I. Técnica de actividad metanogénica específica (AME) en digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS).	77
XI.	Anexo II. Pruebas de AME (con repetición) para cada sustrato y régimen de temperatura.	83
XII.	Anexo III. Valores netos de AME obtenidos durante el desarrollo de las pruebas para cada unidad experimental (CP, CA, C1, C2, C3 y C4) por sustrato y por temperatura.	85
XIII	Anexo IV. Generalidades de la MFC empleada.	96

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi Director de Tesis el Dr. Héctor M. Poogi-Varaldo el haberme permitido colaborar con él en este trabajo.

Agradezco mi estancia y los recursos asignados a este proyecto al Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV-IPN.

Agradezco a la Dra. Georgina Fernández Villagómez y al Centro Nacional de Prevención de Desastres (CENAPRED – UNAM) tan dedicadas y excelentes asesorías, al igual que el apoyo económico brindado para el cabal cumplimiento de mis objetivos.

Agradezco en el Laboratorio de Análisis Cromatográficos (DBB) a la Q.F.B. Elvira Ríos L. y a él Ing. Cirino Rojas Chávez por el análisis cromatográfico de los AOV.

Agradezco el invaluable apoyo técnico brindado en el Laboratorio 33 del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería (DBB) a las siguientes personas:

- Ing. en Alim. Ma. Teresa Sánchez Chávez - Por su incondicional apoyo técnico y logístico brindado durante la fase de experimentación.
- Biol. Blanca Estela Navarro - Por su incondicional apoyo técnico en la fase experimental.
- M. En C. Liliana Márquez Benavides - Ayuda en la fase de experimentación y análisis de datos.
- M. En C. Rafael Hernández Vera - Por tan valiosa ayuda técnica y tan especial apoyo.

Agradezco a mi familia por haberme permitido llegar hasta aquí, Gracias por creer en mí y por apoyarme siempre que lo he necesitado... los amo.

Por último te agradezco a ti " luz de mi vida ", por la fuerza interna que en mí provocas y que me da el valor de seguir adelante.

NOTACIÓN

AME	Actividad metanogenica específica
AMP	Adenosin monofosfato
ANDEVA	Análisis de varianza
AOV	Ácidos orgánicos volátiles
ATP	Adenosin trifosfato
BM	Bacterias metanogenicas
°C	Grados centígrados
CA	Control activo (con sustrato, 0 mg MFC/kg Inoc)
C1	Concentración 1 (300 mg MFC/kg Inoc)
C2	Concentración 2 (800 mg MFC/kg Inoc)
C3	Concentración 3 (1400 mg MFC/kg Inoc)
C4	Concentración 4 (2000 mg MFC/kg Inoc)
C ₂	Carbono
CaCO ₃	Carbonato de calcio
CH ₄	Metano
CINVESTAV	Centro de investigación y de estudios avanzados.
CO ₂	Dióxido de carbono
CP	Control pasivo (sin sustrato, 0 mg MFC/kg Inoc)
DASS	Digestores anaerobios de sustrato sólido
DQO	Demanda química de oxígeno
F _o	Valor esperado
F _c	Valor calculado
g	Gramos
h	Hora
ICO	Índice de carga orgánica
Ig	Productividad
INE	Instituto Nacional de Ecología
Inoc	Inoculo
IPN	Instituto Politécnico Nacional
LB	Lodos biológicos
MFC	Mezcla de fármaco caduco
n _{sv}	Eficiencia de remoción de SV
N ₂	Nitrógeno
O ₂	Oxígeno
PI	Porcentaje de inhibición
RESACEL	Relleos sanitarios acelerados
RSI	Residuos sólidos industriales
RSM	Residuos sólidos municipales
RP	Residuos peligrosos
SEDESOL	Secretaría de Desarrollo Social
SSA	Secretaría de Salud
ST	Sólidos totales
STF	Sólidos totales fijos
STV	Sólidos totales volátiles
SV	Sólidos volátiles
TR	Tiempo de retención
TRH	Tiempo de retención hidráulico
TRM	Tiempo de retención másico
μmol	Micromoles

Lista de Figuras

	Página
1.- Fermentación de la glucosa por asociación sintrófica entre una bacteria fermentativa y una bacteria metanogénica.	9
2.- El papel de las bacterias sintróficas y metanogénicas en digestión anaerobia.	10
3.- Fases en la estabilización de un relleno sanitario convencional.	10
4.- Esquema del flujo del carbono en la digestión anaerobia de materia orgánica compleja.	11
5.- Sitios de acción de algunos antibióticos en bacterias.	12
6.- Esquema del digestor y colector de biogás: digestor anaerobio de sustrato sólido.	19
7.- Contenido de inóculo en DASS a temperatura mesofílica a través del tiempo.	23
8.- Contenido de inóculo en DASS a temperatura termofílica a través del tiempo.	24
9.- Valores de pH en DASS a temperatura mesofílica y termofílica a través del tiempo.	25
10.- Comportamiento de la producción de biogás normalizada en litros (L*NPT) por kg de inóculo por día a 35°C.	27
11.- Comportamiento de la producción de biogás normalizada en litros (L*NPT) por kg de inóculo por día a 55°C.	28
12.- Porcentaje de metano (% CH ₄) en biogás de DASS mesofílicos.	30
13.- Porcentaje de metano (% CH ₄) en biogás de DASS termofílicos.	31
14.- Contenido de AOV en DASS mesofílicos (35°C).	35
15.- Contenido de AOV en DASS termofílicos (55°C).	35
16.- Contenido promedio de ST, humedad, STF y STV tanto para DASS mesofílicos como termofílicos.	37
17.- Contenido de ST, STF, STV y humedad en DASS mesofílicos.	38

18.- Contenido de ST, STF, STV y humedad en DASS termofílicos.	49
19.- AME en μmol de CH_4/g Inoculo*h para cada tipo de sustrato e intervalo de temperatura.	47
20.- AME en μmol de CH_4/g SV*h para cada tipo de sustrato e intervalo de temperatura.	48
21.- AME en porcentajes relativos con respecto a la prueba de mayor producción de metano para cada tipo de sustrato e intervalo de temperatura.	49
22.- Valores globales de AME en régimen mesofílico y termofílico frente a las diferentes concentraciones de prueba de la MFC.	50
23.- Valores globales de AME en régimen mesofílico y termofílico frente a los sustratos usados: ac. butírico, glucosa y celulosa.	51
24.- Valores globales de AME por tipo de sustrato y respecto a la temperatura.	54
25.- Interacción del sustrato y la temperatura en pruebas AME.	55
26.- Efectos principales en el análisis de varianza de $5 \times 3 \times 2$: por concentración, por sustrato y por temperatura.	59
27.- Valores globales del porcentaje de inhibición (PI) de las pruebas AME: por tipo de sustrato y por temperatura.	62
28.- Interacción de la temperatura y el sustrato en los porcentajes de inhibición de las pruebas AME.	63
29.- Estructura primaria del ac. butírico, glucosa y celulosa.	66
30.- Experimento tipo de la actividad metanogénica específica (AME).	81
31.- Procedimiento de la actividad metanogénica específica (AME).	82

Lista de Tablas.

	Paginas
1.- Volumen estimado de la generación de RSM por zona a escala nacional en 1994.	4
2.- Ventajas e inconvenientes de una digestión anaerobia en zona mesofílica o termofílica.	7
3.- Composición típica del biogás.	8
4.- Algunas especies involucradas en procesos de digestión anaerobia.	10
5.- Algunas sustancias tóxicas para los procesos de digestión anaerobia.	11
6.- Comparación en la sensibilidad de la sensibilidad a antibióticos en algunas especies de bacterias metanogénicas.	14
7.- Contenido de ácidos orgánicos volátiles (AOV) en DASS a temperatura mesofílica y termofílica.	34
8.- Porcentaje de sólidos totales (ST) y humedad para cada DASS a temperatura mesofílica y termofílica.	36
9.- Porcentaje de sólidos totales fijos (STF) y sólidos totales volátiles (STV) para cada DASS a temperatura mesofílica y termofílica.	37
10.- AME en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g Inoc}\cdot\text{h}$ y porcentaje relativo para cada tipo de sustrato y régimen de temperatura.	46
11.- AME en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV}\cdot\text{h}$ y porcentaje relativo para cada tipo de sustrato y régimen de temperatura.	46
12.- Análisis de varianza de valores de AME para el experimento de 2 temperaturas por 3 sustratos.	52
13.- Pruebas de DUNCAN para medias de valores de AME para los 3 sustratos y las 2 temperaturas.	53
14.- Análisis de varianza del valor de las pruebas de AME por medio del factorial de 5 concentraciones x 3 sustratos x 2 temperaturas.	56
15.- Prueba de DUNCAN para medias de los valores de AME en relación a la concentración (MFC) del factorial de 5 concentraciones x 3 sustratos x 2 temperaturas.	57

16.- Prueba de DUNCAN para medias de los valores de AME en relación a los sustratos del factorial de 5 concentraciones x 3 sustratos x 2 temperaturas.	58
17.- Valores comparativos entre AME ($\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV}\cdot\text{h}$) y porcentajes de inhibición (PI):	60
18.- Análisis de varianza (3x2) de los porcentajes de inhibición (PI) de las pruebas de AME.	61
19.- Valores comparativos de AMEs reportadas con diferentes sustratos.	64
20.- Valores comparativos de productividad (Ig), eficiencia (n sv) y tiempos de retención (TR) en sistemas tipo DASS a diferentes temperaturas.	65
21.- Fase lag en bacterias involucradas en procesos de digestión anaerobia desde diferentes sustratos.	67
22.- Composición porcentual de los constituyentes de la MFC.	96
23.- Gama de solubilidades individuales de la MFC.	97
24.- Análisis físicos de la MFC.	98
25.- Análisis físicos de la alimentación.	98
26.- Análisis físicos de los lodos biológicos.	98

RESUMEN

En México se generan 11 850 ton/d de RSM en el Distrito Federal (Obras y servicios, 1999) y 165 millones de toneladas de RSI al año de las cuales solo existe infraestructura para manejar el 1 % (Saur, 1994). Dada la necesidad de procedimientos y estrategias integrales en el tratamiento de RSM y RSI se propone la codisposición de RSM y RSI (MFC) en sistemas de tratamiento anaerobio tipo DASS donde la AME fue usada para medir de manera indirecta la actividad de los consorcios microbianos involucrados en la degradación biológica de los residuos vía digestión anaerobia y evaluar si esa actividad se ve afectada por la inclusión de una MFC proveniente del sector industrial. Para ello se diseñó, arrancó y operó digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS) tanto a temperatura mesofílica (35°C) como termofílica (55°C) con una productividad de hasta 1.53 L biogás / kg Inoc * día y una eficiencia de remoción de SV de hasta el 84%. A la par se implementó una técnica especializada en la actividad metanogénica específica (AME) desde inóculo DASS mesofílico y termofílico en presencia de ac. butírico, glucosa y celulosa como sustratos y una MFC (0, 300, 800, 1400 y 2000 mg/kg Inoc). Los resultados muestran la mayor AME usando como sustrato glucosa en condiciones mesofílicas (14.65 $\mu\text{mol CH}_4$ / kg SV * h) la cual resultó ser hasta 40 % mas activa que las pruebas donde se uso ac. butírico y celulosa a 35° C y ac. butírico, glucosa y celulosa a 55°C. En lo que respecta a la MFC no se encontraron diferencias significativas en la producción de CH₄ entre las diferentes concentraciones manejadas para ningún sustrato, ni régimen de temperatura. De acuerdo con lo anterior la inclusión de la MFC parece no tener un efecto inhibitorio de la AME en consorcios DASS desde ac. butírico, glucosa y celulosa tanto a 35°C como a 55°C (al menos en pruebas a corto plazo y bajo estas condiciones de trabajo).

ABSTRACT

In México are generated 11 850 tons per day of municipal solid wastes (MSW) (Obras y Servicios, 1999) and 165 million tons of industrial solid wastes (ISW) to the year are generated of wich single infrastructure exists to handle 1% (Saur, 1994). Given to the necessity of procedures and integral strategies in the processing of MSW and ISW one sets out the co-disposition of MSW and ISW(MCF) in systems of anaerobic processing type DASS (anaerobic digester of solid substrate) where the metanogenic activity specific (AME) it was used to measure of indirect way the activity of the microbial partnerships involved in the biological degradation of the wastes pathway anaerobic digestion and to evaluate if this activity is affected by the inclusion of an originating mixture of caducos farmacos (MCF) of the industrial sector. For it I am constructed, I as much take and I operate DASS to mesophilic temperature (35°C) as thermophilic (55°C) with a productivity of to up 1.53 liters of biogás/kg of I inoculate per day and an efficiency of removal of volatil solid (VS) of until 84%. On a par I implement a tecnica specialized in the AME from inoculate mesophilic DASS and thermophilic in the presence the butyric acid, glucose and cellulose as substrates and MCF (0, 300, 800, 1400 and 2000 mg/kg inoculate. The results show the greater AME using like substrate glucose in mesophilic condition (14.65 $\mu\text{mol CH}_4/\text{kg VS}$ per hour) wich I turn out to be up to 40% but active that the test where cellulose and butyric acid used and to 35°C and butyric acid, glucose and cellulose to 55°C. Whit regard to the MCF were not significant differences in the production of methane between the different concentrations handled for ningun substrate , nor regime of temperature. In agreement with previous the inclusion of the MCF seems not to have inhibiting effect of AME it in partnerships DASS from butyric acid, glucose and cellulose as much to 35°C as to 55°C (at least in short term tests and under these conditions of work).

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 LA PROBLEMÁTICA DE LOS RESIDUOS SÓLIDOS.

Hoy en día el estudio de las relaciones hombre-salud-ambiente no se pueden limitar al simple análisis de los factores naturales, dado que el desarrollo de la civilización y su evolución técnica e industrial han modificado sustancialmente la química del planeta afectando el entorno cotidiano del hombre y a éste. La industria actúa sobre el ambiente como cualquier otra actividad humana, modificando de una u otra forma el equilibrio de los ecosistemas. La actividad industrial, sea cual sea su naturaleza, ejerce un conjunto de perturbaciones ambientales, entre ellas la contaminación que es una de las amenazas constantes al ambiente. Las empresas industriales, sometidas a una enorme presión por el mercado, los precios y las normativas, tienden a maximizar su producción, sus ventas y sus beneficios. Por estas causas, muchas veces no desarrollan programas de minimización de los daños ambientales derivados de sus actividades y de su producción que se ven reflejados día con día en la acumulación de miles de toneladas de residuos de los productos de consumo de la población en todo el mundo (Seoanez, 1995). La acumulación de todos estos residuos generalmente llamada "basura" en la actualidad representan uno de los más grandes problemas a resolver, pues su generación diaria va en aumento y hasta la fecha no se ha encontrado la "fórmula mágica" que nos ayude a dar una solución óptima a este problema sin dañar más las condiciones ya prevaletientes en el ambiente.

El dilema de que hacer con estos residuos no es nuevo, pero sorprendentemente en México y en muchos otros países los sectores que debieran encontrar métodos integrales para estabilizar los componentes contaminantes y obtener productos de ellos como el gas combustible para generar energía eléctrica, materiales para enriquecer la tierra como la composta y productos reciclados entre otros, están desarticulados. Además, la investigación académica no va a la par de la incipiente modernización que en el sistema de manejo de los residuos han emprendido las autoridades en los últimos años y pese a que la basura representa un amplio campo de investigación, en la mayoría de las universidades mexicanas son escasos los cursos enfocados al tratamiento de los residuos sólidos, sobre todo los de carácter peligroso (Tena, 1995).

1.1.1 Residuos Sólidos Municipales (RSM) en México.

Los residuos sólidos, pueden provenir principalmente de dos fuentes: municipales e industriales. Los residuos sólidos municipales (RSM) generalmente son aquellos que provienen de algún sector de la población, no incluyendo los residuos sólidos industriales ni agrícolas, mientras que los Residuos Sólidos Industriales (RSI) son todos los provenientes del sector Industrial. Poggi, *et al.*, 1997¹ registra en México una producción de 52 000 ton/d de RSM donde el mayor componente corresponde a los residuos orgánicos hasta en un 50-60%. También se estima que la producción de basura *per capita* es de 0.893 kg/día (CINVESTAV, 1994) donde, tanto el volumen como la composición de RSM no suelen ser homogéneos en todo el territorio nacional, sino que corresponden a la distribución, hábitos, costumbres alimenticias, al nivel de consumo y al poder adquisitivo de la población distribuida en las diferentes regiones del país y a los sistemas responsables de recolección y disposición final de los residuos (Márquez, 2000) (Ver Tabla 1).

1.1.2 Residuos sólidos industriales (RSI) en México.

Llamemos residuos sólidos industriales (RSI) a las materias sólidas generadas en la industria que no alcanzan valor económico en el contexto en que son producidas. Los RSI pueden ser producidos en la consecución de materias primas, en los procesos de fabricación, en el uso y desgaste de materiales o como desechos de productos materiales viejos. La composición de los RSI puede ser tan variada como lo es el conjunto de productos industriales (Seoanez, 1995).

En México se generan 165 millones de toneladas de RSI al año, pero solo existe infraestructura para manejar el 1% (Saur, 1994). La precaria infraestructura se encuentra en la falta de confinamientos, incineradores, plantas de tratamiento, rellenos industriales y otros sistemas para el manejo de los residuos. En el país existen solo 5 confinamientos controlados especializados en residuos peligrosos de los cuales solo están en operación 2; de los incineradores de RSI están en operación solo 3 donde se procesan medicamentos caducos y envases con plaguicidas, de las plantas de tratamiento de RSI hay 14 todas en operación y orientadas a la recuperación de materiales (Saur, 1994). Lo anterior muestra claramente que el sector industrial es el que requiere contar con estrategias de disposición adecuada de residuos sólidos, pues de él se generan el 89% de las 425 685 ton/d de residuos sólidos que genera el país, de donde además se producen alrededor de 14 500 ton/d del total de residuos peligrosos (RP) generados por México (Márquez, 2000). Tan solo se estima que los habitantes e industrias de la Ciudad de México producen diariamente 11 000 ton de residuos sólidos, de ese volumen alrededor de 8 000 ton van a parar a rellenos sanitarios que generalmente llegan ya al tope de su capacidad y el resto pasa por un sistema de tratamiento donde solo se aprovecha entre el 13 y 14% del total de los residuos sólidos (Tena, 1995).

Tabla 1. Volumen estimado de la generación de RSM por zona a escala Nacional en 1994.

ZONA	NÚMERO DE HABITANTES	GENERACIÓN KG/HAB/DÍA	TONELADAS DIARIAS	TONELADAS ANUALES	%
Fronteriza	5 424 020	0.976	5 294	1 932 403	6.56
Norte	18 231 339	0.908	16 552	6 041 387	20.50
Centro	43 364 686	0.804	34 854	12 721 546	43.16
Distrito Federal	9 092 053	1.275	11 596	4 232 652	14.36
Sureste	14 353 185	0.867	12 451	4 544 451	15.42
Promedio		0.893			
Totales	90 465 283		80 746	29 472 439	100.00

Fuente: Dirección General de Infraestructura y Equipamiento. Subsecretaría de Desarrollo Urbano. SEDESOL 1994.

1.1.2.1 Residuos industriales peligrosos.

El deterioro ambiental es un costo que se transfiere al resto de la sociedad y a las generaciones futuras; una de las formas en que se traduce este deterioro es en el inadecuado manejo y disposición de los residuos sobre todo los de carácter peligroso. Deben ser considerados como residuos tóxicos o peligrosos de origen industrial, todos aquellos materiales sólidos, pastosos, líquidos o gaseosos, contenidos en recipientes que siendo el resultado de un proceso de producción, transformación, utilización o consumo, su producto se destine al abandono, uso inadecuado, tratamientos, mala disposición y sobre todo que contengan en su composición alguna sustancia que en determinadas concentraciones represente un riesgo para la salud humana, recursos naturales y ambiente (Seoanez, 1995).

Todos los contaminantes ambientales, si bien pueden ser transferidos de un lugar a otro, permanecen en el planeta; es por lo tanto preocupante que se rebase la capacidad de acumulación y reciclaje de los residuos así como las consecuencias que esto traerá a la humanidad (Bueno, *et al.*, 1998). Actualmente se calcula que 100 000 productos químicos se comercializan en todo el mundo (SEDESOL, 1992); muchos de estos son materiales peligrosos que al ser sometidos a un proceso de transformación generan residuos peligrosos potenciales.

1.1.2.1.1 Residuos industriales farmacéuticos en México.

Este sector básicamente se dedica a la elaboración de medicamentos de acuerdo a las necesidades de la población y a los sistemas e intereses industriales de comercialización. Además de ser uno de los sectores más importantes para el mantenimiento de la salud humana, también representa una de las principales fuentes potenciales de residuos peligrosos que se generan diariamente en nuestro país y en el mundo. Una composición aproximada de residuos peligrosos identificados para nuestro país indica que los fármacos constituyen alrededor del 16% de la fracción peligrosa detectada (Vázquez y Sánchez, 1994). En nuestro país

se consideran residuos peligrosos, según la NOM-052-ECOL-1993 establecida en el Diario Oficial de la Federación, aquellos residuos de la producción y materiales caducos o fuera de especificación que contengan sustancias tóxicas al ambiente. Estos residuos se pueden formar principalmente por lotes de fármacos rechazados por control de calidad o por fármacos que caducan dentro de los almacenes de la propia industria o de fuentes no industriales (farmacias, casas habitación, otros) (Márquez, 2000). En este trabajo nos limitaremos a trabajar solo con los derivados de las fuentes industriales.

El sector farmacéutico generalmente regula sus procesos productivos y los residuos que produce son frecuentemente incinerados, dispuestos en sitios de confinamiento industrial o en rellenos sanitarios. Para el caso de los fármacos caducos que la empresa debe tratar (los devueltos por el proveedor industrial), deberán contar con las pruebas de toxicidad especificadas en las NOM-052-ECOL-1993 y NOM-053-ECOL-1993 considerando que las pruebas deben efectuarse para mezclas de fármacos que han de ser dispuestos de manera conjunta (Hernández, 1995; Márquez, 2000). En el tratamiento y disposición de estos residuos interviene tanto la Secretaría de Salud (SSA) como el Instituto Nacional de Ecología (INE) con un protocolo de acción en relación con los lotes de fármacos caducos que se generen en las empresas, clasificando los fármacos o principios activos de acuerdo al grupo de acción terapéutica al que pertenezcan, así la empresa deberá caracterizar sus residuos de acuerdo al código CRETIB, que le indicara al verificador si se considera peligroso o no. Los residuos que se consideran peligrosos se colocan en contenedores especiales, pasan a molienda, después a un tratamiento químico con hidrólisis y finalmente se trasladan (en bolsas calibre 800 disminuyendo al mínimo el contenido de agua) a un sitio de disposición final indicado por las autoridades que generalmente son los rellenos sanitarios en dos modalidades: confinamiento controlado o celdas especiales (Márquez, 2000).

Cabe resaltar que el manejo de los residuos peligrosos requiere ser parte de una estrategia integral, donde no solo se transfieran los residuos de un lugar a otro, sino que se procure el manejo adecuado que permita reducir tanto su volumen como los efectos secundarios que puedan ocasionar estos al ambiente. Sin embargo hoy en día no hay suficientes estudios de los efectos que puede tener la disposición conjunta o codisposición de residuos peligrosos en rellenos sanitarios intencional o no intencionalmente. De aquí la importancia de ampliar este tipo de investigaciones que nos permitan evaluar lo que posiblemente pase o pueda pasar en los sistemas de tratamiento y disposición de residuos que actualmente se manejan.

1.2 SISTEMAS DE DISPOSICIÓN FINAL Y TRATAMIENTO DE RESIDUOS SÓLIDOS.

Durante mucho tiempo y hasta hace muy pocos años, nadie se preocupaba por el destino de los residuos generados; se daba por hecho que la naturaleza limpiaba el ambiente. En realidad mientras la cantidad de basura producida era relativamente pequeña y la mayoría de origen orgánico, la naturaleza a través de diversos mecanismos, pudo degradar la mayor parte de las sustancias residuales, pero según fue cambiando la composición de los residuos, y al aumentar su cantidad y complejidad, esta capacidad (degradativa-amortiguadora) empezó a agotarse, es más en algunos sitios simplemente desapareció (Gutiérrez, 1990). Ante esta situación el hombre tuvo que abrir nuevas alternativas de disposición y tratamiento de los residuos que se producen en la actualidad, pues su acumulación aumenta día con día y los sistemas actuales de tratamiento parecen ser ya precarios e incapaces de amortiguar los efectos de la gran producción de residuos sólidos generados hasta hoy.

1.2.1 Rellenos sanitarios.

El relleno sanitario constituye el principal componente del sistema de disposición final de residuos en México y en casi todos los países. Durante las dos últimas décadas, la ingeniería aplicada a este tipo de obras se desarrolló desconociendo los requerimientos estándares necesarios para ejercer un control adecuado, ocasionando hoy un gran número de "rellenos sanitarios" con aspecto de tiraderos a cielo abierto que reflejan la inadecuada planeación, donde en lugar de subsanar el problema de la disposición de los residuos son hoy la principal causa de la contaminación atmosférica, terrestre y acuática del planeta.

Hoy en día un relleno sanitario no solamente debe de ser una obra de ingeniería donde sean confinados adecuada y eficientemente los residuos, sino que además debe de contar con los sistemas de control que le permitan una operación segura y confiable, evitando la afectación al ambiente y a la salud pública eliminando o reduciendo la emisión de impactantes fuera de su zona de amortiguamiento, como son: ruido, aerotransportables (hongos, levaduras, etc.) partículas suspendidas, biogás, lixiviados, etc.) (Sánchez, 1994). En nuestro país, la construcción de un relleno sanitario está normado por la NOM-083-ECOL-1994, la cual establece las condiciones que deben reunir los sitios destinados a la disposición final de los residuos sólidos municipales y por la NOM-084-ECOL-1994 que establece los requisitos para el diseño de un relleno sanitario y la construcción de sus obras complementarias (Márquez, 2000) pues muchos de ellos pueden desarrollar una amplia variedad de contaminantes orgánicos que se liberan en los lixiviados y en la fase gaseosa del relleno (Willumsen, *et al.*, 1988; Laugwitz, 1990; Pohland 1991).

1.2.2 Confinamiento controlado.

Otra estrategia en el tratamiento y disposición de residuos sólidos es el uso del confinamiento controlado creado principalmente para la disposición final de los residuos peligrosos construida y operada de forma que se garantice su aislamiento definitivo. En México se realiza bajo la normatividad señalada en las NOM-055-ECOL-1993, NOM-056-ECOL-1993, NOM-057-ECOL-1993, NOM-058-ECOL-1993 (Márquez, 2000).

1.2.3 Codisposición controlada; Rellenos sanitarios acelerados (RESACEL) y digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS).

Finalmente en la actualidad se propone una estrategia más que es la codisposición controlada, donde se pretende que tanto los RSM como ciertos RSI de carácter peligrosos puedan manejarse de manera conjunta y donde los primeros atenúen de alguna forma los efectos tóxicos que puedan provocar los segundos al ambiente. Estas estrategias son reconocidos universalmente como sistemas dinámicos, mediados microbianamente e influenciados operacionalmente para promover el sinergismo entre los consorcios microbianos inherentes hasta lograr la degradación de ciertos componentes orgánicos y/o la atenuación de componentes inorgánicos hasta alcanzar niveles mínimos (Pohland, 1995). La ventaja más importante de este tipo de sistemas es su capacidad inusual de aprovechar los procesos operativos bióticos y abióticos para la degradación biológica de los residuos ejerciendo el adecuado control de impactantes como lixivado, biogás, etc. Lo anterior hace posible el aprovechamiento de consorcios metanogénicos presentes en ambientes de rellenos sanitarios para atenuar e incluso degradar algunos residuos de carácter peligroso provenientes del sector industrial, ya que se ha demostrado son capaces de actuar en la degradación de contaminantes como: el benzoato (Warikoo *et al.*, 1996), derivados de la fenilamina (Drzyzga *et al.*, 1995) la deshalogenación de clorocatecoles y de percloroetano (Allard *et al.*, 1991; Fathepure *et al.*, 1987) entre otros.

Derivaciones de estos sistemas tipo biorreactores basados en procesos de digestión anaerobia son los rellenos sanitarios acelerados (RESACEL) y los digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS). En los RESACEL a diferencia de los rellenos sanitarios convencionales, se recicla el flujo de lixivado, se aprovecha el biogás producido y se ejerce un adecuado control de los residuos involucrados (Márquez, 2000). En los DASS es posible tratar la fracción orgánica de los RSM y de algunos RSI con la subsecuente producción de biogás y mejoradores de suelo como la composta manteniendo un desarrollo óptimo y un control adecuado del proceso. Algunas de las ventajas de los DASS sobre otros tipos de sistemas son: la generación de gas combustible (CH_4), producción de composta, minimización en la generación de lixiviados y requerimientos de agua, ahorros por aireación reduciendo costos de operación y reducción de la masa-volumen de los residuos. A pesar de que la aplicación de los DASS es relativamente nueva (10 años aprox.) ha logrado desarrollar áreas anteriormente rezagadas en el tratamiento y disposición de residuos sólidos tanto municipales como industriales y hoy en día ha hecho posible la estabilización de RSI no peligrosos e incluso hacer funcionar el proceso en presencia de sustancias tóxicas (Poggi, *et al.*², 1997).

1.2.3.1 Manejo de DASS

En los últimos años varios biorreactores tipo DASS han sido desarrollados para el tratamiento de la fracción orgánica de los RSM y de RSI permitiendo la simulación eficiente de los procesos inherentes al funcionamiento de los rellenos sanitarios convencionales pero a escala laboratorio. Dentro de los factores que hacen posible el manejo de este tipo de sistemas tenemos:

1.2.3.1.1 Temperatura;

En este tipo de sistemas es posible la digestión anaerobia en condiciones Psicrófilas (12-16 °C / también presente en ambientes de relleno sanitario), Mesófilas (35-37 °C / presente en relleno sanitario) y Termófilas (55-60 °C / presente en rellenos sanitarios y ecosistemas geotérmicos) (Gallert y Winter, 1997), con una conversión de hasta el 90% del sustrato de alimentación soluble en biogás (Cecchi y Mata-Alvarez, 1991). Algunas de las ventajas e inconvenientes de una digestión anaerobia en este tipo de condiciones se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Ventajas e inconvenientes de una digestión anaerobia en zona psicrófila, mesófila o termófila (modificada de Conn y Gebhart 1991)

PSICRIFILICA	MESOFILICA	TERMOFILICA
<ul style="list-style-type: none"> - Ausencia de vapor de agua en el biogás. - Menos CO₂ en el biogás. 	<ul style="list-style-type: none"> - Menos vapor de agua en el biogás. - Menos CO₂ en el biogás. - Mayor número de sp. Metanogénicas - Balance energético más favorable. 	<ul style="list-style-type: none"> - Menor tiempo de retención. - Disminución de lodos. - Destrucción de organismos patógenos.

1.2.3.1.2 pH;

Generalmente los consorcios microbianos involucrados en estos procesos son organismos adaptados a medios neutros de pH (6.5-7.5) con tolerancia en la mayoría de los casos entre 6.0 y 9.0, aunque algunas bacterias suelen ser muy sensibles a ciertas variaciones (Poggi, 1999 conversación personal).

1.2.3.1.3 Biogás;

Todos estos sistemas hasta la fecha permiten la recuperación del biogás que al igual que los rellenos sanitarios suele ser rico en CH₄ que lo convierte en fuente potencial de energía de origen biológico de fácil obtención y útil para generar calor, cocinar, iluminar, bombear agua, operar motores, maquinaria agrícola o bien generar energía eléctrica, siendo una alternativa viable tanto en lugares aislados como en las grandes metrópolis (Holmes, 1983). Una composición aproximada del biogás se muestra en la Tabla 3, aunque su composición suele variar de acuerdo a las características propias de la fuente que lo genera.

1.2.3.1.4 Sustrato;

Los sustratos se consideran importantes intermediarios de la digestión anaerobia y se ha visto que en ciertas concentraciones y dependiendo de su naturaleza se puede aumentar o disminuir la velocidad de degradación de los residuos (Mösche y Jördening, 1998). Los sustratos más ampliamente usados son compuestos de estructura simple como acetato, propionato, butirato y H₂ / CO₂ que los hace de fácil degradación, sin embargo, también se emplean otros de estructura más compleja como glucosa, celulosa y lignina, que aunque

son de más lenta degradación son ricos en C₂ e H₂ principales precursores de CH₄. (Mösche y Jördening, 1998).

Tabla 3. Composición Típica del Biogás (Holmes, 1983).

COMPONENTE	%	COMPONENTE	%
Metano (CH ₄)	47.5	Monóxido de Carbono	0.1
Dióxido de Carbono (CO ₂)	47.0	Sulfuro de Hidrógeno	0.01
Nitrógeno (N ₂)		Hidrocarburos parafín	0.1
Oxígeno (O ₂)	3.7	Hidrocarburos cíclicos y aromáticos	0.2
Hidrógeno (H ₂)	0.8	Otros (benceno, tolueno, dióxido de sulfuro, percloroetileno)	0.5
	0.1		

1.2.3.1.5 Evaluación de la actividad: actividad metanogénica específica (AME);

La factibilidad de evaluar la AME llevada a cabo por los diversos consorcios microbianos involucrados en el proceso metanogénico de la digestión anaerobia es un procedimiento simple que consiste en someter a la biomasa activa del DASS mediante pruebas en lote, al proceso de degradación de materia orgánica (RSM, RSI) bajo condiciones anaerobias suministrando algún sustrato específico para la producción de Metano(CH₄). Así, mediante cambios en la concentración de productos intermediarios y/o producción de biogás es posible interpretar de manera indirecta la actividad de los grupos microbianos involucrados en todas las conversiones registradas. Esta actividad (AME) se define como la velocidad de producción de CH₄ dependiente del sustrato por unidad de sólidos volátiles de la biomasa (Sorensen y Ahring, 1993).

1.3 FASES EN LA DEGRADACIÓN BIOLÓGICA DE LOS RESIDUOS VÍA DIGESTION ANAEROBIA METANOGENICA.

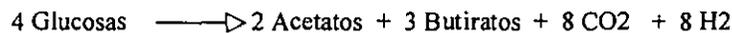
Este tipo de degradación pone en juego a diversos grupos de poblaciones microbianas denominadas consorcios metanogénicos debido a que se ve favorecida en gran parte la síntesis de CH₄ del total de biogás producido. La Tabla 4 muestra algunas de las especies bacterianas involucradas en el proceso metanogénico, mientras que algunas de las asociaciones simbióticas que se dan entre estos microorganismos se muestran en la Figura 2. Se pueden identificar cinco fases características en la degradación microbiana de los residuos. Inicialmente el oxígeno atrapado en los residuos se consume en un cierto periodo. Después en ausencia de oxígeno se inicia el proceso fermentativo anaerobio. La primera fase es de *Hidrólisis*, donde se convierte la materia orgánica compleja en materia más simple por acción de bacterias hidrolíticas. Los polisacáridos se hidrolizan a mono y disacáridos, las proteínas a aminoácidos y lípidos y los gliceroles a ácidos orgánicos. En la segunda fase que es *Fermentativa* los compuestos monoméricos se convierten en otros compuestos como alcoholes, AOV, CO₂, H₂ y otras sustancias neutras. La tercera fase o de *Acetogénesis* se caracteriza por altas concentraciones de AOV, donde por acción de bacterias acetogénicas se transforman en compuestos como acetato e H₂. La cuarta fase es de intensa *metanogénesis* donde los sustratos presentes como H₂, acetato, formato, etc. son consumidos por bacterias metanogénicas. Durante esta fase decrece la presión parcial de H₂, condición favorable para la degradación de AOV y la síntesis de CH₄, al incrementarse este último se incrementa también la producción de CO₂ y otros compuestos que en conjunto incrementan la producción de biogás. Finalmente la quinta fase llamada de *estabilización* tanto la metanogénesis como la producción de biogás se estabiliza aunque después de cierto tiempo la velocidad de producción de CH₄ y biogás decrecen por reducción en la calidad del sustrato y otros factores como la compactación, el clima, etc. (Mata-Alvarez y Cecchi, 1991; Ejlertson, *et al.*, 1996) Las fases antes mencionadas se ilustran para un relleno sanitario convencional en la Figura 3, mientras que el flujo del carbono desde materia orgánica compleja hasta CH₄ se muestra en la Figura 4.

1.3.1 Las bacterias de la fermentación anaerobia.

Existe una gran variedad de bacterias involucradas en la fermentación anaerobia metanogénica durante las diferentes fases, las cuales se representan por: a) bacterias hidrolíticas (*Acetovibrio*, *Clostridium*), b) bacterias fermentativas acidogénicas (*Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*) y c) bacterias metanogénicas (*Metanobacterales*, *Metanococales*), entre otros grupos intermedios (homoacetogénicas) (Marquéz, 2000).

En una primera etapa las bacterias hidrolíticas inician el fenómeno de digestión anaerobia donde polímeros como celulosa, la pectina, las proteínas, etc., o compuestos de más bajo peso molecular son transformados en glucosa libre, celobiosa, ácidos carboxílicos (AOV), alcoholes, hidrogeno y dióxido de carbono. Entre las bacterias responsables de esta etapa se encuentran las bacterias celulolíticas con capacidad de hidrolizar a la celulosa (*Acetovibrio cellulolyticus*, *Clostridium thermocellum*, *Clostridium populetti*, *Clostridium cellulolyticum*, etc.) y quienes juegan un papel muy importante en la oxidación de la materia orgánica (Guyot, 1992).

Los esporógenos anaerobios del género *clostridium* (gram +) son habitantes normales del suelo y realizan la fermentación de carbohidratos solubles acompañada de la formación de ác. butírico, acético, dióxido de carbono e hidrogeno. La fermentación butírica se inicia por la conversión de los azúcares en piruvato. La reacción completa de la fermentación del ácido butírico de la glucosa puede representarse con la siguiente ecuación (según Stainer, et al., 1986):



La pared celular de estas bacterias se compone de peptidoglicano (mureína) hasta en un 90% formado por dos derivados de azúcares N-acetilglucosamina y N-acetilmurámico, además de un grupo pequeño de aminoácidos que incluyen D-alanina, L-alanina, D-glutamato, y lisina. Estos componentes se unen entre sí para formar una estructura que se repite a lo largo de la pared formando un tetrapeptido del glicano. Su estructura básica esta constituida por una lamina fina que le confiere rigidez a la célula (Marquéz, 2000).

Durante las etapas fermentativa y acidogénica los productos de los fermentadores primarios como por ejemplo la glucosa libre son transformados en una variedad de AOV, succinato, alcoholes, hidrogeno y dióxido de carbono. Dentro de la fase de homoacetogénesis y metanogénesis se establece una relación sintrófica entre las bacterias acetogénicas obligadas productoras de hidrogeno "OHPA"), bacterias hidrogenofilicas (bacterias metanogénicas "BM") y bacterias sulfato reductoras (BSR) (ver Figura 1), donde las OHPA y ciertas BSR en ausencia de sulfatos efectúan una reacción de acetogénesis a partir de los compuestos de la primera etapa, gracias a lo cual se mantiene el balance energético favorable para llevar a cabo las reacciones de acetogénesis. Así, una sobrecarga de hidrogenofilicas, pueden conducir a una sobreproducción de hidrogeno, cuya acumulación inhibe la digestión anaerobia.

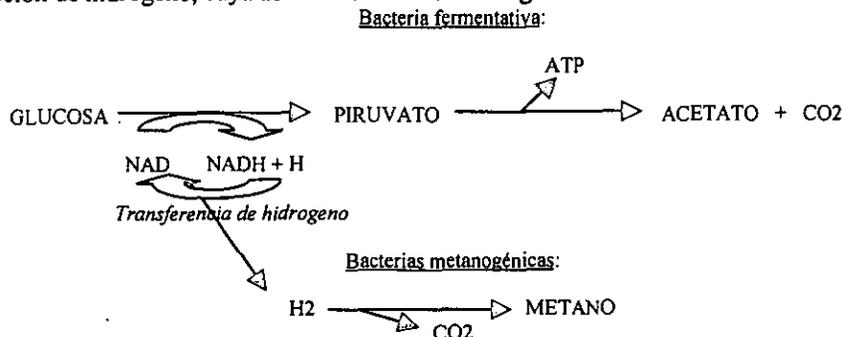


Figura 1. Fermentación de la glucosa por asociación sintrófica entre una bacteria fermentativa y una bacteria metanogénica (Guyot, 1992)

Tabla 4. Algunas especies involucradas en procesos de digestión anaerobia.

BACTERIA HIDROLITICA:	
Lípidos: <i>Anaerobrio lipolytica</i> , <i>Sintropomonas wolfei</i>	Proteínas: sp de <i>Clostridium</i> y <i>Bacteroides</i>
Pectinas: <i>Lachnospira multiparus</i> , <i>Bacteroides frigusolvens</i> , <i>Bacteroides ruminicola</i> , <i>Bacteroides succinogenes</i> .	
Hemicelulosa: <i>Bacteroides ruminicola</i> , <i>Bacteroides frivisolvens</i> , <i>Rumonococcus flavefaciens</i> , <i>Ruminococcus albus</i>	
Celulosa: <i>Tricoderma resei</i> , <i>Clostridium thermocellum</i> , <i>Bacteroides succinogenes</i> , <i>Butyrvibrio frobrisolvens</i> , <i>Ruminococcus albus</i> , <i>Acetovibrio cellulolyticus</i> .	
BACTERIA FERMENTATIVA:	
Sp de <i>Desulfovibrio</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Clostridium</i> .	
BACTERIA ACETOGENICA:	
<i>Sintrophomonas wolfei</i> , <i>Sintrophobacter wolinnii</i>	
BACTERIA HOMOACETOGENICA:	
<i>Eubacterium limosum</i> , sp de <i>Acetobacterium</i> , <i>Clostridium</i> .	
BACTERIA METANOGENICA:	
Sp de <i>Methanosarcina</i> , <i>Methanotrix</i> , <i>Methanobacterium</i> , <i>Methanothermus</i> , <i>Methanococcus</i> , etc.	

Fuente: Mata-Alvarez y Cecchi, 1992.

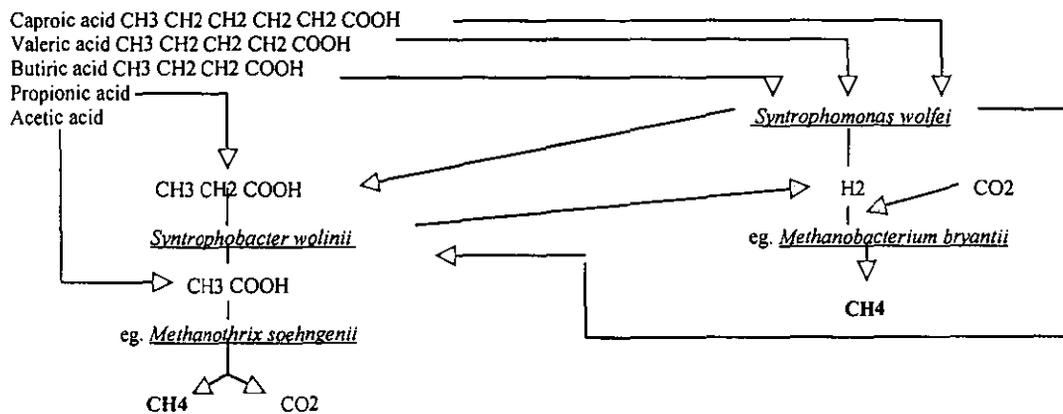


Figura 2. El papel de bacterias sintróficas y metanogénicas en digestión anaerobia (McCarty y Mosey, 1991).

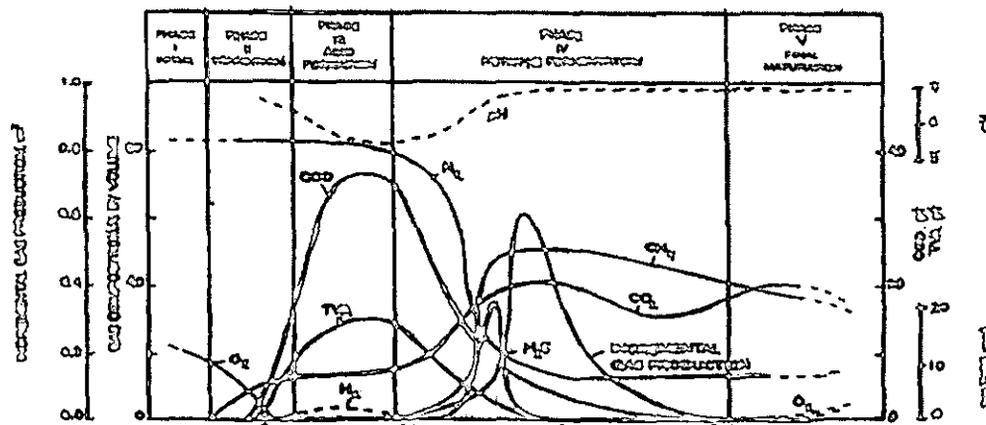


Figura 3. Fases en la estabilización de un relleno sanitario convencional (Pohland y Yousfi, 1995).

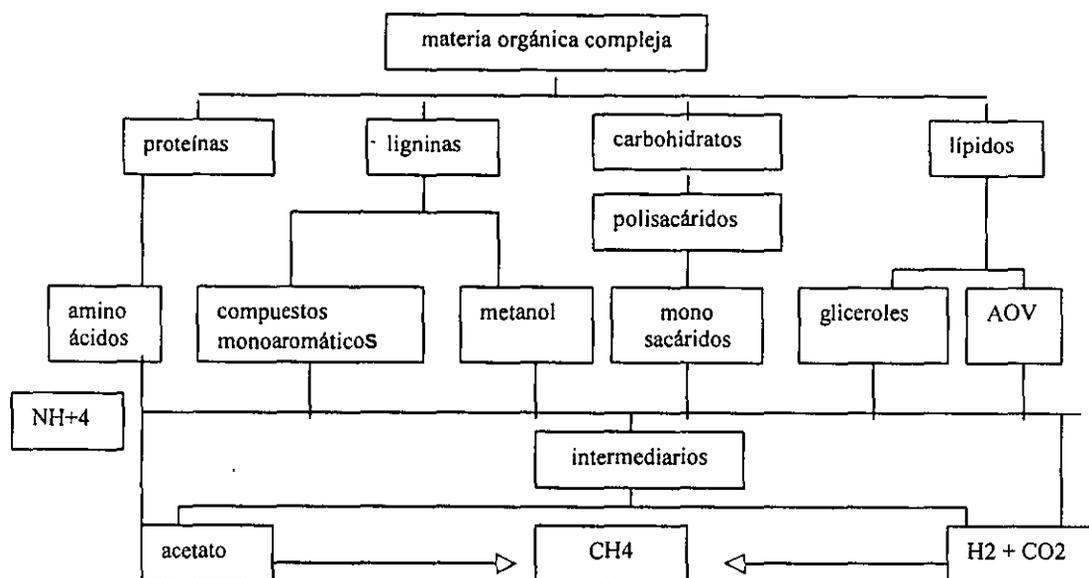


Figura 4. Esquema del flujo del carbono en la digestión anaerobia de materia orgánica compleja (Mata-Alvarez y Cecchi, 1991).

1.4 AGENTES QUE AFECTAN LA DEGRADACIÓN BIOLÓGICA DE LOS RESIDUOS.

A la fecha se sabe que pueden ser muchos los agentes externos e internos que afectan el proceso de digestión anaerobia de los residuos si no se ejerce un control adecuado, tanto en biorreactores como en rellenos sanitarios convencionales. Estos agentes van desde la composición del sustrato de alimentación (ST, STV, DQO, AOV, N₂, etc.) hasta el manejo de parámetros operacionales (temperatura, TRH, AME, ICO, producción de biogás, etc.) y otros relacionados como nutrientes y ciertas sustancias tóxicas (Mata-Alvarez y Cecchi, 1991). Se ha visto que algunos de los compuestos que muestran una clara inhibición de la actividad bacteriana en procesos de digestión anaerobia son los citados en la Tabla 5.

Tabla 5. Algunas sustancias tóxicas para los procesos de digestión anaerobia.

INHIBIDORES
Inhibición de la bacteria acetoclástica por AOV
Inhibición Isobutírica
Inhibición por sales y otros metales
Efecto de la concentración de ciertas sustancias
Sulfuros; furfural
Efecto del CO ₂ disuelto
Antibióticos
Fenoles
Mercurio
Xenobioticos
Acidos Orgánicos largos, etc.

Fuente: Mata-Alvarez y Cecchi, 1991.

1.4.1 Efecto de residuos farmacéuticos en procesos de digestión anaerobia.

El implante de nuevas tecnologías y nuevos productos de la industria farmacéutica trae consigo problemas como la alta concentración de residuos que por su composición y volumen requieren tanto de tratamientos

como de sitios de disposición especiales. Las investigaciones hechas hasta hoy demuestran que tanto los RSM como los RSI pueden contener gran variedad de contaminantes orgánicos que se manifiestan en los lixiviados o en la fase gaseosa de los rellenos sanitarios y biorreactores (Willumsen *et al.*, 1988; Laugwitz, 1990; Pohland, 1991). Se sabe que la formación, aparición o desaparición de estos contaminantes específicos dependen de ciertos factores que incluyen las propiedades físico-químicas de los compuestos, su reactividad química, solubilidad en agua, volatilidad y biodegradabilidad, que al interactuar con las condiciones prevaletentes en los sistemas de manejo de los residuos como la temperatura, pH, tipos de residuos y tipo de microflora, entre otros, resulta en complejas interacciones que llegan a afectar de cierta manera el potencial de degradación de los residuos (Ejlertson, *et al.*, 1996).

Los residuos farmacéuticos se han reportado como biodegradables dependiendo de la naturaleza del sustrato y los tratamientos usados. En la actualidad se está tratando de ver si es posible la degradación biológica de ciertos residuos farmacéuticos mediante tratamientos anaerobios, donde se pretende aprovechar las bondades de los procesos metanogénicos para atenuar los posibles efectos negativos que pueda tener la codisposición de residuos farmacéuticos en ambientes como los rellenos sanitarios (Zabranska, *et al.*, 1994; Sanz, *et al.*, 1996; Penaud, *et al.*, 1997; Márquez, 2000).

1.4.1.1 Sitios de acción de los fármacos.

La intensidad de acción de un medicamento depende de su concentración y de su sitio de acción (Conn y Gebhart, 1991). En la mayoría de los casos el sitio de acción es un receptor; que generalmente es un sitio específico de una macromolécula localizada en una membrana o pared celular o dentro de una célula. La interacción del fármaco con el receptor altera la función normal de la célula y es cuando tiene lugar cierta respuesta o efecto. El término genérico antimicrobianos incluye a varios agentes sintéticos que impiden o alteran el crecimiento o reproducción de ciertos microorganismos. Se debe entender como antibiótico a ciertas sustancias orgánicas de origen microbiano que o bien son tóxicas o bien inhiben el crecimiento de otros organismos (Conn y Gebhart, 1991). El efecto que ciertos antibióticos puedan tener sobre ciertos sitios específicos en algunas bacterias se muestra en la Figura 5. Generalmente estos compuestos actúan alterando las estructuras y funciones celulares.

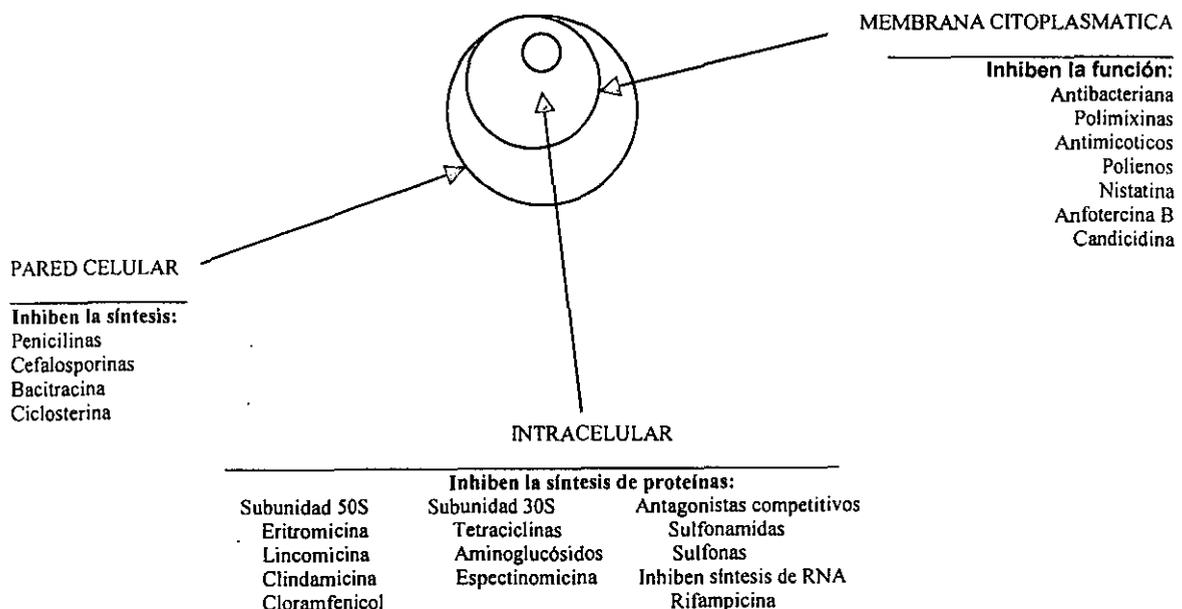


Figura 5. Sitios de acción de algunos antibióticos en bacterias (Conn y Gebhart, 1991)

1.4.1.2 La bacteria metanogénica (BM).

Las BM pertenecen al reino de las Arqueobacterias, se dividen en tres ordenes, 4 familias y 7 géneros. Pueden habitar en ambientes como sedimentos, rellenos sanitarios, digestores, en el intestino de insectos, en el rumen e intestino largo de hombres y animales. No son organismos primitivos, sino por el contrario son altamente especializados y poseen sistemas únicos muy elaborados para este tipo de vida. Algunos de estos organismos poseen paredes celulares formadas por pseudomureina, aunque otras pueden ser de origen proteínico. Varias paredes celulares se pueden formar desde una capa regular de proteínas hasta varias y complejas laminaciones. Sus células incluyen flagelos, membranas intra-citoplasmáticas, espacios celulares y vacuolas de gas, entre otras. Las BM son productoras obligadas de metano (CH_4) siendo capaces de usar más de un sustrato para su síntesis. La síntesis de CH_4 es requerida por estos organismos para crecer. También son anaerobias obligadas, pues su exposición al O_2 en la mayoría de los casos puede ser letal. Pueden desarrollarse en pH neutros entre 6 y 8. Existen tanto en ambientes psicrófilos, como en mesófilos y termófilos, aunque en estos últimos suelen ser más abundantes. Pueden crecer de forma autótrófica o heterótrófica. Estos organismos generalmente requieren de carbón orgánico para crecer, de donde el acetato suele ser el principal sustrato inductor de la metanogénesis. El Acetato puede ser formado desde la condensación de dos moléculas de CO_2 y eventualmente el 90% puede formar CH_4 . Los AOV se requieren ocasionalmente. Las vitaminas se necesitan para el crecimiento de las BM. Dentro de este grupo tenemos: riboflavin, pantothenato, tiamina, piridoxina y p-aminobenzoato, entre otras. Una característica muy peculiar de las BM es que poseen coenzimas al parecer únicas para este tipo de vida como la Coenzima M, Coenzima F₄₂₀, Factor F₄₃₀, entre otras. Su bioenergética muestra al menos en *Methanobacterium bryantii* que la velocidad de la metanogénesis es proporcional a la concentración intracelular de ATP e inversamente proporcional a la concentración de AMP (Blaut, *et al.*, 1985).

1.4.1.2.1 Sensibilidad a los Antibióticos.

La escasa sensibilidad de BM y otras arqueobacterias a muchos antibióticos es resultado de su naturaleza bioquímica única y la resistencia frente a estos compuestos muchas veces se debe a que el blanco específico no está presente (Whitman, *et al.*, 1992). Esta carencia de sensibilidad de las BM también puede estar dada por la impermeabilidad que presentan las envolturas celulares o la membrana citoplasmática o simplemente por la habilidad de estos organismos para inactivar el antibiótico (Blaut, *et al.*, 1985). Sin embargo, hoy en día se ha visto que algunos antibióticos sí son capaces de inhibir o alterar algunas de las funciones de las BM y que estos son capaces de actuar por diversos mecanismos. Algunos antibióticos pueden interferir en la ruta metabólica, transporte de membrana o en la síntesis de otras macromoléculas por interferencia con la función de compuestos esenciales de bajo y alto peso molecular, inhibición de la síntesis de lípidos y de varios polímeros contenidos los carbohidratos (pseudomureina, heteropolisacaridos, glicoproteínas) o con la biosíntesis de isoprenoides típicos en arqueobacterias.

Antibióticos como bacitracin son capaces de inhibir la defosforilación de el isoprenol pirofosfato precursor estrechamente involucrado con la biosíntesis de lípidos y glicoproteínas (Blaut, *et al.*, 1985), incluso se ha encontrado que usado como aditivo puede inhibir la formación de biogás de residuos agrícolas (Hilpert, 1984). La rifampicina puede causar la lisis de la membrana citoplasmática en concentraciones de 100 $\mu\text{g/ml}$ por perturbaciones en el contenido de lípidos en la membrana por intercalación de moléculas hidrofóbicas (Blaut, *et al.*, 1985), aunque se ha encontrado que la RNA-polimerasa dependiente de RNA es resistente a rifampicina, al igual que otras enzimas metanogénicas lo son a α -amanitin (Whitman, *et al.*, 1992). Otros antibióticos pueden ser capaces de inhibir la síntesis de proteínas, la síntesis de RNAt-aminoacil, elongación o translación, aunque el proceso de translación en BM suele ser más resistente a antibióticos como ciertas clases de estreptomicinas, tetraciclinas y macrolidos que en otros tipos de bacterias. Durante el crecimiento las BM suelen ser sensibles al cloramfenicol el cual afecta la síntesis de proteínas, también lo son a gentamicinas, neomicina, gramicidin S que además de inhibir el crecimiento son capaces de inhibir los procesos metanogénicos, aunque muchas veces depende de las condiciones del cultivo (Whitman, *et al.*, 1992; Sanz, *et al.*, 1996). El gramicidin D, nigericina y monensis son potentes inhibidores del transporte activo en

BM (Blaut, *et al.*, 1985). En la Tabla 7 se muestra una comparación de la sensibilidad a ciertos antibióticos en seis especies de BM, donde se ilustra tanto el sitio de acción del antibiótico como el tamaño de la zona de inhibición del mismo en milímetros.

Lo anterior indica que el desarrollo de consorcios metanogénicos involucrados en el proceso de digestión anaerobia para la degradación biológica de los residuos puede verse afectado en presencia de compuestos como ciertos antibióticos. De aquí la importancia de realizar estudios sobre los factores que estén afectando la degradación natural de los residuos, pues el conocimiento de posibles agentes que afecten las vías de biodegradación de residuos sólidos --uno de los problemas más grandes e importantes en la actualidad--, nos ayudaran a implementar técnicas que subsanen este problema y que mejoren el uso y aplicación de las estrategias actuales para su manejo (Poggi, 1999 conversación personal).

Tabla 6. Comparación de la sensibilidad a antibióticos en algunas especies de bacterias metanogénicas (BM).

OBJETIVOS	ANTI-BIOTICO	I TAMAÑO DE LA ZONA DE INHIBICION (mm)					
		A	B	C	D	E	F
PARED CELULAR	Vancomicina	-	-	-	-	-	-
	Fosfomicina	-	-	-	-	-	-
	D-Cicloserina	-	-	-	9	-	-
	Nocardicin A	-	-	-	-	-	-
	Penicilina G	-	-	-	-	-	-
	Cefalosporina C	-	-	-	-	-	-
	Bacitracina	40	27	40	17	-	-
	Nisin	11	8	10	3	-	-
	Enduracidina	20	16	10	5	-	8
	Flavomicina	-	-	-	-	-	-
	Subtilin	4	7	5	10	-	-
	Gardimycin	30	16	6	-	-	-
	RNA polimerasa	α -Amanitin	-	-	-	ND	-
Rifampicina		2	-	-	2	-	-
BIOSINTESIS DE PROTEINAS	Cloramfenicol	25	13	22	28	4	40
	Cicloheximide	-	-	-	-	-	-
	Virginiamycina	5	14	-	15	-	-
	Oleandomycina	-	-	-	-	-	-
	Gentamicina	-	25	12	-	-	-
	Tetraciclina	-	-	8	8	-	-
	Canamycina	-	-	-	-	-	-
	Eritromicina	-	-	-	3	-	-
MEMBRANA	Polimixina	-	-	8	-	-	-
	Anfotericina B	-	-	-	-	-	-
	Gramicidin S	7	7	15	10	4	16
	Valinomycina	-	-	-	-	-	-
	Nonactin	-	-	-	-	-	-
	Monensis	-	5	25	12	15	25
	Lasalocid	22	25	42	21	40	40
	Gramicidin D	-	-	11	-	-	-

Identificación de especies: A *Methanobrevibacter smithii*; B, *Methanobacterium bryantii*; C, *M. thermoautotrophicum*; D, *Methanococcus vannielli*; E, *Methanospirillum hungatei*; F, *Methanosarcina arkeri*

- = No hay inhibición

ND = No Determinada

Fuente: Modificada de William, *et al.* 1992; Conn y Gebhart, 1991; Avendaño, 1996.

CAPITULO 2

JUSTIFICACION

Hoy en día es cada vez mayor el volumen de residuos sólidos tanto RSM como RSI que producen las diferentes actividades del hombre y cada vez es más complicado y costoso deshacerse de ellos. México en la actualidad enfrenta serios problemas en el tratamiento y disposición de RSM y RSI (Saur, 1994). La Industria es uno de los sectores con mayor necesidad de disposición final y adecuada de los residuos sólidos que produce, pues alrededor del 89% del total de residuos sólidos generados en el país provienen de él (Márquez, 2000), y alrededor del 99 % no tienen una disposición final adecuada (Saur, 1994; Márquez, 2000). Tan solo se estima que los habitantes e Industrias de la Ciudad de México producen diariamente 11 850 ton/d de residuos sólidos (Obras y Servicios, 1999), de los cuales aprox. 8 000 ton. van a parar a rellenos sanitarios convencionales que generalmente llegan ya al tope de su capacidad y el resto pasa por sistema de tratamiento donde sólo se aprovecha entre el 13 y 14 % del total de los residuos sólidos (Tena, 1995). Además, la Industria en nuestro país produce alrededor de 14 500 ton/d de RP los cuales según la NOM-052-ECOL-1993 pueden presentar un carácter tóxico al ambiente. Dentro de este tipo de RP se tiene a los derivados de la industria farmacéutica tales como los fármacos caducos y/o otros materiales fuera de especificación que a la fecha se sabe pueden afectar los procesos de degradación biológica de los residuos en ambientes de rellenos sanitarios convencionales si no se mantiene un control adecuado de su manejo y de lo que en ellos se dispone. Lo anterior se deriva de los estudios realizados por Mata- Alvarez y Cecchi, 1991; Willumsen *et al.* 1998, Lawitz, 1990, Pohland 1991; Ejlertson, *et al.*, 1996; Sanz, *et al.*, 1996, quienes muestran que los procesos inherentes a los rellenos sanitarios, como la degradación biológica de los residuos vía digestión anaerobia, puede verse afectada en presencia de ciertos residuos farmacéuticos como algunos antibióticos y otros contaminantes orgánicos presentes en los lixiviados y en la fase gaseosa del relleno.

El proceso DASS ofrece una mejor alternativa en el tratamiento de los residuos sólidos al tratar la fracción orgánica de los RSM, hacer posible la estabilización de RSI no peligrosos e incluso hacer funcionar el proceso en presencia de sustancias tóxicas transformándolos en energéticos como CH₄ y en mejoradores de suelos (composta) reduciendo la masa/volumen de los residuos con un mínimo de requerimientos de agua y lixiviados (Poggi, *et al.*, 1997²). Además, en México existe la carencia de inóculos anaerobios para el tratamiento de los residuos que en él se producen (Valdéz, 1997), de aquí la necesidad de implementar digestores anaerobios adecuados a las características propias de los residuos que genere el país.

Dada la necesidad de proponer procedimientos y estrategias integrales en el tratamiento y disposición de RSM, RSI y RP, se propone la codisposición de RSM y RSI de carácter peligroso como los fármacos caducos en sistemas de tratamiento anaerobio tipo DASS donde se pretende aprovechar las bondades de los procesos metanogénicos para atenuar los posibles efectos negativos que pueda tener la disposición conjunta de los residuos en este tipo de ambientes, por otro lado, con el conocimiento de los posibles agentes que afecten las vías de degradación biológica de residuos sólidos --uno de los problemas más grandes e importantes en la actualidad--, nos ayudará a implementar técnicas que subsanen este problema y que mejoren el uso y aplicación de las estrategias actuales. La AME es una de las estrategias usadas en procesos de digestión anaerobia para interpretar de manera indirecta cambios en la actividad normal de los consorcios microbianos involucrados en el proceso terminal de la degradación de los residuos y en los DASS se usaran para evaluar el impacto que presente el codisponer RSM y una mezcla de fármacos caducos de la industria farmacéutica en este tipo de sistemas, reflejo fiel de lo que puede suceder en rellenos sanitarios convencionales si no se mantiene un control adecuado de lo que en ellos se dispone intencional o no intencionalmente.

CAPITULO 3

OBJETIVO GENERAL

- 3.1 Determinar los efectos de una mezcla de fármacos caducos sobre la actividad metanogénica específica - butírica (AME - butírica), actividad metanogénica específica - glucotrófica (AME - glucosa) y actividad metanogénica específica - celulolítica (AME - celulosa) de consorcios metanogénicos provenientes de inóculos anaerobios de DASS tipo rellenos sanitarios acelerados.

Objetivos particulares.

- 3.1.1. Implementar una técnica especializada en la actividad metanogénica específica (AME) de digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS).
- 3.1.2. Diseñar, arrancar y operar el biorreactor inoculador (DASS) llevando su seguimiento y análisis.
- 3.1.3. Determinar los efectos de cuatro concentraciones de una mezcla de fármacos caducos sobre la AME-butírica, AME-glucotrófica y AME-celulolítica de consorcios metanogénicos según la técnica AME.

CAPITULO 4

HIPÓTESIS

4.1 HIPÓTESIS 1:

La inclusión de altas concentraciones de la mezcla de fármacos caducos afectará en forma aguda la actividad metanogénica específica (AME) de consorcios metanogénicos involucrados en los procesos de la digestión anaerobia de residuos sólidos.

CAPITULO 5

METODOLOGIA

La metodología comprendió las siguientes actividades a desarrollar para el cumplimiento preciso de la presente investigación:

5.1 ACTIVIDADES:

- 5.1.1 Familiarización con las técnicas ya existentes de medición de AME, metano (CH₄), biogás, sólidos totales, pH, AOV, etc.
- 5.1.2 Preparación física de los digestores inoculadores y colectores de biogás (DASS) que se utilizaron en las diferentes determinaciones.
- 5.1.3 Arranque de los digestores inoculadores y colectores de biogás (DASS): características del inóculo.
- 5.1.4 Preparación, composición y preservación de la alimentación que se uso en los DASS.
- 5.1.5 Seguimiento y análisis de los digestores inoculadores y colectores de biogás (DASS).
- 5.1.6 Implementación de la técnica de actividad metanogénica específica (AME) en biorreactores de digestión anaerobia de sustrato sólido (DASS).
- 5.1.7 Determinación de la AME - butírica de consorcios metanogénicos y evaluación del impacto que causa la adición de una mezcla de fármacos caducos en 4 diferentes concentraciones (300, 800, 1400, 2000 mg/kg).
- 5.1.8 Determinación de la AME – glucotrófica de consorcios metanogénicos y evaluación del impacto que causa la adición de una mezcla de fármacos caducos en 4 diferentes concentraciones (300, 800, 1400, 2000 mg/kg).
- 5.1.9 Determinación la AME – celulolítica de consorcios metanogénicos y evaluación del impacto que causa la adición de una mezcla de fármacos caducos en 4 diferentes concentraciones (300, 800, 1400, 2000 mg/kg).

5.2 Diseño experimental y métodos.

A continuación se enlistan los diseños experimentales y métodos para cada una de las actividades a desarrollar de acuerdo al plan de trabajo.

5.2.1 FAMILIARIZACIÓN CON LAS TÉCNICAS YA EXISTENTES DE MEDICIÓN DE AME, METANO (CH₄), BIOGÁS, SÓLIDOS TOTALES, pH, AOV, ETC.

Se efectuaron por medio de la asesoría de investigadores especializados en el tema (Poggi, 1999, comunicación personal) y revisión del "Manual de técnicas analíticas para residuos sólidos" de Poggi y Rinderknecht, 1990.

5.2.2 PREPARACIÓN FÍSICA DE LOS DIGESTORES INOCULADORES Y COLECTORES DE BIOGÁS (DASS) QUE SE UTILIZARON EN LAS DIFERENTES DETERMINACIONES .

El montaje de los DASS se hizo por duplicado para cada intervalo de temperatura (2 termofilicos y 2 mesofilicos) al inicio de la investigación. Posteriormente fue necesario montar nuevos digestores por falta de inóculo (2 digestores más para cada intervalo de temperatura). Para ello se usaron frascos de vidrio con capacidad de 2 litros, tapones de hule con 1 y 2 perforaciones, niples, abrazaderas, válvulas, mangueras de hule, 4 muestreadores de biogás, pipetas rotas o tubos, garrafones de plástico con capacidad de 5 litros, marcadores indelebles, silicón para sellar y evitar fugas (Poggi, 1999 conversación personal). La Figura 6 muestra el diseño de los DASS empleados.

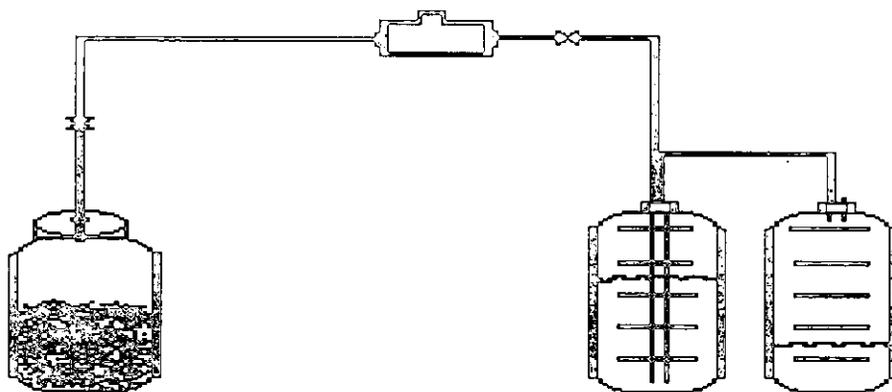


Figura 6. Esquema del digestor y colector de biogás: digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS)

Cada DASS fue marcado con una clave para su mejor manejo e identificación. Las claves fueron las siguientes : DASS-1T, DASS-2T, DASS-3T y DASS-4T para los digestores termofilicos y DASS-1M, DASS-2M, DASS-3M y DASS4-M para los digestores mesofilicos. Los digestores termofilicos se mantuvieron a una temperatura de 55° C (± 5°) dentro de una cabina adaptada a condiciones altas de temperatura y los digestores mesofilicos se mantuvieron a 35° C (± 5°) en un cuarto mesofílico.

5.2.3 ARRANQUE DE LOS DIGESTORES INOCULADORES Y COLECTORES DE BIOGÁS (DASS): CARACTERÍSTICAS DEL INOCULO.

El tipo de inóculo que se maneja en los biorreactores es de excreta de vaca, suelos profundos y lodos biológicos (1/3: 1/3: 1/53), tratamiento que ha resultado ser el más eficiente para el arranque de nuevos reactores (Valdés, 1996). La excreta de vaca se obtuvo de un establo tipo familiar ubicado en el D.F., el suelo profundo se tomó de los jardines del CINVESTAV-IPN con aproximadamente 60 cm de profundidad y los lodos biológicos se extrajeron de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas. Lo anterior se mezcló y se colocó en cada DASS procurando preparar suficiente inóculo para poner una cantidad aproximada de 1 kg. por digestor en el arranque. Una vez que se agregó el inóculo a los DASS se ventearon con gas N_2 (aprox. 30 Bis) antes de cerrarlos para garantizar el estado de anaerobiosis que requieren las bacterias metanogénicas. Ya sellados y ubicados en las diferentes temperaturas se procedió a verificar la producción de biogás diariamente y periódicamente el % CH_4 en cada uno de los digestores.

5.2.4 PREPARACIÓN, COMPOSICIÓN Y PRESERVACIÓN DE LA ALIMENTACIÓN QUE SE USO EN LOS DASS

Durante el tiempo de arranque y estabilización de los DASS se usó azúcar y bicarbonato de sodio cuando se requirió mantener el inóculo en un pH neutro para la mejor actividad de los consorcios metanogénicos involucrados en el proceso (Poggi, 1997¹). De estos compuestos se agregaron 3 g al inicio y 3 g cada vez que fue necesario (en caso de acidificación) hasta que se alcanzó una concentración de CH_4 en el biogás de aproximadamente 60 %, porcentaje que permite saber cuando los DASS alcanzan un estado estable (Poggi, 1997¹). Cuando estaba por alcanzarse o se alcanzó la estabilidad de los digestores se empezó a usar además como sustrato de degradación una mezcla de residuos alimenticios caseros (60 %), papel de oficina (40 %) y lodos biológicos (53:1) durante todo el tiempo de experimentación. Los porcentajes están dados de acuerdo al tipo de basura que se genera en México (Poggi y Oleskiewics, 1992). La mezcla se homogenizó en una mezcladora de cintas helicoidales por 30 minutos y se puso a secar por 24 horas a 100° C en charolas de aluminio. El material resultante fue triturado en un molino de martillos con una malla de 0.5 cm de abertura hasta obtener una consistencia granulosa fina. La alimentación con este sustrato resultante de la mezcla fue realizada 2 veces por semana, la cual se dividió en dos ciclos (1 ciclo de 4 días y 1 ciclo de tres días). En cada ciclo se agregaron 60g (al 35 % de ST y 65 % de Humedad). Previamente a la alimentación se tomó muestra suficiente de cada digestor para otras determinaciones. Se procuró mantener cada uno de los DASS en un peso aproximado de 1 kg de inóculo en su interior eliminando los excesos mediante la purga de cada digestor o completando el peso de los DASS sangrados (por extracción de inóculo) por medio de la alimentación habitual más papel periódico (al 35% de ST y 65% de Humedad) de consistencia granulosa fina triturado en un molino de martillos con una malla de 0.5 cm de abertura que ayudó a recuperar biomasa. De estos últimos se agregaron los gramos que se requirieron y de acuerdo con el estado físico del reactor, procurando no sobrecargarlos para que la actividad metanogénica se presentara normal. Tanto el sustrato de alimentación como el papel periódico triturados se mantuvieron en un cuarto frío a una temperatura de 4°C para facilitar su conservación, evitar malos olores y contaminación.

5.2.5 SEGUIMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DIGESTORES INOCULADORES Y COLECTOR DE BIOGÁS (DASS).

El seguimiento y análisis de los DASS se llevó a cabo desde el primer día en que se efectuó el arranque. A continuación se mencionan los parámetros que se evaluaron y los métodos que se usaron.

5.2.5.1 Medición de biogás en DASS.

La producción de biogás en cada uno de los DASS se verificó mediante un sistema de desplazamiento de salmuera acidificada con ácido sulfúrico y teñida con azul de metileno, según Poggi, 1999 (Ver Figura 5).

Las lecturas se registraron diariamente de acuerdo al desplazamiento de salmuera que presenten los garrafones expresado en volumen (litros/día), estos se sumaron y se reportaron como total de biogás desplazado por ciclo de alimentación.

5.2.5.2 Porcentaje de metano (% CH₄) en biogás de DASS.

El % CH₄ en DASS se analizó periódicamente con un cromatógrafo de gases Gow-Mac Thermal Conductivity Detector Series 350 Instrument Company. El gas de arrastre fue Helio con un gasto de 12 ml/min. Se utilizó una columna de acero inoxidable de 1.8 m por 6 mm rellena con Porapak Q. Las temperaturas de la columna, detector e inyector fueron 50°C, 70°C y 65°C respectivamente. El estándar que se maneja para la curva de calibración fue gas CH₄ pureza cromatográfica. Los resultados se expresaron en días contra % CH₄ desde el arranque de los digestores (Poggi, 1999 conversación personal).

5.2.5.3 Otras Determinaciones.

Mediciones como pH, el contenido de sólidos totales (ST), sólidos totales fijos (STF), sólidos totales volátiles (STV), ácidos orgánicos volátiles (AOV), etc., se hicieron periódicamente antes y después del periodo de estabilización de los DASS y/o cuando fue necesario verificar su estado durante el desarrollo de la técnica AME. Todas las pruebas se realizaron de acuerdo al "Manual de técnicas analíticas para residuos sólidos" de Poggi y Rinderknecht, 1990, excepto los AOV. Para pH se diluyo 5 g de inóculo de DASS en 25 ml de agua destilada y se le determino pH en un potenciómetro Beckman 41 pH Meter Analytical Sensor. El análisis de ST se realizó secando 5 g de inóculo de DASS en un horno Felisa a una temperatura de 100 °C durante 24 horas y por diferencia de peso (w inicial – w final) se determinó el contenido de sólidos. El contenido de STF y STV se llevo a cabo calcinando la muestra resultante de la determinación de ST, en una mufla Linberg a 550 °C durante 6 horas, donde por diferencia de peso (w inicial – w final) se determinaron los STF y el resto de peso faltante se determino como STV (Poggi, 1999 conversación personal).

Para el análisis de AOV se tomaron 10 g de inóculo de DASS y se diluyeron en 10 ml de agua destilada, después se centrifugaron a 10 000 rpm durante 5 minutos en una ICE Micro-MB Centrifuge. El sobrenadante resultante se inyectó en un cromatógrafo de líquidos Perkin Elmer 3920 equipado con detector de ionización de flama. Se utilizo una columna AT-1000 (10%) de 1.8 m por 3.4 mm de diámetro. La temperatura del Detector, Inyector y la Columna fueron 250°C, 220°C y 160°C respectivamente. El flujo de la columna fue de N₂ (28 ml/min). Los picos fueron registrados e integrados en un Integrador Hewlett Packard 3390-A con un tiempo de análisis de 16 minutos por muestra (Poggi, 1999 conversación personal).

El volumen inyectado fue de 0.5 µL de sobrenadante por muestra, los valores iniciales obtenidos del análisis cromatográfico fueron multiplicados por un Factor (F) = 1800 obtenido a partir de los siguientes parametros:

$$\frac{[5 \text{ ml sobrenadante} \times \frac{18 \text{ ml muestra}}{5 \text{ ml sobrenadante}}]}{10 \text{ g inóculo húmedo}} \times \frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ kg}} = 1800 = F$$

5.2.6 IMPLEMENTACIÓN DE LA TÉCNICA DE ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA (AME) EN BIORREACTORES DE DIGESTIÓN ANAEROBIA DE SUSTRATO SÓLIDO (DASS).

La implementación de la técnica de actividad metanogénica específica (AME) en biorreactores con sustrato sólido se realizó con la ayuda de Poggi (1999, comunicación personal) reconocido investigador en procesos de digestión anaerobia y el "Manual de técnicas analíticas para residuos sólidos" de Poggi y Rinderknecht, 1990. La técnica de AME en digestores anaerobios de sustrato sólido se muestra en el Anexo I.

5.2.6.1 Diseño experimental de las pruebas de actividad metanogénica específica (AME)

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza (ANDEVA al 95 % de confianza) y un análisis de comparación de medias de DUNCAN (Montgomery, 1986). Se efectuaron dos diseños experimentales de tipo factorial para el caso de los ANDEVA. En el primer diseño se tomó en cuenta los 3 sustratos usados (butírico, glucosa, celulosa) y las 2 temperaturas manejadas (35°C y 55°C) al cual se le denominó (3x2). En el segundo diseño experimental se tomó en cuenta las 5 concentraciones de fármacos caducos (0, 300, 800, 1400 y 2000 mg/kg), los 3 sustratos manejados (butírico, glucosa y celulosa) y las 2 temperaturas (35°C y 55°C) al que se le denominó (5x3x2). En ambos diseños se usó el valor promedio de las pruebas de AME a través de todas las concentraciones. La variable de respuesta fue la AME($\mu\text{mol CH}_4/\text{g}$).

5.2.7 DETERMINACIÓN DE LA AME - BUTÍRICA DE CONSORCIOS METANOGENICOS Y EVALUACIÓN DEL IMPACTO QUE CAUSA LA ADICIÓN UNA MEZCLA DE FARMACOS CADUCOS EN DIFERENTES CONCENTRACIONES.

La determinación de esta prueba se llevó a cabo siguiendo la técnica AME (Ver ANEXO 1) y usando ácido butírico como sustrato. La evaluación del impacto que presentaron las diferentes concentraciones de la mezcla de fármacos caducos sobre la actividad normal de los consorcios metanogénicos involucrados en el proceso se efectuó mediante los cálculos que resultaron de las diferentes pruebas de AME expresados en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g}$. h y en $\mu\text{mol CH}_4 / \text{g SV. h}$ de inóculo(según la Técnica AME), a las comparaciones que se hicieron de los diferentes tratamientos con respecto a los controles, a los otros sustratos manejados, a lo reportado en la bibliografía y a los datos resultantes de los diseños estadísticos 3x2, 5x3x2 y a la comparación de medias de DUNCAN.

5.2.8 DETERMINACIÓN DE LA AME - GLUCOSA DE CONSORCIOS METANOGENICOS Y EVALUACIÓN DEL IMPACTO QUE CAUSA LA ADICIÓN DE UNA MEZCLA DE MEDICAMENTOS CADUCOS EN DIFERENTES CONCENTRACIONES.

(Ver 5.2.7, sustrato glucosa)

5.2.9 DETERMINACIÓN DE LA AME - CELULOSA DE CONSORCIOS METANOGENICOS Y EVALUACIÓN DEL IMPACTO QUE CAUSA LA ADICIÓN DE UNA MEZCLA DE MEDICAMENTOS CADUCOS EN DIFERENTES CONCENTRACIONES.

(Ver 5.2.7, sustrato celulosa)

CAPITULO 6

RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 COMPORTAMIENTO DASS A TEMPERATURA MESOFILICA Y TERMOFILICA.

6.1.1 Inóculo

La digestión anaerobia del inóculo usado en los diferentes DASS se aclimató a temperaturas de 35° y 55° respectivamente. Las Figura 7 y 8 muestran la cantidad de inóculo que se manejo en el interior de cada DASS tanto a temperatura mesofilicas como termofilicas a lo largo del tiempo de experimentación. En el caso de DASS mesofilicos (Figura 7) solo se muestran los digestores DASS-1M y DASS-2M debido a que los digestores DASS-3M y DASS-4M faltantes no alcanzaron una estabilidad aceptable desde su arranque. Esto provoco que desde el inicio estos últimos DASS no registraran variaciones significativas en cuanto a la cantidad de inóculo interno a causa de factores como acumulación de AOV los cuales al inhibir el proceso metanogenico inhiben la degradación biológica de los residuos y producción de biogás (Pohland y Kim, 1999 y Purcell, *et al.*, 1997) permitiendo la casi nula variabilidad de la cantidad de inóculo en el interior de ambos digestores, motivo por el cual se omiten en dicha figura. En cuanto a los DASS termofilicos (Figura 8) se observa que los digestores DASS-3T y DASS-4T registran mediciones posteriores a los digestores DASS-1T y DASS-2T lo cual es a causa de que el arranque de ambos digestores se inicio en tiempos diferentes.

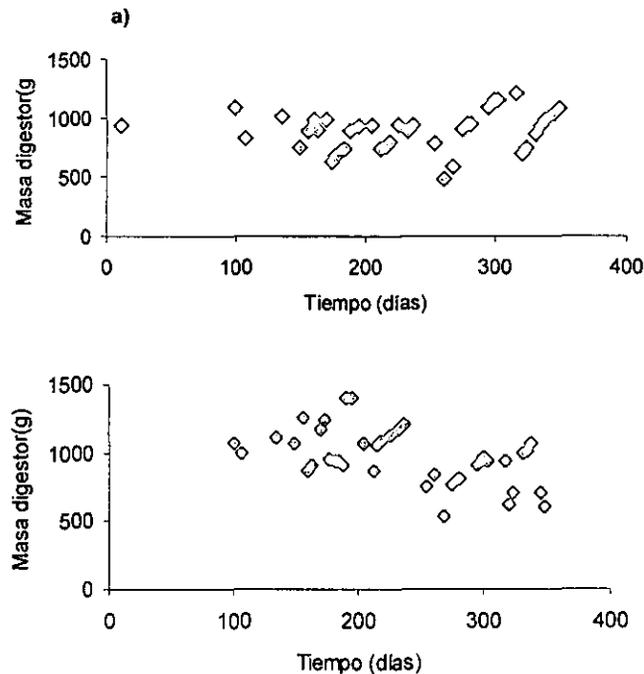


Figura 7. Contenido de inóculo en DASS a temperatura mesofilica a través del tiempo
a) DASS-1M/35°C, b) DASS-2M/35°C

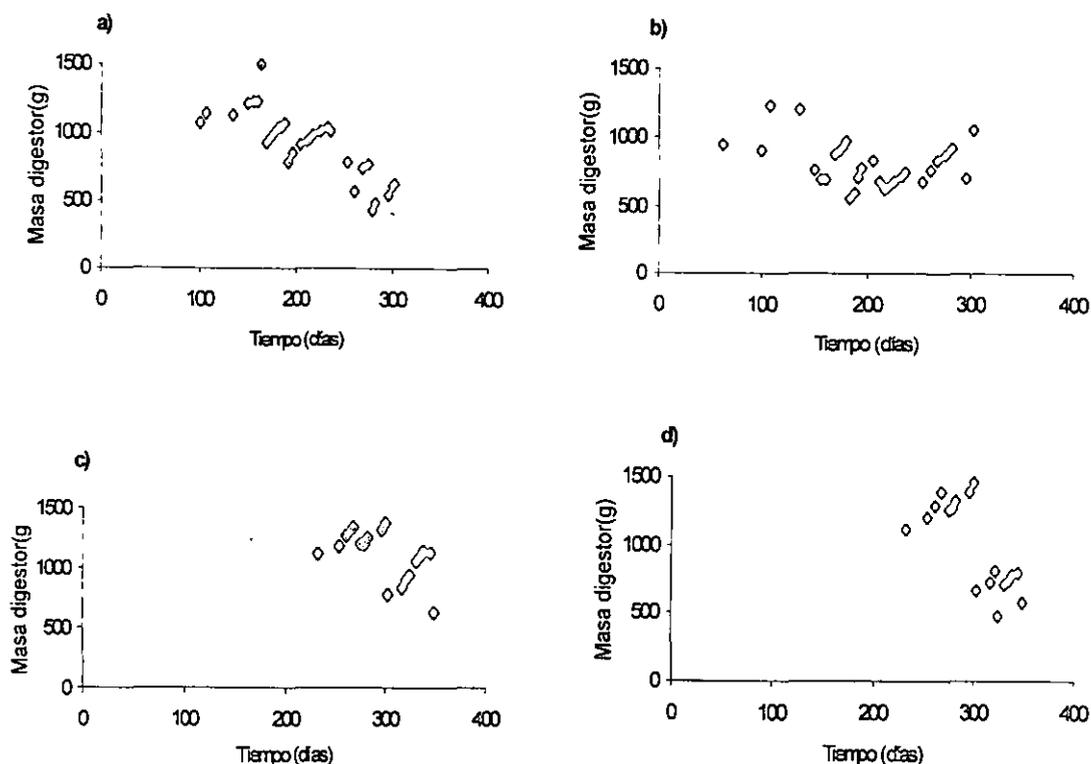


Figura 8. Contenido de inoculo en DASS a temperatura termofilica a través del tiempo.
 a) DASS-1T/55°C, b) DASS-2T/55°C, c) DASS-3T/55°C, d) DASS-4T/55°C

Analizando las Figuras 7 y 8 tenemos que la masa interna en cada uno de los digestores y para ambos rangos de temperatura presenta variaciones fluctuantes de digestor a digestor y a través del tiempo. Estas variaciones pueden estar dadas tanto por la degradación biológica de los residuos propia del sistema (producción de biogás) como por la alimentación constante de cada digestor y/o por la extracción del inoculo necesario y requerido en cada prueba de AME.

A pesar de las variaciones registradas en las Figuras 7 y 8, los digestores mesofílicos presentaron una mayor estabilidad en cuanto a él mantenimiento de la cantidad de inoculo interno en comparación con los digestores termofílicos los cuales presentaron una tendencia de constante perdida del inoculo interno conforme avanza el tiempo de experimentación bajo las mismas condiciones de manejo. Por un lado esto puede representar una desventaja en cuanto a que los digestores termofílicos tienden a perder una mayor cantidad de inoculo que los digestores mesofílicos a través del tiempo, sin embargo también nos podría estar reflejando que quizá los procesos anaerobios a temperaturas termofílicas estén siendo más eficiente que a condiciones mesofílicas en cuanto a la degradación biológica de los residuos y/o a la producción de biogás lo que de algún modo justifique la perdida mas acelerada de inoculo a temperaturas de 55° que de 35°C. Otra de las posibles causas de la variación del inoculo contenido en los digestores termofílicos comparado con los digestores mesofílicos podría estar dada por la diferencia de temperaturas manejadas, donde está ultima es mucho más elevada en condiciones termofílicas que en mesofílicas lo que según Gallert y Winter, 1997 puede favorecer la perdida más acelerada de humedad a causa de mayor evaporación de agua dentro del sistema o a que aparentemente mayor cantidad de proteínas son degradadas a temperaturas termofílicas de 55°C.

6.1.2 pH

La Figura 9 muestra los valores de pH registrados en el inoculo de los diferentes digestores a ambos rangos de temperatura durante el periodo de experimentación. En ella se observa que desde el arranque de cada DASS se procuro mantener el desarrollo del proceso anaerobio en condiciones neutras de pH (7.0) con la finalidad de mantener un balance adecuado entre las diferentes fases del proceso y el desarrollo de los consorcios metanogénicos involucrados, aunque esto no fue posible en algunos digestores (DASS-2M, DASS-3M) que tanto a condiciones mesofilicas como termofilicas registraron caídas constantes de pH.

En su mayoría las bacterias metanogénicas presentan un crecimiento optimo en condiciones de pH neutro (6.8 - 7.8) pero constantemente este pH tiende a ser amenazado por una serie de factores como substratos, temperatura, cambios por la producción o consumo de productos, etc., que llegan a modificarlo provocando alteraciones en el proceso de digestión anaerobia (Nopharatana *et al.*, 1998; Penaud *et al.*, 1997; Purcell *et al.*, 1997; Pohland y Kim, 1999). Las constantes mediciones de pH nos permiten evaluar posibles desbalances en las fases acidogénicas y metanogénicas de procesos anaerobios en ambientes de relleno sanitario (Nopharatana, *et al.*, 1998; Penaud, *et al.*, 1997; Pohland y Kim, 1999; Purcell, *et al.*, 1997) y fue una de las principales herramientas empleadas para monitorear el comportamiento de dicho proceso en cada uno de los DASS.

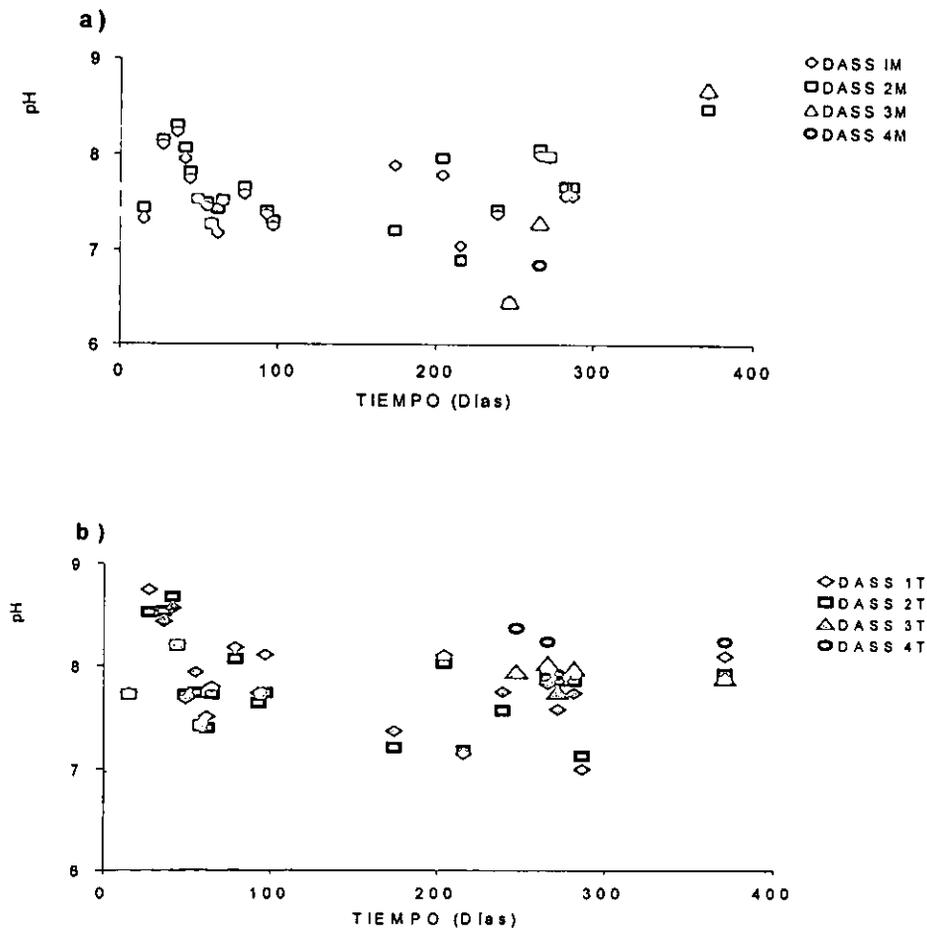


Figura 9. Valores de pH en DASS a temperatura mesofilica y termofilica a través del tiempo.
a) 35°C, b) 55°C

Si comparamos el pH registrado en cada uno de los DASS para ambas temperaturas tenemos que para los DASS-1M, DASS-2M, DASS-3T y DASS-4T el pH se mantuvo constante dentro de intervalos neutros (7.0-7.5) a lo largo del periodo de experimentación, sin embargo este patrón no se presentó en todos los digestores como fue el caso de los DASS-3M, DASS-4M, DASS-1T y DASS-2T a los cuales en algún momento del proceso hubo que agregar amortiguador (CaCO_3) a causa de decrementos de pH (inferiores a 7.0). Purcell, *et al.*, 1997 y Poggi, 1999 (conversación personal) mencionan que la adición de estos amortiguadores (CaCO_3) la mayoría de las veces ayudan a evitar más la caída de pH en procesos de digestión anaerobia a causa de posible acumulación de AOV. Cabe mencionar que la adición de este tipo de amortiguadores a los digestores afectados -en algunos casos- como el de los DASS-1T y DASS-2T si favoreció el incremento de pH y el funcionamiento de los digestores durante cierto tiempo, sin embargo las caídas de pH en estos digestores continuaron decayendo hasta pH de 6.8 que entre otras cosas (acumulación de AOV, nula producción de biogás y nulo % CH_4 -como consecuencias biológicas-) impidieron el funcionamiento de estos alrededor de los 250 días después del arranque. A los DASS-3M y DASS-4M también se les realizó neutralizaciones con amortiguadores CaCO_3 , sin embargo a estos digestores no se les pudo controlar la caída constante de pH de hasta 6.5 lo que desde un principio impidió la estabilización de los mismos.

Algunas de las posibles causas de los constantes decrementos de pH en ambientes de relleno sanitario pueden ser causadas según Penaud, *et al.*, 1997 por acumulación de AOV dentro del sistema a lo que Barlaz, *et al.*, 1990 denomina un desequilibrio entre las fases fermentativa acidogénica y metanogénica del sistema. Nopharatana, *et al.*, 1998 describe esta inestabilidad en la digestión anaerobia como un desbalance en la velocidad o fase de crecimiento de bacterias acidogénicas acompañado de un bajo crecimiento en las bacterias acetogénicas y metanogénicas acetilclásticas provocando que se produzcan más AOV de los que en un determinado momento pueden ser consumidos, lo que ocasiona su acumulación dentro del sistema provocando la consecuente caída de pH. Lo anterior se refuerza con lo dicho por Purcell, *et al.*, 1997 quien encuentra que puede ocurrir inhibición microbiana en presencia de altas concentraciones de ácidos carboxílicos. Aunque en otras investigaciones haya sido posible la producción de CH_4 en condiciones ácidas de pH (5.5) (Purcell, *et al.*, 1997) en esta investigación esto no fue posible, pues la producción de CH_4 se inhibió totalmente a pH de 6.5. Esto nos podría estar indicando que para el tipo de inóculo manejado en los DASS es muy difícil que se pueda dar producción de CH_4 por debajo de pH de 7.0. Poggi, 1999 (conversación personal) recomendó la no manipulación de digestores acidificados hasta que el propio sistema consumiera la acumulación de AOV producidos, sin embargo tanto para el DASS-3M y DASS-4M como para los DASS-1T y DASS-2T esto no ocurrió aun después de terminada la fase de experimentación. Los resultados presentados nos permiten evaluar que el comportamiento del proceso anaerobio se presentó similar a temperaturas mesofílicas como termofílicas, lo que puede indicar que a ambas temperaturas existe la misma probabilidad de funcionamiento adecuado o acidificación del proceso anaerobio al menos en término del tipo de DASS aquí manejado.

6.1.3 Biogás

Por definición los residuos putrescibles contienen una gran proporción de carbón degradable. En el caso de RSM la masa degradable y el carbón utilizable han sido estimados en experimentos a escala laboratorio y se calcula que la producción máxima teórica de biogás de estos residuos oscila entre los 200-300 m^3/ton RSM asumiendo que este gas contiene predominantemente CH_4 y CO_2 y donde según Walker, *et al.*, 1997 la producción de biogás vía metanogénica es requerida para reutilizar la mayor parte del carbón orgánico degradable de los RSM. Des esta forma si digestores como los DASS contienen parte importante de RSM es factible que se registre una producción alta de biogás.

Las Figuras 10 y 11 muestran la productividad de biogás en DASS mesofílicos y termofílicos registrados. En ellas se puede notar una marcada fluctuación del biogás producido desde el arranque de los digestores y a lo largo de los días de experimentación. En un principio la producción de biogás en ambos DASS y para ambos rangos de temperatura tendió a incrementarse paulatinamente durante los primeros 3 meses de estabilización después de los cuales se incrementaron notablemente las fluctuaciones en la producción de biogás. Esta variabilidad en la producción de biogás se presentó similar para ambos rangos de temperatura.

En digestores mesofílicos como DASS-1M y DASS-2M y en termofílicos DASS-1T, DASS-2T, DASS-3T y DASS-4T la producción de biogás fue constante mientras que en los digestores mesofílicos DASS-3M y DASS-4M no fue posible lograr su estabilización desde el arranque a causa de acumulación de AOV y decremento de pH de hasta 6.8 y 7.0, respectivamente lo que de entrada impidió la

producción de biogás en estos últimos (ver Figura 10). Esto mismo ocurrió con los digestores DASS-1T y DASS-2T pero alrededor de 9 meses después del arranque, donde la producción de biogás decreció notablemente hasta llegar a ser nula (Ver Figura 11).

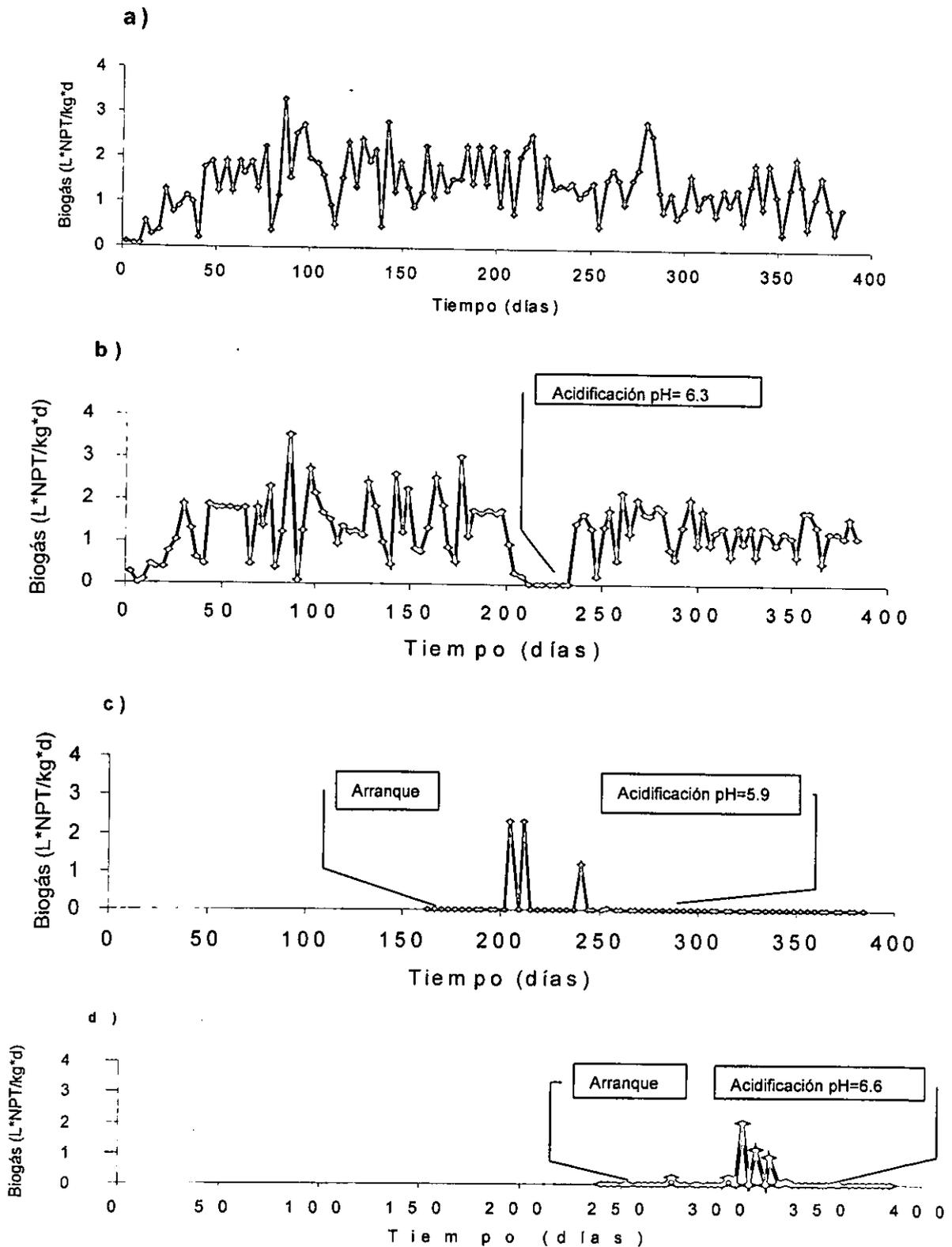


Figura 10. Comportamiento de la producción de biogás normalizada en litros (L*NPT) por kg de inoculo por día en DASS a 35°C a través del tiempo.

a) DASS-1M, b) DASS-2M, c) DASS-3M, d) DASS-4M

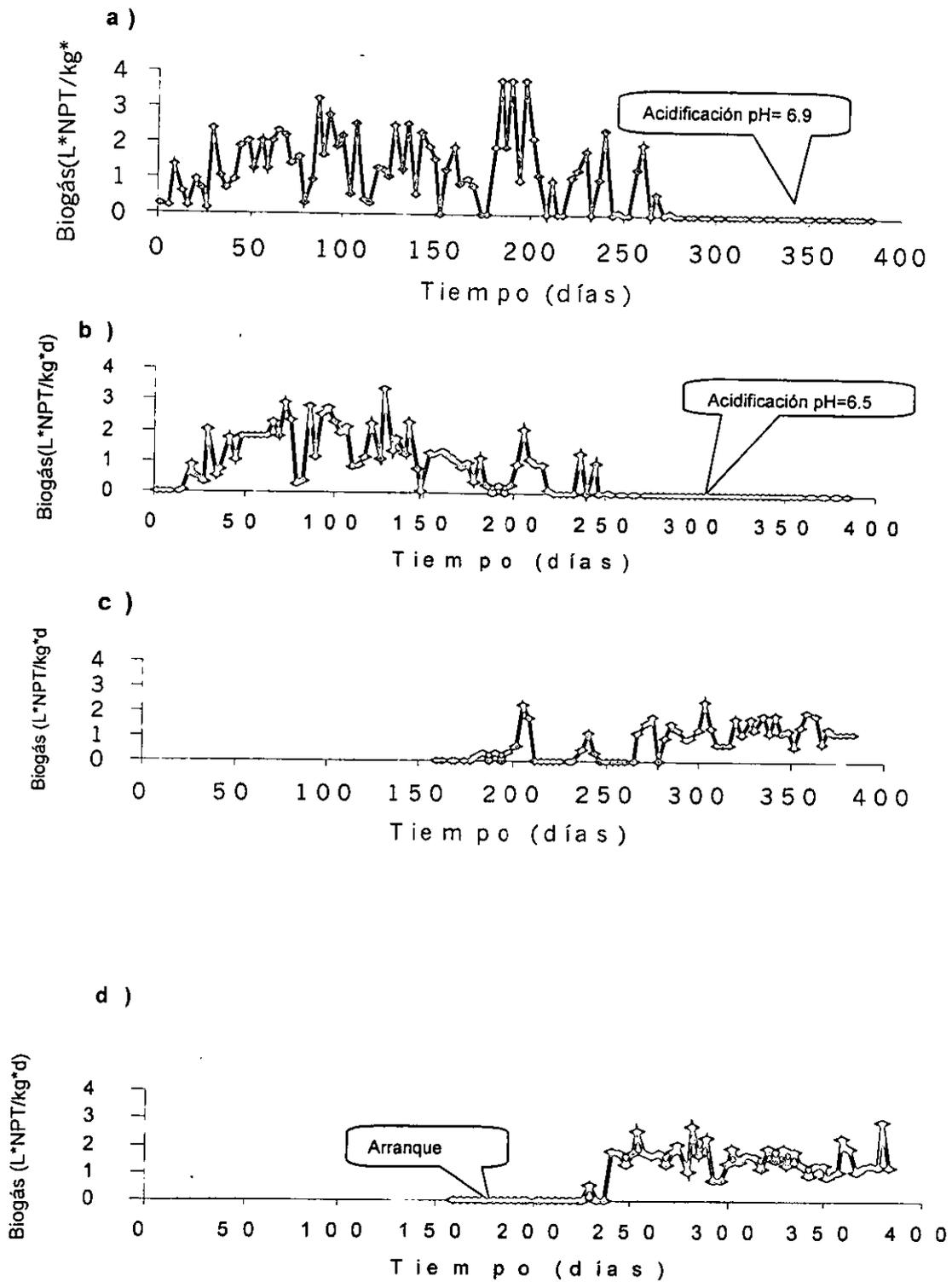


Figura 10. Comportamiento de la producción de biogás normalizada en litros (L*NPT) por kg de inóculo por día en DASS a 55°C a través del tiempo.
 a) DASS-1T, b) DASS-2T, c) DASS-3T, d) DASS-4T

Dentro de los principales factores que pudieron haber afectado la producción de biogás en los digestores está el contenido de humedad, pues según Purcell, *et al.*, 1997 es uno de los factores más importantes que afectan tanto la producción de biogás como la degradación de los residuos en ambientes de rellenos sanitarios. El menciona que la humedad es necesaria para el establecimiento de la población microbiana anaerobia y que provee el transporte de sustratos orgánicos y nutrientes requeridos para el desarrollo de las condiciones metanogénicas. Lo cual nos indica que posiblemente la pérdida constante de humedad en los digestores a causa de temperaturas elevadas - mayor aun en condiciones termofílicas - pudo haber sido una de las causas de la variabilidad registrada en los digestores a ambas temperaturas.

Cabe resaltar que se procuró que todos los digestores aquí manejados se les mantuviera a un 65 % de humedad (aunque la Figura 16 muestra que efectivamente se registro variabilidad en el % de humedad manejada en los digestores), sin embargo Purcell, *et al.*, 1997 menciona que con un incremento del 75 % de humedad resulta en un aumento de hasta el doble en cuanto a la conversión de materia orgánica en CH₄, sin embargo recordemos que el inoculo aquí manejado debió mantener una consistencia sólida y es por ello que un incremento en el contenido de humedad variaría su consistencia y este ya no podría ser considerado inoculo DASS. Otros factores que pudieron haber afectado momentáneamente la producción de biogás son la acumulación de AOV acompañados de la caída de pH, las características propias de los residuos empleados (Purcell, *et al.*, 1997), mayores TRM manejados y a la disolución de CO₂ dentro del agua suspendida en la base de los digestores (Kübler y Nimmrichter, 1999).

Realizando comparaciones entre ambos rangos de temperatura Kübler y Nimmrichter, 1999 mencionan que la actividad microbiológica es más alta en rangos termofílicos que mesofílicos, sin embargo ambos digestores en escala técnica pueden ser designados para una operación estable considerando fluctuaciones temporales en la generación y composición de RSM. La influencia del TRM sobre la producción de biogás a ambas temperaturas fue similar. A temperaturas mesofílicas se manejo un TRM promedio de 62 días, mientras que a temperatura termofílicas se manejo un TRM de 63 días. Comparando con otras investigaciones el TRM manejado en esta investigación fue muy alto y considero que esta es una de las principales causas de variabilidad en la producción de biogás de los digestores. Lo anterior es apoyado por Kübler y Nimmrichter, 1999 que mencionan que conforme se incrementa el tiempo de TR la velocidad de incremento de la producción de CH₄ es menor y que puede ser confirmada por la acumulación de AOV dentro del digestor.

6.1.4 Porcentaje de metano (% CH₄) en biogás.

Con la consecuente medición de la producción de biogás, se efectuaron mediciones periódicas del % CH₄ contenido en el mismo en cada uno de los digestores. Las Figuras 12 y 13 muestran el % de CH₄ para cada DASS a ambos rangos de temperatura. En ellas se observa que desde el arranque de los digestores los % de CH₄ se presentaron bajos de acuerdo con lo reportado por Poggi, *et al.*, 1997¹ y Purcell, *et al.*, 1997 quienes mencionan que generalmente el % de CH₄ en biogás oscila entre un 50 – 60 %. La baja concentración de CH₄ en el biogás en los primeros meses después del arranque de los DASS puede ser atribuida a la fase de estabilización de los digestores, etapa en la cuál por aclimatación del consorcio bacteriano a las condiciones establecidas puede causar una baja producción tanto del biogás como de sus componentes, aunque Poggi, 1998 (conversación personal) menciona que generalmente para sistemas de tipo DASS se requieren alrededor de 3 meses después del arranque para lograr una estabilización que permita el adecuado desarrollo de los procesos inherentes a la digestión anaerobia en cada digestor, lo que para efecto de esta investigación solo justifica el bajo % de CH₄ registrado en los DASS a ambas temperaturas durante los primeros meses pero no el de los meses subsiguientes, donde hasta alrededor de los 10 meses después del arranque se obtuvieron registros que van desde 0 – 40 % de CH₄ en el biogás de los diferentes digestores.

Este patrón de bajo % de CH₄ se presenta de forma similar para digestores mesofílicos como termofílicos. Sin embargo hay que mencionar que tanto en condiciones mesofílicas como termofílicas se logró registrar los porcentajes óptimos de CH₄ (50 – 60 %) reportados para este tipo de sistemas solo que estas concentraciones de CH₄ se registraron alrededor de los 300 días después del arranque. También se encontró que de acuerdo con parámetros como producción de biogás, % de CH₄, pH, ST (STF y STV) y AOV los digestores que presentaron un desarrollo más estable fueron los digestores mantenidos en condiciones mesofílicas DASS-1M y DASS-2M, mientras que los digestores termofílicos tendieron a registrar decrementos en el % de CH₄ en biogás después de los 350 días de uso, incluso digestores como el DASS-1T y el DASS-2T registraron decrementos constantes de biogás y CH₄ hasta volverse nulos después de los 300 días de actividad. Los digestores mesofílicos DASS-3M y DASS 4M desde su arranque registraron acumulación de AOV y₂₉ decremento de pH lo que pudo haber sido la causa

de la no producción de CH₄ desde su arranque. Los DASS-3T y DASS-4T termofilicos presentaron también una variabilidad desde su arranque con respecto a los % de CH₄ solo que estos presentaron producción constante de biogás y CH₄ durante todo el tiempo que duro la investigación.

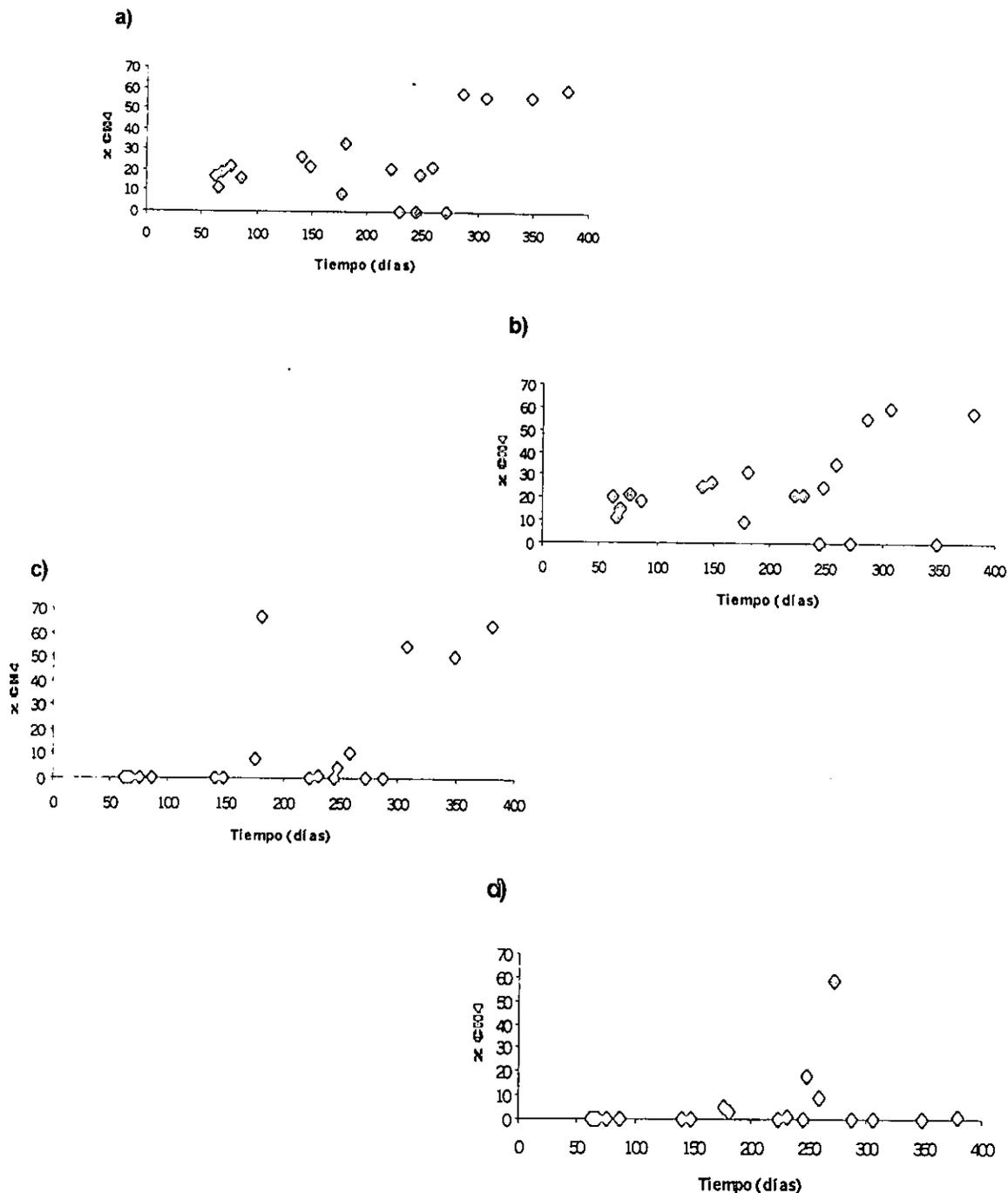


Figura 12. Porcentaje de metano (% CH₄) en biogás de DASS mesofilicos
 a) DASS-1M/35°C, b) DASS-2M/35°C, c) DASS-3M/35°C, d) DASS-4M/35°C.

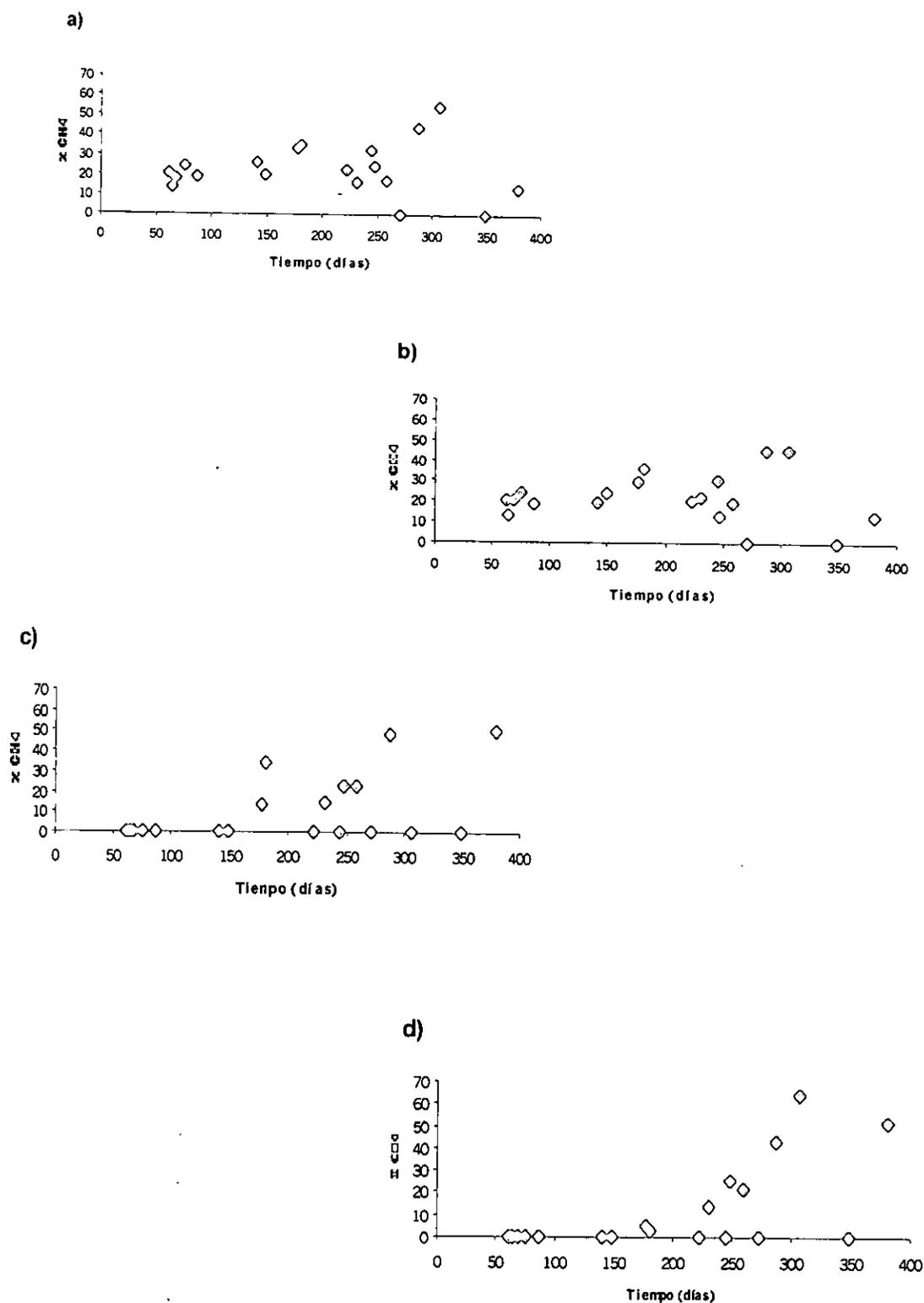


Figura 13. Porcentaje de metano (% CH₄) en biogás de DASS termofílicos
 a) DASS-1T/55°C, b) DASS-2T/55°C, c) DASS-3T/55°C, d) DASS-4T/55°C.

Como sabemos el % de CH₄ es el primer producto terminal de una serie de reacciones mediadas biológicamente que involucra la descomposición de residuos en ambientes de relleno sanitario (Barlaz, *et al.*, 1990), sin embargo durante el desarrollo de dichas reacciones varios factores pueden provocar desbalances que afecten directa e indirectamente la estabilidad de dichos procesos y por consecuencia a sus productos. Barlaz, *et al.*, 1990 menciona que la producción de CH₄ en ambientes de relleno sanitario se puede ver inhibida por la acumulación de ácidos aunada a una baja población de bacterias metanogénicas en los residuos frescos, los cuales no son capaces de metabolizar dichos ácidos a la velocidad con que son producidos provocando acumulación de AOV y decrementos de pH. Al parecer esta pudo haber sido una de las principales causas de la no estabilización de digestores como el DASS-3M y DASS-4M quienes desde el arranque registran acumulación de AOV (Ver Figuras 14, 15 y 16). Otro factor que pudo haber afectado la baja y variada producción de CH₄ en digestores mesofílicos y termofílicos es el TRM que como se menciona con anterioridad fue de 61 y 63 días respectivamente, lo que de entrada hasta el momento no se han reportado como TR utilizados en procesos de digestión anaerobia y los cuales son producto del largo periodo de estabilización de los digestores al menos en términos del % de CH₄ en biogás, incluso Kübler y Nimmrichter, 1999 mencionan que entre más corto sea el TR se puede favorecer el % CH₄ en biogás.

Trabajos como los de Purcell, *et al.*, 1997 y Pohland y Kim, 1999 mencionan que tanto la producción de CH₄ como la estabilidad de dicho proceso puede ser afectado por otros factores como son los decrementos de pH a causa de acumulación de ácidos carboxílicos, cambios en la concentración de nutrimentos esenciales para el metabolismo bacterial, a la homogeneidad y composición de los residuos y a la interacción entre él inoculo y la temperatura los cuales según Poggi, *et al.*, 1997¹ resultan ser muy significantes e incluso determinantes en la evolución de procesos con digestión anaerobia.

6.1.5 Ácidos Orgánicos Volátiles (AOV).

La digestión anaerobia es un reconocido proceso que puede ser usado para el tratamiento de altas concentraciones de residuos orgánicos de forma efectiva y simultáneamente recuperar energía en forma de biogás, sin embargo se pueden presentar problemas durante el arranque y/o la operación del proceso anaerobio (Gijzen, *et al.*, 1988; Huysman, *et al.*, 1983). Esto depende la mayoría de las veces de la baja velocidad de crecimiento y la sensibilidad a variaciones en el pH de bacterias metanogénicas (Rozzi, 1991). Uno de los indicadores frecuentemente investigados para monitorear el proceso de digestión anaerobia es la cantidad de ácidos orgánicos volátiles (AOV) pues en la mayoría de las veces de su concentración en el sistema depende la estabilidad del proceso anaerobio (Björnsson, *et al.*, 1997).

Las concentraciones de AOV para cada uno de los digestores a ambos rangos de temperatura se muestran en la Tabla 7. Estos mismos valores se representan gráficamente para cada DASS mesofílicos en la Figuras 14 y para DASS termofílicos en la Figura 15. Cabe mencionar que el ácido acético no se menciona a causa que en las diferentes determinaciones efectuadas en cada DASS su concentración se encontró por debajo del umbral de detección de la técnica empleada. Björnsson, *et al.*, 1997 menciona que los AOV son importantes intermediarios del proceso de degradación anaerobia, por lo tanto su presencia en este tipo de sistemas no puede dejar de ser evaluada, en especial los ácidos acético, propiónico y butírico a los cuales se les considera como parámetros de control optimo debido a que pueden ser indicadores del estado metabólico de los grupos microbiales más delicados del proceso anaerobio como lo son las bacterias acetogénicas obligadas productoras de hidrogeno y las metanogénicas acetoclásticas. Lo anterior podría indicar que para el caso de esta investigación el hecho de no registrar uno de los AOV más comunes en procesos anaerobios como lo es el ácido acético haya sido una de las principales causas del desbalance del proceso metanogénico tanto a temperaturas mesofílicas como termofílicas a causa de posibles daños metabólicos de los consorcios bacteriales involucrados. Cechi y Mata-Alvarez 1991 menciona que la bacteria acetoclástica se puede ver inhibida por la presencia de ciertas concentraciones de AOV, al igual que la producción de ácido isobutírico durante la fases fermentativas y metanogénicas del sistema.

Como se ha venido viendo anteriormente la concentración de AOV en sistemas con ambientes de relleno sanitario afectan agudamente el desarrollo del proceso y más aun cuando su concentración tiende a incrementarse (Angelidaki y Ahring, 1999; Kubler y Nimmrichter, 1999; Björnsson, *et al.*, 1997; Poggi, *et al.*, 1997²). Realizando el análisis de los resultados obtenidos encontramos que efectivamente altas concentraciones de AOV pueden inhibir los procesos de digestión anaerobia en las últimas fases (metanogénica acetoclástica y metanogénica). Esto ³² se deduce de las comparaciones realizadas entre el

pH (Figura 9), la producción de biogás (Figuras 10 y 11), el % de CH₄ (Figuras 12 y 13) y la producción de AOV (Figuras 14 y 15), donde se encontró que efectivamente digestores como los DASS-3M y DASS-4M no alcanzaron una estabilidad aceptable durante la fase de experimentación a causa de que presentan una mayor concentración de AOV como el ácido butírico y el propiónico en comparación con los otros digestores, los cuales alcanzaron concentraciones de hasta 180 mg/kg inoculo (wb) y 414 mg/kg inoculo (wb) respectivamente. Dichas concentraciones equivalen a un incremento en la concentración de AOV de hasta un 68 % para ácido butírico y un 73 % para ácido propiónico con respecto a los otros DASS manejados bajo las mismas condiciones (DASS-1M y DASS-2M) (Ver Tabla 7). Cabe que tanto el ácido butírico como el ácido propiónico se registraron con mayor concentración en el DASS-3M. Para el caso de los digestores termofílicos DASS-1T y DASS-2T donde al igual que los DASS anteriores se registro una inhibición del proceso metanogenico solo que después de aproximadamente los 250 días de iniciado el arranque, también se registraron altas concentraciones de AOV comparadas con las encontradas en los DASS-3T y DASS-4T manejados en las mismas condiciones. Las concentraciones de AOV registradas para los DASS-1T y DASS-2T fueron de hasta 97 mg/g inoculo (wb) en el caso de ácido butírico y de hasta 210 mg/g inoculo para el ácido propiónico lo que representa un incremento en la concentración de AOV de hasta el 35 % para el ácido butírico y un 36.5 % para el ácido propiónico si los comparamos con los DASS-3T y DASS-4T (Ver Tabla 7). Además solo en estos digestores fue posible registrar otros AOV como el ácido isobutírico el cual se presento en concentraciones de 0.018 mg/g inoculo (wb) en el DASS-1T y el ácido valérico presente en el DASS-2T en una concentración de 0.9 mg/g inoculo (wb) (Ver Figura 15). Cabe mencionar que de acuerdo con lo anterior los digestores que presentaron mayor cantidad de AOV registrados son los DASS-1T y DASS-2T (Ver Tabla 7). Poels, *et al.*, 1984 menciona que se han reportado casos donde por acumulación de ác. propiónico decrece la producción de biogás en procesos de digestión anaerobia.

Para el caso de digestores con producción constante de biogás como las DASS-1M, DASS-2M, DASS-3T y DASS-4T también se registraron ciertas concentraciones de AOV como el ácido butírico y el ácido propiónico, solo que estas se presentaron en concentraciones menores a los demás digestores (Ver Figuras 14 y 15), lo que de algún modo refleja que quizá en estos DASS si se mantuvo un balance más adecuado entre las diferentes fases del proceso anaerobio.

La evaluación de la concentración de AOV mostró el mismo patrón inhibitorio tanto en temperaturas mesofílicas como termofílicas, aunque en general la mayor concentración de AOV fueron registradas a temperaturas mesofílicas y a lo que Kübler y Nimmrichter, 1999 atribuyen a posibles sobrecargas de residuos orgánicos, aunque quizá también este desbalance pudo haber sido ocasionado por un crecimiento desequilibrado de bacterias hidrolíticas y fermentativas durante las primeras fases del proceso anaerobio (Angelidaki y Ahring, 1999). También Penaud, *et al.*, 1997 atribuye la concentración de AOV a la concentración del sustrato, incluso menciona que estos pueden llegar a ser proporcionales.

Otro de los factores que pudo provocar el desbalance del consorcio metanogenico a temperaturas mesofílicas y termofílicas pudo ser el alta TRM manejado, pues según autores como Kubler y Nimmrichter, 1999 reportan que alrededor de los 12 días de TR promedio el contenido de AOV durante la digestión termofílica y mesofílica puede mostrar una estabilización anaerobia extensa de las substancias orgánicas, lo que nos indica que quizá al manejar TRM más cortos favorezcan el desarrollo metanogenico de los consorcios involucrados en sistemas DASS, aunque cabe resaltar que en este trabajo el TRM manejado estuvo condicionado por otros factores como el contenido de CH₄ en el biogás debido a que se espero a que se registrara alrededor de un 60 % de este compuesto.

Tabla 7. Contenido de ácidos orgánicos volátiles (AOV) en DASS a temperatura mesofílica y termofílica.

DASS	Temp °C	DIAS	AC. BUTIRICO		AC. ISOBUTIRICO	AC. PROPIONICO		AC. VALERICO
			(mg/kg inoculo wb)	%		(mg/kg inoculo wb)	(mg/kg inoculo wb)	
1M	35	204	21.6	12	ND	7.74	1.86	ND
		216	1.8	1	ND	10.8	2.60	ND
		231	0.018	0.01	ND	0.018	0.0043	ND
		262	57.6	32	ND	104.4	25.21	ND
		268	1.8	1	ND	72	17.39	ND
		282	0		ND	0.018	0.0043	ND
2M	35	204	19.8	11	ND	6.66	1.60	ND
		216	16.2	9	ND	86.4	20.86	ND
		262	57.6	32	ND	109.8	26.52	ND
		268	3.6	2	ND	79.2	19.13	ND
		272	1.062	0.59	ND	2.16	0.52	ND
		282	0		ND	0.018	0.0043	ND
3M	35	204	0.018	0.01	ND	0.018	0.0043	ND
		262	48.6	27	ND	102.6	24.78	ND
		268	180	100	ND	324	78.26	ND
4M	35	268	28.8	16	ND	414	100	ND
1T	55	216	16.2	9	ND	84.6	20.43	ND
		231	0.018	0.01	0.018	0.018	0.0043	ND
		272	45	25	ND	64.8	15.65	ND
		282	3.24	1.8	ND	6.48	1.56	ND
2T	55	44	0.018	0.01	ND	0.018	0.0043	ND
		204	43.2	24	ND	23.4	5.65	ND
		216	97.2	54	ND	43.2	10.43	ND
		231	30.6	17	ND	210.6	50.86	0.9
		272	61.2	34	ND	97.2	23.47	ND
3T	55	262	59.4	33	ND	109.8	26.52	ND
		272	3.06	1.7	ND	4.5	1.08	ND
4T	55	262	63	35	ND	135	32.60	ND
		268	0.018	0.01	ND	0.018	0.0043	ND
		272	15.66	8.7	ND	1.26	0.30	ND

ND= No se Detecta
Wb= Base húmeda

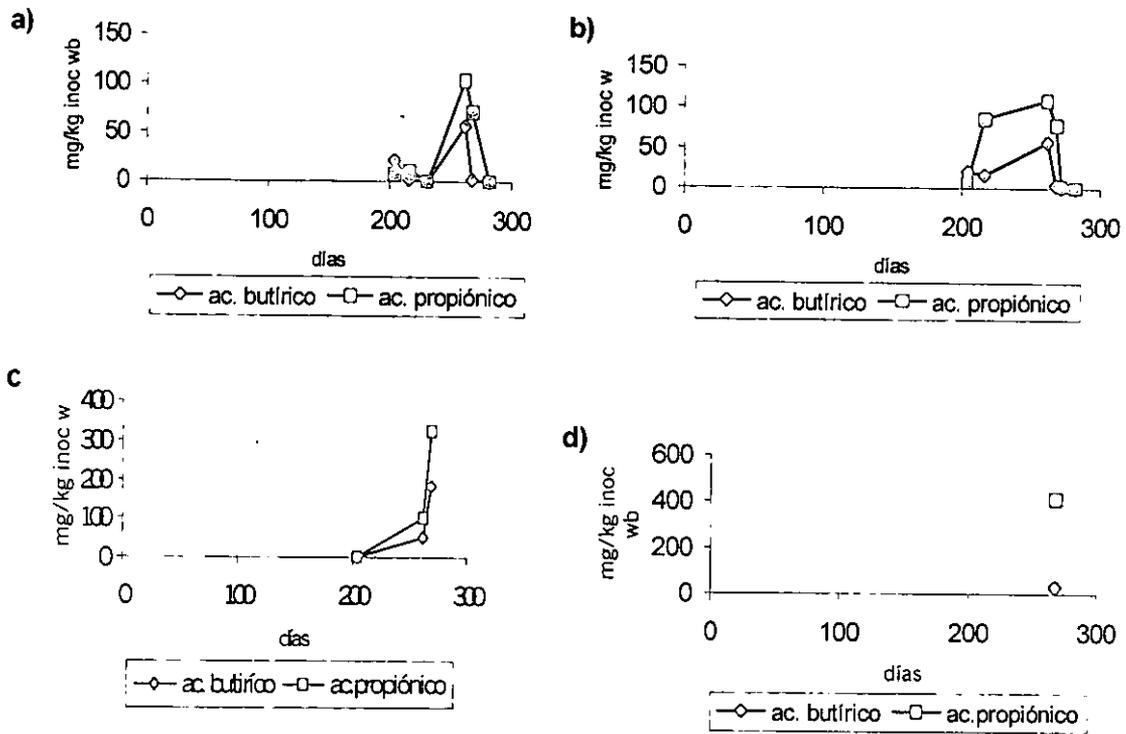


Figura 14. Contenido de AOV en DASS mesofílicos (35°C)
DASS-1M, b) DASS-2M, c) DASS-3M d) DASS-4M

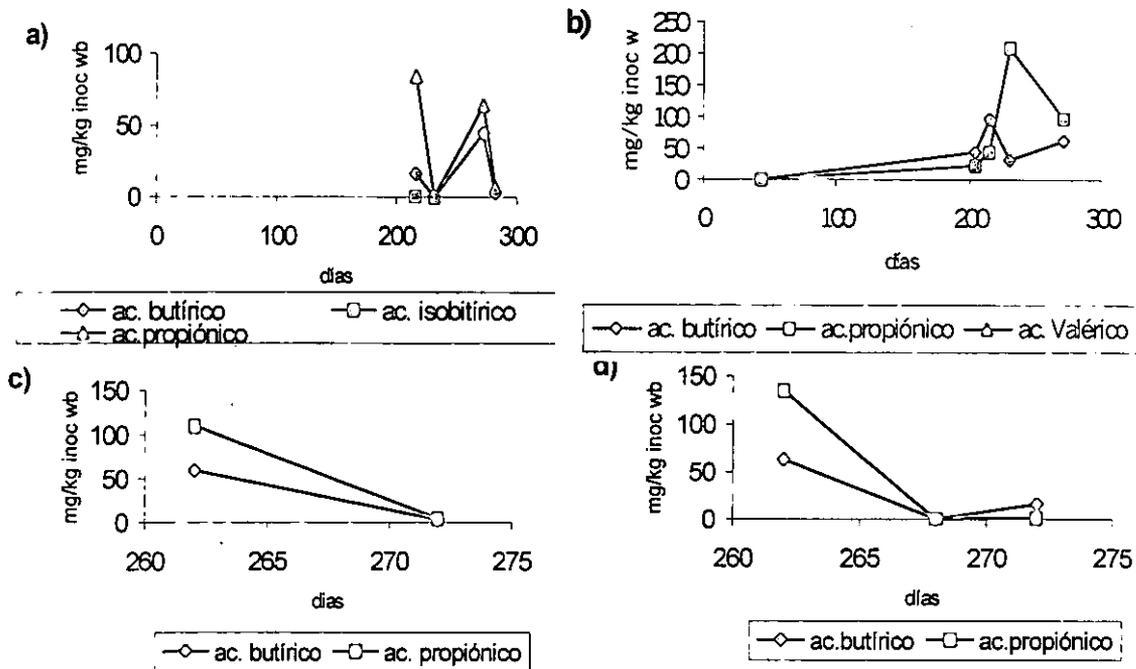


Figura 15. Contenido de AOV en DASS termofílicos (55°C)
a) DASS-1T, b) DASS-2T, c) DASS-3T d) DASS-4T

6.1.6 Contenido de Sólidos Totales (ST).

Simultáneamente a las mediciones de pH, AOV, etc., el contenido de ST fue determinado. De este parámetro se evaluaron tanto los STV como los STF y el contenido de humedad en cada una de las muestras. Los valores netos de la determinación de ST y humedad se expresan en las Tabla 8, mientras que los valores de STF y STV se muestran en la Tabla 9. Los valores promedio del contenido de ST, STF, STV y humedad se muestran en la Figura 16. Estos mismos valores se representan gráficamente en la Figura 17 para DASS mesofílicos y en la Figura 18 para DASS termofílicos. De acuerdo con los valores obtenidos el contenido de ST para ambos rangos de temperatura tanto mesofílica como termofílica registró una tendencia a reducir su contenido durante el periodo de experimentación (Ver Figura 16) lo cual puede ser a causa de que si hubo una degradación biológica de los residuos orgánicos dentro de los diferentes DASS a lo largo del tiempo. Los STF también registraron una constante reducción conforme transcurrió el tiempo mientras que el contenido de STV tendió a incrementarse de manera proporcional a la pérdida de STF. Con respecto al contenido de humedad este se mantuvo constante tanto en condiciones mesofílicas como termofílicas y en cada uno de los digestores (Ver Tabla 8).

Una de las principales causas a las que se les puede atribuir la variabilidad constante en el contenido de STF y STV según Kubler y Nimrichter, 1999 es por cambios en la composición del sustrato de alimentación agregado a los digestores y aunque en este trabajo se procuró alimentar con el mismo tipo de sustrato posibles errores en el manejo de la mezcla o cambios en la concentración de materia orgánica, papel y/o lodos biológicos pudieron ser una de las principales causas de los cambios registrados.

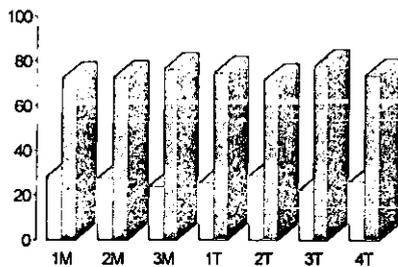
Tabla 8. Porcentaje de sólidos totales (ST) y humedad para cada DASS a temperatura mesofílica y termofílica

		%ST				%HUMEDAD									
Temp °C	35			55			Temp °C	35			55				
DASS DIAS	1M	2M	3M	1T	2T	3T	4T	DASS DIAS	1M	2M	3M	1T	2T	3T	4T
3	31.7	31.4		31.0	31.4			3	68.3	68.6		69.0	68.6		
15	30.5	30.5		10.4	34.4			15	69.5	69.5		89.6	65.6		
27	29.9	29.3		29.3	32.7			27	70.1	70.7		70.8	67.3		
36	24.0	24.5		21.8	23.5			36	76.0	75.5		78.2	76.6		
41	30.3	30.5		28.9	32.1			41	69.7	69.5		71.1	67.9		
44	30.9	27.5		28.9	31.0			44	69.1	72.5		71.1	69.0		
49	28.2	29.5		26.7	30.4			49	71.8	70.5		73.3	69.6		
55	28.5	28.0		26.2	28.3			55	71.5	72.0		73.8	71.7		
58	28.7	27.1		31.9	28.8			58	71.3	72.9		68.1	71.2		
273	22.0	20.3		23.7	21.4	22.5	27.4	273	78.0	79.7		76.3	78.6	77.5	72.6
371	24.1	24.9	23.7	20.5	19.2	21.6	25.1	371	76.0	75.1	76.3	79.5	80.8	78.4	74.9
Prom.	28.1	27.6	23.7	25.4	28.5	22.1	26.2	Prom.	71.9	72.4	76.3	74.6	71.5	77.9	73.8

Tabla 9. Porcentaje de sólidos totales fijos (STF) y sólidos totales volátiles (STV) para cada DASS a temperatura mesofílica y termofílica

Temp°C	% STF								Temp°C	% STV												
	35			55				35			55											
	DASS	1M	2M	3M	1T	2T	3T	4T		DASS	1M	2M	3M	1T	2T	3T	4T					
DIAS									DIAS													
3									3													
15	76.3	76.7	78.5								15	23.7	23.4	21.5								
27	76.7	75.6	78.6				79.3					27	23.3	24.4	21.4	20.7						
36	68.2	70.5	72.1				72.6					36	31.8	29.5	27.9	27.4						
41	68.1	65.8	71.8				72.3					41	31.9	34.2	28.2	27.7						
44	69.2	66.7	70.4				68.6					44	30.8	33.3	29.6	31.4						
49	68.4	56.4	64.8				69.4					49	31.6	43.6	35.2	30.6						
55	70.2	70.6	70.9				68.8					55	29.8	29.4	29.1	31.2						
58	67.8	68.3	68.4				62.5					58	32.2	31.7	31.6							
273	26.6	31.6	58.3				76.5	56.2	63.5					273	73.4	68.4	41.7	23.5	43.8	36.5		
371	21.1	28.3	24.2	28.0				27.9	32.9	33.8					371	78.9	71.7	75.8	72.0	72.1	67.1	66.2
Prom.	61.3	61.1	24.2	64.8				67.6	44.5	48.7					Prom.	38.7	38.9	75.8	35.2	32.4	55.5	51.3

a) □ % ST □ % HUMEDAD



b) □ % STF □ % STV

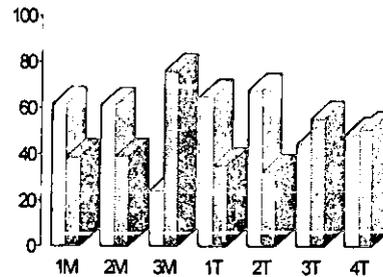


Figura 16. Contenido promedio de a) ST, humedad, b) STF y STV tanto para DASS mesofílicos como termofílicos

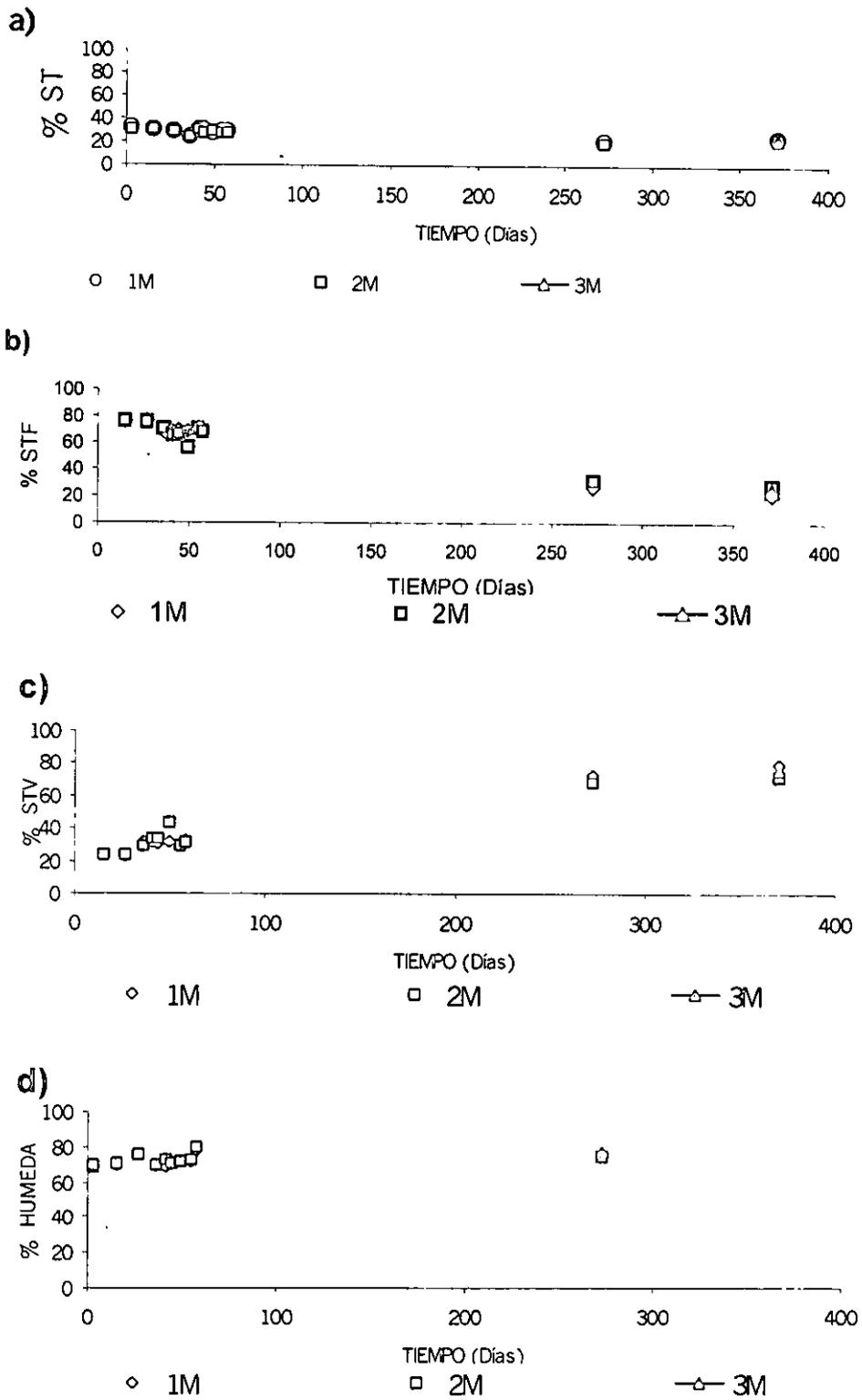


Figura 17. Contenido de ST (a), STF (b), STV (c) y humedad (d) en DASS mesofílicos (35°C)

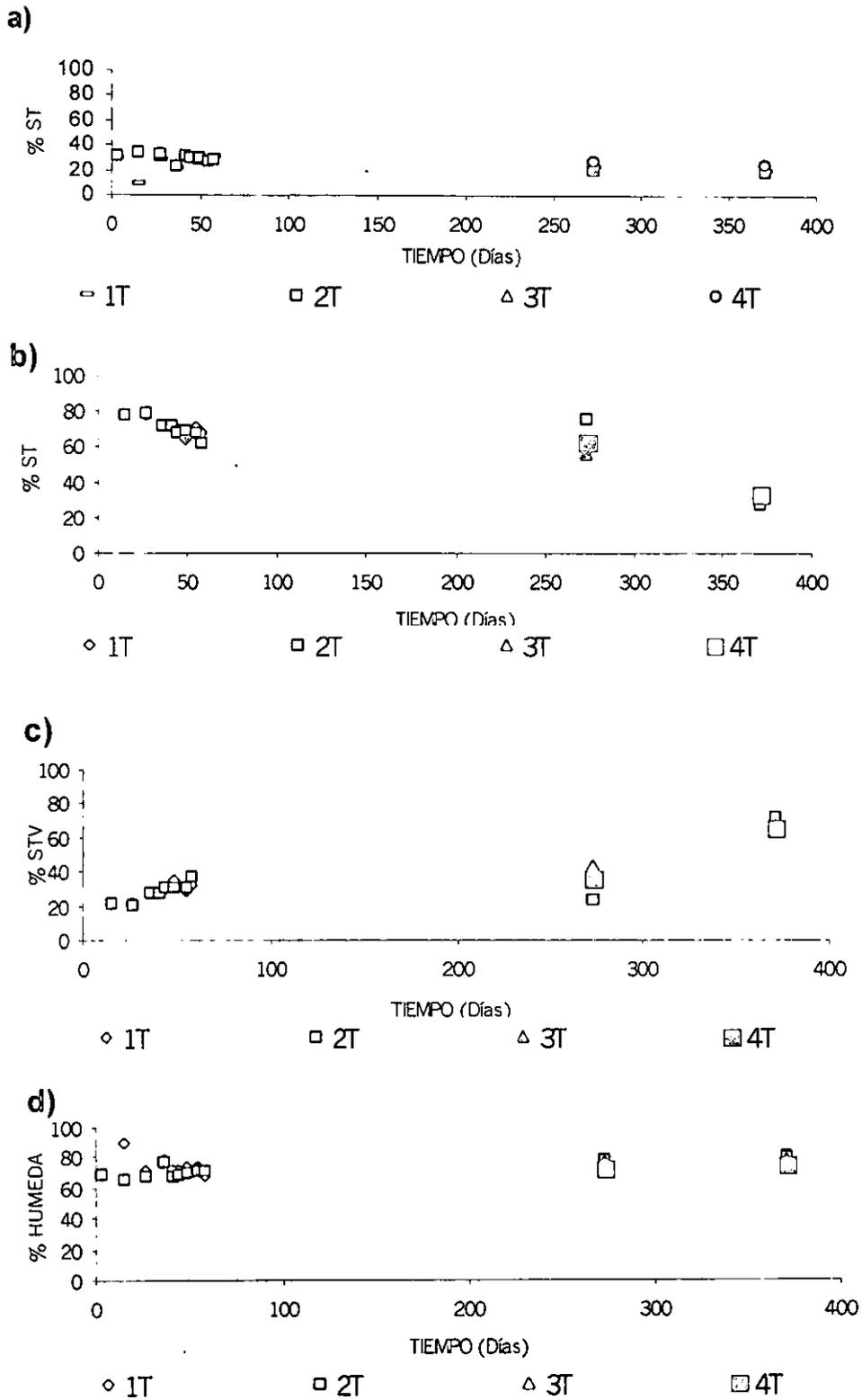


Figura 18. Contenido de ST (a), STF (b), STV (c) y humedad (d) en DASS termofilicos (55°C)

6.2 Evaluación de la Actividad Metanogénica Específica (AME).

La evaluación de la AME desde diferentes sustratos con inoculo DASS y ciertas concentraciones de una MFC a varios tiempos de incubación fueron determinadas. En este estudio la velocidad de producción de CH₄ para un cierto sustrato en presencia de una MFC se definió como la AME del sustrato capaz de inhibirse o interaccionar con la MFC bajo dos regímenes de temperatura (mesofílico y termofílico). La velocidad inicial de la acumulación de CH₄ es una estimación óptima del desarrollo de la biomasa (Sorensen, 1993).

Se efectuaron un total de 12 pruebas de AME (4 por sustrato, dos por cada rango de temperatura) cada una de las cuales se muestran en el Anexo II de acuerdo con el tipo de sustrato, temperatura y concentración de MFC. Los valores individuales de CH₄ considerados para cada una de las pruebas de AME por botella durante el periodo de incubación se muestran en el Anexo III.

6.2.1 Valores netos de AME obtenidos desde los diferentes sustratos, temperaturas y concentración de MFC.

Las Tablas 10 y 11 compilan las diferentes evaluaciones de AME's. En ellas se muestra el CH₄ producido desde cada una de las pruebas tanto por tipo de sustrato como por régimen de temperatura y concentración de MFC. En la Tabla 10 los valores de CH₄ se expresan en μmol de CH₄ por gramo de inoculo, mientras que en la Tabla 11 el CH₄ producido se expresa en μmol de CH₄ por gramo de SV por hora. Él porque de expresar la AME en ambos términos se debió a que en estudios de este tipo se puede encontrar dicha actividad expresada en uno u otro término. En ambas tablas se reportan además los % de CH₄ referidos de acuerdo con la prueba de mayor AME registrada, que para nuestro caso correspondió a la prueba donde se uso glucosa como sustrato a 35°C y con una concentración de MFC de 2000 mg/kg inoculo donde se alcanzo valores de hasta 5.69 (Tabla 10) y 14.65 (Tabla 11) μmol de CH₄.

El análisis de las Tablas 10 y 11 muestra que la mayor cantidad de CH₄ producido se logro usando como sustrato glucosa a 35°C quien alcanza los niveles mas altas en cuanto al % de CH₄ en comparación con las pruebas donde se uso celulosa quien presenta la actividad mas baja a ambas temperaturas. En casi todas las pruebas se pudo apreciar cierta influencia del sustrato en cuanto a la producción de CH₄, puesto que se registro actividad mayor a través del tiempo en comparación con los grupos control (sin sustrato, ni MFC).

En lo que respecta al efecto que presentan las diferentes concentraciones de la MFC sobre la producción de CH₄ a través del tiempo encontramos que no se dan grandes diferencias entre si al usar una u otra cantidad de la MFC (0, 300, 800, 1400 y 2000 mg MFC/kg inoculo) como se vera más adelante, sin embargo, la AME registrada tanto en los CA como en las diferentes concentraciones (C1, C2, C3 y C4) superan a la del CP en la mayoría de los casos.

En la Figura 19 y 20 se puede apreciar esquemáticamente los valores de producción de CH₄ compilados en la Tabla 9 y 10 que se obtuvieron en cada prueba de AME de acuerdo al tipo de sustrato y rango de temperatura. En ellas se puede observar de mejor manera las diferencias resultantes en la producción de CH₄ obtenidos durante la fase de experimentación. Estas diferencias se plasman en μmol CH₄/g Inoc . h (Fig. 19) y en μmol CH₄/g SV . h (Fig.20). Ambas figuras confirman que la AME que se registro mas alta es aquella donde se uso glucosa como sustrato en régimen mesofílico, mientras que la menor actividad se registro al usar celulosa como sustrato sin diferencias significativas entre 35°C y 55°C.

De acuerdo con lo expuesto en las Tablas 9, 10 y Figuras 19 y 20 los valores en la producción de CH₄ se observan notablemente incrementados al expresar los mismos en μmol CH₄/g SV . h en comparación con los expresados en μmol CH₄/g Inoc . h, esta diferencia esta dada a causa del cambio de base de referencia entre uno y otro autoi.

Los porcentajes relativos en cada una de las pruebas de AME para cada sustrato y rango de temperatura calculados a partir de la prueba de mayor producción de CH₄ (en este caso la AME-glucosa a 35°C, considerada como el 100%) se muestran en la Figura 21a de forma esquemática. Las pruebas de AME que siguieron en cuanto a los porcentajes relativos fueron aquellas en donde se uso ac. butírico y glucosa en régimen termofílico, aunque ambas pruebas solo reflejen la mitad de la eficiencia mostrada por el sustrato glucosa en régimen mesofílico, quien alcanza una actividad de hasta el doble si la

comparamos con estos sustratos. Cabe resaltar que tanto el ac. butírico como la glucosa a 55°C presentaron un comportamiento similar en cuanto a la producción de CH₄ registrado (Ver Figura 21b). Para el caso de la celulosa la actividad se presenta notablemente disminuida en ambos regímenes de temperatura (Ver Figura 21 a y b). Analizando la Figura 22, se encontró que en régimen mesofílico el ac. butírico registra menor actividad comparada con aquellas pruebas evaluadas en régimen termofílico, mientras que para el caso de la glucosa se presentó lo contrario, pues aquí la mayor actividad se logra en ambiente mesofílico y esta se ve drásticamente disminuida en régimen termofílico (hasta en un 50%) (Figura 23).

En lo que respecta al posible efecto de la MFC sobre la AME en las diferentes pruebas, las Figuras 19, 20 y 21 muestran un análisis preliminar donde no se aprecia un efecto drástico sobre la actividad normal de las bacterias y donde no se aprecian diferencias en el aumento o disminución de la actividad en las diferentes concentraciones de MFC empleadas. Este mismo patrón se presentó en los diferentes sustratos y en ambas temperaturas. Esto se refuerza con lo expuesto en la Figuras 22 donde los valores globales de AME en las diferentes temperaturas y tanto en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g Inoc} \cdot \text{h}$ como en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV} \cdot \text{h}$ se muestran similares entre una y otra concentración de la MFC.

6.2.2 AME frente al diseño estadístico (Análisis de varianza y pruebas de intervalos múltiples de DUNCAN)

6.2.2.1 AME frente a temperatura – sustrato.

Los valores netos de cada prueba de AME fueron sometidos tanto a un análisis de varianza como a una comparación de intervalos múltiples de DUNCAN (procedimiento usado para comparar todas las parejas de medias). De acuerdo con la Tabla 12, desde el análisis de varianza se comparó el efecto de la temperatura y los sustratos de acuerdo con la producción de CH₄, donde se encontró que para el factor temperatura no se encontraron diferencias significativas entre 35°C y 55°C con respecto a la producción de CH₄ (confirma lo expuesto en la Figura 22, al menos bajo estas condiciones de trabajo), mientras que para el caso del factor sustrato sí resultaron diferencias significativas entre uno y otro. En lo que respecta a la interacción que resultó entre ambos factores resultó que ambos parámetros de forma conjunta influyeron significativamente en la AME evaluada. Lo anterior refuerza los valores netos mostrados en las Tablas 9 y 10 y los de las Figuras 19, 20 y 23 mostradas con anterioridad.

Este mismo análisis pero frente a las pruebas de intervalos múltiples de DUNCAN mostrado en la Tabla 13 confirma una vez más lo obtenido en el análisis de varianza. En él se muestra un efecto significativo sobre la AME tanto de la temperatura como de los sustratos. De acuerdo con él se concluye que la AME desde glucosa fue significativamente mayor que la AME desde ac. butírico y celulosa, tanto a 35°C como a 55°C. También se pudo corroborar que la menor AME resultó desde aquellas pruebas donde se usó celulosa como sustrato. Las diferencias significativas expuestas en relación a el efecto de la temperatura y el sustrato sobre la AME en consorcios DASS de manera global de acuerdo con el análisis de varianza y la comparación de medias de DUNCAN se muestran en la Figura 24 a, donde es claro que el sustrato de mayor producción de CH₄ es la glucosa, seguida del ac. butírico y la celulosa. Las diferencias no significativas del efecto de la temperatura sobre la AME global se muestran en la Figura 24 b, donde se aprecia que la producción de CH₄ es muy similar en ambos regímenes de temperatura. La interacción de los factores temperatura – sustrato de forma gráfica se muestra en la Figura 25.

6.2.2.2 AME frente a temperatura – sustrato – MFC.

En la Tabla 14 se compilan los resultados obtenidos desde el análisis de varianza en cuanto al efecto tanto de la temperatura, el sustrato y las cinco diferentes concentraciones de MFC. De este tipo de análisis se obtuvo que de acuerdo con la MFC no se encontraron diferencias significativas entre una y otra de las diferentes concentraciones manejadas (0, 300, 800, 1400 y 2000 mg MFC/kg Inoc. h) en relación a la producción de CH₄. Esto apoya lo expuesto en las Figuras 24 b y 26 y las Tablas 9 y 10 donde los valores de AME se mantienen similares al menos frente al factor temperatura. En cuanto a la temperatura sí se registró una diferencia que aunque resultó significativa se consideró como no significativa puesto que esta diferencia resultó ser mínima (se consideraron como del mismo orden tanto la F_c como la F_o).

Para el caso del sustrato una vez más se registraron diferencias significativas en lo referente a la AME en las diferentes pruebas. De las interacciones resultantes en la Tabla 14 la relación MFC – temperatura no registraron una vez más diferencias significativas (Figura 22), es decir, no se registro efecto alguno de ambos factores en cuanto a la producción de CH₄. Sin embargo la interacción MFC – sustrato si presento diferencias significativas viéndose modificada la AME en presencia de ambos factores (apoya lo expuesto en la Figura 23). La interacción temperatura – sustrato fue quien registra la más alta diferencia significativa sobre las pruebas de AME, corroborando lo expuesto en las Tablas 12 y 13 y Figura 24. Por ultimo la interacción MFC – temperatura – sustrato si muestran diferencias significativas, lo que nos permite visualizar que ambos factores si presentaron un cierto efecto sobre la AME en las diferentes pruebas (Ver Figura 26).

Esto es apoyado doblemente por lo obtenido desde la comparación de medias de DUNCAN para estos tres factores expuesta en la Tabla 15, donde no se registran diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de MFC en cuanto a la producción de CH₄. De la Tabla 16 se concluye lo mismo que en la Tabla 13 donde si se registran diferencias en cuanto al tipo de sustrato manejado (Ver Figura 26).

Contrariamente a lo que esperábamos y según los resultados provenientes de los diferentes análisis estadísticos a partir de los valores netos de las pruebas de AME se encontró que ninguna de las diferentes concentraciones de MFC presento un efecto inhibitorio (al menos bajo estas condiciones de trabajo y en pruebas a corto plazo) sobre la actividad de consorcios metanogénicos provenientes de inculo DASS a 35° C y 55° C de temperatura en presencia de ac. butírico, glucosa y celulosa (Ver Figura 26 a).

6.2.2.3 AME frente a los porcentajes de inhibición (PI).

Los porcentajes de inhibición (PI) obtenidos desde las pruebas de AME se muestran en la Tabla 17. En ella podemos apreciar que resulto una cierta inhibición de la actividad al usar sustrato glucosa en régimen termofílico y celulosa en régimen melifíco, aunque dado que este PI se registro muy pequeño se considero como no significativo (Figura 27 a). Esto es apoyado por el análisis de varianza mostrado en la Tabla 18 donde los PI resultantes de los factores temperatura – sustrato resulto ser no significativa. Sin embargo, aunque pequeño si se registro un efecto estimulador global de la AME tanto en rango mesofílico como termofílico (Figura 27 b). La interacción de los diferentes sustratos en los PI en ambas temperaturas se muestra en la Figura 28, donde resulto que el ac. butírico es el único sustrato que no mostró ningún tipo de inhibición, mientras que la glucosa a 55 C y la celulosa a 35 C presentaron cierto PI aunque no es considerado como significativo.

6.2.3 Comparación de AME en DASS frente a otros sistemas.

La biodegradación de los residuos en sistemas a escala laboratorio puede proceder mas rápidamente que la esperada en rellenos sanitarios convencionales a causa de que las condiciones pueden ser optimizadas para acelerar su descomposición (Ress, *et al.*, 1998). La efectividad de DASS frente a otros sistemas se dio de acuerdo a la producción de CH₄, productividad de biogás, eficiencia de remoción de SV, tipo de sustrato, régimen de temperatura y en ausencia o presencia de algún tipo de fármaco.

La Tabla 19 compila diferentes valores de AME reportados en presencia de los mismos sustratos que se manejaron (ac. butírico, glucosa y celulosa) bajo diferentes temperaturas y sistema de tratamiento de residuos. En lo que respecta a la AME obtenida desde el tipo de sustrato encontramos que la producción de CH₄ obtenida desde DASS bajo nuestras condiciones de trabajo se presento disminuida en comparación con la obtenida por otros autores. Lo anterior pudo deberse quizá a que la producción de CH₄ desde los RSM depende de su calidad (Cechi y Mata-Alvarez, 1991) y tal vez el inculo manejado en este trabajo no haya sido del todo adecuado, además no hay que olvidar que no solo se trataron RSM también se manejaron LB, papel de oficina, tres sustratos diferentes y una MFC. Sorensen *et al.*, 1993 menciona que una concentración inadecuada de sustrato puede ocasionar cambios en el crecimiento y adaptación de los consorcios microbianos involucrados en este tipo de pruebas, aunque cabe mencionar que la concentración de ac. butírico manejada en este trabajo es la misma que aplico el pero en sistema tipo UASB reactor registrando una AME mayor a la que obtuvimos en DASS, sin embargo, no olvidemos que la condición de disolución del sustrato es diferente.

Este mismo autor menciona que el periodo de incubación es otro factor importante, pues el consumo de sustrato durante la fase de adaptación (primeras 6 horas) puede no ocurrir y por lo tanto no registrar una producción de CH₄ significativa, inclusive recomienda de 10 a 25 días como periodo de evaluación de AME, aunque no menciona si esto depende del tipo de sustrato que se maneje. De acuerdo con lo anterior el factor tiempo pudo haber influido significativamente en la producción de CH₄ que registramos pues solo consideramos 6 y 48 horas como periodo de incubación para el ac. butírico y la glucosa y durante el cual se obtuvieron las diferentes mediciones de CH₄. Sin embargo en el caso de la celulosa se midió la cantidad de CH₄ durante un periodo de 30 días sin un incremento significativo en la AME, inclusive fueron las pruebas de menor actividad.

Considero importante mencionar que tanto la glucosa como la celulosa son considerados como sustratos complejos en comparación con el ac. butírico de acuerdo con su estructura química, donde dada la sencillez de la molécula del ac. butírico se considero de mas rápida degradación en comparación con la glucosa y la celulosa, de aquí que los periodos de incubación manejados no fueran los mismos entre estos sustratos (Ver Figura 29). Nopharatana, *et al*, 1998 mencionan que la producción de CH₄ desde sustratos complejos como la celulosa requieren de la actividad de un grupo de microorganismos y que la conversión de este sustrato en biogás no puede ser identificada mediante la producción de CH₄ libre, sino que debe incluir evaluaciones de los intermediarios en estos procesos de conversión, además menciona que la pequeña respuesta que presente la celulosa es a causa de que es poco soluble para los microorganismos o a que el periodo de incubación pudo ser no suficiente para solubilizarla y luego usarla en el proceso metanogenico.

Voet, 1992 y Lenhinger, 1994 refieren a la celulosa como una molécula con estructura muy cohesionada, unida mediante puentes de hidrógeno que le confiere a las fibras de celulosa una fuerza excepcional, lo que las hace insolubles en agua a pesar de su elevada hidrofiliidad. Estos mismos autores refieren a la degradación de la celulosa como un proceso muy lento debido a que se halla muy empaquetada y las moléculas de glucano unidas mediante los puentes de hidrógeno no son fácilmente accesibles a las enzimas que rompen estos enlaces (celulasas) y no se separan de prisa aun después de que se hallan hidrolizado muchos de sus enlaces glucosídicos. A diferencia de la celulosa y en orden de complejidad la molécula de glucosa resulta ser un monosacárido sencillo muy soluble en agua (Lenhinger, 1994), lo que quizá favoreció su aprovechamiento por los consorcios bacterianos presentes en DASS, lo que resulto en una mayor AME en comparación con el sustrato celulosa.

Los valores de AME en DASS frente a otros sistemas en cuanto a productividad, eficiencia y TR se muestran en la Tabla 20. A partir de ella tenemos que en cuanto a la productividad (Ig) los DASS manejados en este trabajo presentaron un comportamiento similar al reportado por autores como Marquez, 2000, Poggi-Varaldo, *et al.*, 1990 y Chynoweth, *et al.*, 1991, aunque los valores de Ig se reportaron mayores en régimen mesofílico que termofílico. En el caso de la eficiencia de remoción de SV (N sv) registramos porcentajes superiores a los reportados por los autores citados en la Tabla 20. Con respecto al TR encontramos que el manejo en este trabajo es similar al manejo por Marquéz, 2000 y Valdez, 1997 obteniendo resultados semejantes de productividad y eficiencia. Sin embargo comparando con Mata, *et al.*, 1993, Poggi-Varaldo, *et al.*, 1990; Six y de Baere, 1992 y Cechi y Mata-Alvarez., 1991, los TR manejados en este trabajo fueron muy elevados y con una productividad y eficiencia menor a la reportada por los autores anteriores, aunque las diferencias registradas pueden estar dadas a causa de que los sistemas empleados no son los mismos ni tampoco las condiciones de trabajo.

6.2.3.1 AME en presencia de algún tipo de fármaco.

Las aplicaciones de los tratamientos anaerobios para residuos farmacéuticos se han efectuado con el fin de conocer su posible biodegradabilidad y/o la potencial toxicidad de sus constituyentes. Partiendo de tal finalidad, en este trabajo se encontró que de acuerdo con los resultados obtenidos desde inóculo DASS mediante pruebas de AME es posible la codisposición de la MFC en combinación con RSM puesto que no se detecto inhibición de la actividad de los consorcios microbianos involucrados en los procesos anaerobios hasta la producción de CH₄ (al menos bajo estas condiciones de trabajo y en pruebas a corto plazo). Sin embargo, los residuos farmacéuticos resultan ser sustratos de difícil degradación para los tratamientos biológicos, dado los contenidos variantes de químicos orgánicos (naturales y xenobióticos) que pueden ser no fácilmente metabolizados por las asociaciones microbianas presentes en los bioreactores (Henry, *et al.*, 1996).

Aunque fue posible evaluar la AME desde inóculo DASS en presencia de una MFC esta actividad se presentó baja (Tabla 19). Una AME en presencia de agua residual con fármacos sintéticos es reportada también por Henry, *et al.*, 1996 quien intentó probar la biodegradabilidad, toxicidad y tratabilidad de solventes de 3 y 4 carbonos. Esto implica quizá que aunque es posible evaluar la AME en presencia de ciertos fármacos esta puede verse notablemente disminuida. Poels, *et al.*, 1984 realiza un estudio del efecto de ciertos desinfectantes y antibióticos en la digestión anaerobia de RSM encontrando que la misma no era disturbada en presencia de antibióticos como el chlortetraciclín, tylosin, erythromycin y chloranphenicol. Mientras que Purser, *et al.*, 1965; O'connor, *et al.*, 1970; Fuller y Jonson, 1981; Varel y Hashimoto, 1981 y Hilpert, *et al.*, 1982 reportan acumulación de ac. propionico y decremento en la producción de biogás bajo la aplicación de antibióticos en digestión metanogénica.

Por otro lado Sanz, *et al.*, 1996 encuentra que los antibióticos pueden actuar con diferente especificidad y modos de acción causando inhibición parcial de la digestión anaerobia y decremento de la producción de CH₄ por interferencia con la actividad de la bacteria degradadora de ac. butírico y ac. propionico (el antibiótico interfiere con la síntesis de la pared celular, actividad de la RNA polimerasa y la síntesis de proteínas, especialmente los aminoglucosidos), aunque la mayoría de los antibióticos presentan actividad contra las metanogénicas acetoclasticas (chloranphenicol y chlortetracyclín). Otros antibióticos que pueden actuar como inhibidores de la pared celular son los B-lactámicos causando disminución en la producción de biogás de un 30-40 % y el hecho de no observar acumulación de ac. acético nos indica que la presencia de estos compuestos causan el decremento de la actividad de la bacteria acetogénica en alrededor de un 55 % (Sanz, *et al.*, 1996). Zabranska, 1994 pudo evaluar el 85% de biodegradabilidad en algunas concentraciones de residuos farmacéuticos mediante evaluaciones de AME al igual que en este trabajo.

El efecto específico de los antibióticos puede ser el resultado de las diferentes sensibilidades de estos organismos. En cultivos puros las *Methanobacteriales* son solo débilmente afectadas, pero las *Methanococcales* y especialmente *Methanosarcina barkeri* muestra alta sensibilidad a neomycin e hygromycin. Ambos géneros *Methanosarcina* y *Methanosaeta* son consideradas poblaciones predominantes en este tipo de sistemas. (Sanz, *et al.*, 1996). Hilpert, *et al.*, 1984 reporta inhibición de la actividad de *Methanobrevibacterium smithii* en cultivos puros con la adición de monensin, *Methanococcus vanniellii* y otros miembros mesofílicos del género *Methanobacterium* presentan sensibilidad a virginiamycin.

Según Hashimoto, *et al.*, 1981 tres posibles mecanismos pueden explicar la aparente adaptación de la microflora a ciertos antibióticos (monensin), 1) el desarrollo de resistencia al antibiótico por fuertes mutantes, 2) cambios en la población bacteriana causada por la inhibición de algunas bacterias y un incremento en otras y 3) por desactivación del antibiótico en las primeras etapas del proceso.

6.2.3.2 AME frente a la MFC en bacterias sintróficas, fermentativas y metanogénicas.

En la Tabla 21 se representan las fases lag que se registraron durante las pruebas de AME a partir de diferentes sustratos desde los consorcios microbianos involucrados en procesos de digestión anaerobia tipo DASS. En ella podemos observar que el primer grupo de microorganismos involucrados en la degradación biológica de los residuos como lo son las bacterias sintróficas que son capaces de convertir sustratos complejos como la celulosa y la glucosa en moléculas más simples como algunos AOV, registran una actividad desde los primeros minutos después de haber sido iniciada la prueba tanto en condiciones mesofílicas como termofílicas. En lo que respecta al grupo de bacterias fermentativas y metanogénicas algunas de las cuales usan AOV (ac. Butírico, ac. Acético, ac. Propiónico) como sustrato principal registraron una fase lag superior a la registrada en bacterias sintróficas y esto puede ser a causa de que su actividad empieza a ser mayor cuando el grupo de bacterias sintróficas ha producido ya algunos de estos AOV, que el grupo de bacterias fermentativas y metanogénicas pueden usar como sustrato de degradación en la transformación última de los residuos hasta CH₄ y CO₂. Además el grupo de bacterias fermentativas y metanogénicas pudo presentar un inicio de su actividad horas después debido a una posible aclimatación de esta flora bacteriana a las condiciones de trabajo manejadas.

Tabla 10. AME en μmol de CH_4 /g inoc wb* . h y porcentaje relativo para cada tipo de sustrato y régimen de temperatura.

MFC	BUTIRICO ($\mu\text{mol CH}_4/\text{g inoc.h}$)				GLUCOSA ($\mu\text{mol CH}_4/\text{g inoc.h}$)				CELULOSA ($\mu\text{mol CH}_4/\text{g inoc.h}$)			
	35°C	%	55°C	%	35°C	%	55°C	%	35°C	%	55°C	%
0①	0.58 (0.01)	10.2	2.41 (0.08)	42.4	2.83 (0.05)	49.7	2.14 (0.08)	37.6	0.27 (0.00)	4.7	0.46 (0.00)	8.1
0②	1.01 (0.01)	17.8	3.28 (0.21)	57.6	5.30 (0.15)	93.1	2.88 (0.04)	50.6	0.48 (0.01)	8.4	0.33 (0.00)	5.8
300	0.88 (0.04)	15.5	2.86 (0.04)	50.3	5.44 (0.01)	95.6	3.21 (0.04)	56.4	0.45 (0.00)	7.9	0.51 (0.00)	9.0
800	1.16 (0.00)	20.4	2.63 (0.13)	46.2	5.26 (0.16)	92.4	3.38 (0.07)	59.4	0.34 (0.02)	6.0	0.40 (0.00)	7.0
1400	1.15 (0.11)	20.2	3.14 (0.13)	55.2	5.17 (0.08)	90.9	2.85 (0.13)	50.1	0.35 (0.03)	6.2	0.49 (0.00)	6.8
2000	1.06 (0.06)	18.6	3.45 (0.00)	60.6	5.69 (0.04)	100	2.75 (0.02)	48.3	0.38 (0.00)	6.7	0.38 (0.00)	6.7

- El valor entre paréntesis representa la desviación estándar respectiva.

- El porcentaje (%) está dado de acuerdo al valor mas alto obtenido en las pruebas de AME en $\mu\text{mol CH}_4$ /g inoc.h.

-wb*= base húmeda

①=CP, ②=CA

Tabla 11. AME en μmol de CH_4 /g SV . h y porcentaje relativo para cada tipo de sustrato y régimen de temperatura.

MFC	BUTIRICO ($\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV .h}$)				GLUCOSA ($\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV.h}$)				CELULOSA ($\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV.h}$)			
	35°C	%	55°C	%	35°C	%	55°C	%	35°C	%	55°C	%
0①	1.50 (0.01)	10.2	5.54 (0.08)	42.4	7.29 (0.05)	49.7	4.91 (0.08)	37.6	0.58 (0.00)	4.7	1.06 (0.00)	8.1
0②	2.60 (0.01)	17.8	7.52 (0.21)	57.6	13.66 (0.15)	93.1	6.60 (0.04)	50.6	1.24 (0.01)	8.4	0.76 (0.00)	5.8
300	2.27 (0.04)	15.5	6.57 (0.04)	50.3	14.02 (0.01)	95.6	7.36 (0.04)	56.4	1.15 (0.00)	7.9	1.17 (0.00)	9.0
800	2.98 (0.00)	20.4	6.04 (0.13)	46.2	13.56 (0.16)	92.4	7.75 (0.07)	59.4	0.87 (0.02)	6.0	0.92 (0.00)	7.0
1400	2.95 (0.11)	20.2	7.19 (0.13)	55.2	13.30 (0.08)	90.9	6.53 (0.13)	50.1	0.91 (0.03)	6.2	1.12 (0.00)	6.8
2000	2.73 (0.06)	18.6	7.92 (0.00)	60.6	14.65 (0.04)	100	6.31 (0.02)	48.3	0.98 (0.00)	6.7	0.88 (0.00)	6.7

- El valor entre paréntesis representa la desviación estándar respectiva.

- El porcentaje (%) está dado de acuerdo al valor mas alto obtenido en las pruebas de AME en $\mu\text{mol CH}_4$ /g SV.h.

- ①=CP, ②=CA

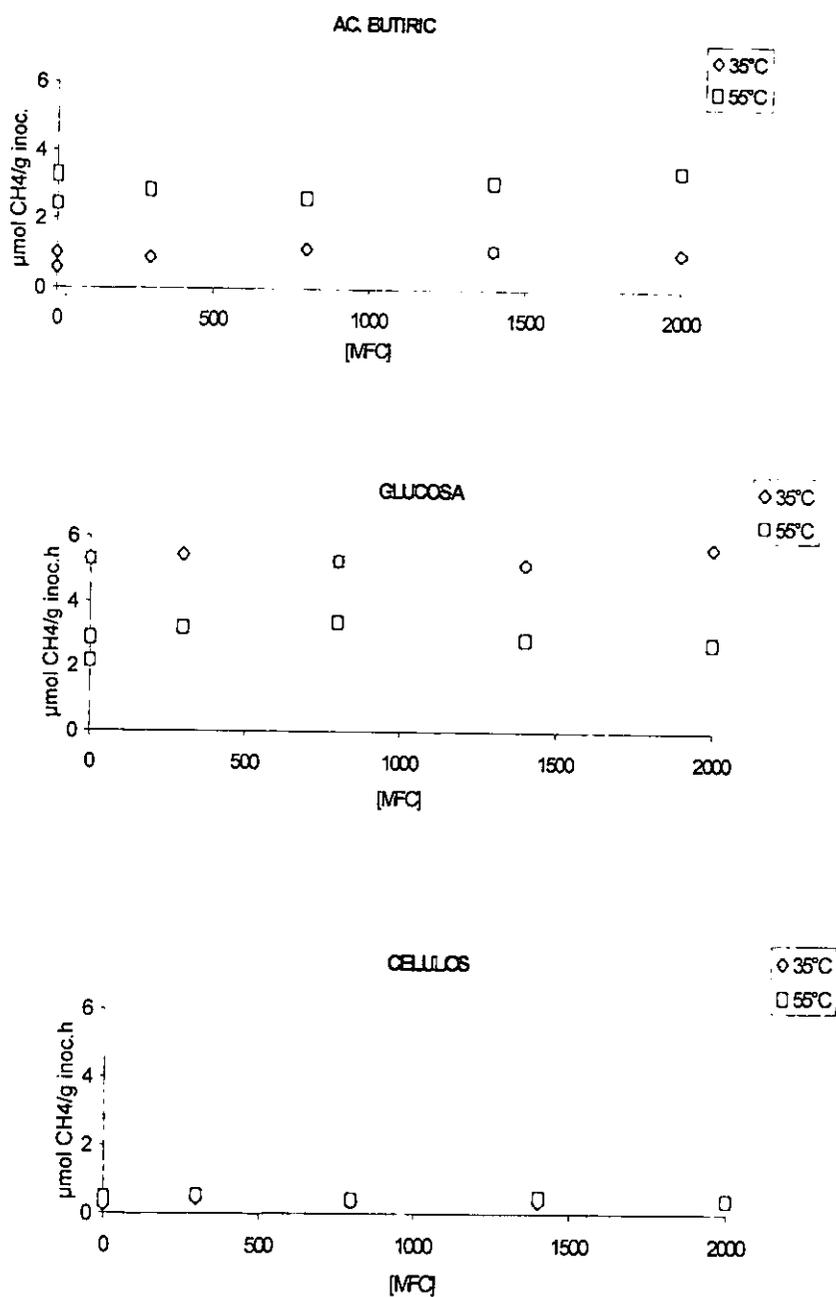


Figura 19. AME en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g inoc.h}$ para cada tipo de sustrato y rango de temperatura.

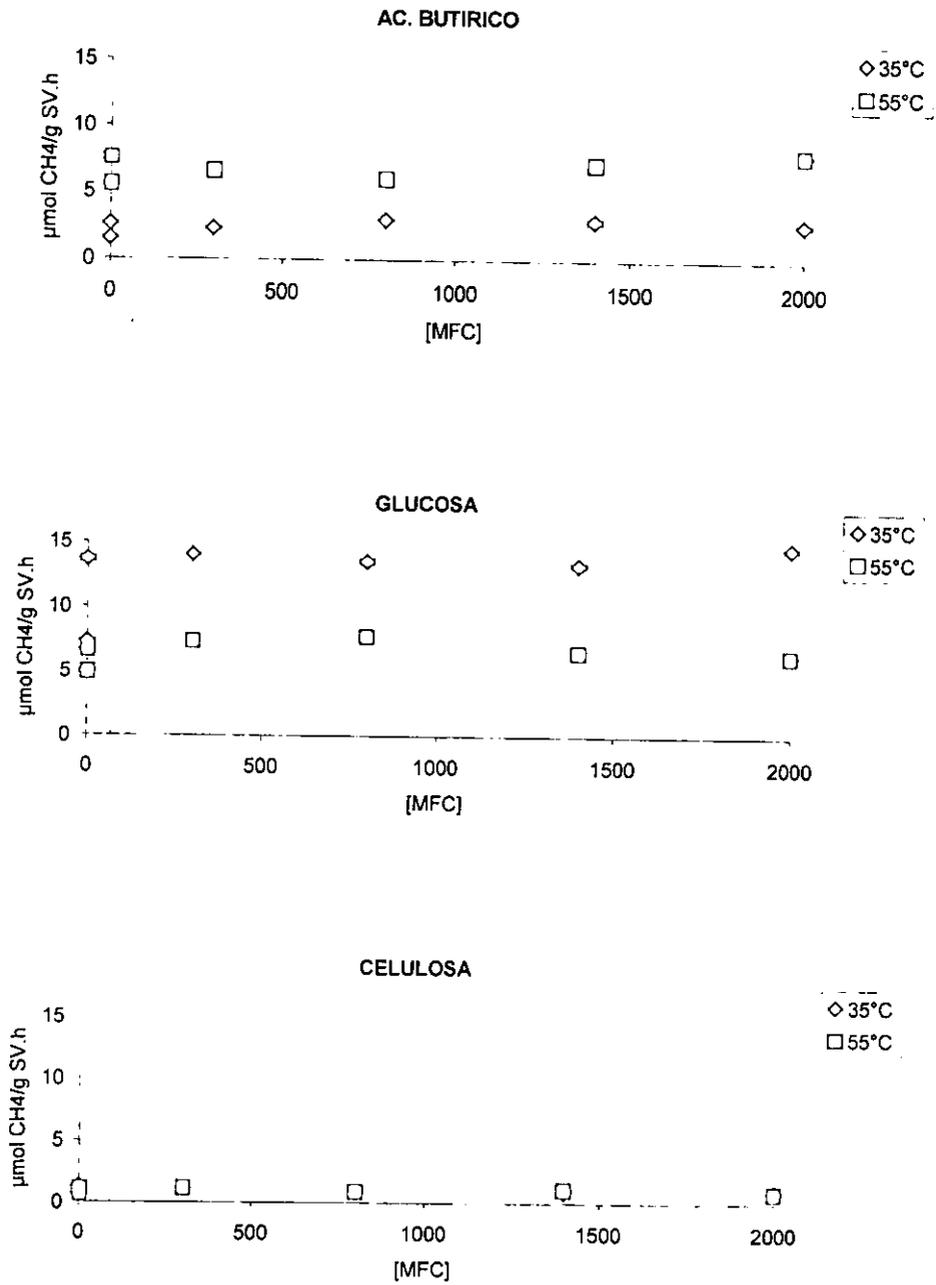


Figura 20. AME en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV.h}$ para cada tipo de sustrato y rango de temperatura.

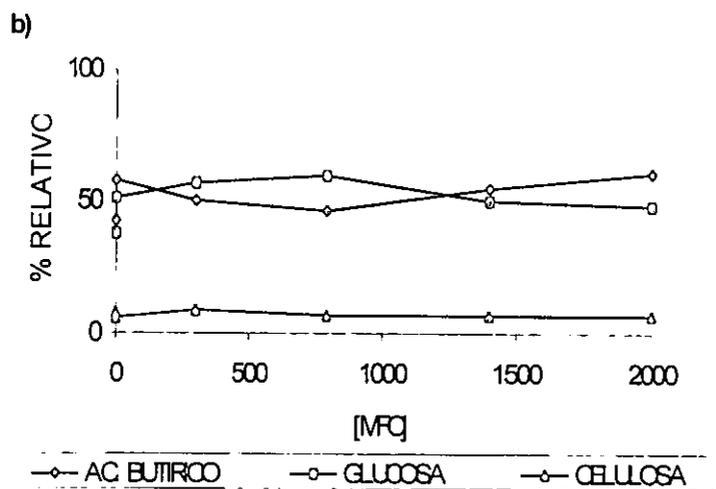
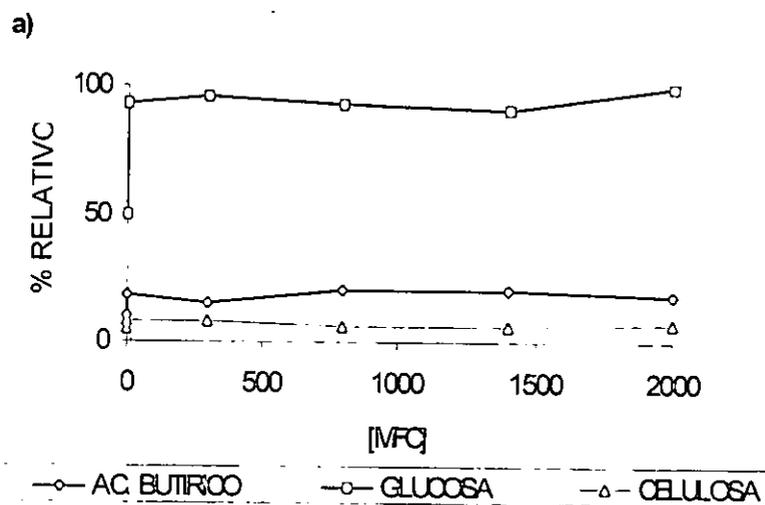
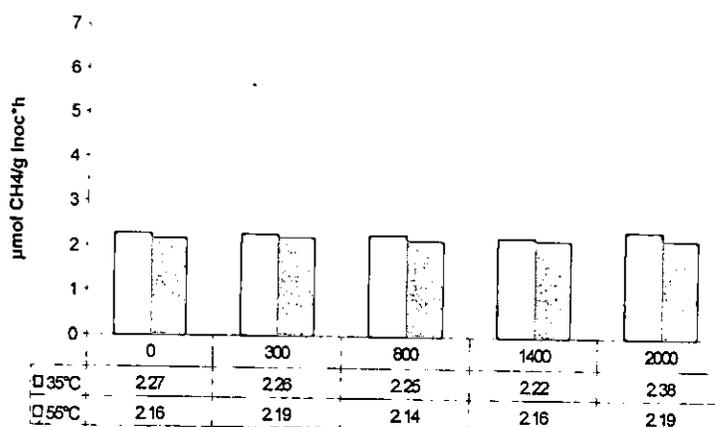


Figura 21. AME en porcentajes relativos con respecto a la prueba de mayor producción de metano para cada tipo de sustrato y rango de temperatura. a) 35°C, b) 55°C

a)



b)

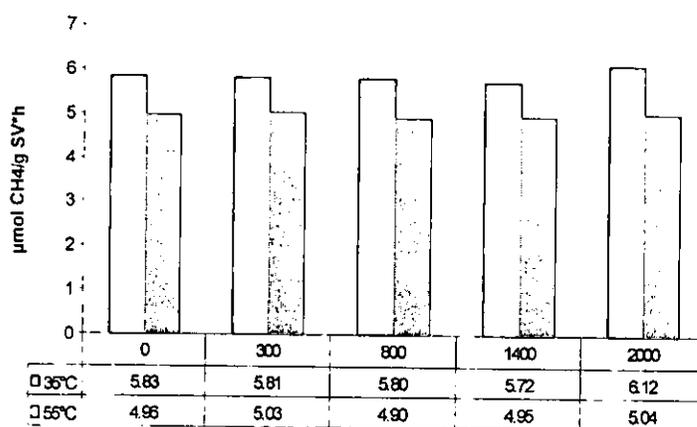
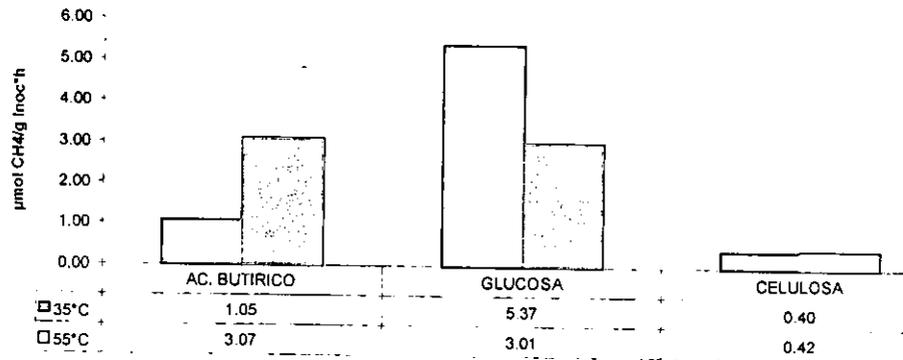


Figura 22. Valores globales de AME en régimen mesofílico y termofílico frente a las diferentes concentraciones de prueba de la MFC: a) en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g Inoc}\cdot\text{h}$ y b) en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV}\cdot\text{h}$.

a)



b)

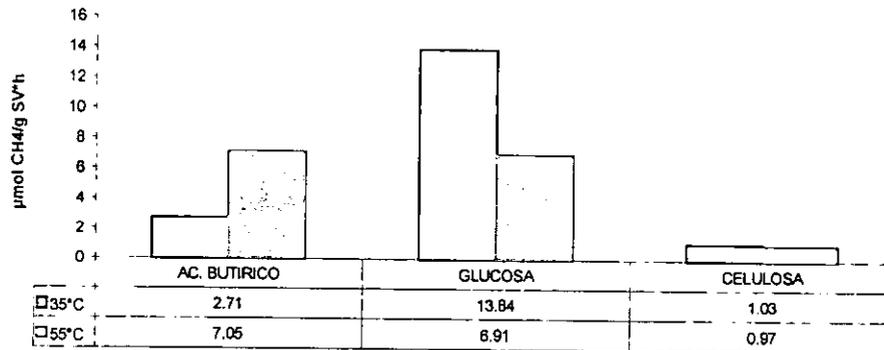


Figura 23. Valores globales de AME en régimen mesofílico y termofílico frente a los sustratos usados: ácido butírico, glucosa y celulosa (a: AME en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g Inoc}\cdot\text{h}$ y b: AME en $\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV}\cdot\text{h}$).

Tabla 12. Análisis de varianza de valores de AME para el experimento de 2 temperaturas por tres sustratos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F_0	F_c^a
Temperatura	0.05	1	0.048	14.09	18.63
Sustrato	28.91	2	14.454	4230.54	14.54
Interacción	9.62	2	4.812	1408.41	14.54
Error	0.02	6	0.003		
Total	38.60	11			

^a = 0.05%, Montgomery, 1976.

Tabla 13. Prueba de DUNCAN para medias de valores de AME para los tres sustratos y las dos temperaturas.

- 1) celulosa = media 1 = 0.41 $\mu\text{mol CH}_4 / \text{g} \cdot \text{h}$
- 2) butírico = media 2 = 2.06 $\mu\text{mol CH}_4 / \text{g} \cdot \text{h}$
- 3) glucosa = media 3 = 4.19 $\mu\text{mol CH}_4 / \text{g} \cdot \text{h}$

El error estándar definido como (Montgomery, 1986):

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{MSE}{N}}$$

De la Tabla VII, anexo I de Montgomery, 1982.

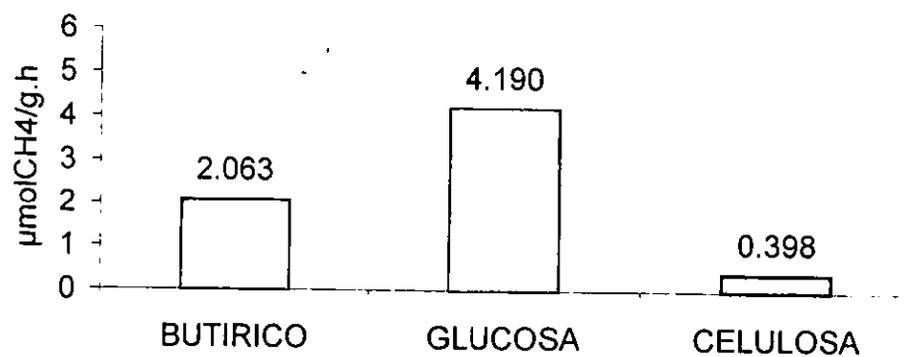
$$R_{2,6} = r_{0.05, 2, 6} = 0.131$$

$$R_{3,6} = r_{0.05, 3, 6} = 0.136$$

Comparación de la prueba de DUNCAN

Media	Comparación	Conclusión
3 vs 1	3.783 > R3	La AME glucosa es significativamente mayor que la AME celulosa.
3 vs 2	2.131 > R2	La AME glucosa es significativamente mayor que AME butírica
2 vs 1	1.652 > R2	La AME butírica es significativamente mayor que la AME celulosa

a)



b)

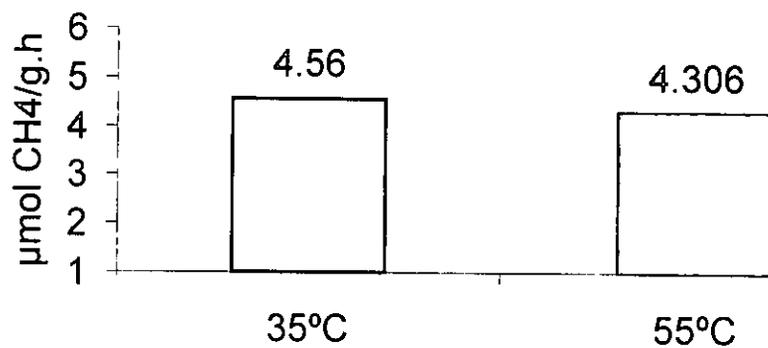


Figura 24. Valores globales de AME: a) por tipo de sustrato y b) respecto a la temperatura.

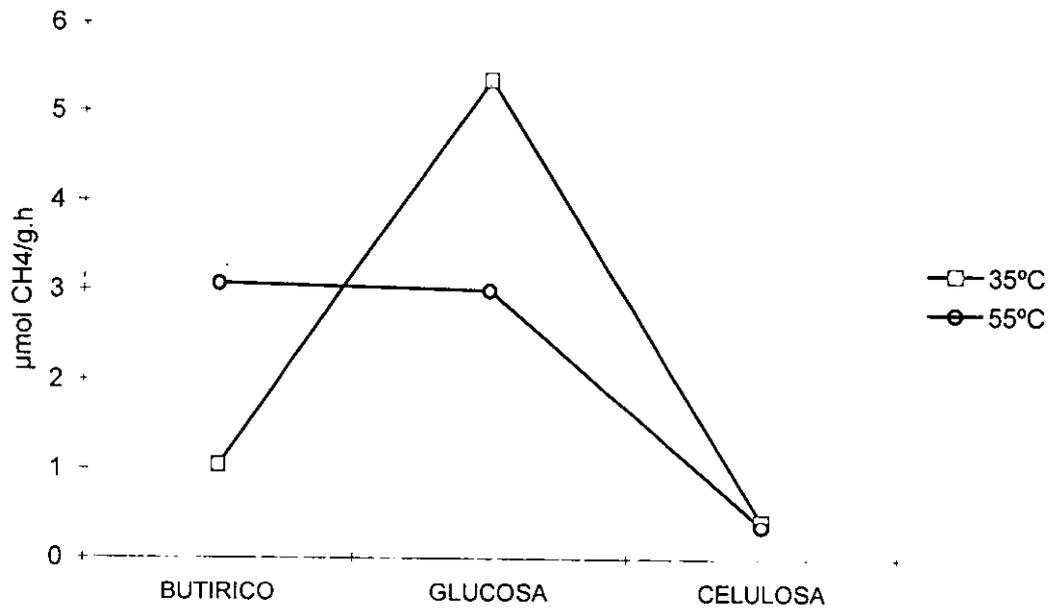


Figura 25. Interacción del sustrato y la temperatura en pruebas AME.

Tabla 14 . Análisis de varianza del valor de las pruebas de AME por medio del factorial de 5 concentraciones x 3 sustratos x 2 temperaturas.

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀	F _c ^a
Conc (A)	0.07	4	0.02	0.7	2.69
Temp (B)	0.17	1	0.17	6.8	4.17
Sustr (C)	143.69	2	71.84	2972.18	3.32
AB	0.03	4	0.01	0.3	2.69
AC	0.73	8	0.09	3.77	2.27
BC	48.19	2	24.10	996.86	3.32
ABC	1.10	8	0.14	5.69	2.27
Error	0.73	30	0.02		
Total	194.70	59			

a = Valor de F a 0.05 % de confianza

Montgomery, 1976.

Tabla 15. Prueba de DUNCAN para medias de los valores de AME en relación a la concentración (MFC), del factorial de 5 concentraciones x 3 sustratos x 2 temperaturas.

1)	$y_{1400} = 2.192$	Concentración 1400 mg MFC/kg inoculo
2)	$y_{800} = 2.195$	Concentración 1400 mg MFC/kg inoculo
3)	$y_0 = 2.21$	Concentración 0 = Control
4)	$y_{300} = 2.22$	Concentración 1400 mg MFC/kg inoculo
5)	$y_{2000} = 2.28$	Concentración 1400 mg MFC/kg inoculo

El error estándar es Sy raíz $(0.02/2) = 0.1$

De Tabla VII, apéndice de Montgomery (1986), se obtienen los valores de (p,f):

$$r_{0.05} = 3.12$$

$$r_{0.05} = 3.2$$

$$r_{0.05} = 3.25$$

$$r_{0.05} = 3.29$$

Se calculan los valores de R

$$R_2 = 0.312$$

$$R_3 = 0.32$$

$$R_4 = 0.325$$

$$R_5 = 0.329$$

La comparación de medias de DUNCAN arroja las siguientes conclusiones:

Media	Comparación	Conclusión
5 vs 4	$0.06 < R_5$	No difieren significativamente las medias
5 vs 3	$0.07 < R_4$	No difieren significativamente las medias
5 vs 2	$0.085 < R_3$	No difieren significativamente las medias
5 vs 1	$0.088 < R_2$	No difieren significativamente las medias
4 vs 3	$0.01 < R_4$	No difieren significativamente las medias
4 vs 2	$0.025 < R_3$	No difieren significativamente las medias
4 vs 1	$0.028 < R_2$	No difieren significativamente las medias
3 vs 2	$0.015 < R_3$	No difieren significativamente las medias
3 vs 1	$0.018 < R_2$	No difieren significativamente las medias
2 vs 1	$0.003 < R_2$	No difieren significativamente las medias

Tabla 16. Prueba de DUNCAN para medias de valores de AME en relación a los sustratos del factorial de 5 concentraciones x 3 sustratos x 2 temperaturas.

- 1) celulosa = 0.39 $\mu\text{mol CH}_4 / \text{g} \cdot \text{h}$
- 2) butírico = 1.96 $\mu\text{mol CH}_4 / \text{g} \cdot \text{h}$
- 3) glucosa = 3.90 $\mu\text{mol CH}_4 / \text{g} \cdot \text{h}$

El error estándar es $S_y = \text{raiz de } 0.02/20 = 0.032$

De Tabla VII, apéndice de Montgomery, 1986, se obtienen los valores de (p,f)

$$r_{\alpha, \beta, \gamma} (2,30) = 2.89$$

$$r_{\alpha, \beta, \gamma} (3,30) = 3.04$$

Se calculan los valores de R

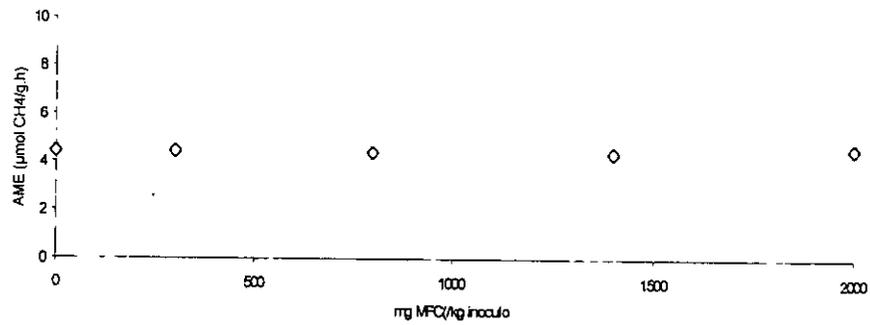
$$R_{\alpha} = 0.092$$

$$R_{\beta} = 0.097$$

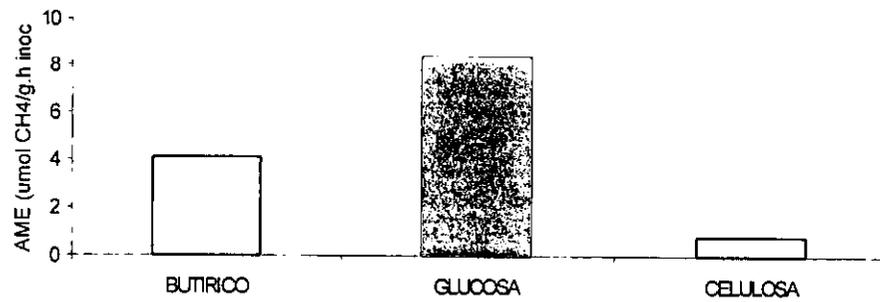
Comparación de la prueba de DUNCAN

Media	Comparación	Conclusión
3 vs 1	3.51 > R3	La AME glucosa es significativamente mayor que la AME celulosa.
3 vs 2	1.94 > R2	La AME glucosa es significativamente mayor que AME butírica.
2 vs 1	1.57 > R2	La AME butírica es significativamente mayor que la AME celulosa.

a)



b)



c)

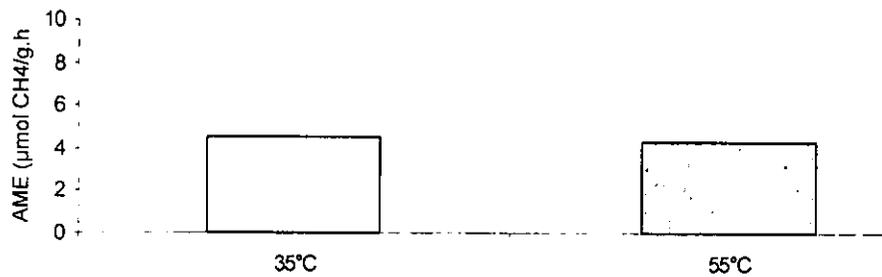


Figura 26 . Efectos principales en el análisis de varianza de 5x3x2.
a) por concentración, b) por tipo de sustrato, c) por temperatura

Tabla 17 . Valores comparativos entre AME($\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV}\cdot\text{h}$) y porcentajes de inhibición (PI)

SUSTRATO	AME($\mu\text{mol CH}_4/\text{g SV}\cdot\text{h}$)		% Inhibicion	
	MESO	TERMO	35°C	55°C
BUTIRICO	1.05 (0.04)	3.07 (0.10)	-0.05 (0.10)	-0.18 (0.42)
GLUCOSA	5.37 (0.08)	3.01 (0.06)	-0.39 (0.23)	0.13 (0.01)
CELULOSA	0.40 (0.01)	0.42 (0.00)	0.11 (0.01)	-0.05 (0.00)

El porcentaje de inhibición se define como $PI = (X1-X2)/X1 \cdot 100$

donde:

PI = porcentaje de inhibición (%)

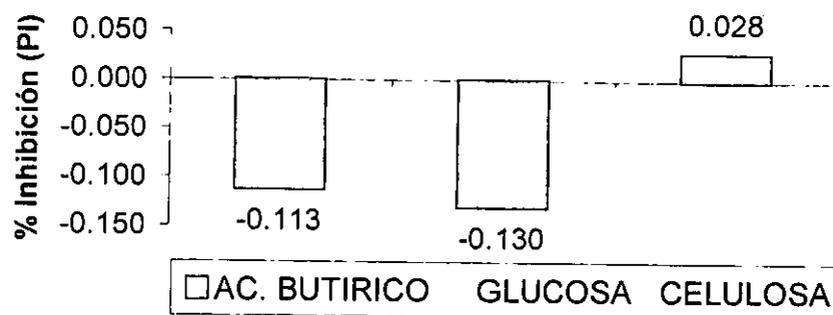
X1 = AME del control activo (CA)

X2 = AME de la concentración 4 (C4) para el mismo sustrato (2000 mg MFC/kg inoculo)

Tabla 18. Análisis de varianza (3x2) de los porcentajes de inhibición (PI) de las pruebas de AME.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F ₀	F _c
Temperatura	0.02	1	0.019	0.46	18.63
Sustrato	0.06	2	0.030	0.71	14.54
Interacción	0.29	2	0.145	3.47	14.54
Error	0.25	6	0.042		
Total	0.62	11			

a)



b)

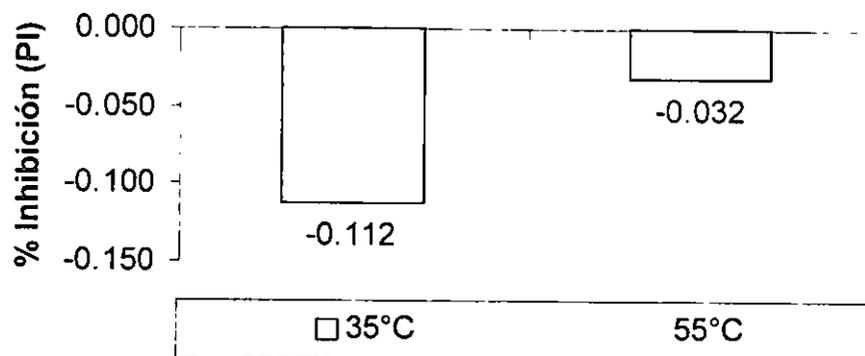


Figura 27. Valores globales del porcentaje de inhibición (PI) de las pruebas AME:
 a) Por tipo de sustrato y b) por temperatura.

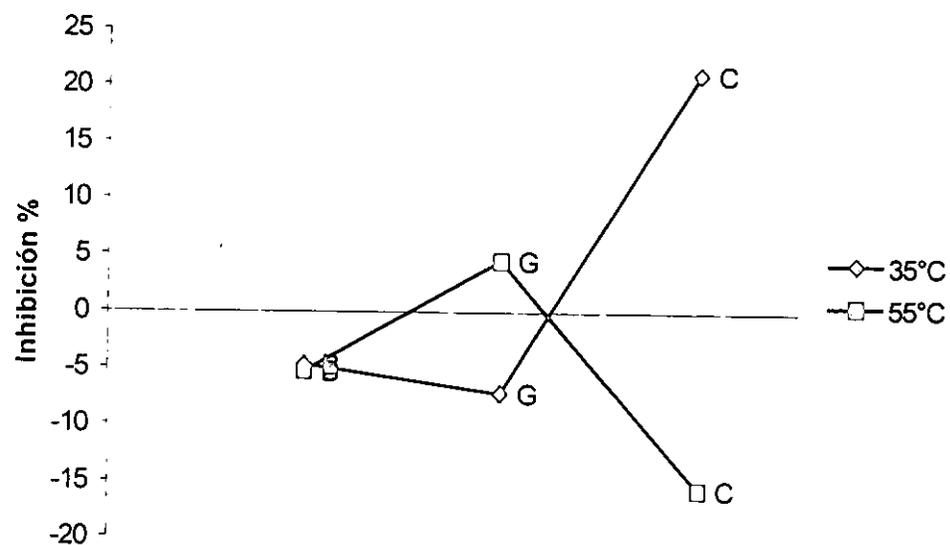


Figura 28. Interacción de la temperatura y el sustrato en los porcentajes de inhibición de las pruebas AME (B: ac. butírico, G: glucosa, C: celulosa)

Tabla 19. Valores comparativos de AMEs reportadas con diferentes sustratos.

SUSTRATO	DIGESTOR	TEMPERATURA °C	AME	REFERENCIA
Ac. butírico	UASB reactors	55°C	0.0688 ¹	Sorensen et al. 1993
Ac. butírico	DASS	55°C	2.96 ²	Este trabajo
Ac. butírico	DASS	55°C	6.79 ³	Este trabajo
Ac. butírico	LFBR-Landfill reactor	41°C	7.2 ⁴	Lay et al. 1998
Ac. butírico	LFBR-Landfill reactor	41°C	28.8 ⁴	Lay et al. 1998
Ac. butírico	FB reactors (fluidized bed)	37°C	6.1 ⁵	Gorris et al. 1988
Ac. butírico	FB reactors (fluidized bed)	37°C	13.9 ⁵	Gorris et al. 1988
Ac. butírico	AHRs (Anaerobic hibrid reactor)	35°C	102 ⁹	Henry et al. 1996
Ac. butírico	DASS	35°C	0.97 ²	Este trabajo
Ac. Butírico	DASS	35°C	2.50 ³	Este trabajo
Glucosa	DASS	55°C	2.86 ²	Este trabajo
Glucosa	DASS	55°C	6.57 ³	Este trabajo
Glucosa	LFBR-Landfill reactor	41°C	24 ⁴	Lay et al. 1998
Glucosa	LFBR-Landfill reactor	41°C	28.8 ⁴	Lay et al. 1998
Glucosa	DASS	35°C	4.94 ²	Este trabajo
Glucosa	DASS	35°C	12.74 ³	Este trabajo
Celulosa	DASS	55°C	0.42 ²	Este trabajo
Celulosa	DASS	55°C	0.98 ³	Este trabajo
Celulosa	UASB reactors	39°C	16 ⁶	Nakashimada et al. 2000
Celulosa	UASB reactors	39°C	12 ⁶	Nakashimada et al. 2000
Celulosa	UASB reactors	39°C	84 ⁶	Nakashimada et al. 2000
Celulosa	UASB reactors	39°C	178 ⁶	Nakashimada et al. 2000
Celulosa	2 L reactors	38°C	78.1 ⁷	Ress et al. 1998
Celulosa	1 OLD reactors	37°C	0.44 ⁸	Nopharatana et al. 1998
Celulosa	2 OLD reactors	37°C	0.52 ⁸	Nopharatana et al. 1998
Celulosa	1 NEW reactors	37°C	3.3 ⁸	Nopharatana et al. 1998
Celulosa	2 NEW reactors	37°C	5.6 ⁸	Nopharatana et al. 1998
Celulosa	DASS	35°C	0.37 ²	Este trabajo
Celulosa	DASS	35°C	0.95 ³	Este Trabajo

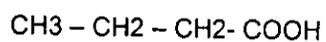
1 = mMol CH₄/g SV*h, 2 = uMol CH₄/g inoculo wb*h, 3 = uMol CH₄/g SV*h, 4 = ml CH₄/g SV* d³, 5 = μMol CH₄/g SV*min, 6 = mMol CH₄,
7 = ml CH₄/g inoc wb*d, 8 = μMol CH₄/ml Lixiviado* h, 9 = cm³ CH₄ g³SV*d³

Tabla 20 . Valores comparativos de productividad (Ig), eficiencia Π sv y tiempos de retención (TR) en sistemas DASS a diferente temperatura.

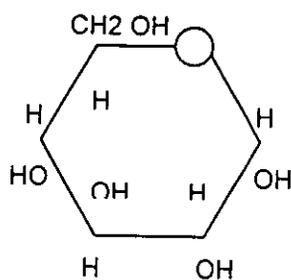
DIGESTOR	TEMPERATURA °C	TR	Ig (Litros*/kg.día)	Π sv (%)	REFERENCIA
DASS 1M	35	70.27	1.103	70.40	Marquéz, 2000
DASS 2M	35	77.19	0.975	75.19	Marquéz, 2000
DASS 1T	55	67.19	1.095	73.36	Marquéz, 2000
DASS 2T	55	59.88	1.051	72.6	Marquéz, 2000
DASS 1 dig 3	35	81	1.91	49.3	Valdez, 1997
DASS 2 dig 2	35	66	2.10	53.23	Valdez, 1997
DASS 3 dig 2	35	33	3.77	48.4	Valdez, 1997
DASS	56.2	11.7	3.1	37.3	Mata et al., 1993
DASS	55	---	0.87	21.1	Chynowth et al., 1991
DASS	39	21	1.54	38	Poggi-Varaldo et al., 1990
DASS	55	18-21	5-8	55	Six y de Baere, 1992
DASS	55	7.8	4.1	37	Cechi et al., 1992
DASS 5-1	39	30	---	74.18	Poggi, 1996
DASS 5-2	39	30	---	42.26	Poggi, 1996
DASS 6-1	39	40	---	70.93	Poggi, 1996
DASS 6-2	39	40	---	60.13	Poggi, 1996
DASS 1M	35	62	1.53	81	Este trabajo
DASS 2M	35	62	1.35	83	Este trabajo
DASS 1T	55	63	0.96	84	Este trabajo
DASS 2T	55	63	0.78	80	Este trabajo

* Ig = litros normalizados de biogás / Kg. Día

a)



b)



c)

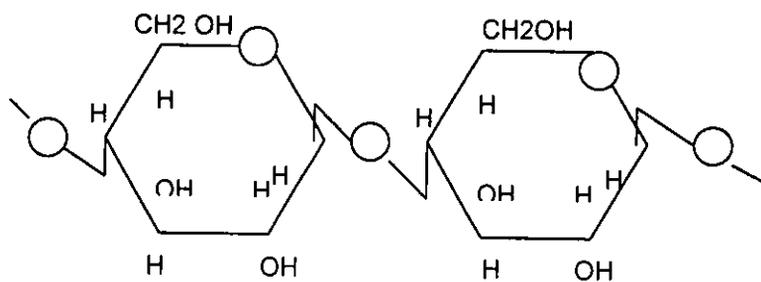


Figura 29. Estructura primaria: a) *ac. butírico* (Mc Carty y Mosey, 1991),
b) *glucosa* (Voet, 1990) y c) *celulosa* (Voet, 1990).

Tabla 21. Fase lag en bacterias involucradas en procesos de digestión anaerobia desde diferentes sustratos.

Temperatura → Sustrato ∇	Lag (horas)	
	35 ° C	55 ° C
CELULOSA *	0.0	0.0
GLUCOSA *	0.1	0.2
BUTIRICO *	2.5	1.2
AC.ACETICO ^a	5.6	3.5
HIDROGENO ^a	4.2	5.0
AC. PROPIONICO ^a	3.5	4.0

Fuente: ^a = Márquez, 2000, * = Este trabajo.

CONCLUSIONES

- ✧ Se diseñó, arrancó y operó bioreactores tipo DASS tanto a temperatura mesofílica (35°C) como termofílica (55°C) con una productividad de hasta 1.53 litros de biogás / kg Inoc * día y una eficiencia de remoción de SV de hasta el 84 %.
- ✧ Se implementó una técnica especializada en la actividad metanogénica específica (AME) en digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS).
- ✧ Se evaluó la AME de consorcios DASS en presencia de ac. butírico, glucosa y celulosa como sustratos a 35°C y 55°C de temperatura registrándose la mayor actividad con el sustrato glucosa en régimen mesofílico con una producción de hasta 14.65 $\mu\text{mol CH}_4$ / kg SV * h.
- ✧ Las pruebas de menor actividad metanogénica resultaron al usar celulosa como sustrato en ambos regímenes de temperatura.
- ✧ La AME en condiciones mesofílicas usando glucosa como sustrato fueron hasta 40 % más activas que las pruebas termofílicas.
- ✧ Se registro un efecto inhibitorio mínimo global de la MFC de 0.028 % en las pruebas AME al usar celulosa como sustrato, sin embargo, resulto ser no significativo.
- ✧ Resulto un efecto global estimulador de la MFC de 0.112 % y 0.032% tanto en condiciones mesofílicas como termofílicas.
- ✧ No se encontraron diferencias significativas en la producción de CH₄ entre las diferentes concentraciones de la MFC (0, 300, 800, 1400 y 2000 mg / kg Inoc) en ambos regímenes de temperatura y para ninguno de los sustratos manejados.
- ✧ La inclusión de la MFC parece no tener un efecto inhibitorio de la AME en consorcios DASS usando como sustratos ac. butírico, glucosa y celulosa a 35°C y 55°C de temperatura.

✧ La MFC empleada parece no inhibir la actividad de bacterias sintróficas, fermentativas y metanogénicas involucradas en el proceso de digestión anaerobia bajo estas condiciones de trabajo.

✧ De acuerdo con lo anterior y según la hipótesis planteada se encontró lo siguiente:

HIPÓTESIS :

La inclusión de altas concentraciones de la mezcla de fármacos caducos afectará en forma aguda la actividad metanogénica específica (AME) de consorcios metanogénicos involucrados en el proceso terminal de la digestión anaerobia de residuos sólidos.

NO VALIDA (De acuerdo con la técnica aquí planteada para ninguna concentración de MFC, sustrato ó régimen de temperatura).

BIBLIOGRAFIA.

- Allard, A.S., Hynning, P.A. and Lindgren, C. (1994) "Dechlorination of chlorocatechols by stable enrichment cultures of anaerobica bacteria". *Appl. Env. Microb.* 57:77-84.
- Angelidaki I. and Ahring B. K. (1994) "Anaerobic termophilic digestion of manure at different ammonia loads: effect of temperature". *Wat. Res.* Vol. 28. No. 3 pp. 727-731.
- Avendaño, C. (1996) "Introducción a la Química Farmacéutica". Mc graw Hill, 3ra. Reimpresión, España, pp. 780
- Barlaz M. A., Ham. R. And Schaefer. D. M. (1990) "Methane producction from Municipal refuse: a review of enhancement techniques and microbial dynamics". *Environ. Control.* 19(6):557- 584
- Björsson L., Mattiasson B. and Henrysson T. (1997) "Effects of suport material on the pattern of volatile fatty acid accumulation at overload in anaerobic digestion of semi-solid waste". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 47: 640-644.
- Blaut, M., Muller, V. and Gottschalk G. (1990) "The bacteria". *Academic Press.* XII: 728-731.
- Brown, M. C, Campbell I. y Priest, R. F. (1989) "Introducción a la Biotecnología". España. pp. 980.
- Bueno J., Alexander H., Mazarí M. y Piñero D. (1998) "Los residuos peligrosos y su impacto en los ecosistemas. La Supervivencia Vegetal ante la Contaminación Atmosférica". Capítulo 2. Colegio de Postgraduados.
- Cecchi, F. and Mata-Alvarez J. (1991) "Biological degradation of wastes". *Elsiev. Appl. Biotechnol.* 34/35:341-352.
- Chernicharo, C. A. L. and Campos, C. M. M.. (1992) "A new methodology to evaluate the behavior of anaerobic sludge exposed to potentially inhibitory compounds". *Wat. Sci. Tech.* 24(12): 201-210.
- Chynoweth, D. P., Bosh, G., Earle, J. F., Legrand, R. and Luik. (1991) "A novel process for anaerobic composting of municipal solid waste". *Appl. Biochem. Biotechnol.* 28/29: 241-242.
- CINVESTAV-IPN (1994) "Co-composteo anaerobio de residuos sólidos". Propuesta de proyecto de investigación. Depto. Biotecnología y Bioingeniería.
- Conn, M. P. y Gebhart, G.F.(1991) "Principios de farmacología". *El Manual Moderno*, México, pp. 740.
- Deffis C. A. (1990) "La casa ecológica autosuficiente para climas cálido y trópical". 1ra. Reimpresión. Ed. Limusa. México, pp. 180.
- Demian, A. L. (1999) "Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52: 455-463.

- Drzyga, O., Schmidt, A. and Biotevogel, K.H. (1995) "Reducción de Nitrated diphenylamine derivatives under anaerobic conditions". *Appl. Environ. Microb.* 61:3282-3287.
- Ejlertsson J., Johansson E., Meyerson U. and Svensson B. H. (1996). "Anaerobic degradation of xenobiotic by organism from municipal solid waste under landfilling conditions". *Antonie Van Leeuwenhoek.* 69: 67-74.
- Fathepure, B.Z., Nengu, J.P. and Boyd, S. (1987) "Anaerobic bacteria that dechlorinate perchloroetene". *Appl. Environ. Microb.* 53:2671-2674.
- Fuller, J. R. and Johnson, D. E. (1981). "Monensis and lasolacid effects on fermentation in vitro". *Journal of Animal Science*, 53, 1574-1580.
- Gallert C and Winter J.(1997) "Mesophilic and Thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic waste: effect of ammonia on glucose degradation and methane production". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48: 405-410.
- Gorris, L. G., Kok, T., Kroon, B., Vander Drift and Vogels, G. (1988) "Relationships between methanogenis cofactor content and maximum specific metanogenic activity of anaerobic granular sludges". *Appl. Env. Microbiol.* 54 (5):1126-1130.
- Guidelines for safe disposal of unwanted pharmaceuticals in and after emergencies. Draft. November (1998) Action Programmer on Essential Drugs. Division of Operational Support in Environmental Healt. World Health Organization. U.S.A.
- Gutiérrez, M.E. (1990) "Los residuos sólidos peligrosos: ¿Un riesgo sin Solución?" *Ciencias, México.* 20(4):41-44.
- Guyot, J.P. (1992) "Bioprocesos anaerobios para el tratamiento de efluentes industriales: introducción a la microbiología de digestores anaerobios" . Teatro del fuego nuevo, UAM-Iztapalapa-ORSTOM-IMP. México, D.F. pp. 17
- Hashimoto, A. G., Varel, V. H. and Chen Y. R.(1981) "Ultimate methane yield from beef cattle manure: effect of temperature, ration constituent, antibiotics and manure age". *Agricultural Wastes*, 3: 241-256.
- Hernández, C.P. (1995) "Tratamiento y disposición de medicamentos caducos y de residuos de la industria farmacéutica". Tesis de Maestría. Departamento de Física, UNAM.
- Henry, M., Donlon, B., Lens, P. and Colleran, E. (1996) "Use of anaerobic hybrid reactors for treatment of synthetic pharmaceutical wastewater containing organic solvents". *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 66: 251-264.
- Hilpert, R., Winter, J. and Kandler. (1981) "The sensibility of archaeobacteria to antibiotics". *Zbl. Bakt. Hyg. I C*, 2:11-20.
- Hilpert, R., Winter, J. Kandler, O (1982) "Feed additives and disinfectants as inhibitory factors in anaerobic digestion of agricultural wastes. In: energy from biomass". E. C. Conference, London and New YorK, *Appl. Scien. Publish.*, 552-558.
- Hilpert, R., Winter, J. and Kandler. (1984) "Agricultural feed additives and desinfectants as inhibitory factors in anaerobic digestion". *Agricultural Wastes*, 10: 103-116.
- Holmes, J. R. (1983) "Practical Waste Management". John Wiley and Sons, Inc., New York, EUA.

- Drzyga, O., Schmidt, A. and Biotevogel, K.H. (1995) "Reducción de Nitrated diphenylamine derivatives under anaerobic conditions". *Appl. Environ. Microb.* 61:3282-3287.
- Ejlertsson J., Johansson E., Meyerson U. and Svensson B. H. (1996). "Anaerobic degradation of xenobiotic by organism from municipal solid waste under landfilling conditions". *Antonie Van Leeuwenhoek.* 69: 67-74.
- Fathepure, B.Z., Nengu, J.P. and Boyd, S. (1987) "Anaerobic bacteria that dechlorinate perchloroetene". *Appl. Environ. Microb.* 53:2671-2674.
- Fuller, J. R. and Johnson, D. E. (1981). "Monensis and lasolacid effects on fermentation in vitro". *Journal of Animal Science*, 53, 1574-1580.
- Gallert C and Winter J.(1997) "Mesophilic and Thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic waste: effect of ammonia on glucose degradation and methane production". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48: 405-410.
- Gorris, L. G., Kok, T., Kroon, B., Vander Drift and Vogels, G. (1988) "Relationships between methanogenis cofactor content and maximum specific metanogenic activity of anaerobic granular sludges". *Appl. Env. Microbiol.* 54 (5):1126-1130.
- Guidelines for safe disposal of unwanted pharmaceuticals in and after emergencies. Draf. November (1998) Action Programmer on Essential Drugs. Division of Operational Support in Environmental Healt. World Health Organization. U.S.A.
- Gutiérrez, M.E. (1990) "Los residuos sólidos peligrosos: ¿Un riesgo sin Solución?" *Ciencias, México.* 20(4):41-44.
- Guyot, J.P. (1992) "Bioprocesos anaerobios para el tratamiento de efluentes industriales: introducción a la microbiología de digestores anaerobios" . Teatro del fuego nuevo, UAM-Iztapalapa-ORSTOM-IMP. México, D.F. pp. 17
- Hashimoto, A. G., Varel, V. H. and Chen Y. R.(1981) "Ultimate methane yield from beef cattle manure: effect of temperature, ration constituent, antibiotics and manure age". *Agricultural Wastes*, 3: 241-256.
- Hernández, C.P. (1995) "Tratamiento y disposición de medicamentos caducos y de residuos de la industria farmacéutica". Tesis de Maestría. Departamento de Física, UNAM.
- Henry, M., Donlon, B., Lens, P. and Colleran, E. (1996) "Use of anaerobic hybrid reactors for treatment of synthetic pharmaceutical wastewater containing organic solvents". *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 66: 251-264.
- Hilpert, R., Winter, J. and Kandler. (1981) "The sensibility of archaebacteria to antibiotics". *Zbl. Bakt. Hyg. I C*, 2:11-20.
- Hilpert, R., Winter, J. Kandler, O (1982) "Feed additives and disinfectants as inhibitory factors in anaerobic digestion of agricultural wastes. In: energy from biomass". E. C. Conference, London and New YorK, *Appl. Scien. Publish.*, 552-558.
- Hilpert, R., Winter, J. and Kandler. (1984) "Agricultural feed additives and disinfectants as inhibitory factors in anaerobic digestion". *Agricultural Wastes*, 10: 103-116.
- Holmes, J. R. (1983) "Practical Waste Management". John Wiley and Sons, Inc., New York, EUA.

- Kubler, H. and Nimmrichter, R. (1999) "Biogas yield of thermophilic and mesophilic anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste". II International symposium of anaerobic digestion of solid waste. pp 369-374.
- Kettunen J. A and Rintala J. A. (1997) "The effect of low temperature (5-25°C) and adaptation on the methanogenic activity of biomass". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48: 570-576.
- Lay J.J., Li Y. Y. and Noike T. (1998) "Dynamics of methanogenic activities in a Lanfill Bioreactor treating the organic fraction of Municipal Solid Wastes". *Wat. Sci. Tech.* 38(2).177-184.
- Laugwitz R. (1990) "Deponiegase als Quelle holoenergiereicher Kohlenwasserstoffe". *Müll und Abfall* 3:142-151.
- Lansky P. F. And Halling-Sorensen B. (1997) "The toxic effect of the antibiotic metronidazole on aquatic organisms". *Chemosphere.* 35(11): 2553-2561.
- Lehninger, A. L. (1994) "Bioquímica". 2da Ed. Barcelona, Omega, pp. 1117. (Publicado en lengua inglesa por la editorial Worth Publisher Inc. New York con el título *Biochemistry*)
- López de Juambelz, R. (1990) "El impacto de los desechos sólidos sobre el medio". Facultad de Arquitectura-UNAM, México. Ciencias No. 20. pp. 24-27
- McCarty P. L. And Mosey F. E. (1991) "Modeling of anaerobic digestion process (a discussion of concepts)". *Wat. Sci. Tech.* 24(8):17-33.
- Márquez B. L..(2000) "Codisposición de residuos sólidos y medicamentos caducos en rellenos sanitarios acelerados". Tesis de Maestría. Grupo de Bio Procesos Anaerobios de Alta Tasa – Depto. Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN.
- Mata-Alvarez J. y Cecchi F. (1991) "Biological Degradation of wastes". Chapter 18. *Elsiev. Appl. Biotechnol.* pp. 353-367.
- Mata-Alvarez J. y Cecchi F. (1991) "Anaerobic digestion of Municipal Solid Waste. An up-to-date review". Chapter 19.*Elsiev. Appl. Biotechnol.* pp. 353-367.
- Mata-Alvarez, J., Cecchi, F., Pavan P. and Bassetti. (1993) "Semi-dry thermophilic anaerobic digestion of fresh and precomposteo organic fraction of municipal solid waste; digester performance". *Wat. Sci. Technol.* 27(2); 87-96.
- Montgomery, Douglas C.(1976) "Design and analysis of experiments". Wiley and Sons, USA,pp.690
- Montgomery, Douglas C.(1986) "Design and analysis of experiments". Wiley and Sons, USA. pp. 690.
- Mosché M. And Jördening H. J. (1998) "Detection of very low saturation constants in anaerobic digestion: influences of calcium carbonate precipitation and pH". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49: 793-799.
- Nakashimada, Y., Srinavasan, K., Murakami, M. and Nishio, N. (2000) "Direct conversion of cellulose to methane by anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* and defined methanogens". *Biotechnology Letters*, 22: 223-227.

- Nopharatana A., Clarke W. P. Pullammanappallil P. C. Silvey and Chynoweth.(1998) "Evaluation of methanogenic activities during anaerobic digestion of municipal solid waste". *Bioresource Technology*. 64: 169-174.
- Nozhevnikova A. N., Nekrasova V. K., Lebedev V. S. and Lifshits.A. B. (1993) "Microbiological processes in Landfills". *Wat. Sci. Tech.* Vol. 27. No. 2. Pp. 243-252.
- Obras y Servicios (1999) "Publicación bimestral del gobierno del D.F." Número 3. Octubre . pp. 4.
- O'connor, J. J., Meyers, G. S., Maplesden, D. C. and Vandernoot, G.W. (1970) "Chemicals additives in rumen fermentation: in vitro effects of various drugs on rumen volatile fatty acids and protozoa". *Journal of Animal Science*, 30: 812-818.
- Owens J. M. And Chynoweth D. P. (1993) "Biochemical methane potential of municipal solid waste (MSW) components". *Wat. Sci. Techn.* 27(2):1-14.
- Pearson, F., Shiun-Chung, C. and Gautier, M. (1980) "Toxic inhibition of anaerobic biodegradation". *Journal of water pollution control federation*. 52: 472-482.
- Penaud, V., Delgenes J. P., Torrijos M., Moletta R. Vanhoutte B. And Cans P. (1997) "Definition of optimal conditions for the hydrolysis and acid genesis of a pharmaceutical microbial biomass." *Process Biochemistry*. 32(6):515-521.
- Poels, P., Assche V. and Verstraete, W. (1984) "Effects of disinfectants and antibiotics on the anaerobic digestion of piggery waste". *Agricultural Waste*, 9: 239-247.
- Poggi-Varaldo. H.M. ², Arce-Medina E. and Caffarel-Méndez. (1997) "Inhibition of mesophilic solid substrate anaerobic digestion (DASS) by ammonia- rich wastes". 52nd Purdue Industrial Waste Conference Proceedings. Ann Arbor Press, Chelsea, Michigan, U. S. A. pp. 55-65.
- Poggi- Varaldo, H. M. and Oleszkiewics. (1990) "Cost effectiveness of technologies for municipal solid wastes processing and treatment". 7th. Intl. Conf. Solid Waste Manage. Second Materials, Philadelphia, P. A., USA.
- Poggi-Varaldo y Oleszkiewics, J. (1992) "Anaerobic co-composting of municipal solid waste and waste sludge at high total solid levels". *Environ. Technol* 13: 409-421.
- Poggi , V. y Rinderknecht, G. (1990) "Manual de técnicas analíticas para determinar la actividad microbiana en sistemas anaerobios". Grupo de bioprocesos anaerobios de alta tasa (GABAPANAT) CINVESTAV-IPN, México.
- Poggi-Varaldo. H. M. ¹, Valdés L., Esparza- García F. And Fernández- Villagómez G. (1997) "Solid substrate anaerobic co- digestion of paper mill sludge, biosolid, and municipal solid waste". *Wat. Sci. Tech.* 35(2-3):197-204.
- Pohland F.G. (1991) "Fundamental principles and management strategies for landfill codisposal practices: In: Sardinia 91, Italy: Imola Grafiche Galeati Proc 3rd Int. Landfill Symposium". 1:1445-1460
- Pohland, F.G. (1995) "Landfill Bioreactors : Historical perspective, fundamental principles and new horizons in design and operation". Seminar Publication. National Risk Management Research Laboratory Office of Research and Development U.S: Environmental "Protection Agency. EPA/600/R-95/146.

- Pohland, F.G. and Al-Yousfi. (1995). "Design and operation of Landfills for optimum stabilization and biogas production". *Wat. Sci. Tech.* 30(12):117-124.
- Pohland, F. G. and Kim (1998) "In situ anaerobic treatment of lechate in landfill bioreactors". V Taller y seminario Latinoamericano "Tratamiento anaerobio de aguas residuales, Viña del Mar-Chile.
- Pohland, F. G. and Kim (1999). "Microbially – mediated attenuation potential of landfill bioreactor systems". II International symposium on anaerobic digestion of solid waste. Vol. 1 Contents- Session 5B. pp 234-241.
- Purcell, B. E., Sollars, C. J. and A.P. Butler. (1997) "Enhanced moisture movement in simulated landfill environments". Environmental sanitary engineering center. Proceeding Sardinia 97, Sixth International Landfill Symposium. pp.409-425.
- Purser, D.B., Kloppenstein, T. J and Cline, J. H. (1965) "Influence of tylosin and aureomicin upon rumen metabolism and the microbial population". *Journal of Animal Science*, 24: 1039-1044.
- Ress, B., Calbert, P., Petigrew, C. and Barlaz, M. (1998) "Testing anaerobic biodegradability of polymers in a laboratory-scale simulated landfill". *Environ. Sci. Technol.*, 32: 821-827.
- Sánchez, G. J. (1994). "Propuesta para el control de residuos sólidos generados en mínimas cantidades por fuentes no industriales". Notas de la Asociación Mexicana para el Control de los Residuos Sólidos y Peligrosos A. C.(AMCRESPEC) Tomo 1. Vol. 5. Marzo-Abril, pp. 3-7. México.
- Sanz J. L, Rodriguez N. And R. Amils. (1996) "The action of antibiotic on the anaerobic digestion process". *Appl. Microbiol. Biotechnol* 46: 587-592.
- Saur, G. (1994). "El manejo de los residuos sólidos industriales". Tomo 1, Vol. 7. Julio- Agosto. Asociación Mexicana para el Control de los Residuos Sólidos y Peligrosos A. C. (AMCRESPEC). El economista 16-V-99 pp. 92.
- SEDESOL. (1994) "Informe de la situación actual en materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente" 1993-1994. México, D. F. pp. 374.
- Seoanez, C. M. (1995) "Ecología Industrial. Ingeniería medioambiental aplicada a la industria y a la empresa". Colección Ingeniería Medioambiental. pp. 620.
- Six W. and De Baere, L. (1992) "Dry anaerobic conversion of municipal solid waste by mean of the Dranco process". *Water Sci. Technol.* 25(7); 295-300.
- Sorg, T.J., H. Lainer Hickman. (1968) "Sanitary Landfill Facts", SW-4ts U.S. Dept. H.E.W., Public Health Service, National Center for Urban and Industrial Health, Solid Waste Program, Cincinnati.
- Sorensen and Ahring. (1993) "Measurement of the specific methanogenic activity of anaerobic digester biomass". *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 40: 427-431.
- Stainer R. Y., Adelberg E. A. y Ingraham J. L.(1986) "Microbiología". 4ta. Ed. México. pp. 1220.
- Tena, G. (1995) "La basura: recurso desperdiciado". *Ciencia y Desarrollo.* 21(121/122):88-90.

- Valdés-L., L.A. (1997) "Digestión anaerobia en sustrato sólido de residuos industriales y municipales". Tesis de Maestría, CINVESTAV-IPN, México.
- Varel, V. H. and Hashimoto, A. G. (1981) "Effect of dietary monensin or chlortetracycline on methane production from cattle waste". *Appl. Environ. Microb.*, 41: 29-34.
- Varel, V. H. and Hashimoto, A. G. (1982) "Methane production by fermenter or cultures acclimated to waste from cattle fed monensin, lasolacid, salinomycin, or avoparcin". *Appl. Environ. Microb.*, 44(6):1415-1420.
- Vázquez, C. A. y Sánchez G.J. (1994) "Propuesta para el control de Residuos peligrosos generados en mínimas cantidades por fuentes No Industriales". Notas de la Asociación mexicana para el control de los Residuos Sólidos y Peligrosos, A. C. Vol. 5. Tomo 1, Marzo - Abril, pág 3-7. México.
- Vázquez M. J. (1997) "Arranque de digestores Mesofílicos anaerobios en sustrato sólido". Tesis de Maestría. Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias reactivas. IPN, México.
- Voet, D. (1992) "Bioquímica". 2da. Ed. New York, John Wiley and Sons, pp.1360.
- Walker, A. N., Beaven, R.P. and Powrie, W. (1997) "Overcoming problems in the development of a high rate flushing bioreactor landfill". Environmental sanitary engineering center. Proceeding Sardinia 97, Sixth International Landfill Symposium. pp. 397-407.
- Ward y Owen P. (1989) "Biotecnología de la fermentación. Principios, procesos y productos". Acribia, España. pp.980.
- Warikoo, V., MacInerney, M. J. y Robinson, J. A. (1996) "Interspecies acetate transfer influences the extent of anaerobic benzoate degradations by syntrophic consortia". *Appl. Environ. Microb.* 62: 26-32 .
- Whitman W. B., Bowen T. L. and Boone D. R. (1992) "The prokaryotes. The methanogenic bacteria". 2nd Ed. Springer-Verlag, New York. pp. 719-767.
- Willumsen H.C., Burian Hanssen P and Jensen P.E. (1988) "Toxic component in biogas extracted from landfill". In : Hall ER & Hobson PN (Eds) Anaerobic digestion, 5th Int Symposium on Anaerobic digestion (pp 507-512). Pergamon Press, Bologna.
- Zabranska J., Jeníček P. and Dohányos M. (1994) "The determination of anaerobic biodegradability of pharmaceutical wastes by methanogenic activity test". *Wat. Sci. Tech.* 30.(3):103-107.
- Zwiener C. and F. H. Frimmel. (2000) "Oxidative treatment of pharmaceuticals in water". *Wat. Res.* 34(6):1881-1885.

NORMAS:

- NOM-052-ECOL-1993. En materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente.
- NOM-053-ECOL-1993. En materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente.

ANEXO I

Técnica de actividad metanogénica específica (AME) en digestores anaerobios de sustrato sólido (DASS).

INTRODUCCION

La factibilidad de conocer la Actividad Metanogénica Específica (AME) llevada a cabo por los diversos consorcios microbianos involucrados en el proceso terminal de la digestión anaerobia consiste en someter a la biomasa activa a pruebas en lote al proceso de degradación de materia orgánica compleja bajo condiciones anaerobias suministrando algún sustrato específico para la producción de metano. De esta manera mediante las mediciones de los cambios en concentración de productos intermediarios y/o la producción de gas es posible interpretar de manera indirecta la actividad de los diferentes grupos bacterianos involucrados en todas las conversiones registradas.

A la fecha se sabe que muchas de las diversas actividades que realizan los microorganismos se pueden ver afectadas por diversos factores como la temperatura, el pH, etc., sin embargo, hoy día se ha visto que varios de los compuestos contenidos en los ciertos residuos pueden afectar de alguna manera la actividad normal de la mayoría de los consorcios involucrados en un determinado proceso al ser adicionados intencional o inintencionalmente en su ambiente. (Mata- Alvarez y Cecchi, 1992; Willumsen *et al.* 1988, Lawitz, 1990, Pohland 1991; Ejlertson, *et al.*, 1996; Sanz, *et al.*, 1996; Zabranska, *et al.*, 1994; Penaud, *et al.*, 1997; Márquez, 1997). Uno de los puntos a evaluar en este trabajo es el de ver en que grado es afectado el proceso de AME por la adición de diferentes Concentraciones de una MFC, proveniente de los residuos que genera la Industria Farmacéutica y los que se sabe forman parte importante de las porcentajes de Residuos que se generan diariamente en nuestro país (Márquez, 1997) y que además suelen presentar algún grado de riesgo para el ambiente si no se manejan adecuadamente. (NOM-052-ECOL-1993)

MATERIAL

- ⊗ 12 botellas de vidrio con capacidad de 260 ml (aprox.240 ml ya tapado) para cada sustrato.
- ⊗ Tapones de goma
- ⊗ Arnes de reja
- ⊗ Espátulas
- ⊗ Jeringas (1ml) y agujas

EQUIPO

- ⊗ Cromatógrafo de gas (GOW MAC Serie 350 Thermal Conductivity Detector)
- ⊗ Graficador
- ⊗ Potenciómetro para medir pH
- ⊗ Bascula granataria electrónica digital
- ⊗ Incubadora
- ⊗ Tanque de gas: mezcla de Nitrógeno/ CO₂ (80:20) 2 ATM.
- ⊗ Cabina anaerobia
- ⊗ Cabezal múltiple de gases
- ⊗ Jeringa cromatográfica con aguja (1ml)
- ⊗ Cápsula para gases

SUSTRATOS

Cada uno de los sustratos usados se agregaron por inyección a excepción de la Celulosa debido a su consistencia. De los sustratos inyectables se agrego 1 ml del sustrato correspondiente en cada una de las botellas de AME excepto en los controles pasivos (CP). La celulosa previamente pesada fue agregada a las botellas de forma manual dentro de la cabina anaerobia. Las concentraciones empleadas para cada sustrato se muestran a continuación:

- ⊖ Ac. butírico [10 mM / botella] (Ver stock de ac. butírico)
- ⊖ Glucosa [0.5 mM/botella] (Ver stock de glucosa)
- ⊖ Celulosa [90 mg / botella] (Ver preparación de celulosa)

Stock de ac. butírico:

Para preparar el stock se uso ac butírico (Pureza 99%, Densidad = 0.9534 y Peso Molecular = 88.10) del cual se tomaron 27.72 ml y se aforaron a 1 litro con agua destilada agitando constantemente para su mejor dilución.

Stock de glucosa:

Para poder adicionar la glucosa a las botellas de AME sin necesidad de abrirlas y manteniendo el ambiente interno anaerobio, se decidió preparar un stock de glucosa donde su consistencia sólida pasara a ser líquida e inyectable. Para preparar el stock se diluyeron 90 g de glucosa por cada litro de agua destilada.

Preparación de celulosa:

Se tomo como fuente de celulosa al papel filtro, el cual se molió en un molino manual hasta lograr una consistencia granulosa fina.

CONCENTRACION DE LA MFC

La mezcla de fármacos caducos se aplico en varias concentraciones previamente establecidas para las pruebas de AME, según los porcentajes de residuos que genera la industria farmacéutica en México.

Las concentraciones que se emplearon en las pruebas de AME fueron las siguientes :

- Concentración ① (C1) = 300 mg/kg
- Concentración ② (C2) = 800 mg/kg
- Concentración ③ (C3) = 1400 mg/kg
- Concentración ④ (C4) = 2000 mg/kg

PROCEDIMIENTO

Antes de iniciar la técnica, preparar la lista de material, equipo, sustrato y todo lo necesario.

- A) Preparar la cabina anaerobia colocando dentro de ella todo con el material y equipo que se valla a usar (botellas, báscula, DASS, espátulas, la MFC, etc.), cerrarla y después ventearla con gases inertes como Nitrógeno o Nitrógeno/CO₂ (80:20). Esperar por 10 min. aprox., o más hasta eliminar todo el Oxígeno

posible, después se debe mantener la recirculación del gas inerte hasta que se termine la Prueba de AME con el fin de mantener la condición anaerobia dentro de la cabina. Las botellas que se usen deben estar previamente marcadas y pesadas cada una con su respectivo arnes y tapón.

Las 12 botellas a emplear en cada prueba se distribuirán de la siguiente manera por duplicado: 2 controles pasivos (CP) sin sustrato, 2 controles activos (CP) con sustrato, 4 tratamientos con las 4 diferentes concentraciones de la MFC (C1, C2, C3 y C4 respectivamente).

- B) Una vez transcurrido el tiempo de recirculación del gas inerte en la Cabina abrir el DASS respectivo y distribuir 30 g de inoculo en cada uno de las botellas para cada prueba de AME. Añadir la concentración de la MFC correspondiente a cada botella y cerrarlas bien. Como el sustrato en la mayoría de los casos es líquido o gaseoso, puede agregarse por inyección fuera de la cabina antes de poner a incubar las botellas (a excepción de la celulosa, la cual por ser sólida deberá añadirse dentro de la cabina). La cantidad de sustrato que se agrego para los fines de esta investigación fue de 1ml de ac. butírico 10 mM y 1ml de stock de glucosa 0.5 mM, mientras que la concentración de celulosa fue de 90 mg en cada botella a excepción de los CP.
- C) En paralelo a la distribución de Inoculo se toma muestra para la determinación de pH, ST, STV, STF y AOV.
- D) Una vez fuera de la cabina anaerobia cada una de las botellas deberá ser pasada por el cabezal múltiple de gases para realizarles un barrido de vacío y un barrido de nitrógeno varias veces con la finalidad de mantener las botellas libres del metano propio de la actividad microbiana en el DASS.
- E) Después del cabezal múltiple, cada una de las botellas deberá ser puesta a presión constante extrayendo el gas de los barridos que se encuentre excedente a través de un sistema de eliminación de presión que consiste en la inyección de una aguja a cada botella la cual esta previamente conectada a una manguera sumergida en agua que liberara el gas a presión en las botellas de AME (mantener este sistema en cada botella hasta que ya no salgan burbujas por la manguera).
- F) Una vez que todas las botellas hayan pasado por estos procedimientos se incubaran a la temperatura correspondiente (35°C o 55°C) por aprox. 24 hr o más según se establezca. Las botellas se mantendrán en incubación durante todo el tiempo que dure la prueba.
- G) A partir de la primera hora de Incubación se podrá determinar el metano producido vía cromatografía de gas, tomando con la jeringa cromatográfica una muestra del biogás de cada una de las botellas y analizandolo inmediatamente en el cromatografo de gases.
Para los fines de esta investigación las pruebas de actividad metanogénica específica (AME) se determinarán por medio de la inyección de 0.5 ml de biogás de cada una de las botellas en el cromatografo de gas. Dichas muestras fueron extraídas a partir de la 1 hora de incubación o dependiendo del sustrato empleado. Para sustratos como el ac. butírico se muestreo en un intervalo de 1-7 hr. mientras que para la glucosa y celulosa fueron de hasta 12 hr. y 30 días respectivamente.
- H) Se Calculo la Actividad Metanogénica Específica (AME) como sigue:

CALCULOS

- Determinar el CH₄ producido vs tiempo y convertirlo a $\mu\text{mol CH}_4$ botella vs tiempo
- Efectuar una Regresión Lineal a partir de los puntos que se juzguen mejor alineados (no se consideraron los lags).
- Tomar la Pendiente de la Regresión ("α")

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Así, pues, la actividad metanogénica específica (AME) se define como:

$$AME = \frac{\alpha}{M_{\text{inoculo}}} \quad \text{en unidades de} \quad \frac{\mu\text{mol CH}_4}{\text{h} \cdot \text{g inoculo}}$$

ó

$$AME = \frac{\alpha}{M_{\text{inoculo}}} \quad \text{en unidades de} \quad \frac{\mu\text{mol CH}_4}{\text{h} \cdot \text{g SV inoculo}}$$

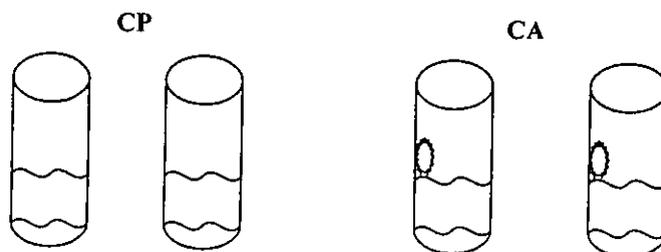
donde :

α = pendiente

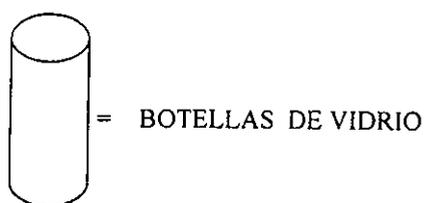
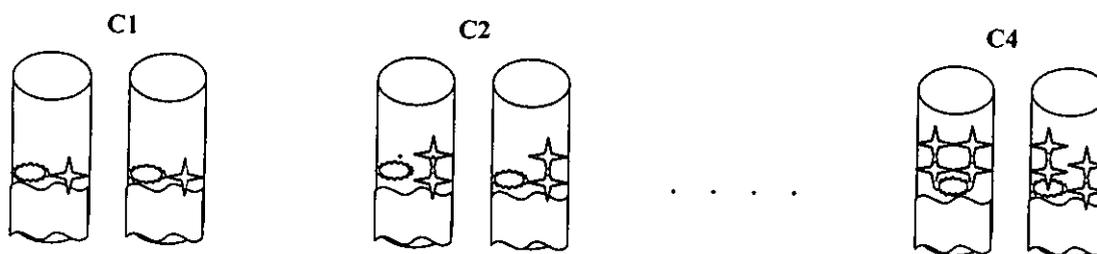
M_{inoculo} = Masa de inoculo en la botella (g)

- Graficar la masa de metano (CH₄) vs tiempo en $\mu\text{mol de CH}_4 / \text{g} \cdot \text{h}$ o $\mu\text{mol de CH}_4 / \text{g SV} \cdot \text{h de inoculo}$.

CONTROLES



TRATAMIENTOS



= BOTELLAS DE VIDRIO



= INOCULO DE DASS



= SUSTRATO "X" (Ac. Butírico, Glucosa, Celulosa)



= MEDICAMENTO CADUCO (≠ [])

NOTA : Tanto los Controles como los Tratamientos deben efectuarse por duplicado

Figura 30. Experimento tipo de la técnica de actividad metanogénica específica (AME).

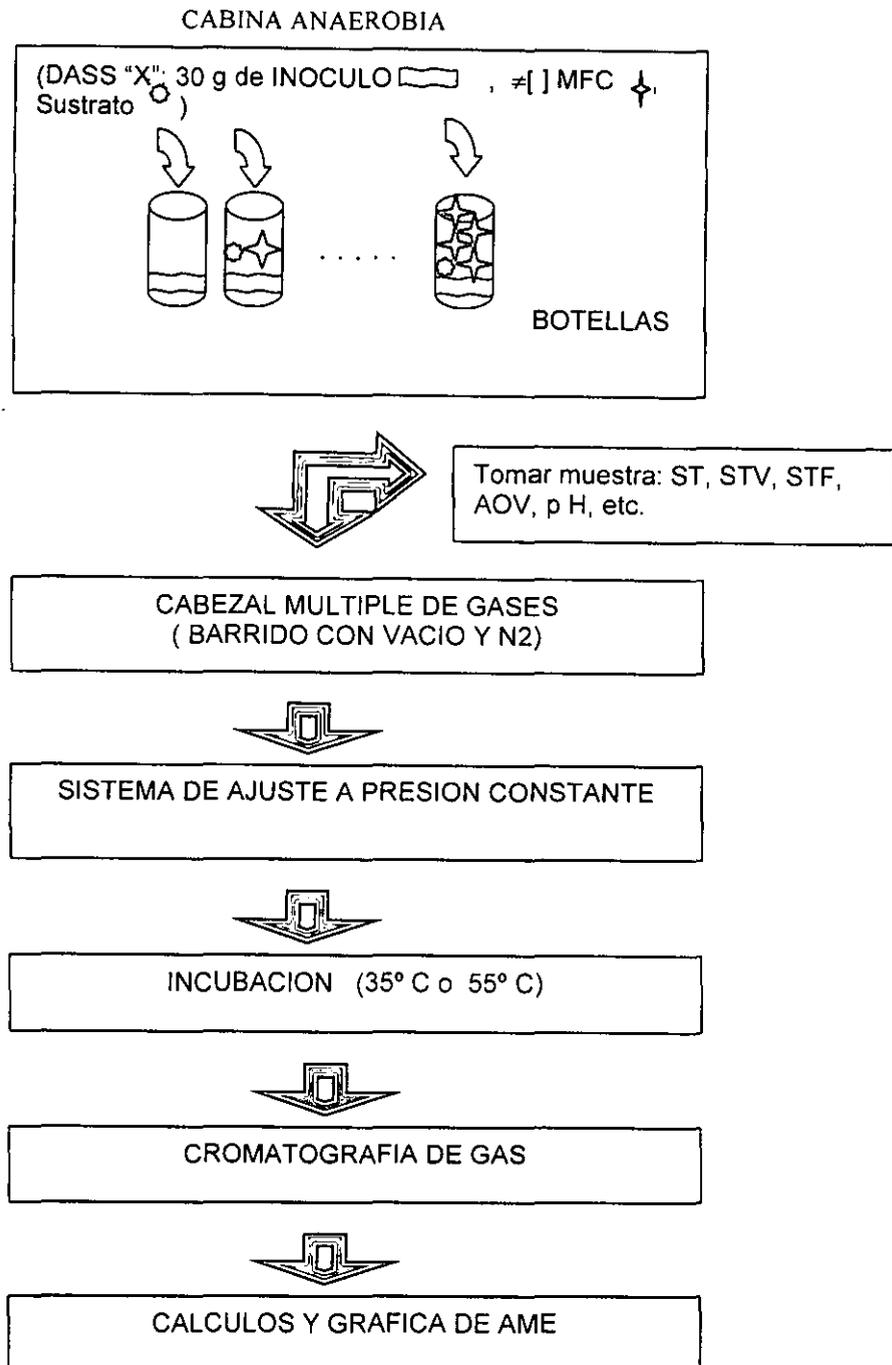


Figura 31. Procedimiento de la técnica de actividad metanogénica específica (AME).

ANEXO II

Pruebas AME (con repetición para cada sustrato y régimen de temperatura).

AME BUTIRICA MESOFILICA					AME BUTIRICA MESOFILICA (Repetición)				
Botella	[MFC]	umol CH4/g.h	Promedio	D.E	Botella	[MFC]	umol CH4/g.h	Promedio	D.E
CP1	0	0,62	0,66	0,02	CP1	0	0,52	0,50	0,01
CP2		0,71			CP2		0,48		
CA1	0	1,40	1,27	0,07	CA1	0	0,86	0,75	0,06
CA2		1,13			CA2		0,64		
C1	300	1,37	1,21	0,08	C1	300	0,59	0,55	0,02
C1'		1,06			C1'		0,51		
C2	800	1,67	1,69	0,01	C2	800	0,65	0,62	0,01
C2'		1,71			C2'		0,60		
C3	1400	1,07	1,43	0,18	C3	1400	0,91	0,86	0,03
C3'		1,79			C3'		0,81		
C4	2000	1,07	1,24	0,09	C4	2000	0,85	0,83	0,01
C4'		1,42			C4'		0,89		

AME BUTIRICA TERMOFILICA					AME BUTIRICA TERMOFILICA (Repetición)				
Botella	[MFC]	umol CH4/g.h	Promedio	D.E	Botella	[MFC]	umol CH4/g.h	Promedio	D.E
CP1	0	1,20	0,83	0,19	CP1	0	4,60	4,00	0,30
CP2		0,45			CP2		3,41		
CA1	0	1,57	1,51	0,03	CA1	0	5,71	5,05	0,33
CA2		1,44			CA2		4,39		
C1	300	1,47	1,05	0,21	C1	300	5,21	4,67	0,27
C1'		0,64			C1'		4,14		
C2	800	0,37	0,42	0,02	C2	800	5,26	4,85	0,21
C2'		0,46			C2'		4,43		
C3	1400	1,16	1,53	0,19	C3	1400	4,73	4,74	0,01
C3'		1,90			C3'		4,75		
C4	2000	1,24	1,52	0,14	C4	2000	5,68	5,38	0,15
C4'		1,81			C4'		5,08		

AME GLUCOSA MESOFILICA					AME GLUCOSA MESOFILICA (Repetición)				
Botella	[MFC]	umol CH4/g.h	Promedio	D.E	Botella	[MFC]	umol CH4/g.h	Promedio	D.E
CP1	0	3,06	3,33	0,13	CP1	0	2,45	2,34	0,06
CP2		3,60			CP2		2,22		
CA1	0	5,79	5,18	0,30	CA1	0	5,61	5,42	0,09
CA2		4,58			CA2		5,24		
C1	300	6,13	5,63	0,25	C1	300	4,78	5,26	0,24
C1'		5,12			C1'		5,74		
C2	800	4,62	4,56	0,03	C2	800	5,45	5,96	0,26
C2'		4,51			C2'		6,48		
C3	1400	5,10	4,54	0,28	C3	1400	6,14	5,80	0,17
C3'		3,97			C3'		5,45		
C4	2000	5,95	5,62	0,16	C4	2000	5,97	5,75	0,11
C4'		5,30			C4'		5,53		

AME GLUCOSA TERMOFILICA					AME GLUCOSA TERMOFILICA (Repetición)				
Botella	[MFC]	umol CH4/g.h	Promedio	D.E	Botella	[MFC]	umol CH4/g.h	Promedio	D.E
CP1	0	0,97	0,97	0,00	CP1	0	3,54	3,31	0,12
CP2		0,96			CP2		3,08		
CA1	0	1,97	1,91	0,03	CA1	0	3,67	3,85	0,09
CA2		1,85			CA2		4,03		
C1	300	1,63	1,93	0,15	C1	300	4,66	4,49	0,08
C1'		2,22			C1'		4,32		
C2	800	2,61	2,24	0,19	C2	800	4,69	4,51	0,09
C2'		1,87			C2'		4,33		
C3	1400	1,89	1,99	0,05	C3	1400	4,16	3,70	0,23
C3'		2,09			C3'		3,24		
C4	2000	1,95	1,83	0,06	C4	2000	3,61	3,67	0,03
C4'		1,71			C4'		3,73		

[MFC]=concentración de la mezcla de fármacos caducos

D.E = desviación estandar

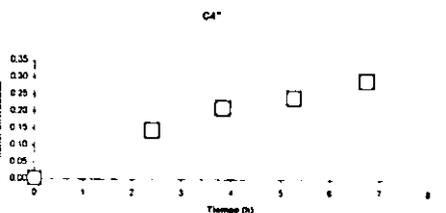
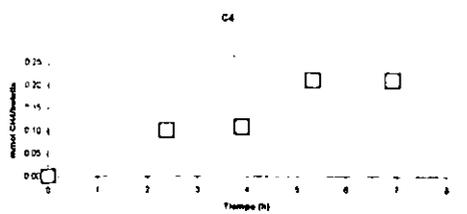
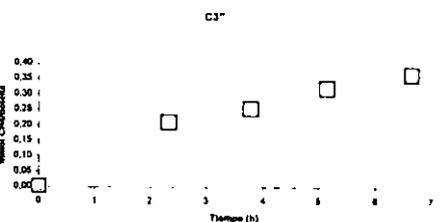
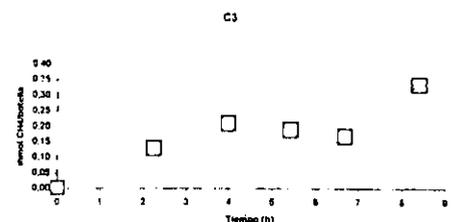
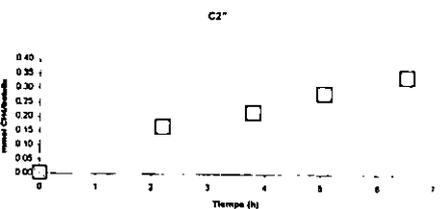
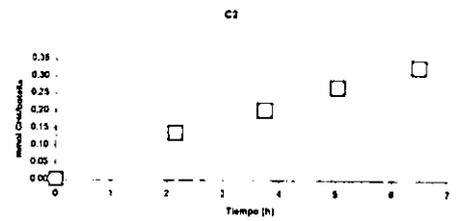
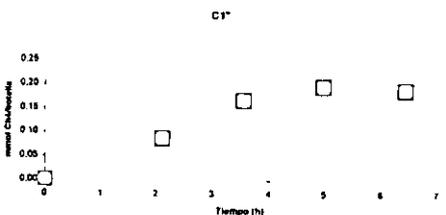
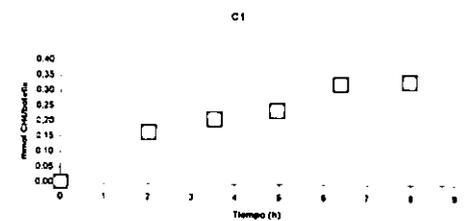
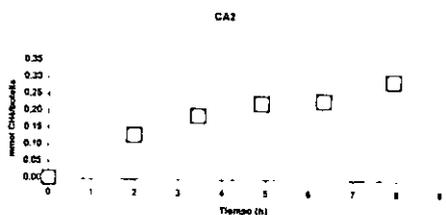
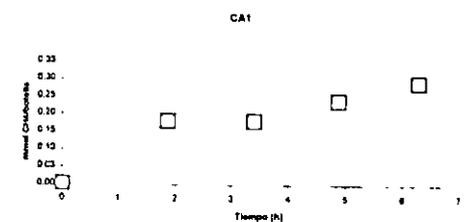
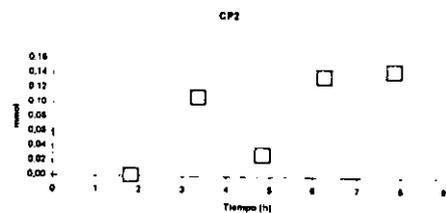
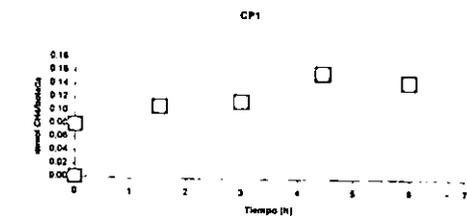
AME CELULOSA					AME CELULOSA (Repetición)				
Botella	[MFC]	umol CH ₄ /g.h	Promedio	D.E	Botella	[MFC]	umol CH ₄ /g.h	Promedio	D.E
CP1	0	0,21	0,23	0,01	CP1	0	0,30	0,30	0,00
CP2		0,25			CP2		0,30		
CA1	0	0,60	0,58	0,01	CA1	0	0,42	0,39	0,01
CA2		0,56			CA2		0,35		
C1	300	0,54	0,53	0,00	C1	300	0,35	0,36	0,00
C1'		0,52			C1'		0,37		
C2	800	0,51	0,38	0,04	C2	800	0,38	0,30	0,03
C2'		0,25			C2'		0,22		
C3	1400	0,41	0,33	0,03	C3	1400	0,22	0,37	0,06
C3'		0,25			C3'		0,53		
C4	2000	0,23	0,24	0,00	C4	2000	0,51	0,52	0,01
C4'		0,25			C4'		0,54		

AME CELULOSA TERMOFILICA				
Botella	[MFC]	umol CH ₄ /g.h	Promedio	D.E
CP1	0	0,38	0,46	0,03
CP2		0,55		
CA1	0	0,20	0,33	0,04
CA2		0,46		
C1	300	0,45	0,51	0,02
C1'		0,57		
C2	800	0,46	0,40	0,02
C2'		0,35		
C3	1400	0,48	0,49	0,00
C3'		0,50		
C4	2000	0,56	0,38	0,06
C4'		0,21		

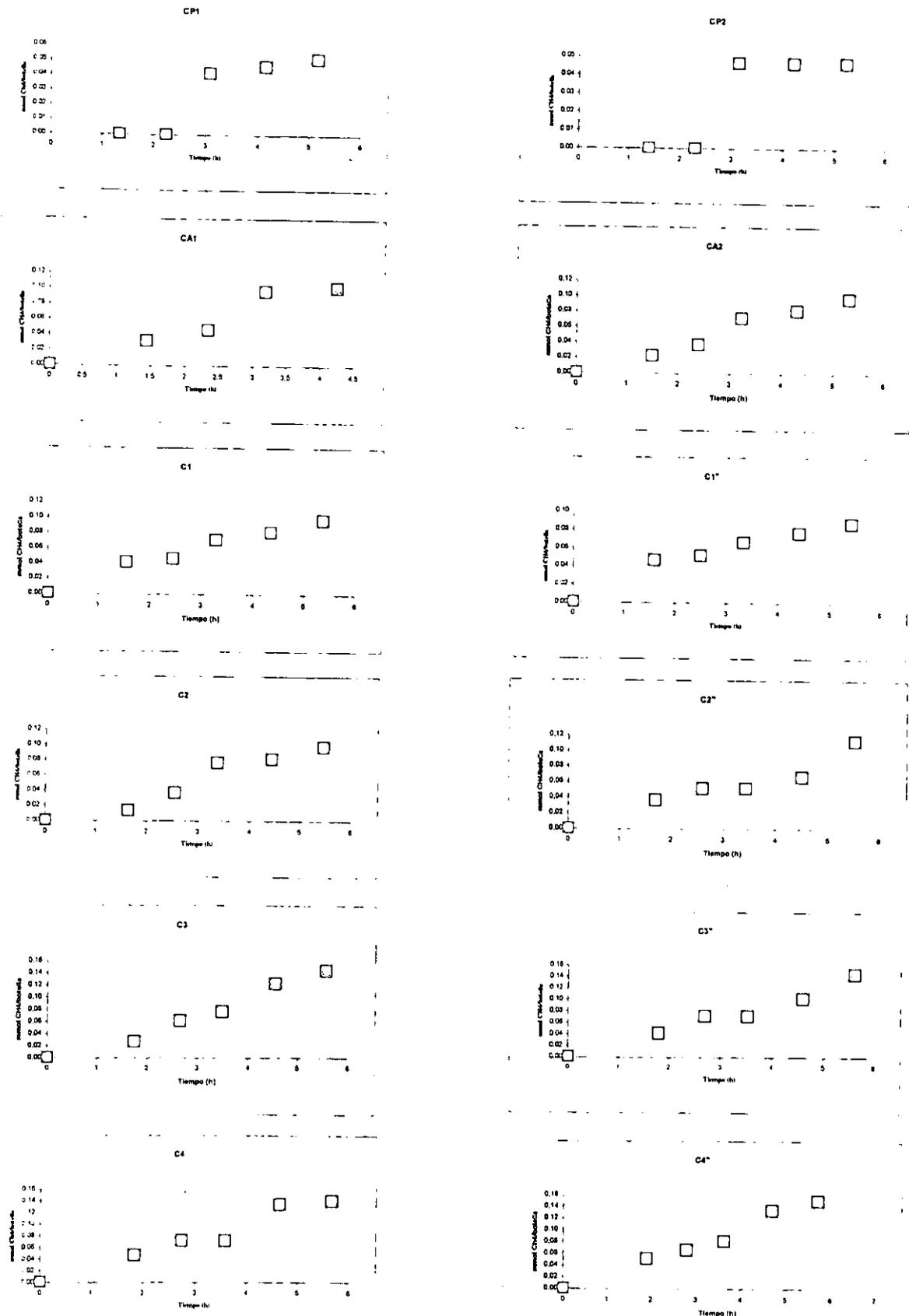
[MFC]=concentración de la mezcla de fármacos caducos
D.E = desviación estandar

ANEXO III

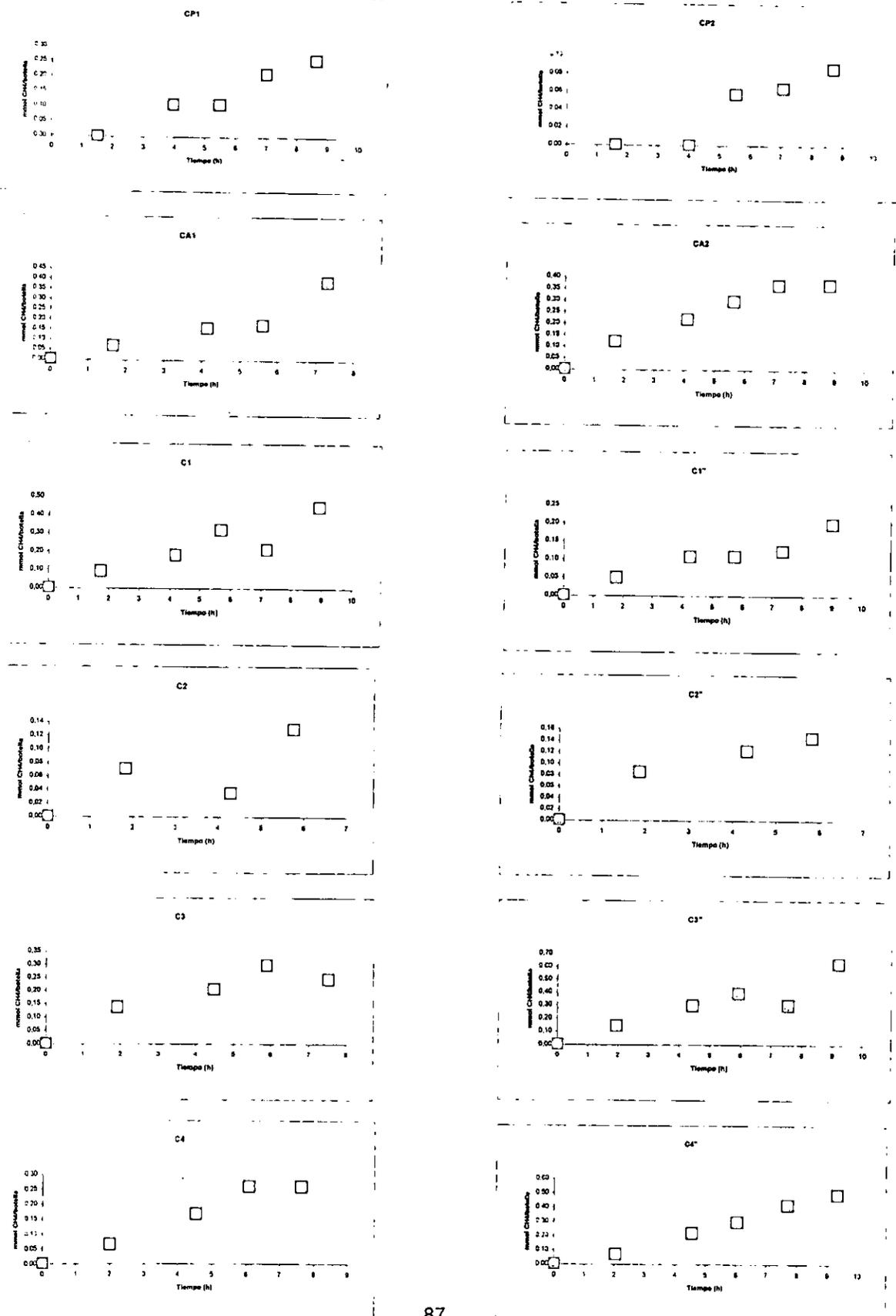
AME BUTIRICO MESOFILICA (35°C)



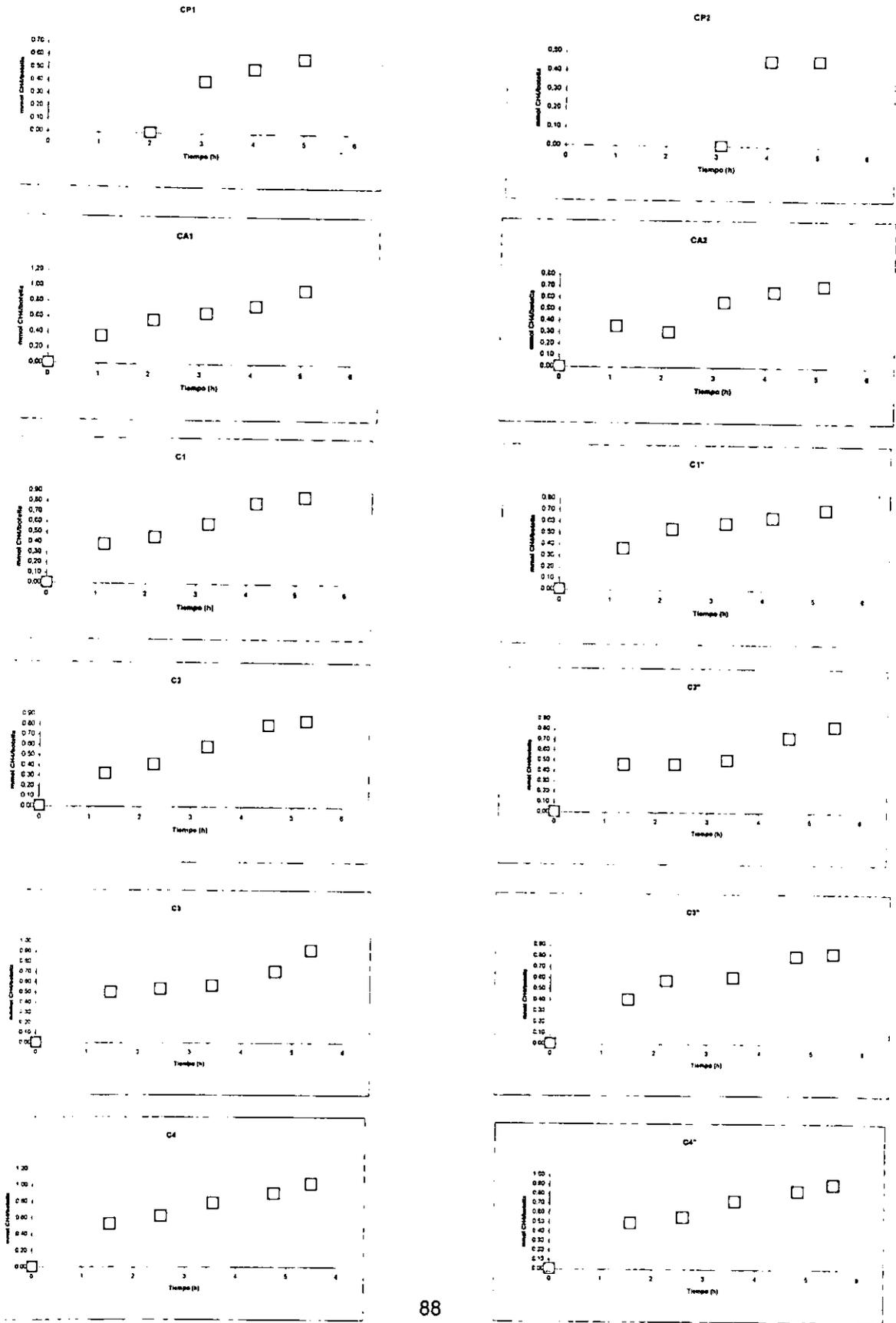
AME BUTIRICO MESOFILICA (35°C) - REPETICIÓN



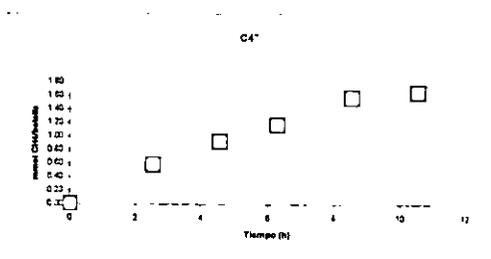
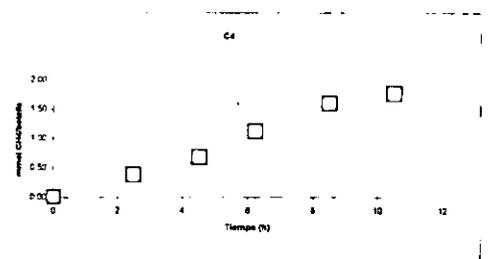
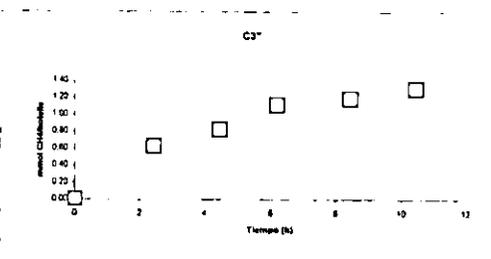
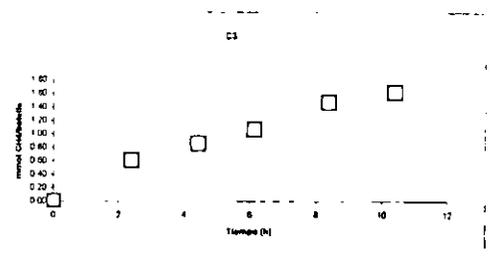
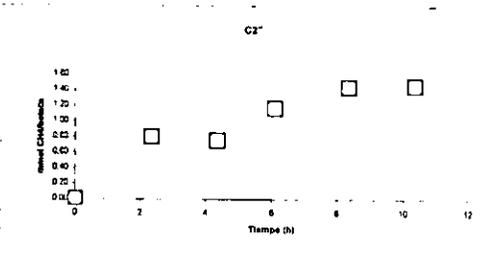
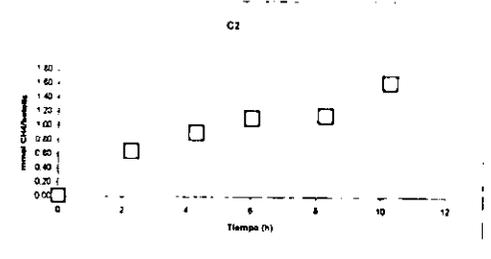
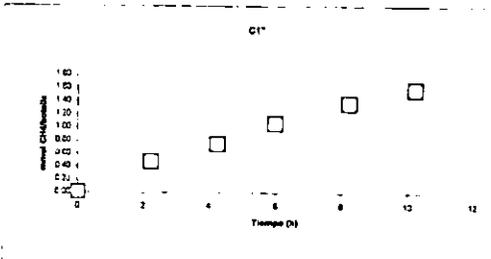
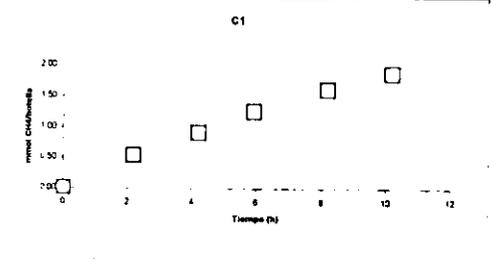
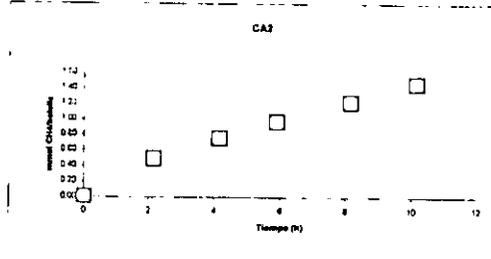
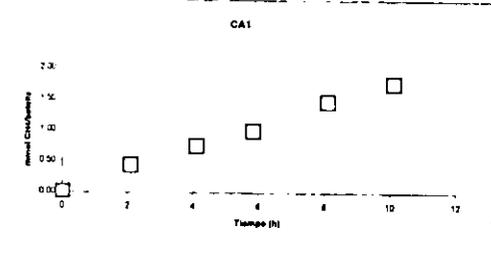
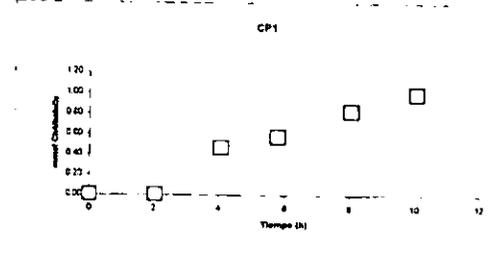
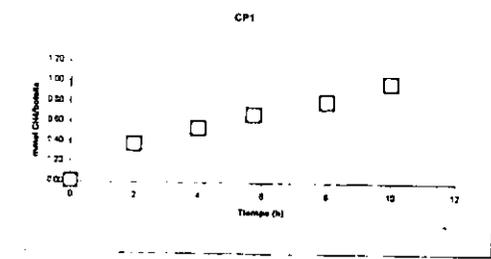
AME BUTIRICO TERMOFILICA (55° C)



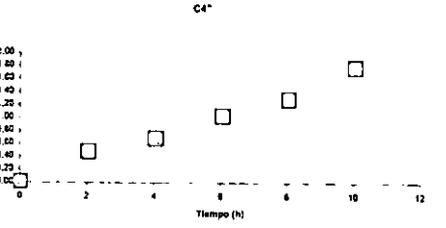
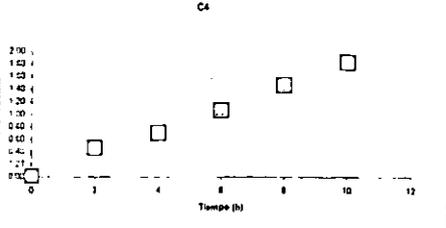
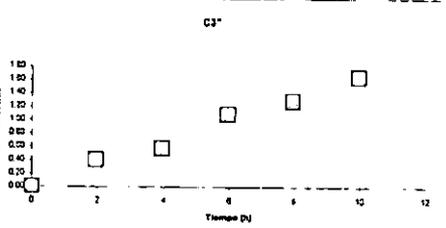
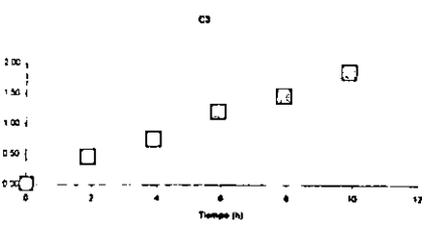
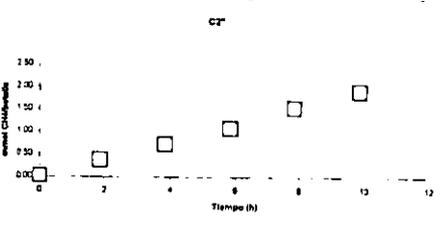
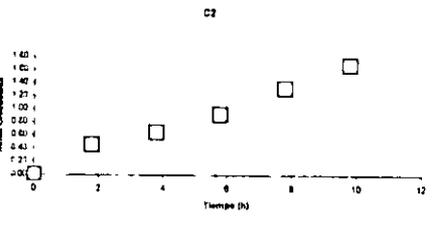
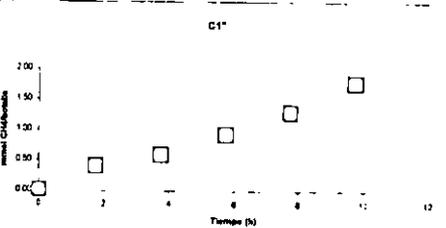
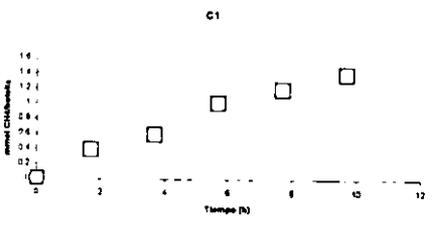
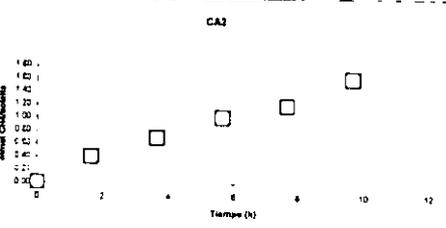
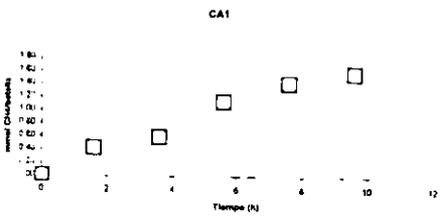
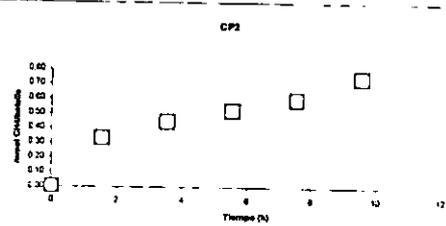
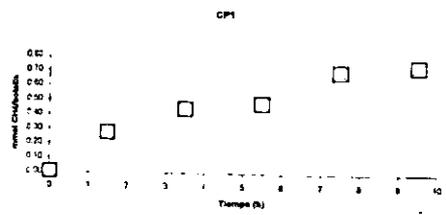
AME BUTIRICO TERMOFILICA (55°C) - REPETICIÓN



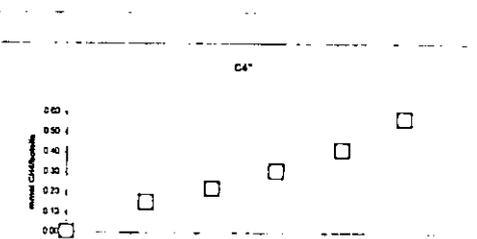
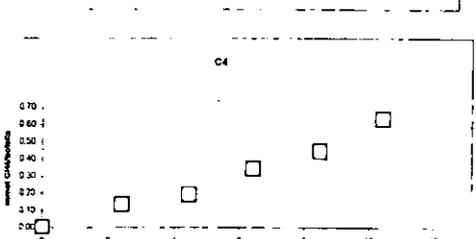
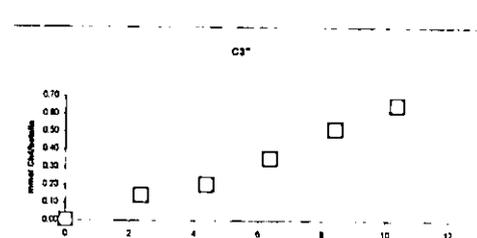
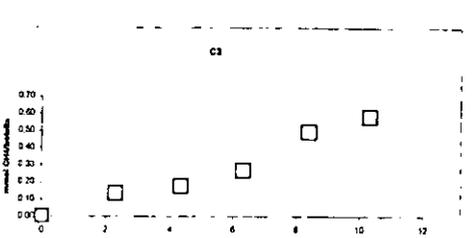
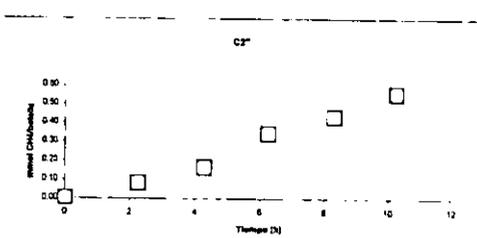
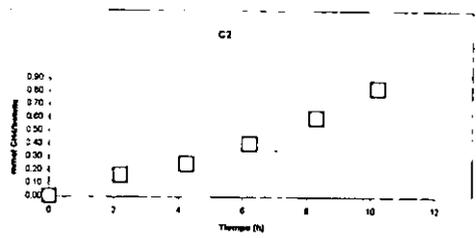
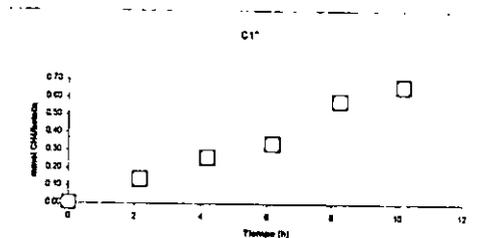
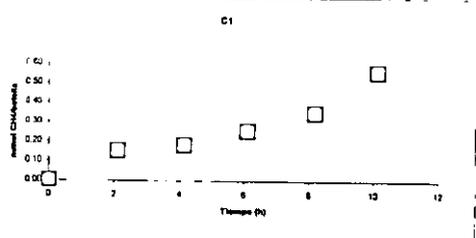
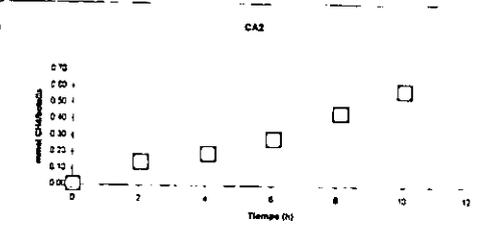
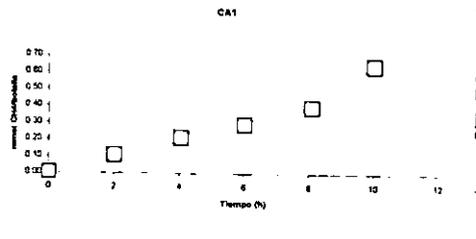
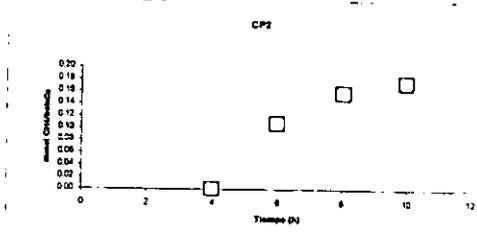
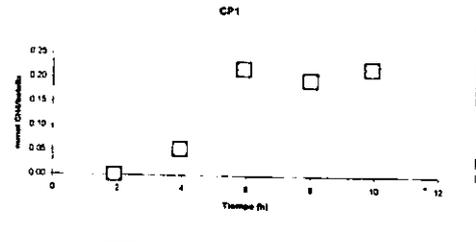
AME GLUCOSA MESOFILICA (35°C)



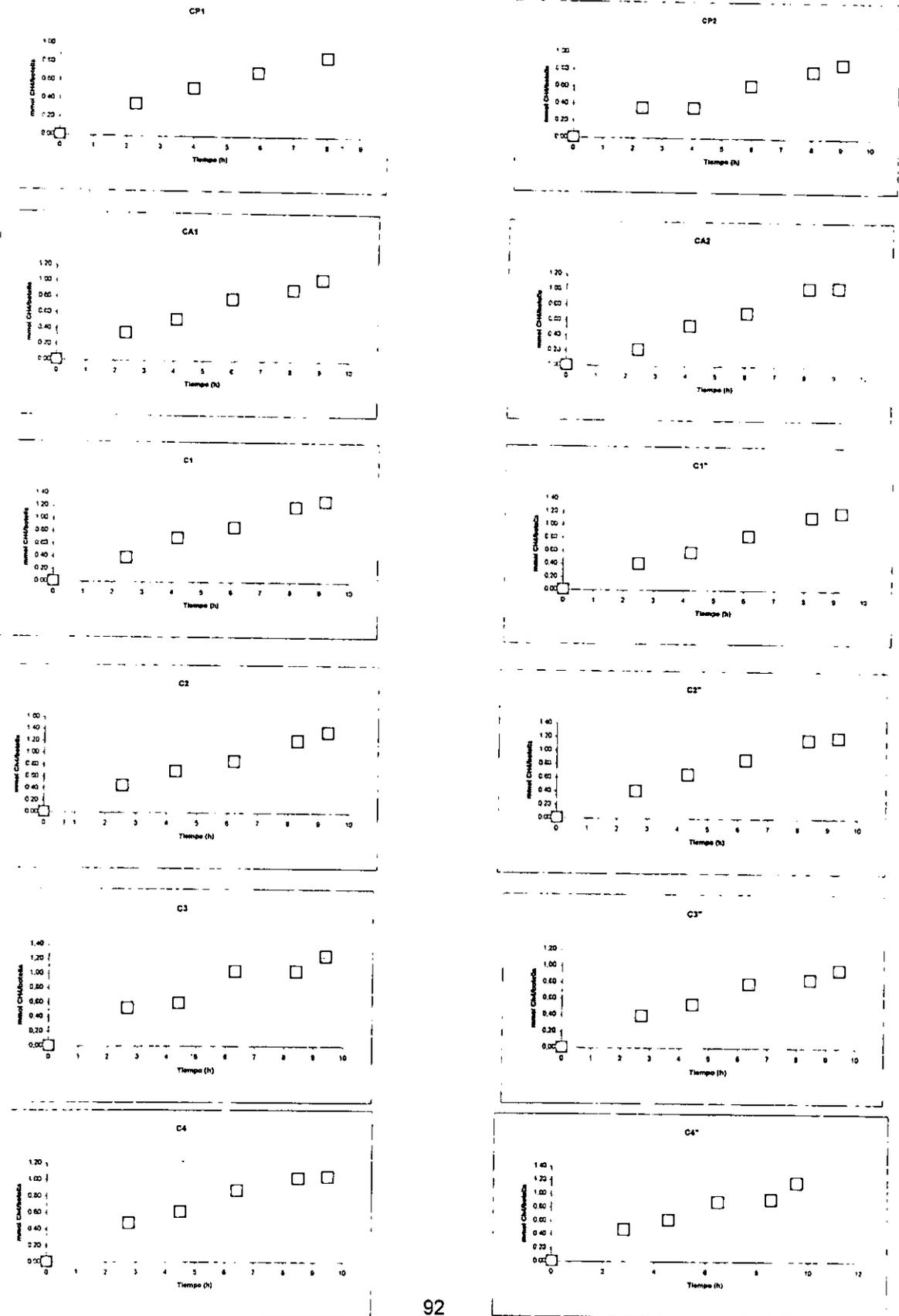
AME GLUCOSA MESOFILICA (35°C) - REPETICION



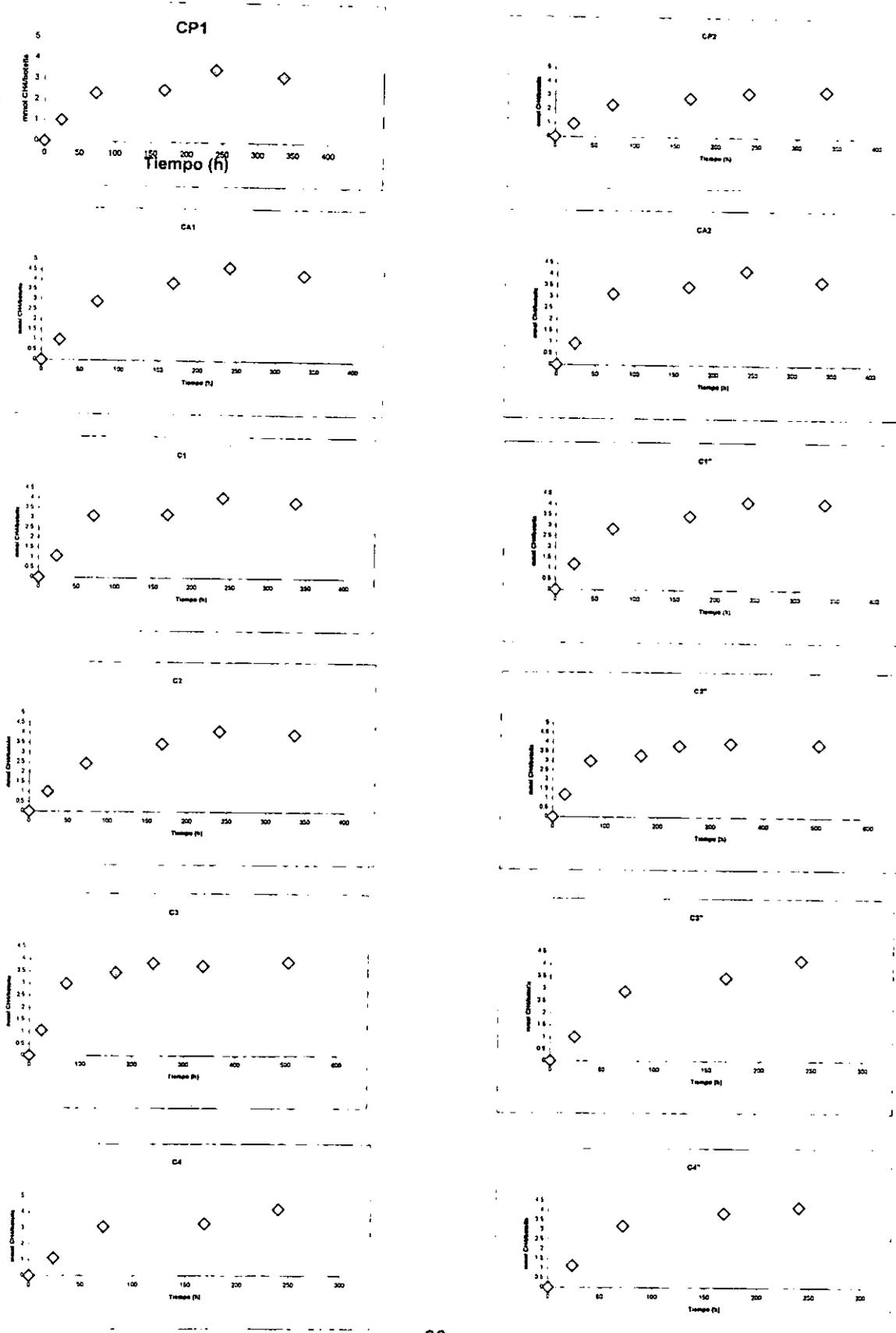
AME GLUCOSA TERMOFILICA (55°C)



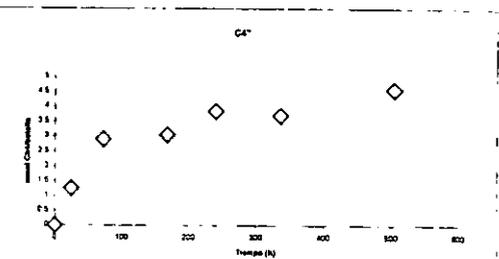
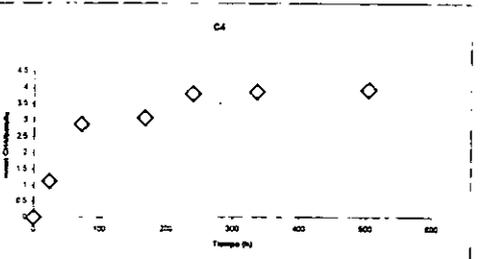
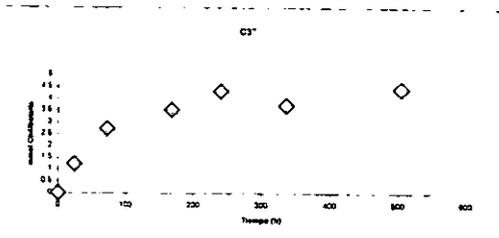
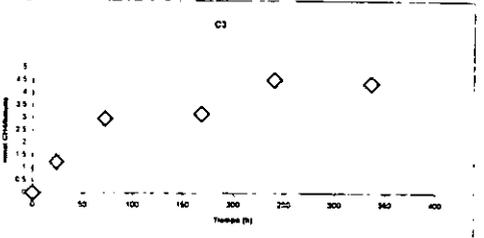
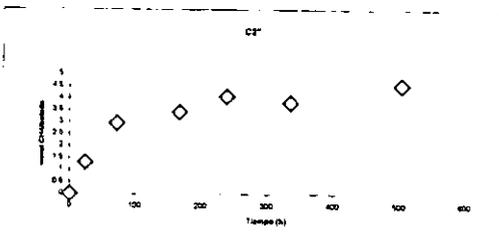
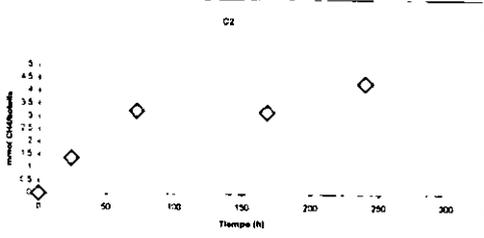
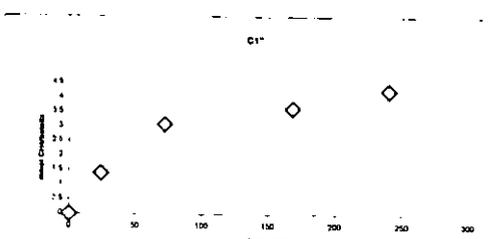
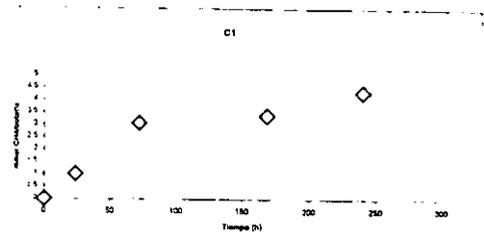
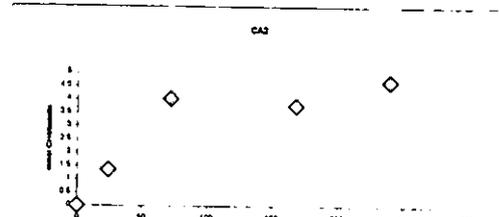
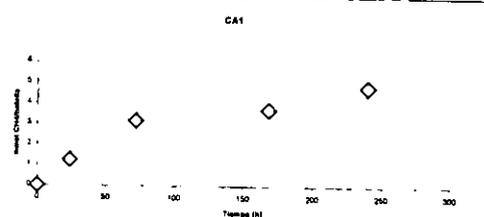
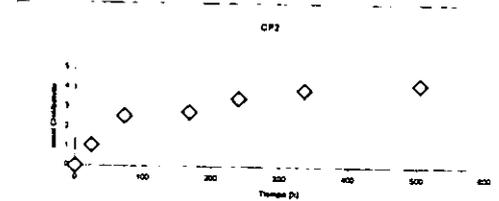
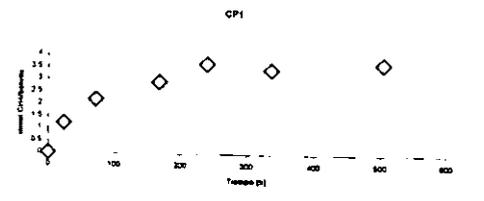
AM GLUCOSA TERMOFILICA (55°C) - REPETICION



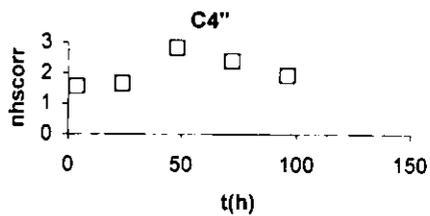
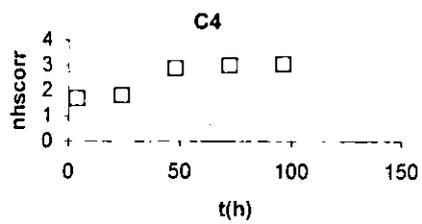
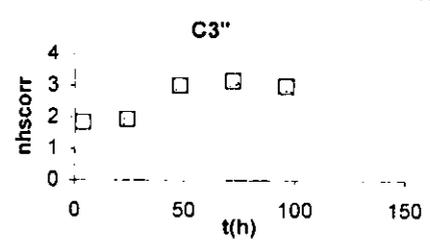
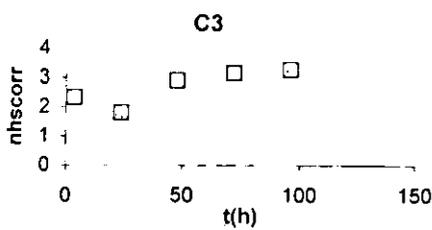
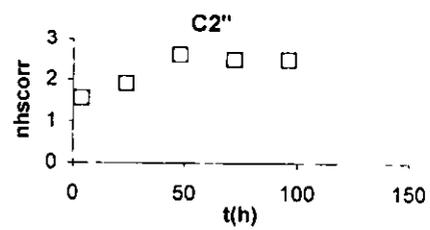
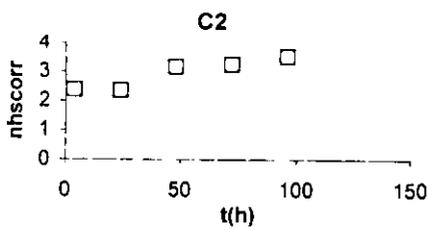
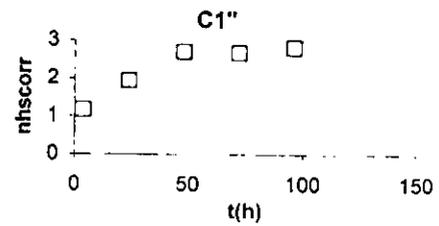
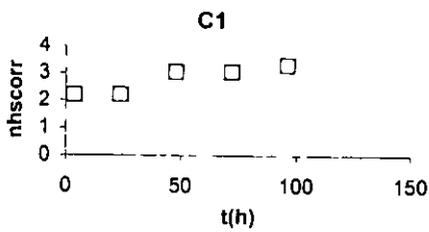
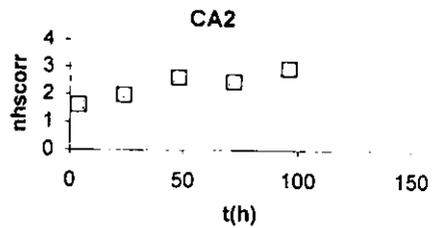
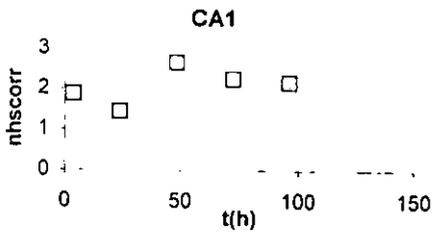
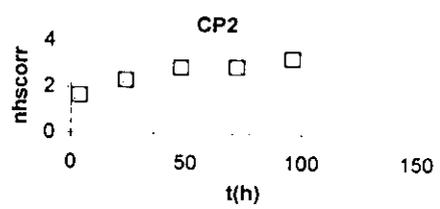
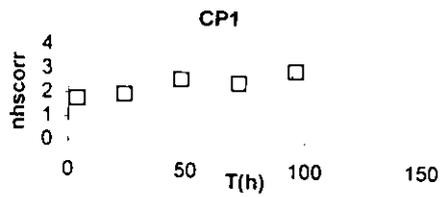
AME CELULOSA MESOFILICA (35°C)



AME CELULOSA MESOFILICA (35°C) - REPETICION



AME CELULOSA TERMOFILICA (55°C)



ANEXO IV

Generalidades de la MFC

Tabla 22. Composición porcentual de los constituyentes de la mezcla de fármacos caducos (MFC)

Medicamento	Porcentaje %
Antigripales: Bronfeniramina, Pseudoefedrina	30
Antihistaminico/descongestivo: Loratidina, Pseudoefedrina	15
Antiinflamatorio esteroideo: Betametasona	10
Antiácido: Hidróxido de aluminio, de Mg, Carbonato de Mg	15
Antimicótico: Clotrimazol, Miconazol	3
Laxante: Ispaghula husk	2
Antibiótico (no penicilínico): Gentamicina	15
Suplemento de Potasio: Cloruro de potasio	5
Antianginoso: Trinitrato de glicerilo	5

Sólidos: 152,496 kg/año

**Tabla 23. Gama de solubilidades individuales de la mezcla de fármacos caducos (MFC).
(Según Márquez, 2000)**

SOLUBILIDADES DE LA MFC.	
COMPUESTO	SOLUBILIDAD
<i>Bronfeniramina</i>	Líquido aceitoso soluble en Ácidos diluidos con Maleato: cristales solubles en H ₂ O, pH=5
<i>Pseudoefedrina</i>	Es poco soluble en H ₂ O: soluble en alcohol y eter.
<i>Betanetasona</i>	Casi insoluble en H ₂ O: poco soluble en etanol absoluto.
<i>Hidroxido de Aluminio</i>	Insoluble en H ₂ O: soluble en soluciones acuosas alcalinas o en HCl, H ₂ SO ₄ con un poco de H ₂ O: forma geles y absorbe ácidos.
<i>Hidroxido de Magnesio</i>	Casi insoluble en H ₂ O, solo en Ácidos diluidos: pH=9.5 - 10.5.
<i>Clotrimazol</i>	Cristales, base débil, ligeramente soluble en H ₂ O, Benceno y Tolueno. Soluble en Acetona.
<i>Miconazol</i>	Muy poco soluble en H ₂ O y Etanol.
<i>Gentamicina</i>	Facilmente soluble en agua.
<i>Cloruro de Potasio</i>	Soluble en H ₂ O, alcohol: pH=7.
<i>Trinitrato de Glicerilo.</i>	Soluble en H ₂ O.

TERMINOS

Cantidades relativas de Disolventes por 1 parte de sustancia.

Muy Soluble	* Menos de 1 parte
Facilmente Soluble	* De 1 a 10 partes
Soluble	* De 10 a 30 partes
Poco Soluble	* De 30 a 100 partes
Ligeramente Soluble	* De 100 a 1000 partes
Muy Ligeramente Soluble	* De 1000 a 10000
Casi Insoluble	* Más de 10000

Tabla 24. Análisis físicos de la mezcla de fármacos caducos.

Parámetro	Valor
Solubilidad (%) A 25% en agua	2.03 (0.015)
pH	9.13 (0.01)
DQO (mg O ₂ /g)	310 (3.5)
Alcalinidad	495 (8.5)
Humedad	16.51
ST	83.49

El valor entre paréntesis representa la desviación estándar

Tabla 25. Análisis físicos de la alimentación.

Parámetro	Valor(%)
Humedad	81.51
ST	18.48
STF	7.36
STV	92.63
p H	6.26

Tabla 26. Análisis físicos de los lodos biológicos.

Parámetro	Valor(%)
Humedad	99.51
ST	0.48
STF	33.79
STV	66.2
p H	*

- * = No se determino