

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA  
(INGENIERÍA AMBIENTAL)**

**Aplicación de aditivos enzimáticos y  
micronutrientes para la estabilización  
anaerobia de lodos fisicoquímicos**

**TESIS  
que para obtener el grado de  
MAESTRO EN INGENIERÍA**

**presenta:**

**Ing. Antonio Tinajero Torres**

**Director de tesis  
Dr. Adalberto Noyola Robles**

**UNAM  
POSGRADO**

**Noviembre del 2004**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Jimena Torres  
Antonio

FECHA: 5 de Noviembre 2009

FIRMA: P.A. Alejandro B. C. Espinoza  


## DEDICATORIA

*A mis padres: Consuelo Torres y Reveriano Tinajero  
pues con su cariño, confianza y apoyo pude escalar  
un peldaño más en mi vida, GRACIAS.*

*A mis hermanos Joel, Belem, José Alberto, Javier y  
Petra, ya que su apoyo incondicional fue muy valioso,  
otra más por ustedes.*

*A la gente "Anaerobia" que me apoyo durante el  
desarrollo de este trabajo:*

*Alejandra, Atahualpa, Claudia, Dra. Zhenia  
Milan, Lisreve, Laura, Luis Antonio, Margarita,  
Hiram, Miguel, Pancho, "el teacher" y otros más.*

*A la familia Torres Ruiz por el cariño y apoyo que  
siempre recibí.*

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme sus puertas para continuar con mi formación*

*Al Instituto de Ingeniería por permitirme desarrollar mi trabajo de tesis en sus instalaciones*

*A los miembros de mi jurado*

*Dr. Adalberto Noyola Robles*

*Dr. Jorge F. Rodríguez González*

*Dr. José A. Barrios Pérez*

*Dra. Gabriela E. Moeller Chávez*

*Dr. Victor M. Luna Pabello*

*Por su tiempo de dedicación y aportaciones en el presente trabajo*

*A mis amigos Juan Pablo, Alejandra, Gilberto, Carlos, Wilson por compartir conmigo esta etapa y brindarme su amistad*

*A mi amigo Eumir por la gran amistad que hemos formado*

*Al profesor Mario Ulises Larque Saavedra y a la doctora Icela Dagmar Barceló por su valiosa ayuda desinteresada*

*A toda la gente que de cierta forma me apoyo durante el desarrollo de este trabajo, en especial a don Pedro Trinidad*

# CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS .....	I
LISTA DE TABLAS.....	II
RESUMEN.....	III
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2 ANTECEDENTES.....</b>	<b>3</b>
2.1 Lodos residuales .....	3
2.1.1 <i>Clasificación</i> .....	3
2.1.2 <i>Características</i> .....	4
2.1.3 <i>Tratamiento</i> .....	6
2.1.4 <i>Problemática de los lodos en México</i> .....	10
2.1.5 <i>Disposición o uso del lodo residual tratado</i> .....	14
2.2 Digestión anaerobia .....	15
2.2.1 <i>Estado del arte</i> .....	15
2.2.2 <i>Bioquímica de la digestión anaerobia</i> .....	18
2.2.3 <i>Microbiología de la digestión anaerobia</i> .....	21
2.2.4 <i>Factores ambientales que afectan a la digestión anaerobia</i> .....	22
2.2.5 <i>Digestores anaerobios de lodos</i> .....	26
2.3 Estimulación .....	29
2.3.1 <i>Aplicación de aditivos Enzimáticos</i> .....	30
2.3.2 <i>Micronutrientes (metales traza)</i> .....	31
<b>3 JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>33</b>
<b>4 OBJETIVOS.....</b>	<b>35</b>
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	35
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	35
Metas .....	35

<b>5</b>	<b>METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b>	<b>36</b>
5.1	Muestreo del lodo	36
5.2	Pruebas Batch para simular el comportamiento de reactores	37
5.2.1	<i>Primera Prueba</i>	38
5.2.2	<i>Segunda Prueba</i>	39
5.2.3	<i>Tercera Prueba</i>	40
5.3	Digestores a escala laboratorio	43
5.4	Técnicas analíticas	46
<b>6</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>49</b>
6.1	Pruebas Batch para simular el comportamiento de reactores	49
6.1.1	<i>Primera prueba Batch</i>	49
6.1.2	<i>Segunda prueba Batch</i>	51
6.1.3	<i>Tercera prueba Batch</i>	54
6.2	Primera etapa: periodo de análisis del reactor T2	56
6.2.1	<i>Análisis fisicoquímicos</i>	56
6.2.2	<i>Caracterización microbiológica</i>	63
6.3	Segunda etapa: periodo de operación comparativa de los digestores T2 y T2-bis	66
6.3.1	<i>Análisis fisicoquímicos</i>	66
6.3.2	<i>Caracterización microbiológica</i>	78
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>82</b>
<b>8</b>	<b>REFERENCIAS</b>	<b>83</b>
	<b>ANEXO</b>	<b>90</b>
	<b>TÉCNICA DE ESPECIACIÓN DE METALES</b>	<b>90</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Concentración de metales pesados en lodos del Distrito Federal .....	14
Figura 2.2. Diagrama del flujo de energía en la digestión anaerobia de la materia orgánica particulada a metano (Gujer & Zehnder, 1983).....	19
Figura 5.1. Planta de tratamiento de aguas residuales "San Andrés Mixquic".....	36
Figura 5.2. Diagrama de bloques del TPA en la planta de San Andrés Mixquic.....	37
Figura 5.3. Arreglo de los digestores termofílicos T <sub>2</sub> y T <sub>2</sub> -bis .....	44
Figura 5.4. Bomba portátil para determinar la concentración de H <sub>2</sub> S .....	48
Figura 6.1. Producción de metano en la primera prueba .....	49
Figura 6.2. AGV's al final de la primera prueba .....	50
Figura 6.3. Producción de metano en la segunda prueba .....	52
Figura 6.4. AGV's al final de la segunda prueba.....	53
Figura 6.5. Producción de Biogás en el reactor T2.....	57
Figura 6.6. Porcentaje de CH <sub>4</sub> en el reactor T2 .....	58
Figura 6.7. Porcentaje de remoción de sólidos volátiles en el reactor T2 .....	61
Figura 6.8. Variación de los ácidos grasos volátiles en el reactor T2 .....	62
Figura 6.9. Coliformes fecales en el reactor T2 .....	64
Figura 6.10. <i>Salmonella spp</i> en el reactor T2 .....	65
Figura 6.11. Producción de Biogás en T2 y T2-bis .....	67
Figura 6.12. Porcentaje de CH <sub>4</sub> en T2 y T2-bis .....	68
Figura 6.13. Variación del pH en T2 y T2-bis.....	69
Figura 6.14. Relación de alcalinidades ( $\alpha$ ) en T2 y T2-bis .....	70
Figura 6.15. Variación de la alcalinidad en T2 y T2-bis .....	71
Figura 6.16. Concentración de sólidos totales en la purga de T2 y T2-bis .....	71
Figura 6.17. Porcentaje de remoción de sólidos volátiles en T2 y T2-bis .....	72
Figura 6.18. Variación del ácido acético en T2 y T2-bis .....	73
Figura 6.19. Variación del ácido propiónico en T2 y T2-bis .....	74
Figura 6.20. Coliformes fecales en T2 y T2-bis.....	79
Figura 6.21. <i>Salmonella ssp</i> en T2 y T2-bis.....	80
Figura 6.22. a) Huevo de <i>Ascaris spp.</i> b) huevo de helminto larvado.....	81

## LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Valores maximos permisibles de microorganismos en biosólidos según la USEPA y la NOM-004-SEMARNAT-2002 .....	11
Tabla 2.2. Valores máximos permisibles en mg/kg de metales pesados en biosólidos según la USEPA y la NOM-004-SEMARNAT-2002.....	12
Tabla 2.3. Aprovechamiento de biosólidos .....	13
Tabla 2.4. Comparación de los niveles de nutrientes de los fertilizantes comerciales y el lodo de agua residual estabilizado (Metcalf & Eddy, 1991).....	15
Tabla 2.5. Metales nutrientes requeridos por la biomasa anaerobia, en función de la concentración en DQO del agua (Noyola, 1998b).....	26
Tabla 2.6. Tiempos de retención celular para el diseño de digestores de lodos completamente mezclados (Metcalf & Eddy, 1991).....	28
Tabla 2.7. Condiciones óptimas ambientales y de operación durante la digestión anaerobia de lodos de purga (Malina y Pohland, 1992).....	29
Tabla 5.1. Condiciones experimentales de la primera prueba batch .....	38
Tabla 5.2. Condiciones experimentales de la segunda prueba batch.....	39
Tabla 5.3. Estructura factorial de los tratamientos.....	40
Tabla 5.4. Tratamientos derivados de la estructura factorial .....	41
Tabla 5.5. Estructura factorial 3x2+1 .....	41
Tabla 5.6. Tratamientos de rivados de la estructura factorial 3x2+1.....	41
Tabla 5.7. Tratamientos de la tercera prueba "Batch".....	42
Tabla 5.8. Análisis de varianza para el modelo factorial 3x3x2+1 .....	43
Tabla 5.9. Condiciones de operación apartir del día 142.....	46
Tabla 5.10. Parámetros analizados durante el monitoreo de los digestores T <sub>2</sub> y T <sub>2-bis</sub> .....	47
Tabla 6.1. Parámetros de análisis al final de la primera prueba Batch .....	51
Tabla 6.2. Parámetros de análisis de la segunda prueba Batch.....	54
Tabla 6.3. Análisis de varianza para la tercera prueba "Batch" .....	54
Tabla 6.4. Diferencia entre medias con la prueba de Dunnett.....	55
Tabla 6.5. Análisis de aluminio y micronutrientes en la alimentación y purga de T2 .....	63
Tabla 6.6. Huevos de helmintos en el reactor T2.....	65
Tabla 6.7. Concentraciones de H <sub>2</sub> S en el biogás de los digestores.....	75
Tabla 6.8. Análisis de aluminio y micronutrientes en el lodo.....	76
Tabla 6.9. Análisis de aluminio y micronutrientes disueltos en el sobrenadante de los lodos (una muestra).....	77
Tabla 6.10. Especiación de Metales .....	78
Tabla 6.11. Huevos de helmintos.....	81

## RESUMEN

El tratamiento de las aguas residuales produce lodos que, sin un adecuado tratamiento, constituyen riesgos importantes para el ambiente y la salud pública, por ser concentrados de los contaminantes originalmente presentes en el agua residual. Para reducir estos riesgos, entre las diversas opciones para la estabilización y digestión de lodos se encuentra la digestión anaerobia, proceso en el que diferentes grupos de microorganismos asimilan y degradan la materia orgánica, teniendo como productos finales principalmente metano, dióxido de carbono y materia celular.

En estudios anteriores sobre digestión anaerobia de lodos provenientes de un tratamiento fisicoquímico (tratamiento primario avanzado, TPA), en el cual se utilizan sulfato de aluminio  $[Al_2(SO_4)_3]$  como coagulante y un polímero aniónico de alto peso molecular como floculante, se ha observado un proceso inestable e ineficiente (Orozco, 2002). El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la aplicación de aditivos enzimáticos y micronutrientes (metales traza) para mejorar la estabilización anaerobia termofílica de lodos de desecho provenientes de un TPA y obtener biosólidos de conformidad con la norma NOM-004-SEMARNAT-2002.

Como primer paso, se ensayaron los efectos de aplicación de dos aditivos enzimáticos y de micronutrientes metálicos, por separado y en combinación, sobre la digestión anaerobia de lodo proveniente de un TPA en botellas serológicas a 55 °C. en tres pruebas por lote (batch). Se identificó el efecto positivo de la adición de bacilos y metales sobre la producción de metano y sobre la concentración final de ácidos grasos volátiles (AGV's). Con base en tres pruebas batch, se concluyó que las dosis óptimas para mejorar la digestión anaerobia de lodos fisicoquímicos fueron 1.5 veces de lo recomendado por Espinosa *et al.*, (1995) para metales y la recomendada por los proveedores en el caso del aditivo con base en bacilos.

Con base en los resultados obtenidos en las pruebas Batch, se operaron dos reactores termofílicos de 5 litros a escala laboratorio, alimentados diariamente. El reactor T2 recibió lodo crudo (control) y el reactor T2-bis además se le adicionaron metales micronutrientes y bacilos. El efecto de los aditivos fue claro en la producción de metano, ya que en el día 50, el reactor T2-bis generó 900 mL más que T2, que corresponde a un incremento del 64 %. Para el día 80, T2-bis alcanzó una producción de biogás del doble que T2. Al inicio del experimento el % RSV (remoción de sólidos volátiles) era menor en T2-bis, valor que se incrementó hasta 28 % al final de su operación; en cambio, T2 logró solo 15 %. Contrario a lo reportado por varios investigadores, en este estudio el máximo porcentaje de remoción de sólidos volátiles fue de 29 %. La concentración de acético en T2-bis disminuyó hasta 100 mg/L, lo cual se relaciona con la alta producción de biogás.

Con base en lo establecido en la NOM-004-SEMARNAT-2002 los biosólidos generados en T2 y T2-bis alcanzaron Clase A, ya que los coliformes fecales fueron reducidos a menos de 1000 NMP/gST; la *Salmonella spp* se eliminó totalmente del sistema en ambos reactores y los huevos de helmintos a la salida de los reactores fueron menores a un huevo viable por gramo de sólidos totales.

# 1 INTRODUCCIÓN

El incremento en el volumen del agua residual que se trata en México, ocasiona que la cantidad de lodos que se generan durante dicho tratamiento aumente de manera proporcional. Este material de desecho presenta problemas para su disposición final si antes no se le da un adecuado tratamiento ya que su origen son las aguas residuales y por ende conservan algunas características negativas de las mismas, en particular la presencia de organismos tales como bacterias, protozoarios, virus, hongos y huevos de helmintos, los cuales pueden causar enfermedades al estar en contacto con el ser humano. Este contacto puede ser directo o indirecto. Para que un lodo no represente riesgo alguno para la salud humana, debe cumplir ciertos requisitos relacionados tanto con la reducción en la concentración de ciertos patógenos como con la reducción de las condiciones de atracción para los vectores.

En la actualidad, el manejo integral de los lodos residuales ha cobrado gran importancia debido al potencial de reuso benéfico que éstos presentan. A nivel mundial los lodos adecuadamente tratados han sido usados como fertilizantes orgánicos en muchos cultivos de producción alimentaria y ornamentales, además de poder ser aplicados como mejoradores de suelo en sitios degradados. En los Estados Unidos más del 60% de los lodos generados son aprovechados benéficamente, pero sólo un 41 % son aplicados en suelos agrícolas (EPA, 1999). En diversos países de Europa, su aplicación en suelos es la práctica más empleada para reutilizar los lodos, representando aproximadamente entre el 45 y 56 % del reuso total (Lue –Hing *et al.*, 1996 y Bastian, 1997). En México su manejo se ha limitado a la disposición en lagunas y rellenos sanitarios principalmente, sin embargo, se espera que la tendencia se enfoque al reuso benéfico con la aplicación de la Norma Oficial Mexicana (NOM-004-SEMARNAT-2002), que establece especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para el aprovechamiento y disposición final de lodos residuales y biosólidos. Para ello, esta norma regula el contenido de metales y microorganismos así como la reducción de la atracción de vectores.

Dentro de las opciones de tratamiento de lodos existen los procesos convencionales (digestión aerobia y anaerobia, elaboración de composta y estabilización alcalina) y los no convencionales. En estos últimos se incluyen procesos de tratamiento que no han sido del todo estudiados y que no se conoce a detalle su eficiencia en la estabilización de lodos. La selección de alguno de estos procesos para la estabilización de un lodo en particular depende de varios factores como: la cantidad y calidad de lodos a tratar, las condiciones particulares del sitio y la situación financiera en cada caso (Lue Hing, 1992). Para lograr cumplir con los límites de microorganismos que establece la normatividad mexicana, es necesario aplicar algún proceso de tratamiento que reduzca considerablemente los contenidos de coliformes fecales, *Salmonella spp.* y huevos de helminto en los lodos.

La tecnología de la digestión anaerobia ha sido usada comúnmente para la estabilización de lodos de desecho, debido a las ventajas que presenta respecto a otros

métodos, como la conversión y reducción de lodos sin la necesidad de insumos, con costos de operación y mantenimiento relativamente bajos (Noyola, 1998 a), con la finalidad de eliminar sus características indeseables, para que puedan ser reutilizados o dispuestos de manera segura.

En la digestión anaerobia de lodos provenientes de un tratamiento primario avanzado (TPA) del agua residual, en el cual se utilizan  $Al_2(SO_4)_3$  como coagulante y un polímero aniónico de alto peso molecular como floculante, se ha observado la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV's), principalmente ácido propiónico (Cabirol *et al.*, 2002). Esta acumulación disminuye la capacidad buffer del sistema con riesgo de reducir el pH y alcanzar una baja conversión de la materia orgánica a metano, lo cual redundaría en un proceso de digestión anaerobia inestable e ineficiente (Orozco, 2002). Jackson-Moss y Duncan (1991) y Cabirol *et al.* (2003), determinaron que el aluminio presenta un efecto de inhibición en las bacterias metanógenas acetoclásticas y las acetógenas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA). Adicionalmente, Cabirol *et al.* (2003) encontraron que durante la digestión anaerobia de lodo TPA, el aluminio y los sulfuros presentes, tenían un efecto de inhibición sinérgico.

Por otro lado, con el fin de optimizar la producción de biogás para la recuperación de energía, se ha estudiado el efecto de aplicar pretratamientos o aditivos para modificar las características de los lodos con el fin de favorecer el crecimiento de los microorganismos en la etapa metanogénica suministrándoles los nutrientes necesarios para su crecimiento o para mejorar la digestibilidad del lodo (Stuckey, *et al.*, 1984; Zehnder 1978; Daniels, *et al.*, 1986; Speece 1983).

Con base en lo anterior, este estudio pretende aportar información sobre el efecto de la aplicación de aditivos enzimáticos y micronutrientes (metales traza) para mejorar la estabilización anaerobia de lodos de desecho provenientes de un TPA y obtener biosólidos, susceptibles de utilizarse como mejoradores de suelos, de conformidad con la norma NOM-004-SEMARNAT-2002.

Este trabajo busca contribuir al mejoramiento del proceso de digestión anaerobia termofílica de lodos fisicoquímicos, además de aportar información sobre la estabilización de los lodos residuales.

## 2 ANTECEDENTES

Toda comunidad genera residuos tanto sólidos como líquidos. La fracción líquida de los mismos -aguas residuales- es esencialmente el agua que se desprende de la comunidad una vez que ha sido utilizada. Desde el punto de vista de las fuentes de generación, podemos definir el agua residual como la combinación de los residuos líquidos o aguas portadoras de residuos.

La mayoría de los sistemas convencionales de tratamiento de aguas residuales genera grandes cantidades de productos de desecho, a los cuales se les denomina lodos. La composición y cantidad de los lodos depende de la composición y características de las aguas residuales crudas y del proceso de tratamiento que se le da a dichas aguas.

### 2.1 Lodos residuales

#### 2.1.1 Clasificación

Los lodos provenientes del tratamiento de aguas residuales son generados en distintas etapas del tren de tratamiento, y sus características dependen de las operaciones y procesos que se apliquen durante el mismo. Para realizar el tratamiento de aguas residuales existen procesos biológicos y fisicoquímicos, de acuerdo a esto se puede hacer la siguiente clasificación de los lodos producidos.

**Lodos primarios**, proceden del proceso de sedimentación primaria, en promedio su porcentaje de sólidos es del 5%, son generalmente de color gris, grasientos y en la mayoría de los casos producen un olor extremadamente molesto (Winkler 1994). En estos lodos se encuentra presente una gran variedad de microorganismos cuyo origen es primordialmente intestinal, aunque pueden ser de otras fuentes.

**Lodos secundarios**, se producen a partir de la actividad biológica de los microorganismos que intervienen en el proceso de tratamiento y son separados en la unidad de sedimentación secundaria; sus características dependen básicamente del proceso biológico empleado en el tratamiento de las aguas residuales y del sustrato. Los procesos biológicos más comunes en el tratamiento de aguas residuales son los lodos activados y los filtros percoladores (Metcalf & Eddy, 1996).

**Lodos fisicoquímicos**, son producto de la sedimentación de los sólidos suspendidos y materia coloidal del agua residual, como resultado de los procesos de coagulación y floculación por la adición de reactivos químicos.

### 2.1.2 Características

Las características y composición de los lodos generados en las plantas de tratamiento de agua residual municipal dependen del origen de la misma y del proceso que los produce. Entre las más importantes se encuentran las siguientes:

#### Características físicas

**a) Contenido de sólidos.-** en el lodo podemos encontrar sólidos en cualquiera de sus formas, orgánica e inorgánica. El contenido de sólidos generalmente se expresa en g/L o por ciento de sólidos (peso/volumen). Por ejemplo, los lodos activados contienen menos del 1% (10 g/L) de materia sólida, el de los filtros percoladores de 0.5 a 2% de sólidos y los lodos del tratamiento primario hasta 5%. La proporción de materia orgánica en los sólidos de los lodos está entre 70 y 80% (Winkler, 1994).

**b) Tamaño de partícula.-** el tamaño de partícula en un lodo es altamente variable y es un factor que incide directamente en la facilidad para desaguar un lodo. Si las partículas tienen un tamaño entre 1 y 10 micras, el secado es más difícil.

**c) Sedimentabilidad o velocidad de sedimentación.-** la capacidad de sedimentación de un lodo depende de la concentración de sólidos suspendidos del mismo, de la viscosidad del líquido, del tamaño y forma del sedimentador y particularmente de las propiedades químicas, físicas y electrostáticas de la materia en suspensión. Los lodos, al tener normalmente una concentración elevada de sólidos, no sedimentan de manera discreta sino zonal, es decir, la sedimentación individual de las partículas se ve obstaculizada debido a la presencia de partículas colindantes.

**d) Forma en que se encuentra el agua.-** la manera en que se encuentra el agua en los lodos determina la mejor forma de separarla del sólido. El agua puede encontrarse en cuatro formas distintas (Vesilind *et al*, 1986):

- *Agua libre:* Es el agua que se encuentra débilmente ligada a las partículas, incluso puede considerarse que no está adherida a los sólidos y que puede liberarse al sedimentar las partículas por acción de su propio peso.
- *Agua de floculo:* Es el agua atrapada en los flóculos formados y cuya liberación se logra al comprimirlos. Los métodos empleados para removerla son mecánicos como los filtros banda o prensa.
- *Agua capilar:* Es el agua, presente en los flóculos, pero unida por fuerzas capilares. Esta puede eliminarse si el lodo es compactado a presiones muy altas.
- *Agua particulada:* Es el agua que forma parte de la composición química de las partículas y su eliminación se logra únicamente por acción química o térmica, modificando la estructura de las partículas.

e) **Reología.**- es importante para el estudio de los lodos su caracterización como fluido. Colin (1983) distingue cuatro categorías de lodo desde el punto de vista reológico, estos son lodos líquidos, lodos plásticos, lodos sólidos susceptibles de ser compactados y lodos con volumen constante.

**Características químicas.**- estas definen las opciones de tratamiento y en cierta forma la disposición final. Pueden dividirse en inorgánicas y orgánicas.

a) **Inorgánicas.**- son todos aquellos parámetros a considerar que no incluyen carbono orgánico. Los dos más importantes son:

- **Metales pesados:** Su acumulación produce impactos ambientales negativos, causando trastornos no sólo en el ser humano sino también en especies animales, vegetales e incluso de otros reinos. Entre los de más relevancia encontramos al arsénico, al cadmio y al mercurio por mencionar algunos. Montalvo y Guerrero (2003), consideran que en los procesos de digestión anaerobia, los efectos tóxicos que causan los metales son los siguientes: interfieren en la membrana de las células de los microorganismos, disminuyendo el potencial energético de la cadena de transporte de electrones; destruyendo el metabolismo enzimático e inactivan a las enzimas al reaccionar los metales con los grupos  $\text{HS}^-$  de los aminoácidos. Chiu-Yue Lin (1992), mencionan que los efectos tóxicos causados por metales, son más fuertes en las bacterias metanógenas que en las acetógenas.

- **Nutrientes:** Considerando el hecho de que el lodo es ampliamente usado con fines agrícolas, es muy importante conocer su contenido de nitrógeno, fósforo y potasio, para determinar su valor como mejorador de suelos.

b) **Orgánicas.**- la materia orgánica en los lodos es de origen animal y vegetal, principalmente microorganismos. Es importante considerar a la materia orgánica susceptible de ser degradada por acción microbiana y que se considera como una medida de la carga contaminante de los residuos y a los tóxicos orgánicos, difícilmente biodegradables, poco solubles en agua, lipofílicos y por ende altamente acumulables en los tejidos. Estos compuestos son altamente tóxicos y potencialmente carcinogénicos. Dentro de los tóxicos orgánicos encontramos dos grupos prioritarios por su alta toxicidad: los pesticidas organohalogenados como el DDT y los hidrocarburos aromáticos polinucleares. Una vez que el lodo es dispuesto en el suelo, estos compuestos pueden dispersarse por volatilización, dependiendo de la temperatura ambiental, el método de aplicación y la velocidad del viento, y por fotodescomposición, que se da por la incidencia de la radiación solar en el lodo.

**Características biológicas.**- la característica biológica más importante en los lodos residuales es la presencia de microorganismos patógenos. Los lodos al ser el subproducto obligado del tratamiento de las aguas residuales, acarrean de ellas a organismos patógenos que si el lodo no es tratado adecuadamente pueden causar problemas sanitarios al ser dispuestos en el suelo. Debido a que los lodos son obtenidos generalmente por procesos de sedimentación de las aguas residuales, la concentración de microorganismos es mucho mayor, variando en especies y densidad

dependiendo de las condiciones de salud de la población y de las diferentes épocas del año.

Debido a los problemas de tiempo y costo que representa el monitoreo de microorganismos patógenos, se recurre al uso de un indicador que permite estimar el grado de contaminación biológica presente en las aguas y lodos residuales. El grupo de microorganismos denominados **coliformes** es el generalmente utilizado como indicador. Han sido utilizados como indicadores porque muchos son originarios del tracto digestivo del hombre y de los animales de sangre caliente, no son patógenos, son fáciles de aislar y normalmente sobreviven más tiempo que los microorganismos que producen enfermedades. Los coliformes pueden dividirse en totales y fecales, siendo la principal diferencia entre ellos, la capacidad de los fecales de crecer a mayor temperatura en condiciones de laboratorio (Peiczar, Reid y Chan, 1988).

### **2.1.3 Tratamiento**

Los procesos para tratar los lodos varían según el tipo de agua residual de la que se derivan, del proceso utilizado para el tratamiento de éstas y del último método de disposición a la que serán destinados los lodos. Los objetivos principales del tratamiento de los lodos son reducir su masa y volumen, para facilitar su manipulación, y aumentar su estabilidad biológica a fin de producir un material suficientemente inofensivo para su disposición. Generalmente, los lodos residuales pasan por el siguiente tren de tratamiento para su disposición final: pretratamiento, espesamiento, estabilización, acondicionamiento (incluyendo desinfección), deshidratación y secado.

**Pretratamiento.**- estos procesos tienen la finalidad tanto de que la alimentación a las instalaciones de tratamiento sea relativamente constante y homogénea, así como prevenir el desgaste de ciertos equipos como bombas y sistemas de distribución. En el pretratamiento se manejan generalmente cuatro operaciones (Metcalf y Eddy, 1996): Dilaceración, desarenado, mezclado y almacenamiento.

**Espesamiento.**- consiste en reducir el volumen del lodo a manipular, aumentando la concentración de los sólidos en el mismo. En esta etapa un pequeño incremento en la concentración de los sólidos redundará en una gran reducción en el volumen de agua de los lodos. El espesado se suele llevar a cabo mediante procedimientos físicos que incluyen la flotación, el espesado por gravedad y la centrifugación (Winkler, 1994). Si los lodos se van a estabilizar por digestión anaerobia, su espesamiento no debe pasar del 7% en sólidos totales (70 g/L), considerándose como óptima una concentración entre el 3 y el 6%, con objeto de no afectar las propiedades reológicas del lodo y sus consecuencias en bombas, tuberías y mezcladores (Noyola, 1998b).

**Estabilización.**- es el proceso en el que se busca eliminar los olores desagradables, inhibir, reducir o eliminar el potencial de descomposición espontánea, reducir la presencia de patógenos, disminuir la posibilidad de atracción de vectores y transformar en la medida de lo posible a la materia orgánica en compuestos más simples y

asimilables, esto último sobre todo si se le va a dar un uso agrícola al lodo. Los procesos de estabilización pueden dividirse en biológicos y químicos (Metcalf y Eddy, 1996 y WEF, 1993).

**a) Estabilización biológica.-** es la estabilización de los lodos mediante la transformación que se da a través de la acción de microorganismos, principalmente bacterias; existen tres tipos principales de procesos biológicos para la estabilización.

- *Digestión anaerobia:* Este proceso se encuentra entre las formas de tratamiento de residuos más antiguas y es la más empleada en la actualidad para la estabilización de lodos. En la digestión anaerobia la materia orgánica se estabiliza mediante microorganismos en ausencia de oxígeno, produciendo principalmente metano y dióxido de carbono. Este proceso suele tener lugar en intervalos mesofílico (35°C) y termofílico (55°C) de temperatura. Los reactores de digestión anaerobia pueden ser cilíndricos, rectangulares o con forma de huevo; los cilíndricos son los más populares aunque actualmente han proliferado los reactores tipo huevo por favorecer los fenómenos de transferencia de masa y eliminar la necesidad de limpiar los tanques.

- *Digestión aerobia:* En este caso, la estabilización de los lodos se da en presencia de oxígeno, obteniendo como productos finales dióxido de carbono, agua y amoníaco, el cual puede oxidarse, si las condiciones lo permiten, hasta nitrato. Este proceso suele emplearse en el tratamiento de lodos secundarios y en plantas con capacidad inferior a 20,000 m<sup>3</sup>/d, sin embargo, recientemente se ha empleado en plantas de mayor capacidad. Al igual que en la digestión anaerobia, los reactores son preferentemente cilíndricos.

- *Composteo:* Es un proceso generalmente aerobio que implica una compleja destrucción de la materia orgánica junto con la producción de sustancias húmicas para dar lugar a un producto final estable. A diferencia de la digestión tanto aerobia como anaerobia, en el composteo se necesita deshidratar el lodo, es decir, se requiere un porcentaje de sólidos entre 40 - 60%. El sistema de composteo más utilizado es la pila estática aireada, que consiste en una red de tuberías de conducción de aire sobre las que se distribuye una mezcla de lodo deshidratado y un material de soporte, este último puede ser orgánico o inorgánico, astillas de madera, por ejemplo, que se añade al lodo para proporcionarle soporte estructural y aumentar su porosidad con el fin de mejorar la aireación. Dicha aireación no sólo es necesaria para aportar oxígeno a los microorganismos, sino también para controlar la temperatura y eliminar la humedad excesiva (Metcalf & Eddy, 1991; WEF, 1993). Una característica importante del composteo es que conforme se estabiliza la materia orgánica, la pila se va calentando hasta alcanzar temperaturas entre 50 y 70 °C que permiten la destrucción de organismos patógenos y la conversión de aproximadamente 20 al 30% de los sólidos volátiles a dióxido de carbono y agua.

**b) Estabilización Química.-** consiste en el uso de compuestos químicos como la cal y el cloro. La estabilización con cloro se usa escasamente, mientras que la cal es ampliamente usada, siendo esta de bajo costo de inversión (Lue--Hing *et al*, 1992).

La *estabilización con cal* consiste en añadir al lodo dosis suficientes de cal (alrededor de 0.3 kg  $\text{Ca(OH)}_2$ /kg ST) para elevar su pH por encima de 12. Dado que la reacción de la cal con el agua del lodo es exotérmica, la temperatura se incrementa, alcanzando valores superiores a 50 °C. El efecto combinado de un entorno fuertemente alcalino, además del efecto de pasteurización debido a la temperatura, hace desfavorable la actividad biológica de los microorganismos, reduciendo sustancialmente el número de organismos patógenos. Como consecuencia de ello, el lodo no se pudre, tiene olor a amoníaco y no provoca riesgos para la salud pública. Sin embargo estas condiciones se mantendrán si el pH no desciende del valor de 11, por lo menos 2 horas después del tratamiento. El lodo estabilizado con cal presenta condiciones favorables para su disposición ya sea en relleno sanitario, en suelos forestales, e inclusive a suelos no alcalinos destinados al cultivo (Lue-Hing *et al.*, 1992).

**Acondicionamiento.**- se utiliza para facilitar la concentración del lodo con la finalidad de realizar una buena deshidratación. El acondicionamiento, cuando es químico, puede lograrse mediante iones inorgánicos polivalentes o polielectrolitos, logrando reducir la humedad del lodo hasta niveles del 65%.

Otro tipo de acondicionamiento es el térmico, el cual requiere altas temperaturas (180 - 200 °C) y presiones (10 - 20 atm) durante cortos periodos de tiempo. En este tipo de acondicionamiento, aparte de destruir la afinidad de los sólidos por el agua, se consigue la esterilización de los lodos.

**Desinfección.**- la desinfección de los lodos está adquiriendo gran importancia como proceso adicional debido a las estrictas normas aplicables a la reutilización de lodos y su aplicación en suelos.

En la pasteurización, la temperatura se eleva hasta los 70 °C durante 30 minutos, permitiendo con esto la inactivación de organismos patógenos y parásitos. Los dos métodos que se emplean para la pasteurización de lodos son la inyección directa de vapor y el intercambio indirecto de calor; aunque también se puede aplicar la digestión aerobia termofílica en combinación con la digestión anaerobia para lograr este fin (digestión en dos fases) (Metcalf & Eddy, 1991).

En el almacenamiento a largo plazo el lodo líquido digerido se acumula en lagunas excavadas en el suelo, por lo que se requiere disponer de un terreno suficiente. Los tiempos de retención típicos que se necesitan para la desinfección de lodos varían entre 60 y 120 días, a las temperaturas de 20 y 4 °C respectivamente (Metcalf & Eddy, 1991).

Para evitar una posible contaminación debida a las lagunas de almacenamiento de lodos, estas deben contar con un buen diseño, especialmente en relación con la percolación y el desarrollo de malos olores.

**Deshidratación.**- es la remoción física de suficiente cantidad de agua de los lodos para que adquiera características casi sólidas. El lodo se desea de esta manera por alguna o

varias de las siguientes razones: Se reduce el costo de transporte al reducir el volumen del lodo, es más fácil de manipular que un lodo líquido, es necesario para procesos subsecuentes como incineración o composteo, se reduce el potencial de putrefacción en algunos casos y se reduce la producción de lixiviados si el lodo se dispone en un relleno sanitario. Para la deshidratación se utilizan tecnologías como la filtración al vacío con tambor rotatorio, filtros banda, filtros prensa, lechos de secado y en menor proporción el centrifugado, a pesar de ser el más eficiente (Winkler, 1994).

**Secado.-** es una operación unitaria que involucra la reducción del contenido de agua por la vaporización de ésta al aire. Si se utilizan lechos de secado, la evaporación a la atmósfera se produce por la diferencia en las presiones de vapor. Pero, si se utiliza secado mecánico se aporta calor externo para aumentar la capacidad de retención de vapor del aire ambiental y para proporcionar el calor latente necesario para la evaporación. Después del secado, el contenido de humedad del lodo es menor al 10%. Los lodos secos pueden aprovecharse como fertilizantes o acondicionadores del terreno, pero los costos de secado son elevados.

**Reducción térmica.-** es un proceso que se aplica principalmente a lodos deshidratados, y no es recomendable para lodos estabilizados, especialmente por digestión aerobia y anaerobia, ya que la estabilización por estos métodos reduce el contenido volátil de los lodos y por lo tanto aumenta las necesidades de combustible auxiliar. De acuerdo a Metcalf & Eddy (1991), las principales ventajas y desventajas que presenta el proceso de reducción térmica son las siguientes:

#### **Ventajas**

- Máxima reducción de volumen, disminuyendo así las necesidades de evacuación.
- Destrucción de organismos patógenos y de compuestos tóxicos.
- Posible recuperación de energía.

#### **Desventajas**

- Altos costos de inversión inicial y de operación.
- Efectos negativos de los residuos producidos, asociados a emisiones de aire y cenizas.
- La evacuación de los residuos es complicada y costosa, debido a que pueden llegar a ser considerados como peligrosos.

Los procesos de reducción térmica son la incineración en hornos de pisos múltiples, incineración en hornos de lecho fluidificado, incineración conjunta, oxidación por vía húmeda y oxidación por vía húmeda con reactores profundos.

#### 2.1.4 Problemática de los lodos en México

**Infraestructura de tratamiento de aguas residuales en México.-** en el año 2000 se trataron en México 45.9 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales municipales, correspondientes al 23 % del total producido (200 m<sup>3</sup>/s), mientras que para las aguas residuales industriales se trató solo el 15 % (i.e. 25.3 m<sup>3</sup>/s de 169 m<sup>3</sup>/s generados) (CNA, 2001).

En materia de tratamiento de aguas residuales municipales, existen en México 1018 plantas de tratamiento de agua con capacidad instalada de 75.9 m<sup>3</sup>/s, de éstas solo 793 operan. Los procesos de tratamiento para los efluentes municipales son diversos, aunque predominan las lagunas de estabilización y los lodos activados (CNA, 2001). Adicionalmente, la Comisión Nacional del Agua, indica que al cumplir las ciudades mayores de 50,000 habitantes con la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, se tratarían 158 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales, mismos que generarían aproximadamente 0.13 kg ST/m<sup>3</sup>, es decir, cerca de 640,000 ton secas de lodos por año (CNA, 2000).

Del total de lodos producidos en plantas de tratamiento de aguas residuales, una importante cantidad no es tratada ni manejada adecuadamente. Afortunadamente, con la entrada en vigor de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, se establecen los límites máximos permisibles de contaminantes para el aprovechamiento y disposición de lodos y biosólidos, por lo que las plantas de tratamiento de aguas estarán obligadas a cumplir diversos criterios y deberán implantar y desarrollar tecnologías que produzcan biosólidos que puedan ser depositados o reutilizados apropiadamente.

**Normatividad.-** la mayoría de los países desarrollados cuentan con estándares para el manejo adecuado de los biosólidos, por ejemplo, US EPA desarrolló los estándares de calidad de lodos para uso y disposición, conocidos como el apartado 503 del código de regulaciones federales (CFR). En dichos estándares se incluyen límites para metales y parámetros microbiológicos, los cuales han sido establecidos con base en estudios de riesgo para disminuir el impacto al ambiente y a la salud pública. De esta forma, establecieron dos clases de lodos en función de su calidad:

- Clase A que presenta niveles de coniformes fecales, *Salmonella spp*, virus y huevos de helmintos por debajo de los límites de detección por lo que pueden ser aplicados sin restricción en algunos suelos agrícolas, áreas verdes como parques públicos, jardines, etc., con el inconveniente del costo elevado para producirlos, y
- Clase B que contiene concentraciones relativamente bajas de microorganismos y que pueden aplicarse en suelos agrícolas, forestales y degradados.

Por su parte, en México se desarrolló e implementó la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002 que establece tres niveles de biosólidos, las clases A, B y C. La Tabla 2.1 presenta los límites máximos permisibles de contaminantes microbiológicos

(para ambas normatividades) en lodos y biosólidos de plantas de tratamiento de aguas residuales.

**Tabla 2.1. Valores máximos permisibles de microorganismos en biosólidos según la USEPA y la NOM-004-SEMARNAT-2002**

Parámetros microbiológicos	US EPA		NOM-004-SEMARNAT-2002		
	Biosólidos Clase A	Biosólidos Clase B	Biosólidos Clase A	Biosólidos Clase B	Biosólidos Clase C
Coliformes Fecales	< 1000 NMP/ gST	< 2x10 <sup>6</sup> NMP/ gST	< 1000 NMP/ gST	< 1000 NMP/ gST	< 2x10 <sup>6</sup> NMP/ gST
<i>Salmonella spp.</i>	< 3 NMP/ 4gST	No aplica	< 3 NMP/ gST	< 3 NMP/ gST	< 300 NMP/ gST
Huevos de Helmintos	< 1 HH/ 4gST	No aplica	< 1 (*) HH/ gST	< 10 HH/ gST	< 35 HH/ gST
Virus entericos	< 1 V/4gST	No aplica	No aplica	No aplica	No aplica

(\*) Huevos de helmintos viables

Los lodos de plantas municipales pueden contener organismos parásitos y patógenos de origen fecal, por lo que las enfermedades gastrointestinales son un síndrome causado por la infección de diversos parásitos, tales como:

- Coliformes fecales (es sólo indicador de contaminación). El grupo Coliformes se define como aquel formado por las bacterias aeróbicas y anaerobias facultativas, gramnegativas, no esporuladas y de forma alargada, que desarrollan una colonia roja con un brillo metálico tras incubarse a 35 y 44.5 °C durante 3 y 21 horas respectivamente (NOM-004-SEMARNAT-2002). Desde el punto de vista de la salud los coliformes fecales son los más importantes indicadores de agua contaminada, dado que se relaciona con la probabilidad de encontrar patógenos (bacterias, parásitos y virus entericos) excretados (Fernández, 1981).
- Huevos de helminto. Helminto es el término general para describir lombrices parásitas. Las dimensiones de los helmintos varían de 1 mm a varios metros de longitud, poseen órganos diferenciados y sus ciclos vitales comprenden la producción de huevos o larvas infecciosas. Los huevos, que es la forma en la cual se encuentran en el agua, tienen tamaños de 20 a 80 µm (Jiménez *et al.*, 2000), son resistentes a los cambios ambientales, muy persistentes y pueden sobrevivir a procesos de desinfección. Los parásitos helmínticos pueden ser transmitidos al ser humano a través de la ingestión de carne, productos agrícolas regados con agua contaminada, agua contaminada y por contacto con el suelo y heces fecales (Ingraham *et al.*, 1998).

- *Salmonella* spp. El género *Salmonella* spp pertenece a la familia enterobacter e incluye a más de 2000 serotipos que infectan al hombre. Es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, móvil mediante flagelos peritricos y con dimensiones de 2 a 3  $\mu\text{m}$  de largo y 0.6  $\mu\text{m}$  de diámetro. Las *Salmonellas* se transmiten por vía indirecta cuando la materia fecal de los pacientes o de los portadores contamina el agua potable, los alimentos o cultivos regados con aguas negras. Los miembros del género *Salmonella* spp causan principalmente tres tipos de enfermedades en el hombre: fiebre tifoidea o fiebres entericas, gastroenteritis y septicemia (Ingraham et al., 1998).

El contenido de metales también ha sido limitado para poder reutilizar o depositar los lodos. Tanto la US EPA como la NOM-004-SEMARNAT-2002 establecen los límites máximos de metales para dos clases de biosólidos propuestas. La Tabla 2.2 presenta los límites máximos permisibles de metales pesados en biosólidos establecidos en ambas normas.

**Tabla 2.2. Valores máximos permisibles en mg/kg de metales pesados en biosólidos según la USEPA y la NOM-004-SEMARNAT-2002**

Parámetros	US EPA		NOM-004-SEMARNAT-2002	
	Biosólidos Clase A	Biosólidos Clase B	Biosólidos Excelente	Biosólidos Bueno
Arsénico	75	75	41	75
Cadmio	85	85	39	85
Cobre	4300	4300	1500	4300
Cromo	No aplica	No aplica	1200	1300
Plomo	840	840	300	840
Mercurio	57	57	17	57
Molibdeno	75	75	No aplica	No aplica
Níquel	420	420	420	420
Selenio	100	100	No aplica	No aplica
Zinc	7500	7500	2800	7500

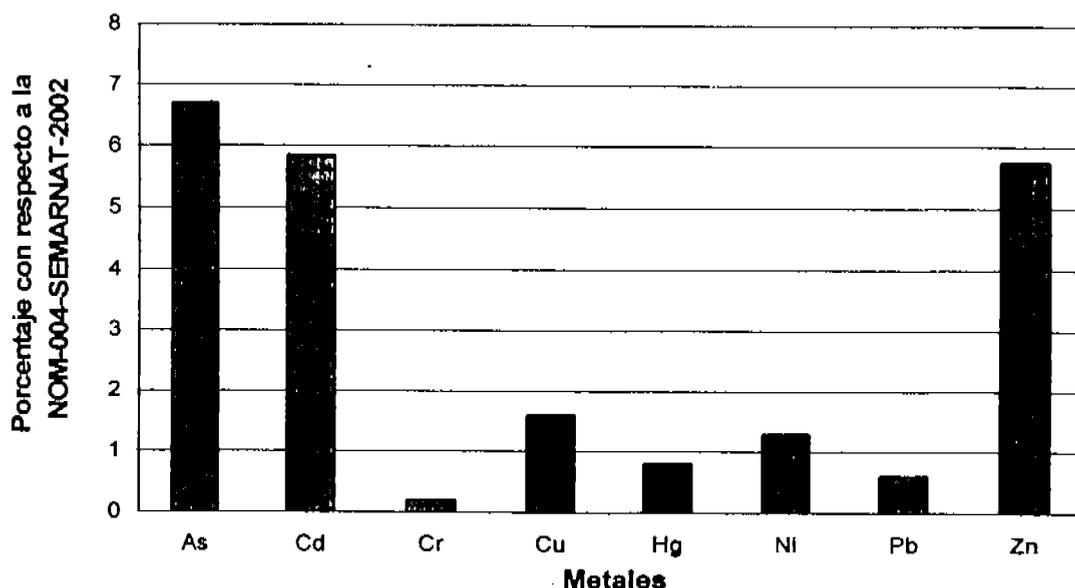
En el caso de México, el aprovechamiento de los biosólidos se establece en función del Tipo y Clase, como se especifica en la Tabla 2.3 y su contenido de Humedad hasta el 85 %.

Tabla 2.3. Aprovechamiento de biosólidos

TIPO	CLASE	APROVECHAMIENTO
EXCELENTE	A	Usos urbanos con contacto público directo durante su aplicación Los establecidos para Clase B y C
EXCELENTE O BUENO	B	Usos urbanos sin contacto público directo durante su aplicación Los establecidos para Clase C
EXCELENTE O BUENO	C	Usos forestales Mejoramientos de suelos Usos agrícolas

**Calidad de los lodos en México.**- el depósito final o el uso potencial de los lodos depende de su calidad, la cual es función del agua residual de origen y del tratamiento aplicado a la misma. Barrios *et al.* (2001) evaluaron la calidad de los lodos de 18 plantas de tratamiento de aguas residuales ubicadas a lo largo del territorio nacional. Los resultados demostraron que la concentración de metales pesados en los lodos cumplió en 16 casos con los límites para biosólidos denominados "buenos" y solo en dos de los casos la calidad de los lodos en términos de metales pesados fue "excelente"; de acuerdo con la NOM-004-SEMARNAT-2002.

El contenido de metales pesados en lodos de la ciudad de México ha sido determinado en concentraciones muy inferiores a los límites establecidos por la US EPA y la NOM-004-SEMARNAT-2002 y no representan un problema de contaminación (García Piña *et al.*, 2000 y Jiménez *et al.*, 1997). La Figura 2.1 presenta el porcentaje en relación con cada concentración de metales pesados; se observa que en ningún caso se rebasó el valor máximo permitido en los metales evaluados (o sea el 100 %).



**Figura 2.1 Concentración de metales pesados en lodos del Distrito Federal**

Adaptada de: Garciapiña *et al.* (2000) y Jiménez *et al.*, (1997).

### 2.1.5 Disposición o uso del lodo residual tratado

La disposición en rellenos sanitarios consiste en depositar los residuos en sitios debidamente controlados y operados, ubicados en áreas alejadas de lagos, estanques, ríos, pozos para suministro de agua, carreteras, aeropuertos y zonas habitadas, compactándolos y cubriéndolos con aproximadamente 30 cm de tierra. En este caso es importante que los lodos estén bien deshidratados para evitar la infiltración de lixiviados. Cuando un relleno se cierra es necesaria la aplicación de una capa final sobre la que crezca vegetación evitando la erosión de la celda.

El uso de los lodos tratados como mejoradores de suelos, es una alternativa que actualmente está tomando gran importancia, ya que incrementan la retención de agua y mejoran el suelo cultivable, además de añadir nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, y micronutrientes tales como manganeso, cobre, molibdeno, hierro y zinc. A pesar de que los nutrientes no se encuentran en la proporción de cualquier fertilizante comercial balanceado, la mayoría de los cultivos agrícolas responden favorablemente a la aplicación del lodo. Además del uso agrícola, se tiene la posibilidad de que se les pueda utilizar para regenerar suelos estériles o bien tratar suelos de bosques, lo que permitiría mejorar la cubierta vegetal, reduciendo en una menor escorrentía y una mayor capacidad de infiltración de esos suelos.

Algunos de los problemas asociados con la aplicación de lodos residuales pueden ser el riesgo de la contaminación de plantas y acuíferos con patógenos y elementos

químicos, la presencia de olores desagradables en los sitios de aplicación o específicamente puede ocasionarse contaminación por nitratos en acuíferos.

De acuerdo con las características del lodo se determina la operación unitaria o proceso de tratamiento que más convenga, en función del tipo de disposición o reúso que se le pretenda dar. Los parámetros normativos determinan si el lodo puede ser reutilizado o se le da un confinamiento final.

En la Tabla 2.4 se muestran los contenidos típicos en nutrientes de los lodos estabilizados en comparación con los contenidos de fertilizantes comerciales.

**Tabla 2.4. Comparación de los niveles de nutrientes de los fertilizantes comerciales y el lodo de agua residual estabilizado (Metcalf & Eddy, 1991).**

	Nutrientes %		
	Nitrógeno	Fósforo	Potasio
Fertilizantes para usos agrícolas típicos	5	10	10
Valores típicos para lodos de agua residual estabilizados	3.3	2.3	0.3

## 2.2 Digestión anaerobia

El proceso de digestión anaerobia se lleva a cabo en ambientes que se caracterizan por la ausencia total de oxígeno molecular, en donde se realizan una serie de procesos bioquímicos complejos a través de los cuales diversos grupos de microorganismos degradan la materia orgánica, generando como productos finales materia celular, metano y dióxido de carbono.

### 2.2.1 Estado del arte

La digestión anaerobia es el método más común de estabilización de lodo con producción simultánea de energía. El primero en tener conocimiento de que se producía un gas combustible que contiene metano fue Donald Cameron, que construyó el primer tanque séptico en la ciudad de Exeter, Inglaterra, en 1895, del que recogió y utilizó el gas para el alumbrado de los alrededores de la planta. En 1904 se instaló en Hampton, Inglaterra, el primer tanque de doble acción (sedimentación-digestión) al incorporar la sedimentación al tratamiento de lodos. Se conocía con el nombre de tanque hidrolítico de Travis y funcionó hasta 1936. Entre 1909 y 1912 se llevaron a cabo experimentos en una instalación similar denominada tanque biolítico. Bajo un diseño semejante en 1940,

Karl Imhoff patentó en Alemania un tanque de doble acción hoy día conocido como tanque Imhoff. Una de las primeras instalaciones que, en los Estados Unidos, empleó tanques de digestión separados, fue la planta de tratamiento de agua residual de Baltimore (Maryland). Se construyeron tres tanques de digestión rectangulares como parte de la planta original en 1911; más adelante, en 1914, se añadieron 16 tanques de digestión circulares y, posteriormente, se instaló un tanque rectangular en 1921.

En el periodo comprendido entre 1920 y 1935 se estudió ampliamente el proceso de digestión anaerobia, realizando mejoras considerables en los reactores, principalmente el calentamiento y el mezclado, logrando con esto mejores rendimientos. De hecho, los conceptos de digestión de alta y baja tasa son aplicables independientemente de que el proceso sea mesofílico o termofílico.

La digestión anaerobia termofílica de lodos ha sido investigada desde los años veinte, encontrando estudios muy importantes sobre la producción termofílica de metano a partir de residuos, como el realizado por Rudolfs y Heukelekian a fines de esa década (Zinder, 1988). Desde ese tiempo, se encontró que la digestión anaerobia termofílica tenía velocidades de reacción mayores a las experimentadas en condiciones mesofílicas y favorecía la sedimentabilidad de los sólidos, esos dos aspectos han sido ampliamente corroborados en fechas más recientes (Hashimoto, 1982; Varel *et al.*, 1980). Además, se ha demostrado que la reducción de microorganismos indicadores y patógenos es más eficiente a altas temperaturas (Varel *et al.*, 1980, Lee, 1989). Hashimoto en 1982 encontró que la velocidad máxima de crecimiento,  $\mu_m$ , y la tasa de utilización de sustrato para la digestión anaerobia de residuos, se incrementó linealmente con temperaturas entre 20 y 60 °C y que por encima de los 60 °C había un descenso en el valor de  $\mu_m$ . Hashimoto también encontró que cuando las cargas orgánicas eran altas o los tiempos de retención cortos, la digestión anaerobia a altas temperaturas podía ser mucho más favorable que bajo condiciones mesofílicas. Esto se ha demostrado en experimentos de laboratorio ya que la digestión termofílica aumenta las capacidades de los digestores mediante la adición de calor, lo que no representa a la larga costos adicionales (Rowe, 1971) y puede tener una tasa de producción de biogás hasta 50% más alta que la digestión mesofílica (Pfeffer, 1974).

Por otro lado, se han hecho algunos estudios examinando el efecto combinado de la temperatura y el ion amonio. El ion amonio es un nutriente necesario para el crecimiento del consorcio bacteriano anaerobio (McCarty, 1964), pero cuando las concentraciones exceden un cierto límite, la metanogénesis se inhibe (McCarty y McKinney, 1961; McCarty, 1964; Koster y Lettinga, 1984). Se ha encontrado también, que la cantidad de amonio libre se incrementa con la temperatura, lo cual redundaría en un incremento de los ácidos grasos volátiles (metabolitos intermedios del proceso anaerobio), por lo que se tiene mayor concentración de éstos en la digestión anaerobia termofílica que en la mesofílica (Garber *et al.*, 1975; Zeeman *et al.*, 1985).

Desde el punto de vista microbiológico, el primer hecho importante fue el aislamiento de la primera especie anaerobia termofílica, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, de un digestor de lodos en 1972 por Zeikus y Wolfe, la cual crecía de manera óptima entre los 65 y 70 °C. A partir de ahí se intensificaron los esfuerzos para develar los aspectos

fundamentales de la microbiología termofílica, descubriendo, tal vez como lo más importante, el hecho de su versatilidad nutricional, existiendo representantes tanto autótrofos como heterótrofos, así como litótrofos y quimiótrofos (Sundaram, 1986). La gran duda de cómo es que los termofílicos resistían tales temperaturas, no ha sido resuelta del todo, pero se ha encontrado que cuentan con proteínas más estables térmicamente debido al aumento de interacciones moleculares entre aminoácidos específicos y la intervención de diversos cofactores; su citoplasma contiene menos agua interna, ya que la empaquetan; tienen un alto grado de hidrofobicidad y cuentan en su cubierta celular con ácidos grasos más largos y más saturados (Koga *et al*, 1993).

Al igual que otros procesos para la estabilización de lodos, la digestión anaerobia tiene ventajas y desventajas, entre las más comunes se encuentran las siguientes (Noyola 1998b):

### **Ventajas**

- Reducción de la masa y el volumen del lodo mediante su conversión a metano, dióxido de carbono y agua. Esta reducción se encuentra entre el 25 y 45% de los sólidos totales.
- El biogás producido (metano y dióxido de carbono) es un gas combustible que convierte a la digestión anaerobia en un proceso productor neto de energía. Así, esta energía se utiliza para mantener el digestor a 35°C, además de que el exceso puede emplearse en producción de energía eléctrica para la planta de tratamiento de aguas. Mediante cogeneración, el biogás puede suministrar los requerimientos de calor del digestor y hasta el 60% de la energía eléctrica para los aeradores del sistema de lodos activados correspondiente.
- Una vez digeridos los lodos, por su estabilidad y características fisicoquímicas, pueden ser aprovechados como mejoradores de suelos en una gran variedad de situaciones.

### **Desventajas**

- Costos de inversión inicial altos. Tanques cubiertos, intercambiadores de calor y dispositivos para el manejo seguro del biogás son componentes necesarios en una planta de digestión de lodos.
- Largos tiempos de retención hidráulica para mantener a las bacterias metanogénicas dentro del sistema, aunado a un menor factor de sobre diseño para aceptar sobrecargas orgánicas.
- Características inadecuadas del sobrenadante, por lo que tiene que retornarse al inicio del proceso del tratamiento del agua, lo cual implica una carga adicional al sistema. Sus principales contaminantes son materia orgánica suspendida y soluble, nitrógeno amoniacal, sulfuros, además de ausencia de oxígeno disuelto.
- En el caso particular de México, muy poca, prácticamente nula experiencia en el diseño, construcción y operación de digestores anaerobios para lodos de purga.

De hecho, debido al énfasis en la recuperación y conservación de la energía así como en la búsqueda de lograr un uso benéfico de los lodos de purga, la digestión anaerobia

se mantiene como el proceso predominante para la estabilización de lodos" (Metcalf y Eddy, 1991).

### **2.2.2 Bioquímica de la digestión anaerobia**

El objetivo principal de la digestión anaerobia de lodos residuales es la estabilización de la materia orgánica, dándose simultáneamente fenómenos como la producción de energía a través de biogás y la reducción de olores, de patógenos y de la masa de sólidos. La estabilización de la materia orgánica se consigue transformándola en biomasa y compuestos inorgánicos en su mayoría volátiles:  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2$  y  $\text{H}_2\text{S}$ , todo esto en ausencia de oxígeno molecular. En la Figura 2.2 se muestra el diagrama de flujo del sustrato durante la degradación anaerobia propuesto por Gujor y Zehnder (1983).

En general las bacterias son incapaces de alimentarse de material orgánico particulado, por lo que las proteínas, carbohidratos y lípidos son inicialmente hidrolizados por enzimas extracelulares a compuestos más simples y asimilables por las bacterias, como son azúcares, aminoácidos y ácidos grasos. Estos a su vez son utilizados como sustrato por organismos fermentadores (azúcares y aminoácidos) y por oxidadores anaerobios (ácidos grasos superiores). Los productos de estas reacciones son acetato, hidrógeno, biomasa y productos intermedios como el propionato y butirato. Los productos intermedios son degradados hasta acetato e hidrógeno por un grupo de bacterias llamadas bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA, por sus siglas en inglés), las cuales deben existir en relación sintrófica con las metanogénicas que utilizan hidrógeno. El acetato como el hidrógeno son finalmente los verdaderos sustratos de las bacterias metanogénicas.



Bacterias metanogénicas acetoclásticas, que transforman el acetato en CH<sub>4</sub>. Estas bacterias contribuyen con el 70% de la producción de metano en los digestores.



Atendiendo a la Figura 2.2, seis son los procesos de conversión identificados en la digestión anaerobia:

- 1) Hidrólisis de biopolímeros (proteínas, carbohidratos y lípidos)
- 2) Fermentación de aminoácidos y azúcares
- 3) Oxidación β - anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes
- 4) Oxidación anaerobia de productos intermedios como ácidos volátiles (excepto acetato)
- 5) Conversión de acetato a metano; metanogénesis acetoclástica
- 6) Conversión de hidrógeno a metano; metanogénesis reductora

Es de importancia mencionar que el desarrollo de las bacterias OHPA se puede inhibir por la presencia de presiones parciales elevadas de hidrógeno, definiéndose una relación sintrófica de dichos microorganismos con las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas, que al ser consumidoras de hidrógeno mantienen las concentraciones de este gas a niveles adecuados para que la producción de acetato e hidrógeno se pueda realizar de manera adecuada (Noyola, 1998 b).

El equilibrio entre la oxidación del propionato, descarboxilación del acetato y oxidación del hidrógeno es crucial para un proceso de digestión anaerobia estable. Las condiciones óptimas para las tres reacciones son muy estrictas y principalmente controladas por la concentración de propionato, acetato e hidrógeno libres. En un digestor estabilizado, las concentraciones típicas de acetato y propionato oscilan entre 10<sup>-4</sup> y 10<sup>-5</sup> mol/L con presiones parciales de hidrógeno inferiores a 10<sup>-4</sup> atm. La relación de simbiosis descrita se considera como el "cuello de botella" del proceso (Noyola, 1998 b).

Además de los grupos bacterianos antes citados, existen también en los digestores anaerobios y en especial en presencia de sulfatos, un grupo bacteriano capaz de reducir en un medio anaerobio sulfatos a sulfuros. Estas bacterias, conocidas como sulfatorreductoras, utilizan sulfato como aceptor final de electrones. Aunque en general las sulfatorreductoras consumen ácido láctico y pirúvico para su desarrollo, pueden utilizar también ácido acético y así competir con las metanogénicas acetoclásticas. De estas dos reacciones, es termodinámicamente más favorable la sulfatorreducción. Por otro lado, también pueden reducir sulfatos, utilizando como donador de electrones el hidrógeno producido por las acidogénicas y entonces el H<sub>2</sub> no podrá ser utilizado por las metanobacterias hidrogenofílicas. Esta reacción también está favorecida termodinámicamente para las sulfatorreductoras. Por lo anterior, en presencia de una elevada concentración de sulfatos, la metanogénesis puede ser desplazada (Noyola, 1998 b).

### 2.2.3 Microbiología de la digestión anaerobia

La microbiología de la digestión anaerobia termofílica está constituida por un consorcio bacteriano que funciona a altas temperaturas. En la medida en que el consorcio esté equilibrado, el proceso funcionará bien, aunque el paso más crítico sea la oxidación del hidrógeno y la subsecuente formación de metano.

Los microorganismos termofílicos presentan temperaturas óptimas de crecimiento por encima de los 45 °C y comprenden especies de protozoarios, algas, hongos y principalmente bacterias. Los microorganismos termofílicos fueron descubiertos en los géisers del parque nacional Yellow Stone, pero después se encontró que existían en otros ambientes como las chimeneas hidrotermales en el fondo del mar, volcanes, pantanos y también en digestores anaerobios de lodos, como lo descubrieron Zeikus y Wolfe en 1972.

Estos organismos resisten altas temperaturas porque cuentan con proteínas más estables térmicamente debido al aumento de interacciones moleculares entre aminoácidos específicos y la intervención de diversos cofactores, un citoplasma que contiene menos agua interna, ya que la empaquetan, tienen un alto grado de hidrofobicidad, cuentan en su cubierta celular con ácidos grasos más largos y más saturados y además, tienen mecanismos de protección para su material genético, como altos contenidos de guanina y citosina, (Koga *et al*, 1993). La mayoría de los microorganismos termofílicos son anaerobios debido a la baja solubilidad del oxígeno a altas temperaturas.

Antes de describir las características de los metanogénicos, es necesario, hablar del grupo de microorganismos denominados *Archaea*.

En 1996, el trabajo conjunto de varios investigadores permitió la obtención de la secuencia completa de nucleótidos del cromosoma (lugar donde se encuentra la información genética) de *Methanococcus jannaschii*, metanogénico que vive a temperaturas cercanas a los 85 °C. Los resultados confirmaron una vieja hipótesis, antaño ridiculizada, según la cual, la vida está constituida por tres grandes líneas evolutivas, y no por las dos que consagraban los libros de texto.

Los *archaea* no lucen muy distintos de las bacterias cuando se observan al microscopio, pero presentan marcadas diferencias tanto bioquímicas como genéticas. Los *archaea* suelen habitar algunos de los ambientes más extremos del planeta, pueden vivir a temperaturas hasta de más de 100 °C, en ambientes extremadamente alcalinos o ácidos o en ambientes extremadamente salinos.

Las diferencias más destacadas entre las bacterias y los *archaea* son (Koga *et al*, 1993 y Madigan y Mairs, 1997):

1. Sus lípidos de membrana están constituidos por enlaces éter de fitanol y bifitol con glicerol en vez de enlaces éster de ácidos grasos con el glicerol.
2. Presentan pseudopéptidoglicanos en su pared celular o simplemente no cuentan con pared celular, en vez de péptidoglicano en pared celular.
3. Presentan enzimas únicas como algunas que utilizan los metanogénicos.
4. Desde el punto de vista metabólico, son los únicos capaces de generar metano.
5. El aminoácido iniciador en la síntesis de proteínas es la metionina en vez de la formilmetionina.

Los metanogénicos son, dentro de los *archaea*, los únicos que se pueden considerar como cosmopolitas, ya que pueden encontrarse casi en cualquier hábitat, desde agua fresca, sedimentos marinos y tractos intestinales animales hasta digestores anaerobios. Se pueden encontrar representantes tanto mesófilicos como termo e hipertermofílicos. La única restricción para los metanogénicos es la anaerobiosis total.

A las temperaturas en que generalmente se maneja la digestión anaerobia termofílica, los únicos representantes del dominio *archaea* son los metanogénicos, que como ya se mencionó, se encuentran, principalmente, de dos tipos, los acetoclásticos y los hidrogenofílicos. Los metanogénicos acetoclásticos son aquellos que producen metano y CO<sub>2</sub> a partir del grupo metilo del acetato y la oxidación del CO<sub>2</sub> respectivamente. Mientras que los hidrogenofílicos son capaces de producir metano a partir de la reducción del CO<sub>2</sub> y la correspondiente oxidación del hidrógeno.

#### **2.2.4 Factores ambientales que afectan a la digestión anaerobia**

Los microorganismos involucrados en la digestión anaerobia requieren de factores ambientales específicos que les permitan un buen crecimiento y por consiguiente una mayor eficiencia en la remoción de materia y en la producción de biogás. El conocimiento de estos factores permitirá evitar cualquier falla en el proceso y tomar medidas correctivas necesarias cuando así se requiera. Entre los parámetros ambientales más importantes que inciden en la digestión anaerobia están además de la ausencia de oxígeno, la temperatura, el pH y la alcalinidad, y los nutrientes.

**Temperatura.-** la temperatura a la que opera un reactor biológico influye de manera importante en su comportamiento, ya que las reacciones bioquímicas son directamente afectadas por este parámetro. Las altas temperaturas permiten la reducción de la tensión superficial de la fase acuosa del lodo, el aumento en las tasas de difusión y la solubilidad de los compuestos no gaseosos presentes, permitiendo con esto mejor interacción microorganismo-sustrato, y por ende, mayores velocidades de reacción, mayor capacidad en la hidrólisis de materiales poliméricos y además, algo de suma importancia, la disminución de la solubilidad del oxígeno. La temperatura afecta a las constantes de equilibrio químico, produciendo desplazamientos en los valores de diversos parámetros, como alcalinidad, pH, precipitaciones o redisoluciones de compuestos inorgánicos, cambios en la composición del gas por efecto de la diferente solubilidad, etc.

Los cambios de temperatura, afectan en general a los microorganismos presentes en el digestor, sin embargo, lo hacen de manera más drástica en los metanogénicos (Zinder *et al.*, 1984). La temperatura define a las especies predominantes de organismos anaerobios, siendo estas las termófilas (50-65°C), mesófilas (20-40°C) y psicrófilas (menor a 20°C). La temperatura óptima de crecimiento para los microorganismos anaerobios en intervalo mesofílico es de 37°C (Noyola, 1998 b) y en el termofílico varía entre los 55 y 60°C (Malina y Pohland, 1992). En el rango termófilo se pueden distinguir diferentes tipos de bacterias: termotolerantes (que crecen en el intervalo de los 40 y los 50°C, pero también a 35°C), las termofílicas estrictas (que no pueden crecer por debajo de 40°C), las moderadamente termofílicas que tienen su rango de crecimiento entre los 50 y los 65°C y las extremadamente termofílicas que se desarrollan a temperaturas superiores a los 65°C (Hamer *et al.* 1985). Por lo anterior, es muy importante que en un reactor anaerobio no existan cambios continuos de temperatura, y que si se desea pasar de temperaturas mesofílicas a termofílicas, se haga de manera gradual (Garber, 1982), aunque en esto existe debate.

**pH.-** de forma similar a la temperatura, el pH en los reactores anaerobios, y en general en cualquier proceso biológico, ejerce una gran influencia sobre la actividad de los microorganismos. La digestión anaerobia puede llevarse a cabo dentro de un intervalo de pH comprendido entre 6.2 y 7.8, siendo el óptimo entre 7.0 y 7.2. Fuera de este rango señalado como óptimo, la digestión puede continuar aunque en forma ineficiente hasta un pH de 6.2, en donde las bacterias metanogénicas son afectadas severamente (Noyola, 1998 b) y a niveles de pH alcalinos, se afecta principalmente a las bacterias metanogénicas acetoclásticas (Malina y Pohland, 1992). Al igual que en el caso de la temperatura, modificaciones en el pH afectan de manera más significativa a los microorganismos metanogénicos.

Cabe mencionar que tanto las bacterias metanogénicas como otros microorganismos anaerobios pueden ser inhibidos microbiológicamente por la presencia de sustancias tóxicas. La toxicidad de un gran número de compuestos se relaciona con el pH; por ejemplo, el amoníaco, el ácido sulfhídrico y los ácidos grasos volátiles (AGV's), se disocian en el agua dependiendo del pH y la constante de disociación del compuesto. La forma tóxica es la no ionizada, ya que estas moléculas pueden atravesar fácilmente la pared celular de las bacterias y una vez dentro pueden de nuevo disociarse produciendo un cambio en el pH interno de la célula (Noyola, 1998 b).

El *amoníaco* es un compuesto que si bien ayuda en el control del pH, puede llegar a inhibir la metanogénesis a una concentración de 200–300 mg/L de nitrógeno amoniacal no disociado ( $\text{NH}_3$ ) y pH neutro. Mientras que para pH alcalinos, concentraciones de 1500–3000 mg/L de  $\text{NH}_4^+$  resultan inhibitorias. Para concentraciones mayores, tiene un efecto inhibitorio independientemente del pH (Noyola, 1998b).

Otro compuesto muy común en sistemas de tratamiento anaerobio es el *sulfuro de hidrógeno* ( $\text{H}_2\text{S}$ ), compuesto que se forma a partir de los sulfuros producidos por la sulfatorreducción al reaccionar con el hidrógeno producido por las bacterias

acidogénicas, que en su forma no disociada es un compuesto altamente tóxico para los microorganismos metanogénicos. Concentraciones de 100 mg H<sub>2</sub>S/L inhiben fuertemente la producción de metano, mientras que concentraciones superiores a 200 mg/L se consideran fuertemente inhibitorias para la digestión anaerobia. A su vez, concentraciones de 26–222 mg/L de H<sub>2</sub>S inhiben a las bacterias acetoclásticas, mientras que concentraciones de 64–96 mg/L a las bacterias hidrogenofílicas.

La concentración de *ácidos grasos volátiles* (AGV's), producto de la fermentación, puede llegar a acidificar el digestor propiciando la falla del proceso. El aumento de la concentración de AGV's puede deberse a una sobrecarga en la alimentación del digestor o a una inhibición de las bacterias metanogénicas. Una concentración elevada puede provocar la destrucción de la capacidad amortiguadora del reactor y la disminución del pH, hasta valores en los cuales la actividad de las bacterias metanogénicas es inhibida. En condiciones normales de operación, la concentración de AGV's en el influente debe ser menor a 100 mg/L (Noyola, 1998b).

Es importante señalar que los *iones metálicos* con un pequeño aumento en la concentración se vuelven tóxicos, sobretodo cuando se encuentran en ambientes anaerobios (Mishra *et al.*, 1999). Los metales pesados en estado soluble generalmente son más tóxicos que las formas insolubles. A pH bajos se solubiliza una gran cantidad de precipitados de metales pesados, principalmente los formados por sulfuros.

En general, el pH de la digestión anaerobia termofílica es mayor al de la mesofílica, a pesar de que las concentraciones de ácidos grasos volátiles producidas, sin dañar al sistema, son mayores (Pohland y Bloodgood, 1963; Rimkus *et al.*, 1982; Watanabe *et al.*, 1997).

**Alcalinidad.**- la regulación del pH en un reactor anaerobio se lleva a cabo mediante la alcalinidad producida por las reacciones que ocurren durante los procesos de degradación de la materia orgánica. Debido a que las bacterias acidogénicas tienen una mayor actividad que las bacterias metanogénicas, ante sobrecargas orgánicas son capaces de provocar la acidificación del reactor, lo que puede evitarse manteniendo en el digestor una óptima capacidad amortiguadora (buffer). Mientras la digestión anaerobia se lleve a cabo con normalidad, la alcalinidad oscilará entre 1000 y 5000 mg CaCO<sub>3</sub>/L (Malina y Pohland, 1992). Con valores de operación típicos de pH (alrededor de 7) en un reactor anaerobio, el sistema buffer presente es el formado por el ión bicarbonato y el ácido carbónico en solución. Sin embargo, al valorar la capacidad reguladora del bicarbonato, se tiene que a pH bajos (hasta 4.3), no se obtienen valores de alcalinidades útiles para controlar la operación de un reactor. Además existe la posibilidad de llegar a valorar parte de los AGV's presentes en solución en forma disociada, cuyos pKa están comprendidos entre 4.56 y 4.67 (Jenkins *et al.* 1991). Es por ello que se ha propuesto medir la alcalinidad utilizable en las condiciones de operación del reactor; la más aceptada es la propuesta por Jenkins *et al.* (1983) en la cual hay una titulación a un pH superior a 4.3, típicamente 5.75.

Cuando el sistema no contiene suficiente alcalinidad, el pH del sistema puede controlarse mediante la adición de materiales alcalinos, sin embargo, se debe tener

cuidado con el uso de agentes químicos ya que pueden causar efectos colaterales adversos como por ejemplo la cal, que es uno de los álcalis más baratos, puede precipitarse como carbonato de calcio causando serios problemas de acumulación de sólidos o el ion sodio que, a determinadas concentraciones, resulta tóxico.

Un criterio para verificar si la carga orgánica suministrada al digester es adecuada para el proceso anaerobio, es la relación alfa ( $\alpha$ ), que es la alcalinidad debida a los bicarbonatos entre la alcalinidad total; la primera se calcula mediante un procedimiento de titulación de una muestra de lodo, midiendo su consumo de ácido ( $H_2SO_4$  0.2N) hasta un pH de 5.75 y la segunda, midiendo el volumen total del mismo ácido hasta un pH de 4.3 (Jenkins *et al.* 1983); la cual se puede calcular con la siguiente expresión:

$$\alpha = \frac{Alc(HCO_3^-)_{5.75}}{Alc(total)_{4.3}}$$

Donde:

$Alc(HCO_3^-)_{5.75}$  = Alcalinidad debida a los bicarbonatos, obtenida a partir de la titulación de la muestra con  $H_2SO_4$  hasta un pH de 5.75 (mg  $CaCO_3/L$ )

$Alc(total)_{4.30}$  = Alcalinidad total, obtenida de la titulación de la muestra con  $H_2SO_4$  hasta un pH de 4.3 (mg  $CaCO_3/L$ )

El valor de  $\alpha$  durante el arranque deberá mantenerse arriba de 0.5. Un valor superior a 0.7 muestra una operación estable, pudiéndose incrementar la carga del digester (Noyola, 1994). La relación  $\alpha$  con valores superiores a 0.5, indica que existe un equilibrio entre los bicarbonatos, producidos por la descarboxilación del acetato durante la producción de metano por las bacterias metanogénicas acetoclásticas, y de los ácidos grasos volátiles, producidos durante la etapa de acidogénesis del proceso de digestión anaerobia. Valores de  $\alpha$  inferiores a 0.5 son debidos a la acumulación de AGV's, lo que indica que el sistema no tiene la capacidad para consumir la cantidad de sustrato que a él ingresa, debido a que la velocidad de consumo de sustrato de las bacterias fermentativas es mayor que la de las bacterias metanogénicas, consumidoras de AGV's. El valor de  $\alpha$  puede emplearse para indicar el ritmo de aumento de carga durante un arranque, así como una adecuada alarma si el reactor está siendo sobrecargado (Noyola, 1994).

**Nutrientes.-** la digestión anaerobia como cualquier otro proceso biológico, necesita además de una fuente de carbono, nutrientes inorgánicos esenciales para el adecuado crecimiento de los microorganismos involucrados, así como para incrementar la actividad específica de utilización de sustrato. La ausencia o limitación de estos nutrientes es por lo tanto un factor limitante para el proceso. Montalvo y Guerrero (2003), consideran que los nutrientes (macronutrientes) más importantes en procesos anaerobios son el nitrógeno, el fósforo, el potasio y el azufre. Para que un reactor opere de manera adecuada se debe cuidar que los nutrientes se encuentren en ciertas

proporciones; comúnmente se ha recomendado una relación DQO:N:P:S de 400:5:1:0.2 (Noyola, 1998 b).

El azufre es otro elemento esencial para el desarrollo microbiano. Los sulfuros son la mayor fuente de este elemento, jugando un doble papel: a bajas concentraciones estimula la actividad metanógena y a elevadas concentraciones (100 - 150 mg/L como H<sub>2</sub>S) la inhibe, ya que favorece el metabolismo sulfatoreductor. Además, los sulfuros pueden causar la precipitación de hierro, cobalto y níquel, haciéndolos no disponibles para el metabolismo bacteriano.

Además de las necesidades de nitrógeno, fósforo y azufre, también se requiere la presencia de micronutrientes (Montalvo y Guerrero, 2003), elementos traza como hierro, níquel, cobalto y molibdeno (Tabla 2.5), los cuales son necesarios para el buen funcionamiento del consorcio microbiano, principalmente para la actividad de los metanógenos, en ciertas concentraciones aumentan la eficiencia del proceso. A diferencia de los macronutrientes, los nutrientes traza se requieren en cantidades muy pequeñas (partes por millón).

**Tabla 2.5. Metales nutrientes requeridos por la biomasa anaerobia, en función de la concentración en DQO del agua (Noyola, 1998b).**

Elemento	Concentración del metal mg / L	
	a 10 g DQO / L	a 50 g DQO / L
Fe	0.5–20	3–100
Ni	0.05–3	0.3–15
Co	0.05–2	0.3–10
Mo	0.01–0.05	0.05–0.2

Una falla en el sistema de digestión puede resultar cuando la concentración libre de metales pesados sobrepasa la concentración del umbral particular. Esta concentración umbral parece estar directamente relacionada con la concentración del ión sulfuro en el reactor. Esto se debe a que en el sistema se forman sulfuros metálicos que precipitan, reduciendo así su efecto inhibitorio. Sin embargo, este mecanismo también puede remover metales nutrientes de la fase líquida, lo que limitaría al proceso. Por lo anterior, en caso de requerirse la adición externa de nutrientes metálicos, la concentración de sulfatos en el medio debe tomarse en cuenta. Los efectos de los metales pesados en los procesos anaerobios dependen de la forma o especie química en la cual los metales son introducidos al sistema.

### **2.2.5 Digestores anaerobios de lodos**

La digestión anaerobia, tanto mesofílica como termofílica, ha probado estabilizar satisfactoriamente muchos tipos de lodos residuales. La tecnología empleada

actualmente para el tratamiento de los lodos residuales, tiene alrededor de 40 años. Los digestores son generalmente cilíndricos, con diámetros no mayores a 35 metros, su profundidad varía entre 6 y 14 metros, o inclusive más y el fondo tiene una pendiente del 25 %.

Los digestores anaerobios de lodos los podemos agrupar en dos tipos: digestores de baja tasa y digestores de alta tasa.

**Digestores de baja tasa.**- conocidos también como digestores convencionales, ya que en ellos el proceso se lleva a cabo en un tanque sin calentamiento y sin mezclado, lo cual lleva a la estratificación del contenido del reactor, propiciando que la actividad biológica se lleve a cabo solo en aproximadamente en el 50% del volumen. Su aplicación es principalmente en plantas pequeñas. Una mejora en el funcionamiento de este tipo de reactores consiste en la introducción de mezclado, lo que permite una mayor carga de alimentación, al favorecer la transferencia de masa en el digestor y emplear todo el volumen del líquido en la reacción. En estos digestores, los tiempos de retención hidráulica (TRH) son de entre 30 y 90 días, con cargas recomendadas de entre 0.5 y 1.0 kg SSV/m<sup>3</sup>\*d. Para digestores convencionales con mezclado, las cargas son de 1.0 a 1.6 kg SSV/m<sup>3</sup>\*d (Noyola, 1998 b).

**Digestores de alta tasa.**- en este tipo de digestores se aplica un mezclado al medio de reacción, ya sea mediante agitación mecánica, por la recirculación de gas ó de líquido, o una combinación de ambos. Esta variante cuenta con un sistema de calentamiento que lleva la temperatura a rangos mesofílicos o termofílicos. Frecuentemente se une a otro tanque del mismo volumen, con objeto de separar los lodos digeridos evacuados en el efluente del primer reactor. En los digestores de alta tasa, mesofílicos, las cargas van de 1.6 a 3.2 kg SSV/m<sup>3</sup>\*d, con TRH de 10 a 20 días (Noyola, 1998 b).

Un desarrollo relativamente reciente en materia de digestión anaerobia de lodos es la introducción de los tanques de forma oval (reactores egg-shaped digester: ESD). Los ESD eliminan las zonas muertas y presentan condiciones óptimas para la circulación y mezclado del lodo, lo cual permite reducir significativamente los requerimientos energéticos para el mezclado. La base cónica del digestor permite la concentración del lodo en la parte inferior del mismo, por lo que éste es fácilmente mezclado o removido mediante un bombeo normal. De esta manera, prácticamente no existen problemas con lodos sedimentados y se asegura la utilización del volumen total del digestor, lo que permite la digestión completa de los lodos. Los digestores convencionales necesitan limpieza periódicamente, en tanto que los ESD pueden operar sin este requerimiento. Adicionalmente, los ESD requieren menor área para su construcción. Son, sin embargo, más costosos en su construcción.

**Diseño de digestores anaerobios.**- para diseñar un digestor de lodos se utilizan generalmente métodos empíricos que utilizan como parámetro de diseño el tiempo de retención celular o la carga orgánica. Debido a que en un reactor completamente mezclado el tiempo de retención celular es igual al tiempo de retención hidráulico ( $\theta = \theta_c$ ), el volumen de un digestor de alta tasa puede ser calculado con la siguiente fórmula:

$$V = Q * \theta_c$$

donde:

$V$  = volumen del reactor ( $m^3$ )

$Q$  = gasto ( $m^3/d$ )

$\theta_c$  = tiempo de retención celular (d)

Los valores recomendados para  $\theta_c$  se muestran en la Tabla 2.6.

**Tabla 2.6. Tiempos de retención celular para el diseño de digestores de lodos completamente mezclados (Metcalf & Eddy, 1991).**

Temperatura °C	$\theta_c$ para diseño (d)
18	28
24	20
30	14
35	10
40	10

Para el diseño con base en la carga orgánica, se acostumbra utilizar la carga orgánica volumétrica ( $kg\ SSV/m^3*d$ ). El TRH debe ser siempre considerado para evitar el lavado de los microorganismos activos.

En la operación de digestores anaerobios, se deben tomar en cuenta distintas condiciones ambientales y de operación, Tabla 2.7, para obtener la máxima producción de metano durante la digestión anaerobia de lodos de purga.

**Tabla 2.7. Condiciones óptimas ambientales y de operación durante la digestión anaerobia de lodos de purga (Malina y Pohland, 1992).**

Variable	Óptimo	Intervalo
pH	6.8-7.4	6.4-7.8
Potencial oxido-reducción <sup>(1)</sup> (mV)	-520 a -530	-490 a -550
Acidos volátiles (mg/L de ácido acético)	50-500	<2000
Alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	1500-3000	1000-5000
Temperatura:		
Mesófila	32-38°C	20-40°C
Termófila	50-56°C	45-60°C
Tiempo de retención hidráulica (d)	10-15	7-30
Producción de gas (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg SSV <sub>eliminados</sub> )*		0.75-1.12*
Composición del gas:		
Metano (CH <sub>4</sub> )(%)	65-70	60-75
Dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> )(%)	30-35	25-40

\* Noyola, 1998b

(1) Lectura de un electrodo Ag/AgCl<sub>3</sub>

La geometría de los digestores de lodos es un factor importante, debido a que influye de manera directa en el mezclado, ya que si éste es deficiente propiciará la generación de zonas muertas y la acumulación de sólidos en las paredes del digestor. Los digestores más comunes son cilindros verticales bajos con un fondo ligeramente cónico. Las paredes se construyen de 6 a 12 m de altura, con diámetros de 6 a 40 m. Los digestores con forma de huevo pueden tener alturas mayores.

## 2.3 Estimulación

Con el fin de optimizar la producción de biogás para la recuperación de energía, se ha estudiado el efecto de aplicar pretratamientos para modificar las características físicas y químicas de los lodos, esperando una mayor conversión de los compuestos orgánicos complejos, es decir, en la etapa hidrolítica de la digestión anaerobia. Para tal situación, se han empleado tanto el pretratamiento térmico como el alcalino y la combinación de ambos. Más recientemente, Barjenbruch y Kopplow (2003), realizaron un estudio basado en pretratamientos térmico, mecánico y enzimático. Sin embargo, la metanogénesis que es la última etapa del proceso de digestión anaerobia, se considera como limitante debido a la baja rapidez de producción de bacterias metanogénicas y a su sensibilidad a cambios bruscos en las condiciones prevalecientes de los digestores. Por esto, se busca favorecer el crecimiento de los microorganismos

que se presentan en la etapa de la metanogénesis suministrándoles los nutrientes necesarios para su crecimiento; dichos nutrientes pueden encontrarse en el sustrato principal o bien pueden ser suministrados por adición externa (Montalvo y Guerrero 2003).

### 2.3.1 Aplicación de aditivos Enzimáticos

Las enzimas son sustancias orgánicas especializadas compuestas por polímeros de aminoácidos, que actúan como catalizadores biológicos en el metabolismo de los seres vivos. Con su acción, determinan la selectividad de los reactivos y regulan la velocidad de muchas reacciones químicas implicadas en este proceso, como es el caso de la generación de metano a partir del CO<sub>2</sub>, proceso en el que Shima *et al.*, (2002), determinaron que se encuentran involucradas varias enzimas metanogénicas: formilmetanofuran deshidrogenasa, formil- H<sub>4</sub>MPT, metenil-H<sub>4</sub>MPT ciclohidrolasa, metilen-H<sub>4</sub>MPT reductasa, F<sub>420</sub>H<sub>2</sub>:NADP oxidoreductasa y metil-coenzima M reductasa.

Las enzimas se clasifican en varias categorías: hidrolíticas, oxidantes y reductoras, dependiendo del tipo de reacción que controlen. Las enzimas hidrolíticas aceleran las reacciones en las que una sustancia se rompe en componentes más simples por reacción con moléculas de agua. Las enzimas oxidativas, conocidas como oxidasas, aceleran las reacciones de oxidación, y las reductoras las reacciones de reducción en las que se libera oxígeno. Otras enzimas catalizan otros tipos de reacciones.

En la digestión, las enzimas que rompen los hidratos de carbono no tienen efecto sobre las grasas y las proteínas. Recíprocamente, tampoco las enzimas que hidrolizan las grasas o las proteínas tienen efecto sobre la hidrólisis de los hidratos de carbono. Para catalizar las múltiples reacciones químicas que se producen en las células hacen falta una gran variedad de enzimas, siendo cada una altamente específica en su acción. Este carácter específico se lo da la forma plegada de la cadena de la proteína que constituye la gran molécula de la enzima, así como la situación de sus sitios activos (lugar donde se realiza la reacción) en la superficie de la enzima, en los que han de encajar determinadas partes de las moléculas de los sustratos.

Whiteley *et al.*, (2003), determinaron que la presencia de enzimas lipasas (enzimas hidrolíticas), en sistemas de digestión anaerobia de lodos era importante, ya que estas enzimas están implicadas en la solubilidad e hidrólisis de compuestos orgánicos poliméricos que pueden ser utilizados por las bacterias sulfatorreductoras, las cuales como se sabe, tienen mayor prioridad que las metanogénicas por el ácido acético y el H<sub>2</sub>, con lo cual, si se tiene deficiencia en la etapa hidrolítica, jamás se llegará a un proceso de digestión anaerobia eficiente. Aoki y Kawase (1991), encontraron que la adición de enzimas en procesos de digestión anaerobia termofílica de lodos de aguas residuales municipales, aumenta la etapa de hidrólisis de la materia orgánica y con ello la metanogénesis. Masse *et al.*, (2003), emplearon la enzima Pancreatic Lipase PL-250 en el pretratamiento del agua residual de un rastro de cerdos, seguido de un proceso de digestión anaerobia; ellos determinaron que al estimular la etapa de hidrólisis, en la

etapa de la metanogénesis la producción de metano se incrementaba en un 52 %. En su estudio de comparación de pretratamientos, Barjenbruch y Kopplow (2003), determinaron el efecto de la enzima carbohidrasa en la degradación de proteínas de cadena larga, carbohidratos y lípidos para mejorar la degradación biológica de lodos y materia gelatinosa y la capacidad de liberación de agua. Dohányos *et al.*, 1997, comprobaron que en un proceso de digestión anaerobia de lodo crudo proveniente de un tratamiento de lodos activados, la aplicación del "jugo enzimático" de células lisadas, incrementó la producción de metano hasta en 62 %, aumentando el porcentaje de remoción de sólidos volátiles de 14.5 a 21.3 %.

### 2.3.2 Micronutrientes (metales traza)

La metanogénesis, última etapa del proceso de digestión anaerobia, es considerada como limitante por la baja tasa de crecimiento de la flora metanogénica y por su sensibilidad a cambios bruscos en las condiciones prevalecientes en el digester, con lo cual, el favorecer el crecimiento de los microorganismos que predominan en esta etapa es lo deseable por lo que deberán de suministrárseles todos los nutrientes, elementos traza y factores de crecimiento necesarios. Estudios realizados por varios investigadores (Zehnder, 1978; Daniels *et al.*, 1986; Speece, 1983 y Sharma y Singh, 2001), han demostrado que ciertos elementos, entre ellos hierro, níquel y cobalto son necesarios para todos los microorganismos metanogénicos estudiados; metales como molibdeno, selenio, magnesio y otros, se requieren para algunos metanogénicos en específico. Montalvo y Guerrero (2003) y White y Stuckey (2000), consideran que el hierro, cobalto, níquel y molibdeno son micronutrientes obligatorios para las bacterias metanogénicas; Kida *et al.*, (2001), concluyeron que estos metales presentan un efecto de estimulación en la metanogénesis de las bacterias acetoclasticas e hidrogenofílicas, con lo cual se puede incrementar la carga volumétrica de carbón orgánico total. Llangovan y Noyola (1993), mencionan que la adición de nutrientes es un factor importante para obtener buenas eficiencias en la degradación anaerobia de residuos sólidos. En un estudio sobre degradación anaerobia de vinazas, Espinosa *et al.* (1995) encontraron que al adicionar hierro, cobalto, níquel y molibdeno, se incrementó la producción de metano y se redujo la concentración de AGV's.

El níquel es esencial para los metanógenos ya que es constituyente del citocromo de la coenzima  $F_{430}$  (el número se debe a los nanómetros a los que tiene su máxima absorción) (Speece *et al.*, 1983). La coenzima  $F_{430}$  es un tetrapirrol que como se dijo contiene níquel, siendo el único con esta característica encontrado hasta ahora en la naturaleza, por lo que se considera exclusivo de los metanógenos. La importancia de la  $F_{430}$  es que es el grupo próstetico (fracción de una enzima que no está constituida por aminoácidos) del sistema enzimático reductor de la  $CH_3 - S - CoM$ , es decir, es requerida para el paso final de la formación de metano tanto a partir de acetato como a partir de la reducción del  $CO_2$  (Jones *et al.*, 1987). Jarrell y Dennis (1982), determinaron que la población metanogénica que se encarga de transformar acetato a metano y  $CO_2$  tuvo que ser estimulada por la adición de níquel.

El cobalto es necesario para la biosíntesis de corrinoïdes; además, es el ion central en derivados de la vitamina B12, la cual se encuentra envuelta en la transferencia de grupos metilo en la metanogenesis; se encuentra presente en bacterias metanotróficas y acetotróficas (Jetten *et al.*, 1992). Por otra parte, Bhattacharya *et al.*, 1995, mencionan que el cobalto es esencial en la formación de la metilcobalamina, la cual es una enzima que participa en la formación de metano.

El hierro es importante para la conversión de ácido acético a metano, ya que tiene un efecto estimulador sobre las bacterias metanogénicas.

La vitamina B, en algunas de sus variedades, también es importante para los metanógenicos (Jones *et al.*, 1987).

Por otro lado, estudios realizados por Milán *et al.* (2001 y 2003), mostraron que la introducción de zeolitas naturales y modificadas con metales (Ni, Co y Mg), en reactores anaerobios, tuvo un efecto positivo en la actividad metanogénica específica de dichos reactores. Además, determinaron que los microorganismos, durante el metabolismo, fueron capaces de capturar los metales inmovilizados en las zeolitas de acuerdo a sus requerimientos.

Otro elemento que también, en bajas concentraciones, se considera como micronutriente es el zinc. Mishra *et al.* (1999), determinaron que este metal, además de estimular la producción de metano, incrementa el número de bacterias metanógenas.

Speece *et al.*, 1983, realizaron un estudio en el cual determinaron que el extracto de levadura resultó ser un estimulante nutricional para las bacterias metanogénicas; sin embargo, los metales traza mejoraron el efecto de estimulación. Al combinar el extracto de levadura con los metales traza, obtuvieron un mayor efecto favorable.

### 3 JUSTIFICACIÓN

En México, de los más de 180 m<sup>3</sup>/s de agua residual municipal que se generan, sólo se trata cerca del 24%. Se espera que este porcentaje se incremente debido al cumplimiento de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996. Esto ocasionará que se generen cerca de 700,000 toneladas anuales de lodo (base seca) de acuerdo con la CNA. En cuanto al tipo de lodo que será generado, se espera que una parte sea de origen fisicoquímico, ya que de 914 plantas que existen actualmente, 12 emplean este tipo de proceso, algunas de ellas con caudales mayores al metro cúbico por segundo (CNA, 1998). Hoy en día, el Tratamiento Primario Avanzado (TPA), ha adquirido fuerza como una opción para el tratamiento del agua residual municipal con fines de reutilizarse en riego agrícola. Una de las desventajas de aplicar el TPA como proceso para tratar las aguas residuales es la producción de lodos, los cuales llevan consigo todos los contaminantes que fueron separados del agua. Para regular esta problemática, se cuenta con la norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, en la cual se establecen los límites de contaminantes en los lodos estabilizados (biosólidos), con la finalidad de reutilizarlos o disponerlos de manera segura.

Como una consecuencia de la falta de una normatividad que regulara las descargas y manejo de los lodos de desecho en las plantas de tratamiento de aguas residuales, en el país se cuenta con poca experiencia en el tratamiento de estos residuos. Debido a ésto, en la mayoría de las plantas de tratamiento, a excepción de las construidas en los últimos años, los lodos de desecho se descargan a los sistemas de alcantarillado municipales, en suelos y otros cuerpos receptores, sin un tratamiento previo.

Por consecuencia, surge la necesidad de buscar nuevas tecnologías de tratamiento que ofrezcan resultados aceptables y que sean competitivas desde el punto de vista económico, sin poner en riesgo al medio ambiente y principalmente la salud de la población. Actualmente la búsqueda y aplicación de estas nuevas tecnologías son fortalecidas por la norma *NOM-004-SEMARNAT-2002*.

Los procesos biológicos, particularmente la digestión anaerobia de lodos de desecho, a pesar de requerir una alta inversión inicial, ofrecen ventajas importantes para considerarla como una tecnología perdurable, al lograr la conversión y reducción de la materia orgánica sin necesidad de agregar insumos, con costos de operación y mantenimiento relativamente bajos (Noyola, 1998 b). Otra ventaja que presenta este tipo de proceso es la recuperación de energía en forma de gas metano, subproducto que al ser aprovechado como combustible puede satisfacer los requerimientos para la calefacción de los digestores, además de cubrir parcialmente otras necesidades energéticas en la planta de tratamiento. Por otro lado, la generación de biosólidos con características adecuadas para su reutilización como mejoradores de suelos facilita y abarata en gran medida su disposición final.

Como una opción para la eliminación de organismos patógenos y parásitos, los cuales causan problemas de salud en la población, se ha considerado la digestión anaerobia

en fase de termofilia (Temperatura de 55 °C), ya que en estudios anteriores se ha reportado desde grandes porcentajes de remoción hasta la eliminación total de dichos organismos.

En estudios anteriores se determinó que la digestión anaerobia de los lodos de desecho provenientes de una planta de tratamiento fisicoquímico, no alcanzó un funcionamiento adecuado y estable, pues los parámetros de operación presentaron variaciones considerables (Orozco, 2002 y Cabirol *et al.*, 2003).

Con base en lo anterior y tomando en cuenta que hoy en día la aplicación de enzimas y otros aditivos se está llevando a cabo en muchos procesos, con el fin de optimizarlos, este estudio se enfocará en la aplicación de aditivos enzimáticos y micronutrientes a un digester anaerobio que trata lodos de desecho de tipo fisicoquímico y de esta forma tener un proceso más estable para obtener biosólidos que puedan ser dispuestos sin riesgo alguno.

x

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la aplicación de aditivos enzimáticos y micronutrientes para la estabilización anaerobia termofílica de lodos de desecho provenientes de una planta de tratamiento fisicoquímico para obtener biosólidos de conformidad con la norma NOM-004-SEMARNAT-2002.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Evaluar el desempeño de digestores anaerobios en la estabilización de lodos fisicoquímicos bajo condiciones de termofilia con la adición de soluciones enzimáticas y micronutrientes.

Determinar las características fisicoquímicas y microbiológicas de los biosólidos generados a partir de la digestión anaerobia en condiciones de termofilia.

### **Metas**

Encontrar un producto enzimático y/o micronutriente que mejore la operación de digestores anaerobios alimentados con lodos de plantas de tratamiento fisicoquímico.

Producir biosólidos de alta calidad, que cumplan con los lineamientos propuestos en la norma NOM-004-SEMARNAT-2002 para el uso y disposición de lodos.

## 5 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

### 5.1 Muestreo del lodo

Los digestores se alimentaron con lodos fisicoquímicos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales "San Andrés Mixquic" Figura 5.1, ubicada en la delegación Milpa Alta, en México, D.F., operada por el Sistema de Aguas de la Ciudad de México del Gobierno del Distrito Federal.



Figura 5.1. Planta de tratamiento de aguas residuales "San Andrés Mixquic"

En esta planta el tratamiento del agua residual se realiza por medio de un proceso fisicoquímico, denominado tratamiento primario avanzado (TPA). La planta cuenta con una capacidad de 2592 m<sup>3</sup>/d (30 L/s). Actualmente, opera al 80 % de su capacidad (2074 m<sup>3</sup>/d). El proceso consiste de un pretratamiento con rejillas para desbaste de sólidos gruesos, un cárcamo de bombeo de agua residual cruda, un tanque de dosificación de coagulante (66 mg/L de sulfato de aluminio hexahidratado), además de un tanque que dosifica 0.2 mg/L de polímero aniónico, dos sedimentadores primarios circulares, un sistema de filtración de arena, grava y antracita, un cárcamo de agua residual tratada, un tanque de contacto con hipoclorito y un espesador de lodos. Un diagrama de flujo del TPA de esta planta se muestra en la Figura 5.2.

Los lodos depositados en los sedimentadores primarios son purgados una vez por turno y conducidos al espesador de lodos. Ahí, se les aplica una dosis de cal, sin ningún control. El lodo espesado se vierte al canal Amecameca con una periodicidad de 15 días, desalojando un promedio de 14 m<sup>3</sup>, en cada vertido. No se tiene un control de la calidad y de la cantidad de los mismos.

AGUA RESIDUAL	
1	Influyente
2	Pretratamiento, rejillas
3	Carcamo de bombeo
4	Tanque dosificador de coagulante
5	Sedimentador primario
6	Filtros
7	Carcamo de agua
8	Desinfección con cloro
9	Efluente
LODO	
A	Espesador de lodos
B	Cauce

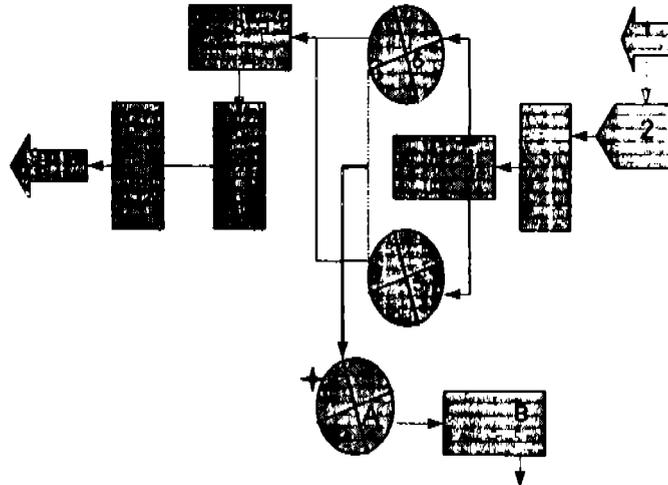


Figura 5.2. Diagrama de bloques del TPA en la planta de San Andrés Mixquic.

Una vez muestreados los lodos, estos fueron tamizados en mallas número 4 y 10 (aberturas 4.76 y 2 mm), para retirar las partículas gruesas que pudieran bloquear las conducciones de los digestores, tales como mangueras y piezas de cobre. Posteriormente, las muestras de lodo se almacenaban en un cuarto frío (5°C). Para la alimentación se tomó diariamente el volumen necesario y se dejó alcanzar la temperatura ambiente antes de ser ingresado a los digestores con el objeto de evitar un choque térmico de la biomasa.

## 5.2 Pruebas Batch para simular el comportamiento de reactores

Se realizaron tres pruebas experimentales en lote (batch), en botellas de vidrio de 120 ml para simular el comportamiento de reactores anaerobios termofílicos (55 °C) a escala laboratorio, para la estabilización de lodo fisicoquímico descrito arriba. En estas pruebas, se determinó el efecto de la adición de micronutrientes, y dos productos comerciales: uno conformado por enzimas (WA3) y otro por bacterias del genero bacillus (bacilos *Thuringiensis*, *Subtilis* y *Licheniformes*).

Como inóculo para las tres pruebas batch, se utilizó lodo digerido proveniente de un reactor a escala laboratorio en forma de huevo alimentado con el mismo tipo de lodo.

Los sólidos volátiles en dicho inóculo fueron de 32.7 gSTV/L y la concentración total de AGV's de 1750 mg/L. La dosificación de los micronutrientes se hizo con base en el trabajo realizado por Espinosa *et al.* (1995), donde por cada 50 g DQO se agregaron 100 mg Fe ( $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), 15 de Ni ( $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), 10 de Co ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) y 0.2 de Mo ( $\text{MoO}_3$ ). La DQO se consideró como 2.0 veces el valor de los STV. La adición de los productos comerciales se hizo con base en los sólidos volátiles por recomendaciones del proveedor, siendo estas de 4 mg de aditivo enzimático y 30 mg del aditivo con base en bacilos por cada g de STV.

En las tres pruebas "Batch", las botellas fueron selladas con tapones de neopreno y anillos metálicos, en atmósfera de  $\text{CO}_2/\text{N}_2$  (20/80%) y se incubaron a 55°C. Se cuantificó la cantidad de  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$  con un cromatógrafo de gases SRI modelo 8610-00 con columna Porapak Q y gas Helio como acarreador; la concentración de AGV's, con excepción de la tercera prueba donde no se realizó el análisis de este parámetro, se determinó en un cromatógrafo SRI modelo 8610-10 con columna capilar y gas acarreador nitrógeno. Todos los tratamientos se efectuaron por duplicado.

### 5.2.1 Primera Prueba

El experimento de la primera prueba "Batch" se realizó con el monitoreo de siete tratamientos. Dicho experimento se llevó a cabo como se describe en la Tabla 5.1.

**Tabla 5.1. Condiciones experimentales de la primera prueba batch**

Tratamiento #	40 ml de Inóculo (lodo digerido a 32.7 gSTV/L) más:
1 y 1'	Blanco -----
2 y 2'	Control 2.4 ml de LTPA (a 43.5 gSTV/L)
3 y 3'	2.4 ml de LTPA + 32 mg de Fe-( $\text{FeCl}_2$ )
4 y 4'	2.4 ml de LTPA + 32 mg de Fe, 5.6 mg Ni, 3.6 mg Co y 0.3 mg Mo
5 y 5'	2.4 ml de LTPA + 5.6 mg Ni, 3.6 mg Co y 0.3 mg Mo
6 y 6'	2.4 ml de LTPA + 4.24 mg de WA3 (enzimas)
7 y 7'	2.4 ml de LTPA + 40 mg de aditivo con base en bacilos

La relación LTPA/inóculo (microorganismos), en esta prueba fue de 0.08 mg/mg.

A todos los tratamientos se les determinaron los siguientes parámetros:

- Potencial REDOX (inicio y final del experimento)
- Ácidos grasos volátiles (inicio y final del experimento)
- Producción de metano (2 veces por semana)
- Alcalinidad (al final del experimento)
- Sólidos (inicio y final del experimento)

El tiempo de duración de la prueba fue de 30 días.

### 5.2.2 Segunda Prueba

Esta prueba se realizó de forma similar a la primera, con la diferencia que en ésta se varió la relación LTPA/inóculo a 0.1 mg/mg, se incrementaron los volúmenes de lodo TPA y de inóculo y además se consideró el análisis de algunos tratamientos más: la mezcla de bacilos y metales y la adición de distintos tipos de zeolitas, natural y enriquecida con metales. En la Tabla 5.2 se describe como se llevó a cabo este experimento.

**Tabla 5.2. Condiciones experimentales de la segunda prueba batch**

Tratamiento #	50 ml de inóculo (lodo digerido a 32.7 gSTV/L) más:
1 y 1'	Blanco -----
2 y 2'	Control 4 ml de LTPA (a 43.5 gSTV/L)
3 y 3'	4 ml de LTPA + 40 mg de Fe-(FeCl <sub>2</sub> )
4 y 4'	4 ml de LTPA + 40 mg de Fe, 7 mg Ni, 4.5 mg Co y 0.38 mg Mo
5 y 5'	4 ml de LTPA + 7 mg Ni, 4.5 mg Co y 0.38 mg Mo
6 y 6'	4 ml de LTPA + 5.4 mg de WA3 (enzimas)
7 y 7'	4 ml de LTPA + 50 mg de aditivo con base en bacilos
8 y 8'	4 ml de LTPA + 50 mg de aditivo con base en bacilos + 40 mg de Fe, 7 mg Ni, 4.5 mg Co y 0.38 mg Mo
9 y 9'	4 ml de LTPA + Zeolita Mg <sup>2+</sup> (0.05 g/gSTV)
10 y 10'	4 ml de LTPA + Zeolita Ni <sup>2+</sup> (0.05 g/gSTV)
11 y 11'	4 ml de LTPA + Zeolita Co <sup>2+</sup> (0.05 g/gSTV)
12 y 12'	4 ml de LTPA + Zeolita Natural (0.05 g/gSTV)
13 y 13'	4 ml de LTPA + Zeolita Ni <sup>2+</sup> (0.01 g/gSTV)
14 y 14'	4 ml de LTPA + Zeolita Co <sup>2+</sup> (0.01 g/gSTV)

A todos los tratamientos se les determinó los mismos parámetros que se consideraron para las muestras de la primera prueba, con excepción del potencial REDOX.

El tiempo de duración de esta prueba fue de 40 días.

### 5.2.3 Tercera Prueba

Esta prueba se planteó basándose en los resultados obtenidos en las pruebas anteriores y aplicando un diseño experimental para obtener la dosis de micronutrientes y/o bacilos que más incrementaran la eficiencia del proceso de digestión anaerobia de lodos; como variable de respuesta se considero la producción de metano. La relación LTPA/inóculo en esta prueba fue de 0.1 mg/mg.

**Diseño experimental.-** Los tratamientos tuvieron estructura factorial 3x3 (Tabla 5.3), siendo esta la siguiente:

**Tabla 5.3. Estructura factorial de los tratamientos**

Factores	Niveles		
	Bajo	Estándar	Alto
Metales	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
Bacilos	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>

Donde: 1= M<sub>1</sub> y B<sub>1</sub>= dosis menor a la ya empleada, en pruebas anteriores, tanto de metales como de bacilos  
 2= M<sub>2</sub> y B<sub>2</sub>= dosis empleada, en pruebas anteriores, tanto de metales como de bacilos  
 3= M<sub>3</sub> y B<sub>3</sub>= dosis mayor a la ya empleada, en pruebas anteriores, tanto de metales como de bacilos

Las concentraciones de metales, por cada 50 g DQO fueron entonces:

- M<sub>1</sub>: Fe 50 mg, Ni 7.5 mg, Co 5 mg, Mo 0.1 mg
- M<sub>2</sub>: Fe 100 mg, Ni 15 mg, Co 10 mg, Mo 0.2 mg
- M<sub>3</sub>: Fe 150 mg, Ni 22.5 mg, Co 15 mg, Mo 0.3 mg

y del aditivo con base en bacilos las concentraciones por cada gramo de STV fueron:

- B<sub>1</sub>: 15 mg
- B<sub>2</sub>: 30 mg
- B<sub>3</sub>: 45 mg

Y de la cual resultaron los siguientes tratamientos, Tabla 5.4.

**Tabla 5.4. Tratamientos derivados de la estructura factorial**

Tratamientos	Factores	
	Metales	Bacilos
1	M <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>
2	M <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>
3	M <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>
4	M <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>
5	M <sub>2</sub>	B <sub>2</sub>
6	M <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
7	M <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>
8	M <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>
9	M <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>

Adicionalmente y con el propósito de determinar el efecto que por si mismo tiene cada uno de los factores en ausencia del otro, se ensayó una estructura factorial 3x2+1, Tabla 5.5.

**Tabla 5.5. Estructura factorial 3x2+1**

Factores	Niveles			
	Ausencia	Bajo	Estándar	Alto
Metales	0	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>
Bacilos	0	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>

0= sin dosis de metales y/o bacilos (Control)

Resultando los siguientes tratamientos, Tabla 5.6.

**Tabla 5.6. Tratamientos derivados de la estructura factorial 3x2+1**

Tratamientos	Factores	
	Metales	Bacilos
10	0	B <sub>1</sub>
11	0	B <sub>2</sub>
12	0	B <sub>3</sub>
13	M <sub>1</sub>	0
14	M <sub>2</sub>	0
15	M <sub>3</sub>	0
16	0	0

Vía contrastes (comparaciones), se realizaron pruebas específicas entre tratamientos y/o grupos de estos. Debido a la falta de equipo y material, tanto en en esta prueba como en las anteriores, el estudio de cada tratamiento se realizó por duplicado.

Finalmente, el diseño experimental con estructura factorial  $3 \times 3 + 3 \times 2 + 1$  constó de los siguientes tratamientos, Tabla 5.7.

**Tabla 5.7. Tratamientos de la tercera prueba "Batch"**

Tratamientos	Factores	
	Metales	Bacilos
1	M <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>
2	M <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>
3	M <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>
4	M <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>
5	M <sub>2</sub>	B <sub>2</sub>
6	M <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
7	M <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>
8	M <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>
9	M <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>
10	0	B <sub>1</sub>
11	0	B <sub>2</sub>
12	0	B <sub>3</sub>
13	M <sub>1</sub>	0
14	M <sub>2</sub>	0
15	M <sub>3</sub>	0
16	0	0

El modelo estadístico para el diseño con estructura factorial es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij} \quad i=1,2,\dots,16 \quad j=1,2$$

En donde:

- Y<sub>ij</sub>: Valor a observar en la j-ésima unidad experimental que tiene el i-ésimo tratamiento
- μ: Efecto promedio general de todos los tratamientos
- τ<sub>i</sub>: Efecto del i-ésimo tratamiento
- ε<sub>ij</sub>: Error aleatorio asociado a Y<sub>ij</sub>

Las hipótesis nula y alterna para esta prueba fueron:

$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = 0 \rightarrow$  No hay efectos en los tratamientos  
 $H_1: \tau_i \neq 0 \rightarrow$  Al menos un tratamiento es diferente a los demás

En la Tabla 5.8 se resume el análisis de varianza empleado en esta etapa.

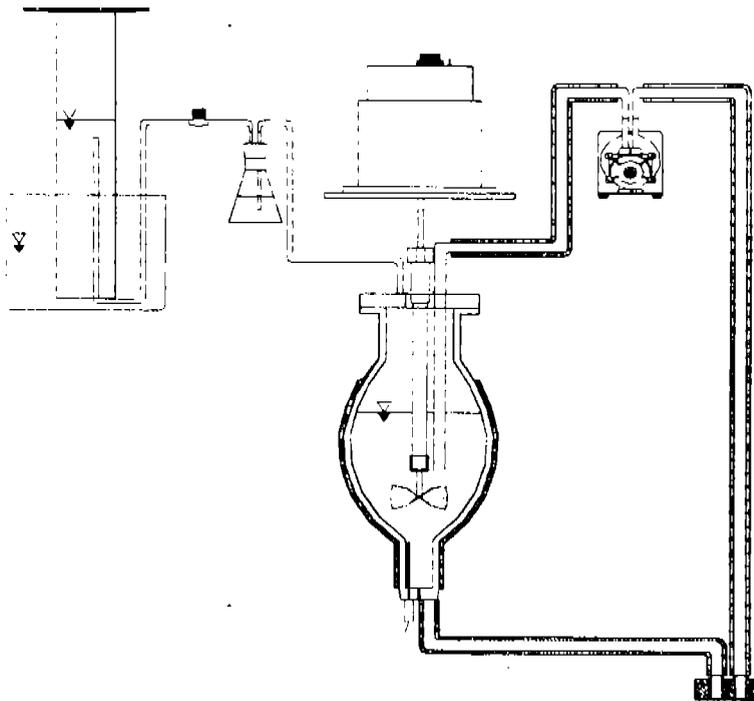
Tabla 5.8. Análisis de varianza para el modelo factorial 3x3x2+1

Fuente de variación	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F <sub>0</sub>
Fechas	SS <sub>F</sub>	f - 1	$MS_F = \frac{SS_F}{f - 1}$	$F_0 = \frac{MS_F}{MS_E}$
Tratamientos	SS <sub>T</sub>	t - 1	$MS_T = \frac{SS_T}{t - 1}$	$F_0 = \frac{MS_T}{MS_E}$
Fechas x Tratamientos	SS <sub>FT</sub>	(f-1)(t-1)	$MS_{FT} = \frac{SS_{FT}}{(f - 1)(t - 1)}$	$F_0 = \frac{MS_{FT}}{MS_E}$
Error	SS <sub>E</sub>	ft(n - 1)	$MS_E = \frac{SS_E}{ft(n - 1)}$	
Total	SS <sub>T</sub>	ftn - 1		

Montgomery, 1991

### 5.3 Digestores a escala laboratorio

Simultáneo al trabajo realizado con las pruebas batch, se llevó a cabo la operación de un digestor anaerobio de lodos a escala laboratorio (Figura 5.3). Posteriormente, el estudio se realizó con dos digestores anaerobios de lodos; dichos digestores fueron de geometría oval (Egg-Shaped-Digesters), debido a que este tipo de geometría presenta condiciones óptimas para la recirculación de lodos, con lo cual se mejora el mezclado, se evitan las zonas muertas y la acumulación de sólidos. Los digestores denominados como T<sub>2</sub> y T<sub>2-bis</sub> se operaron en régimen semicontinuo con un mezclado completo y en condiciones de termofilia (55 °C). Dichos digestores tuvieron un volumen total de 8 L, siendo 5 L el volumen útil o efectivo para el tratamiento del lodo, el volumen restante es una zona para el almacenamiento de biogás. La diferencia que hubo entre los digestores T<sub>2</sub> y T<sub>2-bis</sub>, fue que T<sub>2</sub> estuvo trabajando en forma normal, como control y T<sub>2-bis</sub> fue el reactor al cual se le adicionaron micronutrientes y el aditivo conformado por bacilos.



**Figura 5.3. Arreglo de los digestores termofílicos T<sub>2</sub> y T<sub>2</sub>-bis**

Los digestores fueron construidos de fibra de vidrio. En la parte superior del digestor se localiza una cubierta de *Nylamid*. Entre la unión de la cubierta y el digestor se colocó un empaque para sellar y evitar las fugas de biogás. La cubierta presentaba tres perforaciones, dos de éstas (diámetro 2/3"), contaban con arreglos de piezas de cobre; una de estas perforaciones era para recircular el lodo por un tubo de Ø 3/8" PVC, la otra era para la evacuación del biogás hacia su medición. De la perforación central hacia el interior del digestor se colocó un tubo de Ø 1/2" de polipropileno, el cual servía como protección y alineación para el agitador mecánico, al mismo tiempo que funcionaba como sello hidráulico, evitando fugas de biogás. La medición del biogás se realizó con una probeta invertida de 1000 ml de volumen. En el caso de T<sub>2</sub>-bis la probeta llegó a ser de 4000 mL, la cual estaba sumergida en un recipiente con agua con lo que era posible cuantificar el volumen de biogás producido diariamente. El sistema estuvo precedido por una trampa de humedad que funcionaba como sello hidráulico y por un septo de hule para tomar la muestra de biogás, con la finalidad de conocer la composición correspondiente a metano (CH<sub>4</sub>) y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) mediante cromatografía de gases. En la parte inferior se tenía un arreglo con base en piezas de cobre conectado a una manguera tramada de plástico con diámetro de 2/3" para la recirculación del lodo, por medio de una bomba peristáltica de la marca Masterflex.

El mezclado mecánico se realizaba mediante una flecha de agitación con propelas, de diámetro 5/16", la cual trabajaba mediante un motor eléctrico independiente del digestor

ubicado en la parte superior del mismo. Todo el dispositivo se encontraba en un cuarto con temperatura controlada ( $35^{\circ}\text{C} \pm 3$ ). Para mantener la temperatura de  $55^{\circ}\text{C}$  en los digestores, se contaba adicionalmente con un sistema de calefacción en seco, con base en un intercambiador de calor electrónico para alcanzar la temperatura de  $55^{\circ}\text{C} (\pm 1^{\circ}\text{C})$ ; el sistema era autoajustable y estaba equipado con alarmas para indicar variaciones de temperatura. A este sistema se sumó un sensor de temperatura (termopar), el cual tenía como función monitorear permanentemente la temperatura en el interior del digestor para evitar posibles variaciones.

Para evitar pérdidas de calor en los digestores termofílicos, éstos fueron aislados térmicamente con un chaleco de poliestireno de alta densidad al igual que las mangueras.

### Operación

El digestor denominado T2, se mantuvo trabajando a  $\text{TRH} = 33$  días y  $\text{C.O.} = \sim 0.39 \text{ Kg STV} / \text{m}^3 \cdot \text{d}$  previamente al inicio de esta investigación. A principios del año 2003, se modificaron estas condiciones y se aplicaron las establecidas por Orozco (2002), las cuales fueron las siguientes:

Temperatura,  $T = 55^{\circ}\text{C}$   
Tiempo de retención hidráulico,  $\text{TRH} = 25$  días  
Carga Orgánica,  $\text{C.O.} = \sim 1.0 \text{ Kg STV} / \text{m}^3 \cdot \text{d}$

El digestor T2 se mantuvo operando bajo las condiciones mencionadas durante 260 días; previo a este tiempo (día 250), se llevó a cabo una caracterización total del digestor, (caracterización fisicoquímica y microbiológica). Posterior a la caracterización, día 261, las condiciones de operación fueron modificadas a las siguientes:

Temperatura,  $T = 55^{\circ}\text{C}$   
Tiempo de retención hidráulico,  $\text{TRH} = 20$  días  
Carga Orgánica,  $\text{C.O.} = \sim 1.2 \text{ Kg STV} / \text{m}^3 \cdot \text{d}$

Ya que se contaba con el equipo y los accesorios necesarios, se realizó el arranque del reactor termofílico denominado T2-bis, el cual se arrancó bajo las mismas condiciones de operación de T2 ( $T = 55^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{TRH} = 20$  días y  $\text{C.O.} = \sim 1.2 \text{ Kg STV} / \text{m}^3 \cdot \text{d}$ ). T2-bis se inoculó con 2500 mL del lodo de T2 y para completar el volumen de 5000 mL en ambos digestores, se les adicionó lodo de purga digerido y almacenado proveniente del reactor T2 ( $\text{STT} = 42\text{g/L}$ ,  $\text{AGV's} = 1300\text{mg/L}$ ). El lodo que se purgaba de T2 se fue almacenando y se mantuvo a temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$ , esto con la finalidad de que no sufriera variaciones de sólidos y AGV's.

A los 30 días de haberse arrancado el reactor T2-bis, se comenzó la adición de micronutrientes (metales traza), con base en Espinosa *et al.* (1995): por cada 50gDQO se adicionó 100 mgFe, 15 Ni, 10 Co y 0.2 Mo con el fin de evaluar el efecto que tienen

los micronutrientes en la digestión anaerobia de lodo fisicoquímico en un reactor a escala laboratorio.

A los 60 días de operación de T2-bis, además de la adición de micronutrientes, se comenzó con la adición de bacilos (por cada g de STV se adicionó 30 mg del aditivo con base en bacilos), para verificar el efecto que tienen éstos en combinación con micronutrientes durante la digestión anaerobia de lodo fisicoquímico en un reactor a escala laboratorio.

Ambos digestores, T2 y T2-bis, se mantuvieron operando bajo las condiciones antes mencionadas durante 141 días; previo a este tiempo (día 130), se llevó a cabo la caracterización fisicoquímica y microbiológica de dichos digestores. Posterior a la caracterización, día 142, las condiciones de operación en T2 y T2-bis fueron las mostradas en la Tabla 5.9.

**Tabla 5.9. Condiciones de operación apartir del día 142**

Reactor	Condiciones de Operación		
	Temperatura, °C	TRH, días	C. O., Kg STV / m <sup>3</sup> *d
T2	55	20	1.2
T2-bis	55	15	1.6

A partir del día de operación 142 y hasta el final del experimento (día 167), el reactor T2 mantuvo las mismas condiciones de operación con las que venía trabajando, pero se le agregó el aditivo con base en bacilos, esto con la finalidad de ver el efecto que tienen por si solos en la digestión anaerobia de lodo fisicoquímico en un reactor a escala laboratorio.

## 5.4 Técnicas analíticas

En la evaluación del funcionamiento de los digestores durante el periodo de operación se emplearon métodos estandarizados (APHA, AWWA, WPCF, 1989). Los parámetros analizados, la técnica empleada y su frecuencia de medición para ambos digestores son indicadas en la Tabla 5.10.

### Técnicas analíticas no normalizadas.

La relación de alcalinidades se calculó de acuerdo a Jenkins, *et al.* (1983), como el cociente de la alcalinidad debida a los bicarbonatos entre la alcalinidad total, mediante la siguiente expresión:

$$\alpha = \frac{Alc (HCO_3^-)_{5.75}}{Alc (total)_{4.3}}$$

Tabla 5.10. Parámetros analizados durante el monitoreo de los digestores T<sub>2</sub> y T<sub>2-bis</sub>

Parámetro	Técnica	Frecuencia de medición
pH	Potenciómetro	Diaria
Alcalinidad (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	APHA, AWWA, WPCF (1989)	Diaria
Relación de alcalinidades ( $\alpha$ )	CBPA-II	Diaria
Sólidos totales totales, volátiles y fijos (g/L)	APHA, AWWA, WPCF (1989)	dos veces por semana
Composición de biogás (% CH <sub>4</sub> y CO <sub>2</sub> )	Cromatografía de gases	Diaria
Ácidos grasos volátiles (mg/L)	Cromatografía de gases	dos veces por semana
Coliformes fecales (NMP/gST)	APHA, AWWA, WPCF (1989)	De 5 a 6 determinaciones por periodo estable **
<i>Salmonella spp</i> (NMP/gST)		De 5 a 6 determinaciones por periodo estable **
Huevos de Helmintos (HH/gST)		3 determinaciones por periodo estable **
Concentración de aluminio y metales nutrientes (mg/kg en base seca)	Espectrómetro de plasma ***	dos vez durante toda la operación

CBPA-II: Manual de técnicas de laboratorio de la Coordinación de Bioprocesos ambientales del Instituto de Ingeniería de la UNAM

\*\* Dos periodos estables para T<sub>2</sub> y uno para T<sub>2-bis</sub>

\*\*\*El análisis de aluminio y micronutrientes disueltos (Tabla 6.9) se efectuó con un espectrofotómetro de absorción atómica.

Adicionalmente, en la etapa de operación de los digestores T<sub>2</sub> y T<sub>2-bis</sub>, se cuantificó la concentración de ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) en el biogás, la cual se realizó con una bomba de pistón (Figura 5.4), portátil, Sensidyne modelo AP-15 con tubo No. 120SF para la detección de este gas.

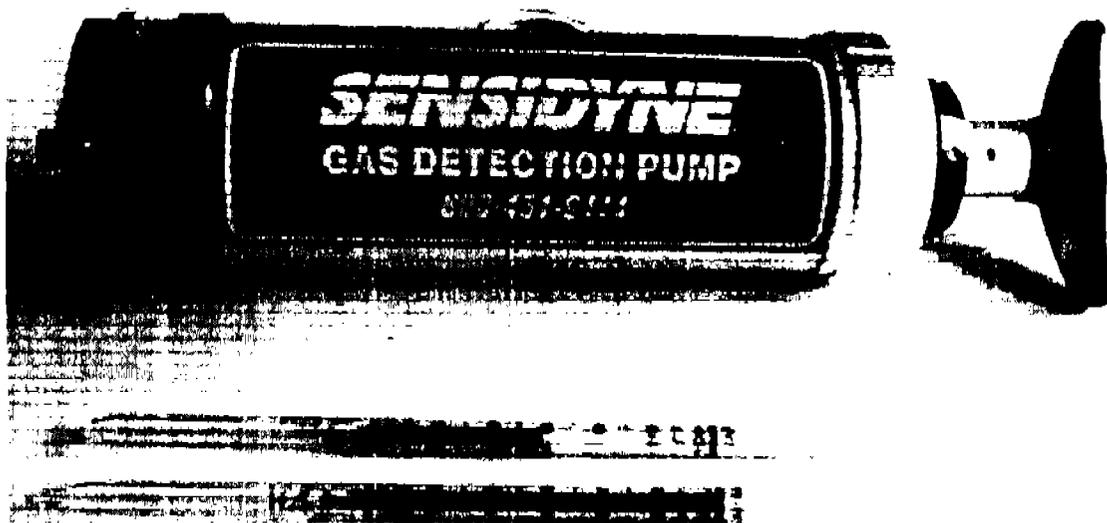


Figura 5.4. Bomba portátil para determinar la concentración de  $H_2S$

## 6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Pruebas Batch para simular el comportamiento de reactores

#### 6.1.1 Primera prueba Batch

En esta prueba Batch, la primera y más importante variable de respuesta que se consideró fue la producción de metano. Como se observa en la Figura 6.1, a partir del día 11 es claro el efecto debido tanto a los bacilos como a los micronutrientes aplicados, sobresaliendo ligeramente los bacilos. La curva que representa una mayor producción de metano es la de bacilos (tratamiento 7), seguida de la muestra con los cuatro metales (tratamiento 4); para el día 17, el tratamiento 7 produjo 95 % más metano que el blanco y el control (tratamientos 1 y 2) y 39 y 33 % más que los tratamientos 3 y 4 respectivamente. Por su parte, la curva que corresponde a la muestra del producto comercial conformado por enzimas (tratamiento 6), presentó la menor producción de metano, situación que se puede deber a dos cosas: las enzimas adicionadas inhibieron la actividad de las bacterias metanogénicas o las bacterias presentes en el inóculo transformaron la materia orgánica a compuestos distintos al metano, en este caso a  $\text{CO}_2$ .

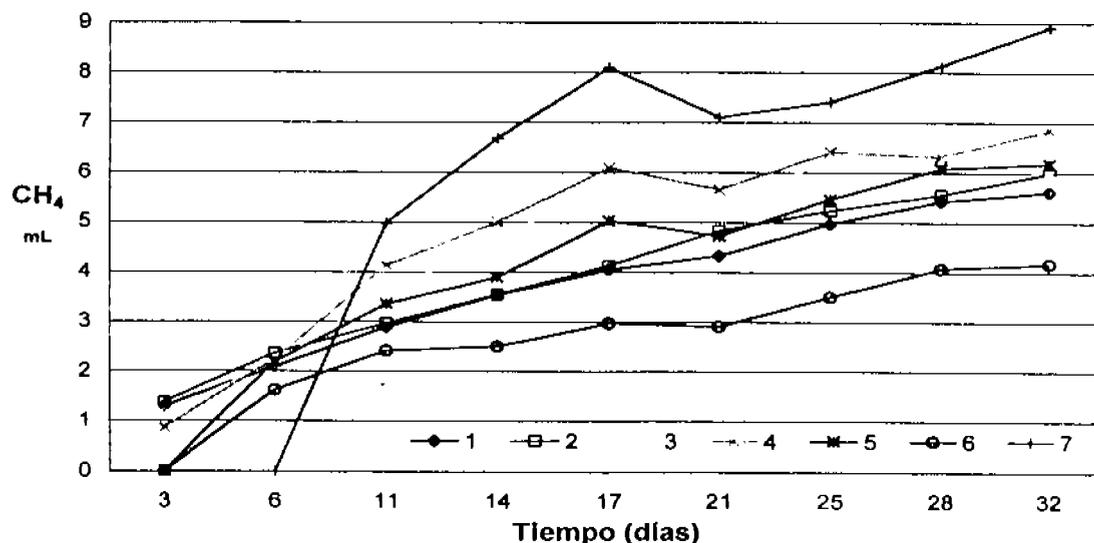
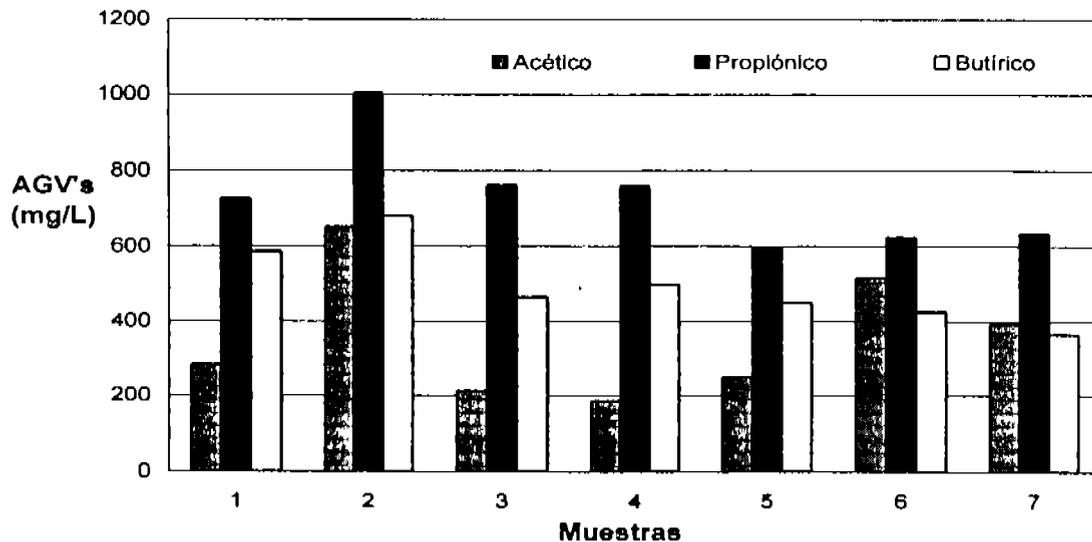


Figura 6.1. Producción de metano en la primera prueba

En la Figura 6.2 se observa que las concentraciones de AGV's en todos los tratamientos fueron menores respecto a la muestra Control (2). En general, los ácidos acético y butírico fueron los que mostraron la menor concentración al final de la prueba;

la menor concentración de ácido propiónico respecto al tratamiento 2, la alcanzó la muestra 5, con 596 mg/L (40 % menor), ligeramente más baja que la concentración presentada en el tratamiento 7. De ambas figuras puede verse que el tratamiento 7 fue el que presentó la mayor producción de metano correlacionado con una baja concentración de AGV's, lo que indica la mayor actividad metanogénica. La baja concentración de ácido acético, compuesto a partir del cual se genera metano, en los tratamientos 3, 4 y 5 no se relaciona con la producción de este gas. Aparentemente la degradación de la materia orgánica fue limitada y llegó hasta este compuesto.



**Figura 6.2. AGV's al final de la primera prueba**

En cuanto al pH (Tabla 6.1), todos los tratamientos presentaron, al final de la prueba, valores que en relación a los reportados en literatura (7.0-7.2), se consideran como aceptables para que se lleve a cabo un buen proceso de digestión anaerobia. Respecto al valor de alfa obtenido por Orozco (2002) con el mismo tipo de lodo (alfa = 0.30), los alcanzados en este experimento fueron mayores en todos los tratamientos (de 0.45 a 0.48). La alcalinidad total que se determinó en todos los tratamientos también se considera, según la literatura, como aceptable para la digestión anaerobia. Como se observa en la Tabla 6.1, los tratamientos muestran un porcentaje de remoción de sólidos volátiles (%RSV) muy similar, entre 24.1 y 25.1%. En forma inexplicable, el Blanco (1) al estar únicamente conformado por el lodo de inóculo, sin lodo fresco, presentó el mayor valor de este indicador.

**Tabla 6.1. Parámetros de análisis al final de la primera prueba Batch**  
**Relación LTPA/inóculo: 0.08 mg/mg**

Parámetros	Tratamientos						
	1	2	3	4	5	6	7
pH	7.16	7.09	7.1	7.07	7.17	7.18	7.08
$\alpha$	0.48	0.45	0.46	0.46	0.47	0.45	0.45
Alcalinidad total	3960	3880	3720	3640	3760	3920	4000
% RSV	28.5	24.4	24.7	25.1	25.4	24.1	24.1

Con base en la producción de metano (Figura 6.1), el tratamiento 7 presentó la mayor producción de metano, con lo cual puede concluirse que hubo un efecto positivo por parte de los bacilos para degradar la materia orgánica hasta metano. La mayor concentración de AGV's en la muestra Control (2) aunada a la baja producción de metano, indica una inhibición de las bacterias acetógenas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA por sus siglas en inglés) y de las metanogénicas. El potencial REDOX que se determinó en todas las muestras del experimento varió entre -132 y -182 mV, valores más altos en relación con los que según Noyola (1998) se presentan en un buen proceso de digestión anaerobia (-330 mv con electrodo de referencia de Hidrógeno).

### **6.1.2 Segunda prueba Batch**

En la segunda prueba Batch, el tratamiento 8, al combinar los bacilos con los micronutrientes (metales traza), presentó una clara y mayor producción de metano (Figura 6.3). En un inicio, tanto el tratamiento 7 como el 8, mostraron una mayor actividad metanogénica respecto a los demás tratamientos. Para el día 10, ambos tratamientos tuvieron una producción de metano de 2.7 y 3.5 mL respectivamente, mientras que el control (tratamiento 2), presentó una producción de metano de 1.7 mL, 52 y 37 % menos que el de los tratamientos 8 y 7 respectivamente. Hasta el día 10, las muestras que contenían únicamente micronutrientes (tratamientos 3, 4 y 5) tuvieron un comportamiento similar al del control y a partir de ese día, la muestra con Ni, Co y Mo (tratamiento 5), respecto al tratamiento 2, presentó un ligero incremento en la producción de metano. Para el día 17, el tratamiento 8 presentó la más alta producción de metano, 6 mL, 165 % más respecto al control (2); mientras que con el tratamiento 7 el incremento fue de únicamente 43 %. A partir del día 22 los tratamientos 3 y 4 comenzaron a mostrar una mayor actividad metanogénica en comparación al control (2).

Los tratamientos en los cuales se adicionaron zeolitas, tratamientos 9 al 14, mostraron poca actividad metanogénica, pues su producción de metano fue muy similar a la del tratamiento 2, con lo cual podemos decir que no hubo un claro efecto positivo debido a su aplicación. De lo anterior se puede concluir que al combinar micronutrientes con bacilos se incrementa la actividad metanogénica. Al igual que en la primera prueba batch, la muestra con el producto comercial conformado por enzimas (tratamiento 6), mostró la más baja actividad metanogénica.

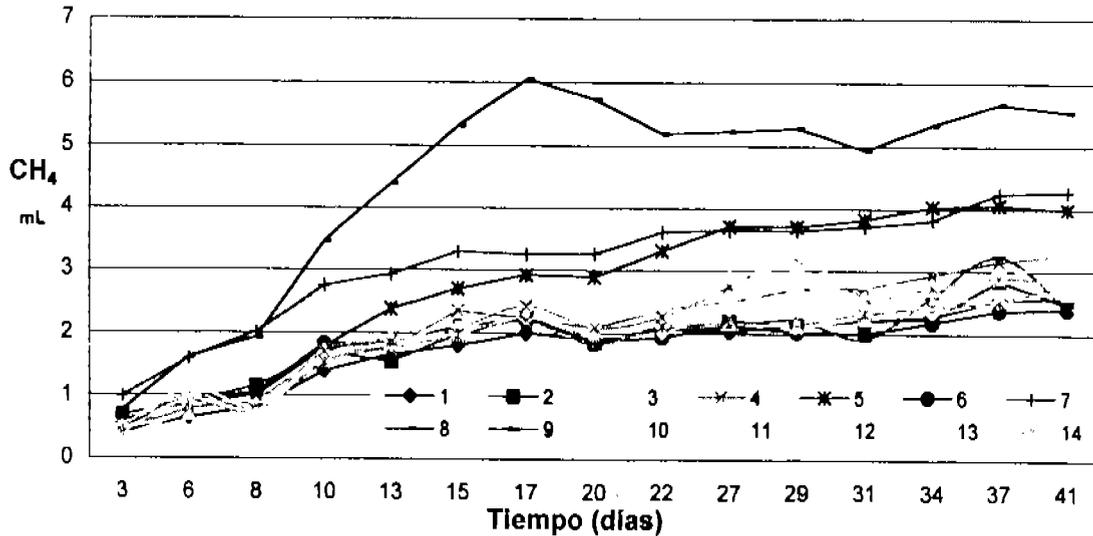


Figura 6.3. Producción de metano en la segunda prueba

Al igual que en la primera prueba batch, en esta segunda prueba se observó que si hubo efecto sobre la concentración de AGV's al adicionar estimulantes de la digestión anaerobia, sobre todo en las muestras donde se aplicaron micronutrientes y la mezcla de micronutrientes con bacilos. Como se observa en la Figura 6.4, las concentraciones más bajas de AGV's se presentaron con los tratamientos 3, 5 y 8 (491, 439 y 475 mg/L respectivamente); a su vez, el tratamiento 8 fue el que tuvo la menor concentración de ácido acético, 169 mg/L, concentración que se relaciona con la alta producción de metano. Los tratamientos 2, 6 y 7 presentaron concentraciones similares de AGV's; el tratamiento 7 tuvo una mediana producción de metano, contra lo esperado si se consideran los resultados de la primera prueba, y una alta concentración de acético (552 mg/L), lo cual explica la limitada presencia de metano y hace pensar en que el aumento de la carga inicial de lodo provocó inhibición de las bacterias metanogénicas acetoclásticas. A pesar de que las muestras que contenían metales presentaron bajas concentraciones de ácido acético, 180, 370 y 205 mg/L (muestra 3, 4 y 5 respectivamente), éstas no se vieron relacionadas con la producción de metano, ya que la muestra 8, que presentó una concentración de ácido acético de 169 mg/L (cercana a la de las muestras 3 y 5), fue la que logró la mayor producción de metano.

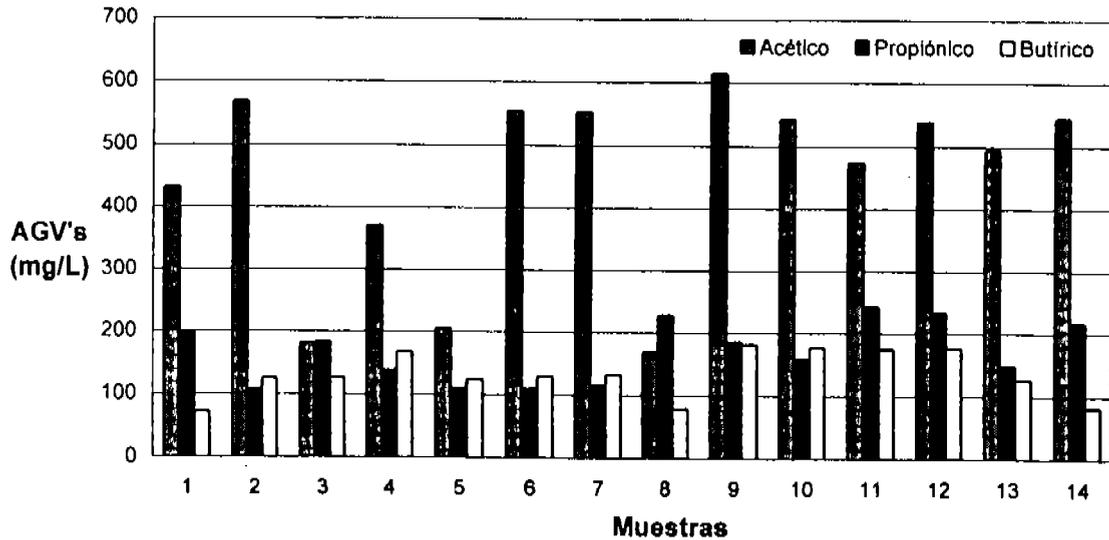


Figura 6.4. AGV's al final de la segunda prueba

En esta prueba, todos los tratamientos presentaron valores de pH más altos a los encontrados en la primera prueba batch (Tabla 6.2), aunque aún aceptables para que se lleve a cabo la digestión anaerobia. Con excepción del tratamiento 2, en el cual se simuló un proceso de digestión anaerobia común, en todos los tratamientos se encontró un valor del parámetro alfa aceptable, con lo cual se puede ver que la aplicación de aditivos ayuda a tener un proceso de digestión anaerobia más estable, aun cuando haya un incremento en la carga de alimentación. En la primera prueba "Batch", el valor del parámetro alfa para el tratamiento 2 fue de 0.45 y en esta segunda prueba disminuyó a 0.36, lo que confirma que el aumento en la relación lodo de alimentación / lodo de inóculo (de 0.08 a 0.1 mgSTV/mgSTV) provocó un efecto de inestabilidad en el reactor. Respecto a la alcalinidad total, en todos los tratamientos se presentaron valores mayores a los obtenidos en la primera prueba y que según lo reportado en literatura, son aceptables para la digestión anaerobia. Con base en los resultados de la relación de alcalinidades, parámetro alfa, se puede deducir que en los tratamientos 4 y 6 hubo una mayor acumulación de AGV's que en el resto de los tratamientos, lo que se confirma en la Figura 6.4, con excepción del 7 y sin considerar los tratamientos con zeolitas (9 a 14) que acumularon AGVs.

Por su parte, los valores de remoción de sólidos volátiles fueron menores en todos los casos en comparación con la primera prueba. El tratamiento 8 fue el que presentó el mayor porcentaje de remoción de SV, situación que se relaciona con la alta producción de metano y la baja concentración de AGV's, contrario a lo presentado en los tratamientos 3, 4 y 5 que al final del experimento presentaron una baja concentración de AGV's y mediana producción de metano. Este último resultado conduce a pensar que la digestión anaerobia pudo inhibirse desde las etapas iniciales, al limitarse la hidrólisis y la producción de AGV's. Al igual que en la primera prueba, el potencial

REDOX que se determinó en todas las muestras del experimento varió entre -132 y -182 mV (electrodo de referencia de hidrógeno).

**Tabla 6.2. Parámetros de análisis de la segunda prueba Batch**

Relación LTPA/inóculo: 0.1 mg/mg

Parámetros	Tratamientos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
pH	7.60	7.55	7.46	7.33	7.51	7.50	7.54	7.54
$\alpha$	0.45	0.36	0.45	0.41	0.47	0.41	0.45	0.48
Alcalinidad total	5320	5440	5520	5000	6640	5120	5360	5700
% RSV	10	12.1	10.3	8.8	9.7	11.1	10.1	18.6

### 6.1.3 Tercera prueba Batch

En total, en esta prueba se obtuvieron 256 valores del metano que produjo cada tratamiento con su duplicado en las 8 fechas en que se determinó dicho parámetro; estos resultados se analizaron estadísticamente con el programa *The SAS System*. Se asignó al experimento un 95 % de confianza, es decir  $\alpha=0.05$ . De los resultados del análisis de varianza ANOVA (Tabla 6.3), se concluye que existe una interacción significativa entre las fechas y los tratamientos ya que  $F_{0.05,105,128}=1.33$  ( $1.86 > 1.33$ ). De igual forma, son significativos los efectos individuales de las fechas y los tratamientos pues  $F_{0.05,7,128}=2.08$  y  $F_{0.05,15,128}=1.73$ . De lo anterior se puede concluir que el factor dosis, tanto de metales traza como de bacilos, es altamente significativo, lo cual se refleja directamente en la producción de metano. Con base en lo anterior se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna,  $H1:\tau_i \neq 0$ , con  $i=1,2,\dots,16$  es decir, al menos uno de los tratamientos es diferente.

**Tabla 6.3. Análisis de varianza para la tercera prueba "Batch"**

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media de Cuadrados	$F_0$	$F_0$ TABLAS
Fechas	235.92	7	33.70	70.28	2.08
Tratamientos	125.05	15	8.33	17.38	1.73
Fechas*Tratamientos	94.09	105	0.89	1.86	1.33
Error experimental	61.38	128	0.48		
Total	516.45	255			

Debido al efecto significativo encontrado en el análisis de varianza, se determinó que también existen diferencias entre las medias de los tratamientos (Tabla 6.4), con lo cual se obtuvo un valor de la dosis, tanto de bacilos como de metales, recomendada para incrementar la eficiencia de un proceso de digestión anaerobia de lodos fisicoquímicos.

El procedimiento empleado para comparar la diferencia entre las medias de los tratamientos fue la prueba de Dunnett, con un alfa de 0.05 y una diferencia mínima significativa de 0.8244. Como se muestra en la Tabla 6.4, varios tratamientos alcanzaron una diferencia significativa entre las medias (señaladas en la Tabla 6.4 con \*\*\*). De todos ellos, el que alcanzó una mayor diferencia fue el tratamiento 8, dosis media de bacilos con dosis alta de metales, contra el tratamiento 16, control. La segunda más alta diferencia significativa se presentó al comparar el tratamiento 5, que fue el tratamiento con la dosis de metales traza empleada por Espinosa *et al.*, (1998) y la dosis de bacilos recomendada por los proveedores. Con excepción de la comparación del tratamiento 12, los demás tratamientos que mostraron diferencia significativa entre las medias, son tratamientos en los cuales hubo combinación de metales traza con bacilos.

**Tabla 6.4. Diferencia entre medias con la prueba de Dunnett**

Comparación de tratamientos	Diferencia entre medias
1 vs 16	0.5760
2 vs 16	0.8257***
3 vs 16	1.2540***
4 vs 16	0.6683
5 vs 16	2.0305***
6 vs 16	1.4669***
7 vs 16	0.8343***
8 vs 16	2.4319***
9 vs 16	1.3980***
10 vs 16	0.6237
11 vs 16	-0.2006
12 vs 16	1.1469***
13 vs 16	0.5621
14 vs 16	0.3099
15 vs 16	0.0527

Con base en los resultados de las pruebas batch y en especial de la tercera, se definió la dosis adecuada para incrementar la producción de metano en un digestor a escala

laboratorio. La dosis seleccionada fue: por cada 50gDQO se adicionan 150 mgFe, 22.5 Ni, 15 Co y 0.3 Mo; además, por cada g de STV se agregan 30 mg del aditivo con base en bacilos.

## 6.2 Primera etapa: periodo de análisis del reactor T2

### 6.2.1 Análisis físicoquímicos

El reactor termofílico T2, fue operado bajo dos distintas condiciones de carga y tiempo de retención. En el primer periodo de operación, que duró 260 días, el reactor se trabajó con carga orgánica (C.O.) promedio de 1.0 kgSTV/m<sup>3</sup>\*d y a tiempo de retención hidráulico (TRH) de 25 días; el segundo periodo fue con C.O. promedio de 1.2 kgSTV/m<sup>3</sup>\*d y TRH de 20 días.

Al comenzar a trabajar bajo las condiciones del primer periodo, la producción de biogás se incrementó en los primeros 20 días hasta 2200 mL y posteriormente fue disminuyendo hasta que en el día 100 dicha producción fue de únicamente 800 mL (Figura 6.5). Esta disminución se atribuye a un posible incremento en la carga orgánica debido a las condiciones de operación que se plantearon, pues como se mencionó en la metodología, al comenzar la investigación este reactor ya se tenía en operación, sin embargo únicamente se alimentaba para mantener activa la biomasa del sistema, por lo tanto la carga orgánica con la que trabajaba era de aproximadamente 0.39 kgSTV/m<sup>3</sup>\*d. Posterior al día 100, ya que se fue dando la aclimatación del reactor, el incremento en la producción de biogás fue evidente hasta lograr producciones por arriba de 2500 mL. A partir del día 260, al cambiar las condiciones de operación a C.O.= 1.2 kgSTV/m<sup>3</sup>\*d y TRH=20 días, la producción de biogás fue disminuyendo hasta llegar a valores de 1200 mL, con lo cual se puede identificar una inhibición de las bacterias metanogénicas debido al cambio de condiciones. Esta observación se ve reforzada por el hecho de que al analizar el biogás generado, se observó un incremento en el porcentaje de CO<sub>2</sub>.

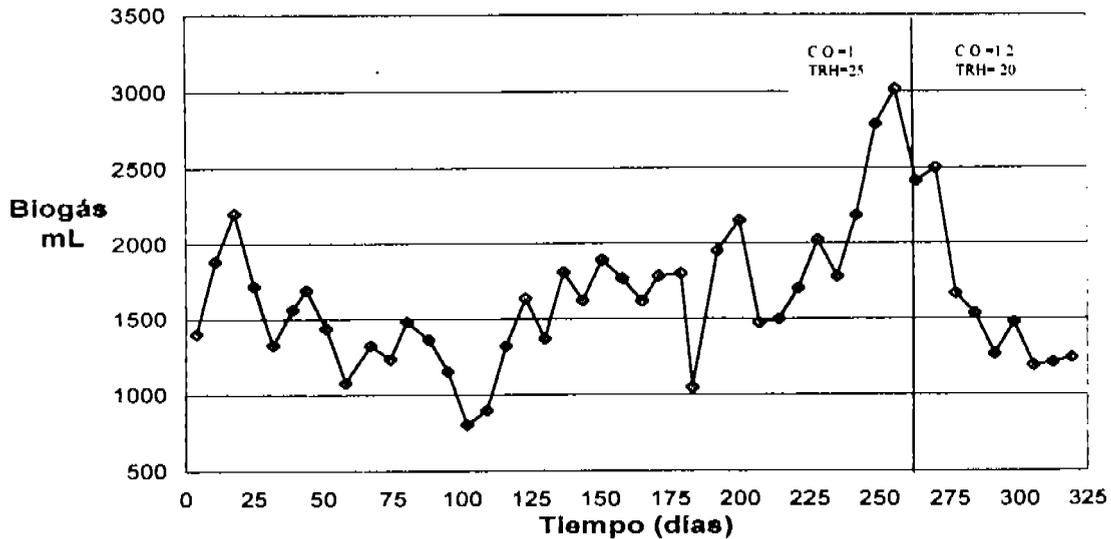


Figura 6.5. Producción de Biogás en el reactor T2

El porcentaje de metano en el biogás tuvo un comportamiento en cierta forma similar al del biogás generado. Al incrementarse la producción de biogás en el inicio del experimento (Figura 6.6) se incrementó el porcentaje de metano hasta 65 % y posterior al día 20 disminuyó. Cerca del día 100, a pesar de tener baja producción de biogás, el porcentaje de metano fue de 52 %, presentando posteriormente una ligera caída, de la cual comenzó a recuperarse hasta llegar, en el día 250, a 61 % de metano, momento en el cual se consideró que el reactor se encontraba en fase estable y se decidió realizar una caracterización total del sistema. Posterior al día 260, con el cambio de condiciones, el porcentaje de metano fue disminuyendo y cercano al día 300 este fue solo del 16 %, lo que representa una reducción del 45 % debida a la casi total inhibición de las bacterias metanogénicas. En el final de la figura se puede ver que después del día 300, el porcentaje de metano comenzó a recuperarse, lo cual quiere decir que hasta los 40 días las bacterias metanogénicas empezaron a aclimatarse al cambio de condiciones.

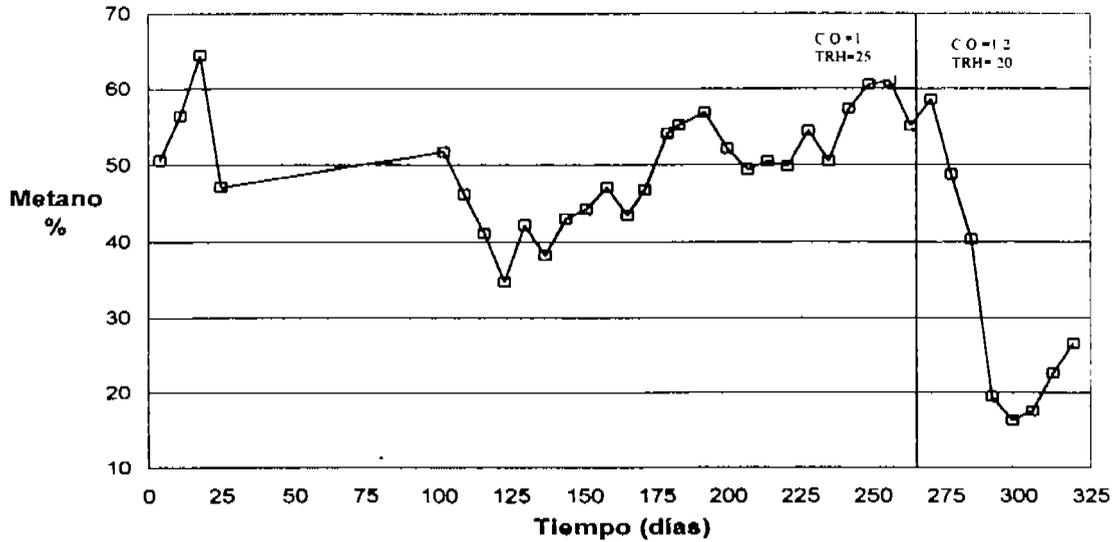


Figura 6.6. Porcentaje de CH<sub>4</sub> en el reactor T2

Como se ha presentado, al comenzar a operar el digester con las condiciones de este estudio se observó un resentimiento del sistema, el cual también se manifestó en una disminución del pH (Figura 6.7). Sin embargo, la disminución de este parámetro no fue tan drástica para poder llegar a la acidificación del reactor, ya que se mantuvo por más de 100 días trabajando a valores de pH entre 7 y 7.4 unidades, valores que según Noyola (1998) son considerados como óptimos para mantener un buen proceso de digestión anaerobia, el cual sin embargo no se tuvo. Efectivamente, como se mencionó anteriormente, tanto la producción de biogás como el porcentaje de metano disminuyeron. Con el cambio de condiciones realizado a partir del día 260, la disminución del pH mostró que había inestabilidad en el sistema, manteniéndose sin embargo por arriba de 7.00.

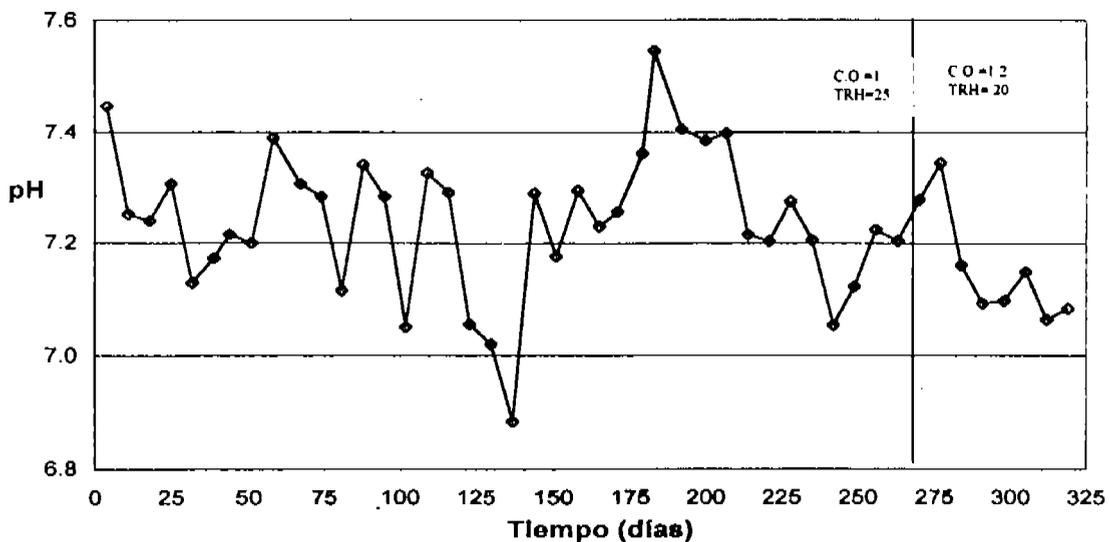


Figura 6.7. Variación del pH en el reactor T2

El parámetro alfa (relación de alcalinidades), considerado por Noyola (1994) como una adecuada alarma para saber si el reactor está siendo sobrecargado, mostró tendencia a disminuir al comenzar el trabajo de investigación, debido a la carga orgánica aplicada, (Figura 6.). Cerca del día 135, el valor de este parámetro disminuyó hasta 0.32, valor que según Noyola (1998), es indicio de una acidificación del sistema, ya que indica que es mayor la alcalinidad debida a los AGV's respecto a la alcalinidad debida a bicarbonatos. El bajo valor del parámetro alfa que se presentó cerca del día 135, coincide con la ligera disminución del pH. Después del día 135, ya que comenzó a incrementarse el pH, el valor del parámetro alfa también comenzó a recuperarse y llegó a valores entre 0.4 y 0.45, que si bien no son óptimos, están considerados como aceptables. Después del día 160, al incrementar la C.O. y disminuir el TRH, se presentó una reducción en los valores del parámetro alfa llegando hasta 0.32, tendencia que se relaciona con la disminución del pH, debido a la acumulación de AGV's, ya que disminuyó la capacidad amortiguadora del sistema.

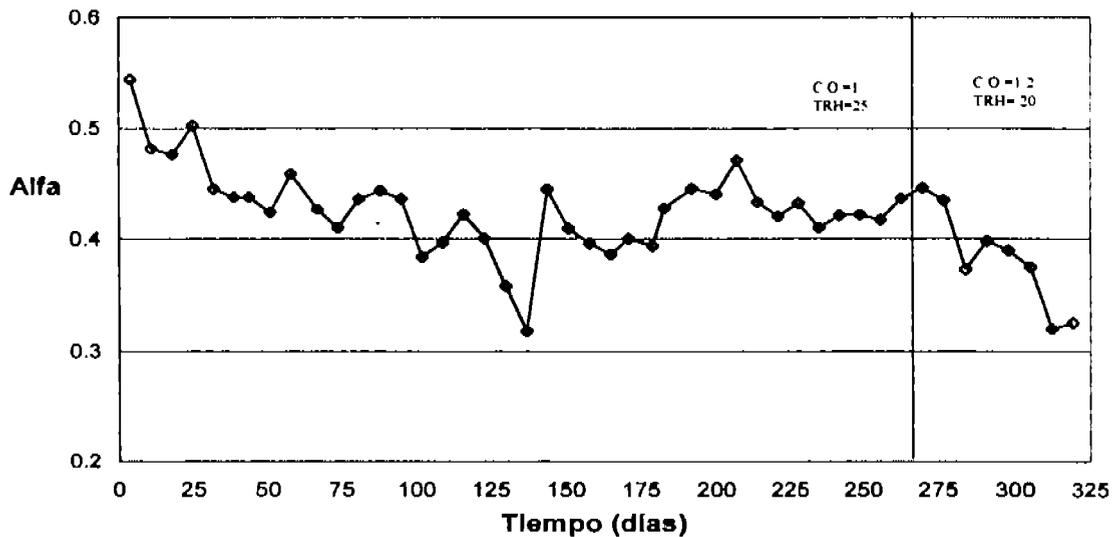


Figura 6.8. Relación de alcalinidades ( $\alpha$ ) en el reactor T2

Los valores de alcalinidad (Figura 6.) variaron a lo largo del tiempo, con valores entre 2100 y 3600 mg CaCO<sub>3</sub>/L, los cuales se encuentran dentro del intervalo de 1000 a 5000 mg CaCO<sub>3</sub>/L en que Malina y Pohland (1992), consideran que la digestión anaerobia se puede realizar de manera normal. Al inicio de la investigación, con C.O.= 1.0 kgSTV/m<sup>3</sup>\*d se presentaron los valores más bajos de este parámetro, los cuales fueron incrementando con el transcurso del tiempo hasta tener un proceso de digestión anaerobia relativamente estable. Después del día 150, la alcalinidad tuvo un comportamiento similar al del pH, pues cerca del día 200 fue cuando se presentaron los más altos valores de estos parámetros. Posterior al día mencionado, el valor de ambos comenzó a disminuir hasta antes del día 250, en que su recuperación se hizo notoria.

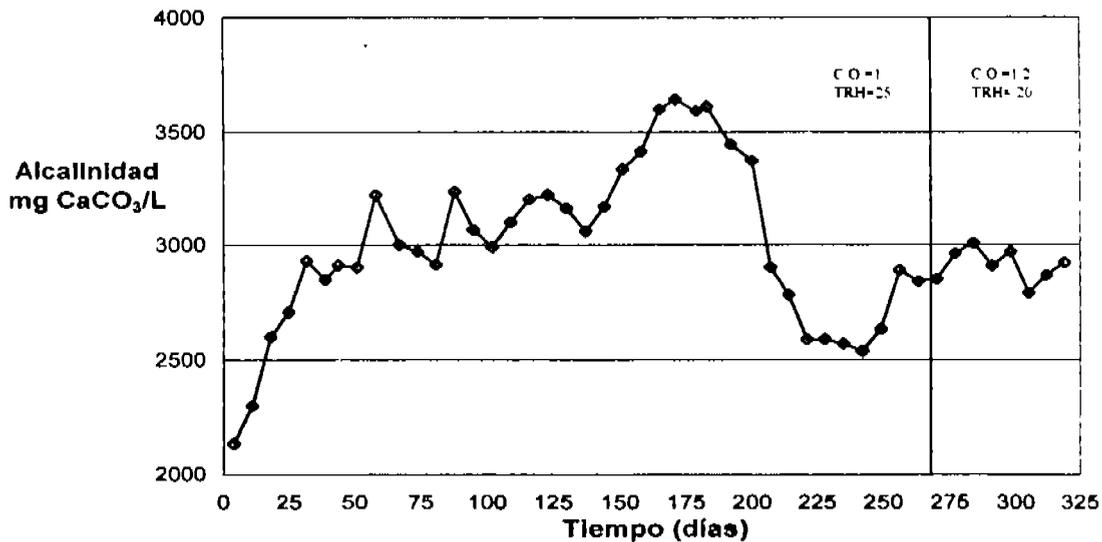
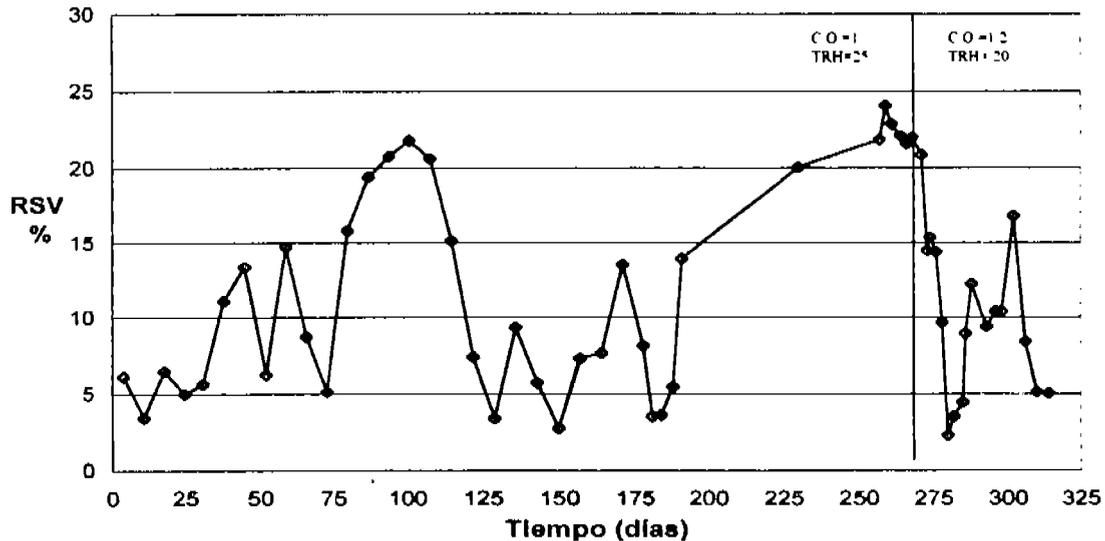


Figura 6.9. Variación de la alcalinidad en el reactor T2

En esta etapa, en promedio el porcentaje de remoción de sólidos volátiles fue de 11.5 %, valor muy bajo respecto al 60 y 80 % reportado por Krugel *et al.* (1998) trabajando con lodo primario en digestores a escala real. Como se muestra en la Figura 6.7, al inicio del estudio los valores del %RSV fueron bajos. Entre los días 80 y 120, el % RSV alcanzó valores por encima del 15 %, llegando a incrementarse hasta 22 % en el día 100. Estos valores de más del 15 % de RSV no se relacionan con el biogás generado, ya que en este periodo las producciones de biogás fueron menores a 1500 mL. Respecto a lo anterior, indiscutiblemente en el periodo mencionado, la etapa hidrolítica del proceso se encontraba en cierto grado inhibida. Además, se puede intuir que las baja producciones de biogás se debió a una posible inhibición de las bacterias metanogénicas, como se podrá constatar más adelante al presentar los resultados de AGV's.

Antes de hacer el cambio de condiciones en el día 260, hubo un periodo de aproximadamente 40 días en que el %RSV fue ligeramente superior al 20 %; en este periodo también se presentaron las más altas producciones de biogás y los más altos porcentajes de metano, con lo cual puede concluirse que este fue el periodo más activo presentado por el reactor T2. Al incrementar la carga y disminuir el TRH, el %RSV disminuyó drásticamente presentando valores menores al 5 %.



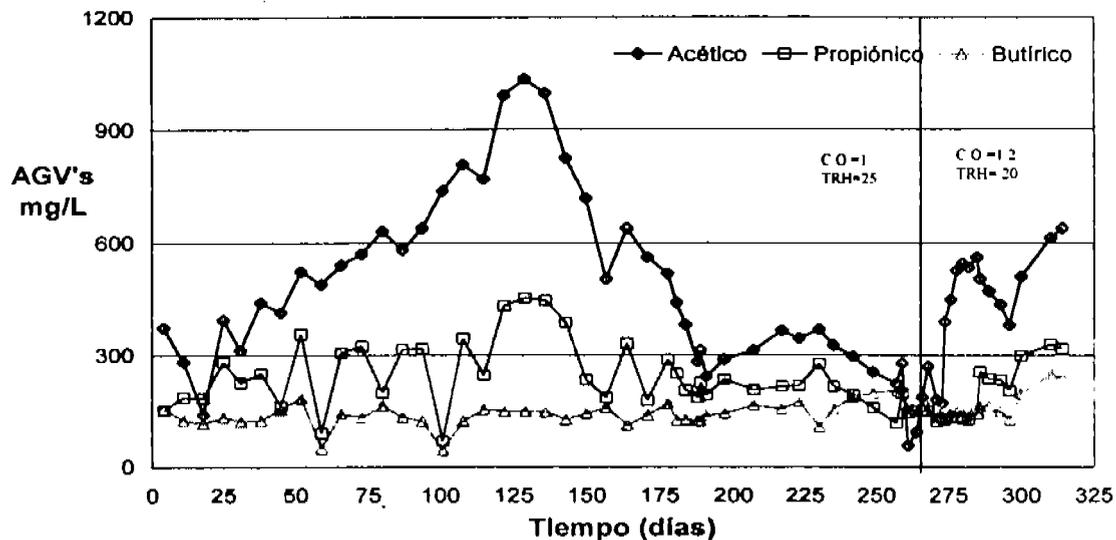
**Figura 6.7. Porcentaje de remoción de sólidos volátiles en el reactor T2**

Al inicio de la investigación, con excepción del ácido acético, las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV's) se encontraban por debajo de 300 mg/L (Figura 6.8). Conforme se continuó operando el reactor con las condiciones establecidas, en el día 25 se notó un ligero incremento en la concentración de los ácidos acético y propiónico, haciéndose cada vez más notorio el incremento del ácido acético hasta que en el día 130 llegó a presentar una concentración de 1035 mg/L. Por su parte, el ácido propiónico mostró un pequeño incremento en su concentración, pues durante casi 100 días, ésta ligeramente rebasó los 300 mg/L, pero al igual que el acético, en el día 130 presentó su más alta concentración, 450 mg/L. Respecto al butírico, este ácido fue el que mostró las más bajas concentraciones en todo el estudio, manteniéndose por debajo de los 200 mg/L, inclusive en el día 130 en que el acético y propiónico presentaron sus más altas concentraciones. La alta concentración de AGV's totales (1635 mg/L) mostrada el día 130 tuvo efecto en el pH, ya que en esta fecha fue cuando se presentó el valor más bajo de este parámetro. La relación alfa en dicha fecha también mostró su valor más bajo, indicando inestabilidad del sistema.

Posterior al día 130, presumiblemente debido a la adaptación de la biomasa del reactor, se presentó un incremento en la actividad de las bacterias metanogénicas, sobretudo las acetoclásticas, pues las concentraciones de acético y propiónico comenzaron a disminuir hasta que en el día 190 se determinaron valores de 240 y 190 mg/L respectivamente. Entre los días 190 y 260, debido a que las bacterias metanogénicas, sobretudo las acetoclásticas, presentaron buena actividad, la concentración promedio de acético fue de 278 mg/L, 73 % menor a lo presentado en el día 130. Durante este intervalo, el propiónico mostró en promedio una concentración de 197 mg/L, 56 % menos respecto al día 130. El butírico siguió manteniendo concentraciones menores a 200 mg/L.

Al realizar el cambio de condiciones, día 260, el ácido que más resintió los efectos fue el acético, pues a los 20 días mostró un incremento del 95 % (544 mg/L) y al final de la etapa la concentración de este ácido fue de 640 mg/L. El propiónico ligeramente se ubicó por encima de los 300 mg/L y el butírico alcanzó una concentración de 250 mg/L.

Es claro que cuando en un proceso se llegan a presentar altas concentraciones de AGV's y bajas producciones de biogás, hay inestabilidad con posibilidad de la acidificación del reactor; las concentraciones de AGV's son un buen indicador de la sobrecarga del sistema.



**Figura 6.8. Variación de los ácidos grasos volátiles en el reactor T2**

Durante la investigación, se realizó un análisis para determinar el contenido de aluminio y micronutrientes (Tabla 6.5), tanto en la entrada como en la salida del digestor. Como se aprecia, las concentraciones en mg/L de aluminio que se determinaron en los lotes de alimentación fueron más bajas que los 1000 mg/L que Cabirol *et al.* (2003) encontraron como inhibitorios para las bacterias acetógenas y metanógenas, con lo cual no podría decirse que la inestabilidad del reactor T2 se deba únicamente a la cantidad de aluminio presente en el sistema. Cierta parte de la concentración de aluminio a la entrada del reactor, fue bioacumulada en la estructura de las bacterias como parte de su metabolismo, sin embargo, no hay acumulación de este metal, pues al purgar el reactor hay eliminación de bacterias. Debido a la variación en las concentraciones de aluminio a la entrada, a la salida se presentó una concentración promedio.

En cuanto a los micronutrientes, con base en el planteamiento de Montalvo y Guerrero (2004), para estimar los requerimientos de estos metales, con excepción del Fe, las concentraciones se encuentran muy por debajo de lo mínimo requerido para cumplir

con las necesidades de las bacterias, siendo los valores mínimos de Ni 0.01 mg/gST, Co 0.008 mg/gST y Mo 0.006 mg/gST.

Debido a la presencia de sulfuros en el medio, puede decirse que la cantidad de hierro que ingresó al sistema formó sulfuro de hierro, el cual precipita. Esta forma, a pesar de estar dentro del sistema, no está disponible como micronutriente para las bacterias. Al igual que con el hierro, no se descarta la posibilidad de que otros metales nutrientes presentes, aun en mínima cantidad en el lodo de alimentación, también pudieron ser secuestrados por los sulfuros pasando a la forma no biodisponible.

**Tabla 6.5. Análisis de aluminio y micronutrientes en la alimentación y purga de T2**

Muestra	Al mg/L	Concentración mg/g de ST				
		Al	Fe	Ni	Co	Mo
Alimentación # 1	281	6.24	0.382	**	**	**
Alimentación # 2	210	4.66	0.298	**	**	**
Alimentación # 3	205	4.55	0.289	**	**	**
Purga	199	4.97	0.350	**	**	**

Alimentación # 1: 22 de Agosto del 2003.

Alimentación # 2: 12 de Septiembre del 2003.

Alimentación # 3: 03 de Octubre del 2003.

\*\* No se detecto (limite de detección 0.0005 mg/g ST)

Durante esta etapa, se realizaron dos mediciones del Potencial REDOX al lodo de purga del reactor T2, determinandose valores de -252 y -272 mV (con referencia al electrodo de Hidrógeno), los cuales se encuentran cercanos a los considerados como aceptables para que se lleve a cabo un proceso de digestión anaerobia.

### 6.2.2 Caracterización microbiológica

La caracterización microbiológica de este reactor se hizo con base en la NOM-004-SEMARNAT-2002, para lo cual se analizaron coliformes fecales, *Salmonella* spp. y Huevos de Helmintos.

En cuanto a los coliformes fecales (Figura 6.9) es claro que hubo un efecto positivo en la remoción de estos indicadores patógenos, ya que bajo condiciones de termofilia (55 °C) y TRH = 25 días, la cantidad de éstos disminuyó en promedio de 106667 a 596 NMP/gST, valor que de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 corresponde a biosólidos Clase A.

Este resultado corrobora lo encontrado en el estudio de De León y Jenkins (2002), donde ellos, al trabajar con un proceso de digestión anaerobia bajo condiciones de

termofilia a 52 °C y TRH = 15 d, alcanzaron biosólidos Clase A al obtener remociones desde 125900 hasta menos de 20 NMP/gST. Por su parte, Záborská *et al.* (2003) consideran que en la digestión anaerobia termofílica, tanto la temperatura (55 °C), como el ambiente anaerobio influyen en la remoción de patógenos.

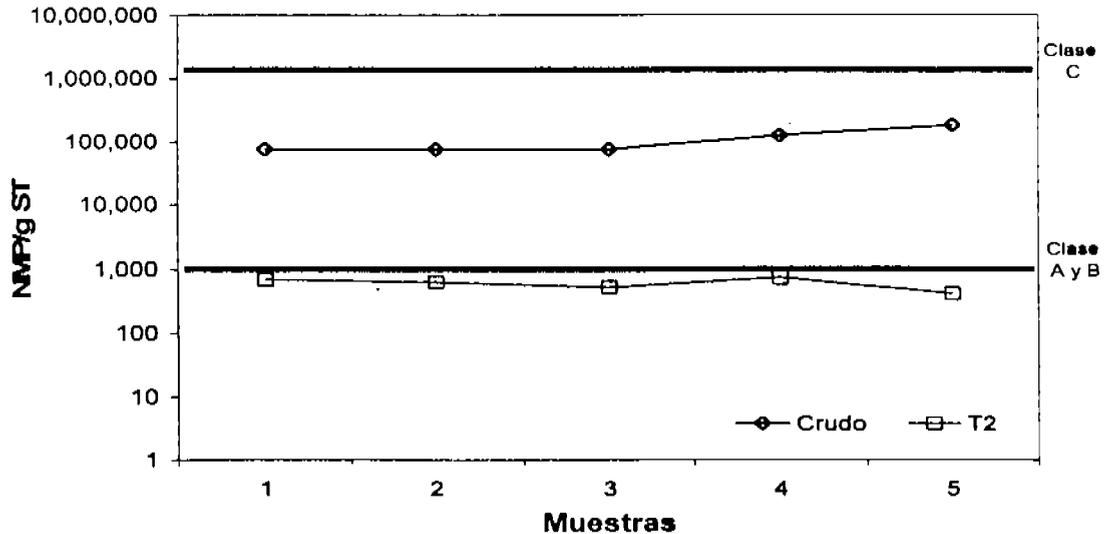


Figura 6.9. Coliformes fecales en el reactor T2

En relación con los resultados de *Salmonella* spp., en el lodo de alimentación se encontró en promedio 81500 NMP/gST. Sin embargo, en ninguna de las cinco muestras de la purga diaria tomadas en el periodo de caracterización, se detectó la presencia de este patógeno (Figura 6.10), con lo cual, respecto a lo establecido en la NOM-004-SEMARNAT-2002 la calidad de los biosólidos obtenidos, en cuanto a presencia de *Salmonella* spp., cae dentro de la Clase A.

La ausencia de *Salmonella* spp. en el lodo de purga corrobora el estudio de Harvey y Thompson (1953), donde encontraron que la temperatura de 44 °C fue inhibitoria para este patógeno. Watanabe *et al.* (1997) encontraron que la digestión anaerobia termofílica es efectiva para disminuir considerablemente el número de *Salmonella* spp. Por su parte, Horan *et al.* (2004) y Záborská *et al.* (2003) concluyeron que al trabajar bajo condiciones de mesofilia (35 °C) y TRH = 12 días, la máxima remoción de *Salmonella* spp. que se alcanza es de 2 unidades logarítmicas.

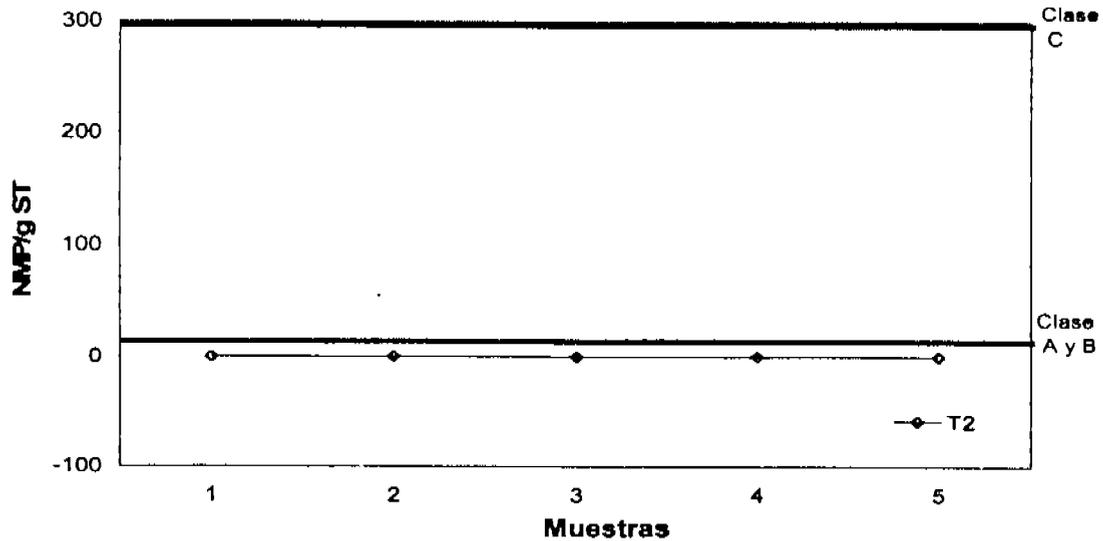


Figura 6.10. *Salmonella spp* en el reactor T2

Estudios previos han demostrado, respecto a países desarrollados, el alto contenido de huevos de helmintos, particularmente *Ascaris spp.* en lodos generados en las plantas de tratamiento de aguas residuales de México. En este estudio, además de *Ascaris spp.*, se logró identificar a los géneros *Trichuris spp.*, *Hymenolepsis spp.* y *Toxocara spp.* Como se aprecia en la Tabla 6.6, a pesar de que los resultados obtenidos rebasan ligeramente el límite establecido en la NOM-004-SEMARNAT-2002 para biosólidos Clase A (menos de 1 huevo viable por g ST), el proceso de digestión anaerobia termofílica para la estabilización de lodos, arrojó un efecto positivo en la disminución del contenido de huevos de helmintos tanto viables como no viables, logrando remociones de 91.5 y 77 % respectivamente. En total, la remoción de estos parásitos fue de 81 %.

Tabla 6.6. Huevos de helmintos en el reactor T2

Muestras	Huevos de Helmintos (huevos/g ST)		
	Viables	no viables	totales
Lodo Crudo	15.2	43.2	58.4
T2	1.3	9.8	11.1

Análisis de tres muestras a cada lodo

## 6.3 Segunda etapa: periodo de operación comparativa de los digestores T2 y T2-bis

Con base en los resultados obtenidos en las pruebas Batch, se arrancó un nuevo digestor, llamado T2-bis, al cual se le adicionaron metales y posteriormente la mezcla de metales y bacilos. A pesar de que en la tercera prueba Batch se concluyó que las dosis óptimas para mejorar la digestión anaerobia de lodos fisicoquímicos fueron 1.5 de lo recomendado por Espinosa *et al.* (1995) y la recomendada por el proveedor de bacilos, respectivamente, al llevar el proceso a la operación semicontinua, se decidió, en cuanto a los metales, aplicar la dosis con la cual trabajaron Espinosa y colaboradores.

### 6.3.1 Análisis fisicoquímicos

El efecto de aplicación de aditivos, tanto metales como bacilos, fue positivo en la producción de biogás (Figura 6.11). Como se muestra, al arranque de ambos reactores operando bajo las condiciones de temperatura = 55 °C, C.O.=1.2 kgSTV/m<sup>3</sup>\*d y TRH=20 días, hubo diferencias en la producción de biogás. Al aplicar metales a T2-bis a partir del día 30, fue claro el incremento en la producción de biogás (Figura 6.11), pues en el día 50 este reactor generó 900 mL más que T2. Para el día 60, al adicionar también bacilos, la producción de biogás presentó un mayor incremento respecto al obtenido únicamente con metales y para el día 77 el digestor T2-bis alcanzó una producción de biogás de 3820 mL, 126 % más que el presentado por T2. El efecto logrado al combinar bacilos con metales puede atribuirse a que la aplicación de metales benefició particularmente a las bacterias metanogénicas, sobretudo a las acetoclásticas, y que los bacilos tuvieron efecto en la hidrólisis / acidificación de la materia orgánica, generando el sustrato de las metanogénicas.

Con base en los resultados obtenidos en la primera etapa, al cambiar las condiciones de operación del reactor T2-bis a TRH=15 días y C.O.=1.6 kgSTV/m<sup>3</sup>\*d en el día 141, se esperaba que la producción de biogás disminuyera. Sin embargo, como resultado, la producción de biogás aumentó a 4380 mL, 225 % mas respecto al reactor T2, reactor que se mantuvo a TRH=20 días y C.O.=1.2 kgSTV/m<sup>3</sup>\*d. Esta respuesta indica que se tenía un proceso de digestión anaerobia muy estable, gracias a los aditivos usados.

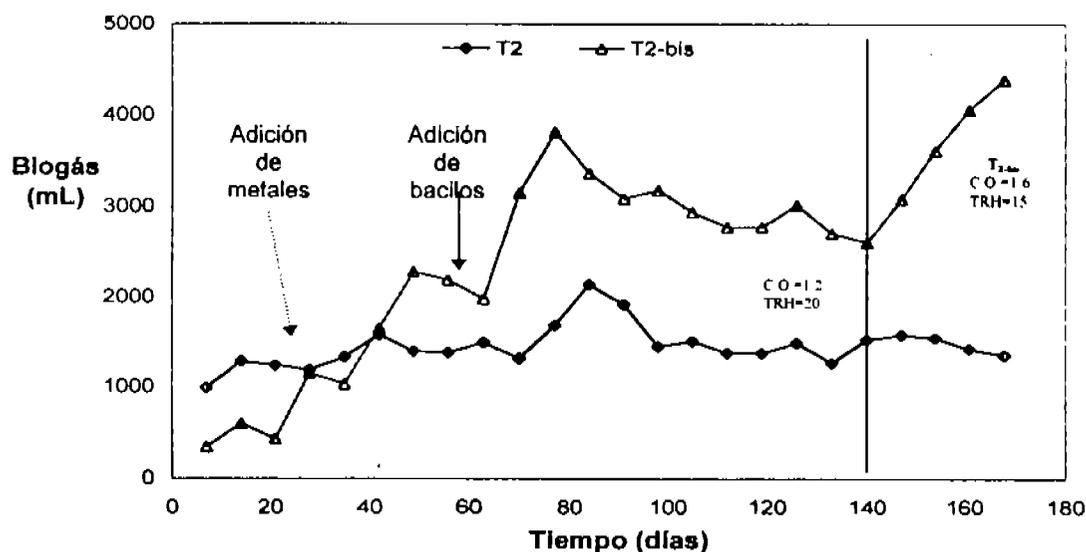


Figura 6.11. Producción de Biogás en T2 y T2-bis

En estudios anteriores, Jackson–Moss y Duncan (1991) y Cabirol *et al.* (2003), determinaron que el aluminio que se encuentra presente en los lodos provoca un efecto de inhibición en la digestión anaerobia de lodos fisicoquímicos. Adicionalmente, Cabirol *et al.* (2003) encontraron que durante la digestión anaerobia de lodo TPA, el aluminio y los sulfuros presentes tenían un efecto de inhibición sinérgico y que ésta se presentaba particularmente sobre las bacterias metanógenas acetoclásticas y las acetógenas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA).

Al inicio del experimento, el comportamiento en ambos digestores fue similar, presentando un porcentaje de metano menor al 30 % (Figura 6.12). Con la adición de micronutrientes, en el día 30, es claro que hay un efecto positivo de éstos sobre las bacterias metanogénicas, pues en el día 50 el porcentaje de metano se incrementó hasta 67 %, valor presente en digestores con operación adecuada, aunque posteriormente disminuyó ligeramente (62% en promedio). T2 al no contar con nutrientes para activar el metabolismo de sus bacterias, mantuvo su porcentaje de metano cercano al 30 %, presentando en el día 85 un incremento hasta 50 %. Sin embargo, posterior a dicho incremento, la inestabilidad del proceso se vio reflejada en una drástica disminución del porcentaje de metano, llegando hasta valores cercanos al 10 % y presentando a partir del día 120 y hasta el final del experimento un ligero incremento para mantenerse en 20 %.

A pesar de que el cambio de condiciones efectuado el día 141 en el reactor T2-bis, provocó una ligera disminución en el porcentaje de metano, dicho valor permaneció muy cercano al obtenido por Guyer y Zehnder (1982).

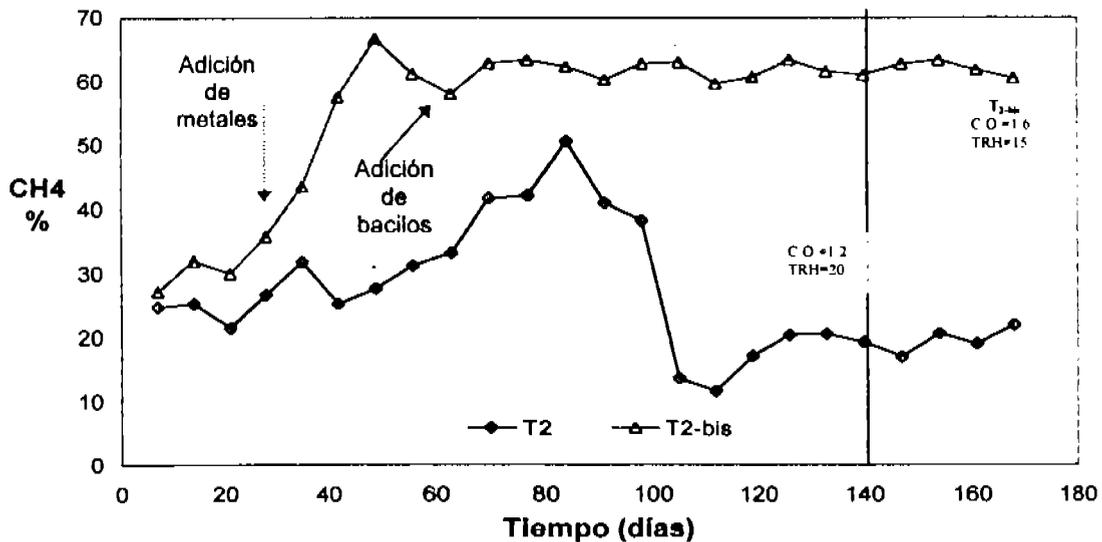


Figura 6.12. Porcentaje de  $\text{CH}_4$  en T2 y T2-bis

Durante el estudio, ambos digestores mostraron buena capacidad amortiguadora, pues los valores de pH obtenidos en toda la etapa experimental variaron entre 7.0 y 7.6 (Figura 6.13), valores considerados como óptimos para que se lleve a cabo un buen proceso de digestión anaerobia.

A pesar de que ambos digestores trabajaron a valores de pH óptimos, los presentados en el lodo de purga del reactor T2-bis siempre se mantuvieron por encima de los valores de T2, lo cual es un indicio de que T2-bis presentó mejor estabilidad durante el estudio. Antes de adicionar metales a T2-bis, los valores de pH ya mostraban tendencia a incrementarse; con la adición de metales dichos valores se incrementaron hasta 7.6. Al aplicar la combinación de metales con bacilos, día 60, el pH comenzó a disminuir hasta llegar a valores de 7.2 y con el cambio de condiciones, C.O. = 1.6  $\text{kgSTV/m}^3 \text{ d}$  y TRH = 15 días, este se incrementó hasta 7.35, manteniéndose alrededor de este valor hasta el final del experimento.

El reactor T2, siguió en forma cercana el mismo comportamiento que T2-bis, hasta que se modificaron las condiciones de operación de T2-bis. El reactor T2 alcanzó al final del experimento un valor de pH de 7.0. Este comportamiento en los valores de pH presentado por ambos reactores podemos atribuirlo a la presencia de algún tóxico en el lodo de alimentación; sin embargo, como T2-bis, debido a la aplicación de micronutrientes y el aditivo con base en bacilos mostró mejor desempeño durante el estudio, tuvo mayor capacidad para amortiguar la influencia del tóxico.

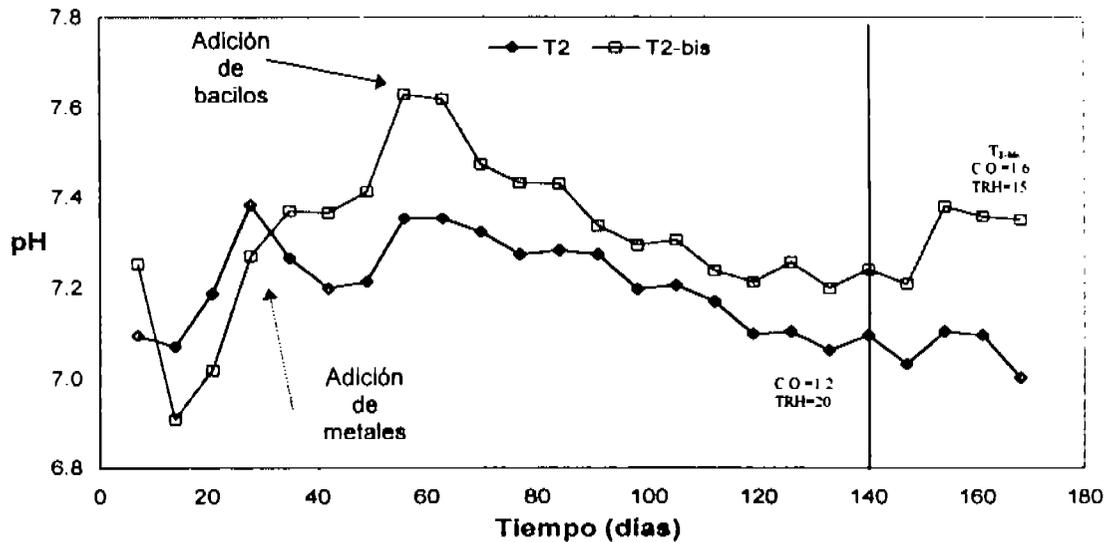


Figura 6.13. Variación del pH en T2 y T2-bis

Durante los primeros 30 días de esta etapa experimental, ambos reactores presentaron valores de alfa entre 0.4 y 0.35. Como se muestra en la Figura 6.14, con la adición de metales, los valores de alfa en el reactor T2-bis comenzaron a incrementarse hasta llegar a 0.46 (día 57). Al aplicar la combinación de metales con bacilos, el alfa disminuyó ligeramente a valores de 0.43, que si bien no son los óptimos que considera Noyola (1998), para un proceso de digestión anaerobia, respecto a los valores de 0.3 obtenidos por Orozco (2002) trabajando con el mismo tipo de lodo, se consideran como buenos. Después del día 141, al incrementar la C.O. y disminuir el TRH, no se manifestó evidencia de sobrecarga del reactor T2-bis, ya que en promedio los valores de este parámetro se mantuvieron prácticamente sin cambio.

Aunque la alimentación se hacía con diferentes lotes de lodos, no se debe descartar la posible presencia de algún compuesto tóxico, como lo hace suponer el comportamiento del digester T2. Se observa que conforme avanzó el tiempo, la relación alfa fue disminuyendo poco a poco hasta presentar al final del experimento valores de 0.3, indicio de un riesgo de acidificación del sistema (Noyola 1998) y con una tendencia marcadamente descendente.

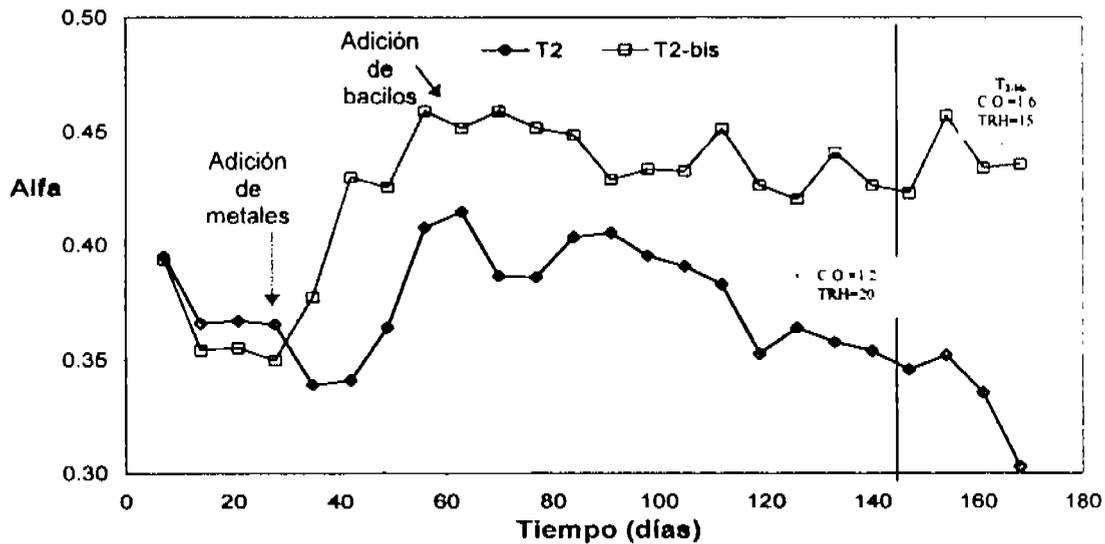


Figura 6.14. Relación de alcalinidades ( $\alpha$ ) en T2 y T2-bis

La alcalinidad, a lo largo del experimento mostró un comportamiento muy similar en ambos reactores, ya que los valores presentados tuvieron muy poca variación entre sí (Figura 6.15). En promedio, durante todo el experimento la alcalinidad fue de 2700 mgCaCO<sub>3</sub>/L, valor que Malina y Pohland (1992), consideran bueno para que se lleve a cabo de manera normal un proceso de digestión anaerobia. El que ambos reactores hayan presentado valores similares de alcalinidad no quiere decir que estuvieron trabajando de forma semejante, pues como ya se mostró, T2-bis presentó mayor actividad y estabilidad, además de mejores valores de alfa. Estos resultados confirman la utilidad de la relación alfa como indicador temprano de inestabilidad del proceso anaerobio y la limitación que representa el emplear para ello el valor de la alcalinidad total. Los valores de T2 se atribuyen a que al hacer la evaluación de la alcalinidad total (pH=4.3), no solamente se tomó en cuenta al ión bicarbonato y al ácido carbónico en solución, sino también se valoró parte de los AGV's que se encuentran presentes en forma disociada (Jenkins *et al.* 1991).

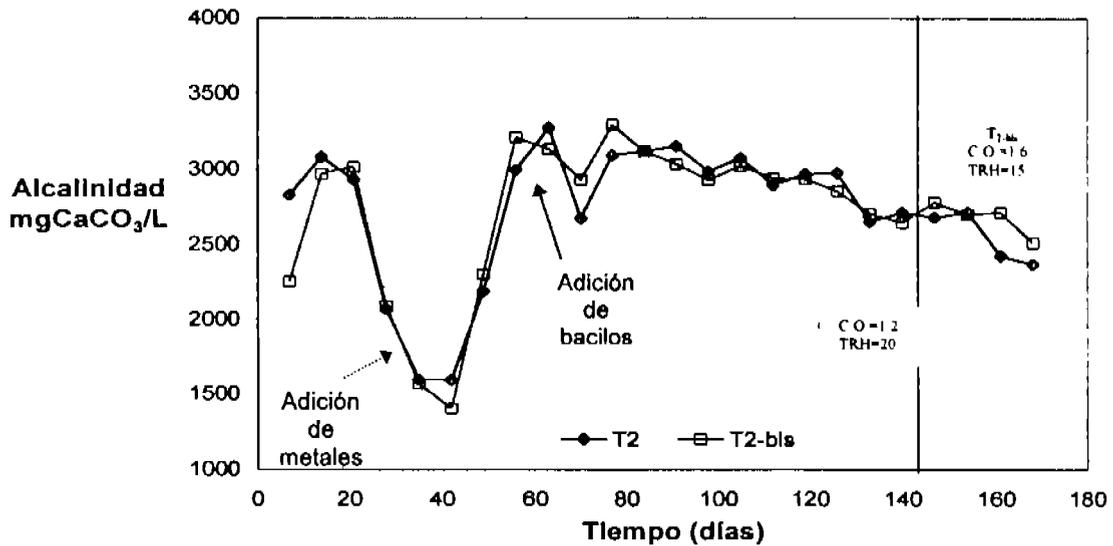


Figura 6.15. Variación de la alcalinidad en T2 y T2-bis

En el inicio del experimento, la concentración de sólidos totales en la purga fue ligeramente mayor en el reactor T2-bis. Como se muestra en la Figura 6.16, después de la adición de micronutrientes, la cantidad de sólidos totales en el lodo digerido fue menor en T2-bis, debido a que este reactor presentó una mayor remoción de sólidos volátiles. Entre los días 35 y 125, el promedio de sólidos totales en T2-bis fue de 42 g/L y entre el día 125 y el final del experimento la concentración promedio disminuyó a 38 g/L. Al hacer el cambio de condiciones en T2-bis, no se presentó cambio alguno en la concentración de sólidos totales, pues se mantuvo activa la etapa de hidrólisis.

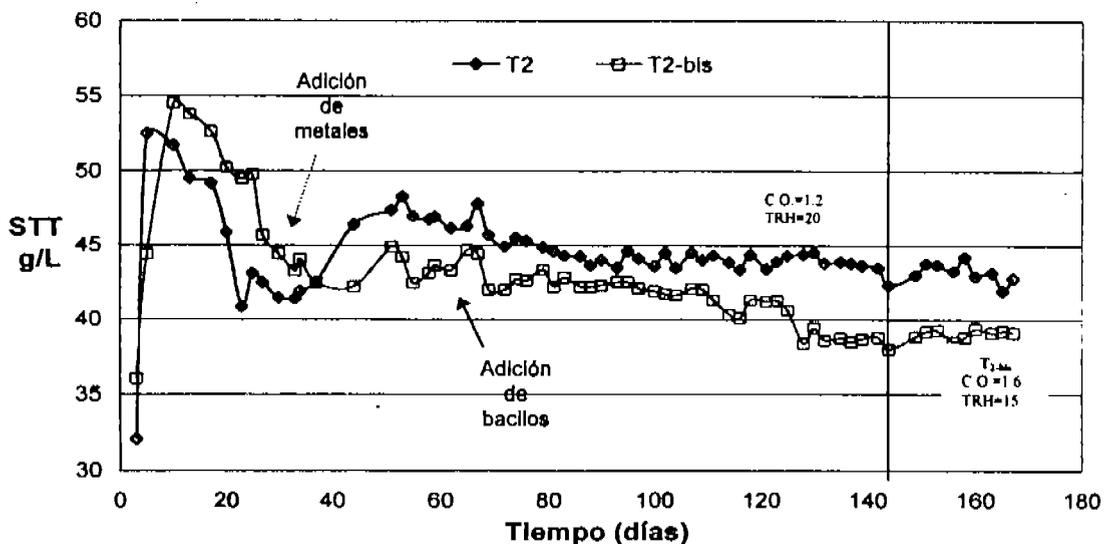


Figura 6.16. Concentración de sólidos totales en la purga de T2 y T2-bis

Contrario a lo reportado por Ghyoot *et al.*, (1997) y Li *et al.*, (1997), investigadores que en sus estudios obtuvieron porcentajes de remoción de sólidos volátiles (%RSV), de 52 y 55 % respectivamente trabajando con lodo primario, en este estudio el máximo %RSV fue de 29 % (Figura 6.17). Con la adición de metales en el día 30, el valor del %RSV en T2-bis comenzó a incrementarse hasta llegar a valores de 20 %, día 55; en cambio, en T2 el valor presentado fue de aproximadamente 5 %. Después del día 60, al adicionar la mezcla de micronutrientes y bacilos, el % RSV en T2-bis siguió su incremento hasta que en el día 135 se presentaron valores ligeramente superiores al 25 %. Con T2 el máximo porcentaje alcanzado fue de casi 15 %, día 83, posteriormente este valor fue disminuyendo hasta 5 %. Después de cambiar las condiciones de operación de T2-bis, en promedio el %RSV fue de 26 %, manteniéndose los valores que se mostraron antes del cambio.

Los mayores valores del %RSV obtenidos con el reactor T2-bis se relacionan adecuadamente con el biogás generado, al alcanzar una conversión de 0.292 L CH<sub>4</sub> /g ST removido. Con base en lo anterior, puede concluirse que el %RSV confirma que la etapa hidrolítica del proceso se encontraba en actividad; al igual que la etapa metanogénica.

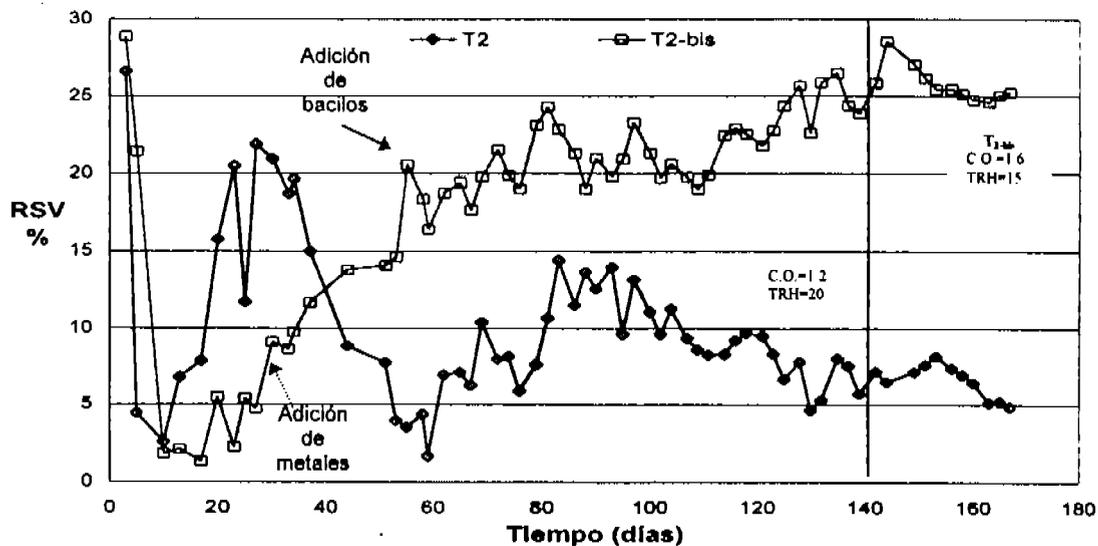


Figura 6.17. Porcentaje de remoción de sólidos volátiles en T2 y T2-bis

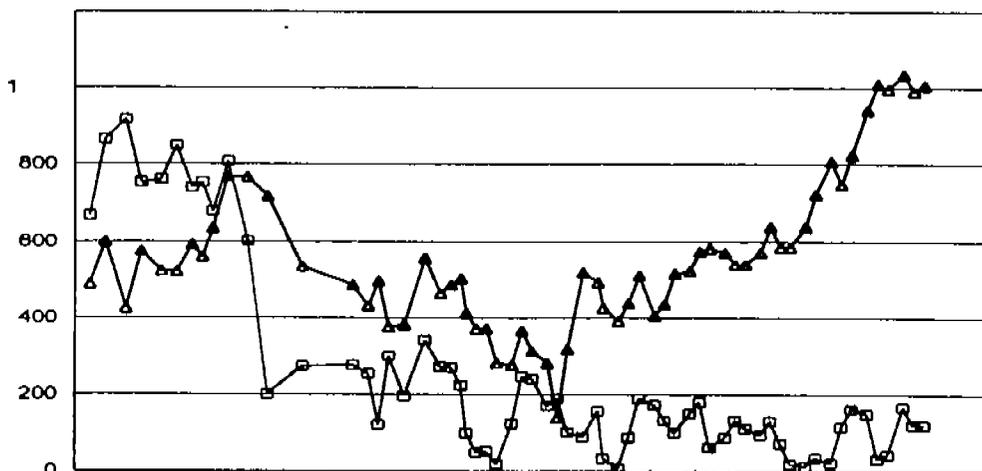
Con relación a los ácidos grasos volátiles, al inicio del experimento el reactor T2-bis mostró concentraciones de ácido acético más altas que las presentadas en el reactor T2, en promedio 750 y 550 mg/L respectivamente (Figura 6.18).

Al aplicar micronutrientes a T2-bis, día 30, la concentración de acético disminuyó hasta 220 mg/L, 70 % menos que sin metales, hasta llegar en el día 60 a 120 mg/L. Esta disminución en las concentraciones de acético se vio reflejada en varios parámetros

antes mostrados. La producción de biogás se incrementó, además, el porcentaje de metano llegó a valores por encima del 60 %, con lo cual queda claro que las bacterias metanogénicas, sobretodo las acetoclásticas, se vieron beneficiadas con la adición de metales, ya que incrementaron su actividad. El pH y el parámetro alfa, los cuales están relacionados con la alcalinidad, también mostraron cierto incremento, y al no haber tantos ácidos en el medio, la mayor parte de la alcalinidad del sistema correspondió a los bicarbonatos, con lo cual el pH presentó tendencia ligeramente a la basicidad. Como se muestra en la figura, el reactor T2 presentó un comportamiento parecido al de T2-bis en cuanto a concentraciones de ácido acético hasta el día 95. Sin embargo, dicho comportamiento no mostró relación con otros parámetros, ya que tanto la producción de biogás como el porcentaje de metano siempre estuvieron por debajo de los valores de T2-bis; además, los valores del parámetro alfa, mostraron señas de un proceso inestable. Después del día indicado, el ácido acético en el digestor T2 se incrementó hasta alcanzar valores de 1000 mg/l en el día 160, lo que se corrobora con el bajo valor de la relación de alcalinidades que se tuvo al final en este reactor; además, tal comportamiento coincide con el periodo en que se alimento con el lote en el cual posiblemente había la presencia de algún compuesto tóxico.

Después del día 60 y hasta el día 141, al aplicar la combinación de metales y bacilos, en promedio la concentración de acético fue de 146 mg/L, con variaciones entre 348 y 7 mg/L, pero manteniéndose la mayor parte de este periodo por debajo de 200 mg/L.

Al cambiar las condiciones de operación del reactor T2-bis, en los primeros 10 días las concentraciones de acético fueron menores a 20 mg/L y después, el sistema mostró un pequeño desequilibrio, ya que en promedio la concentración de acético aumentó a 166 mg/L; sin embargo, las bacterias continuaron plenamente activas ya que con el cambio de condiciones se incrementó la producción de biogás y se mantuvo el porcentaje de metano, además del parámetro alfa, que se mantuvo en 0.44.



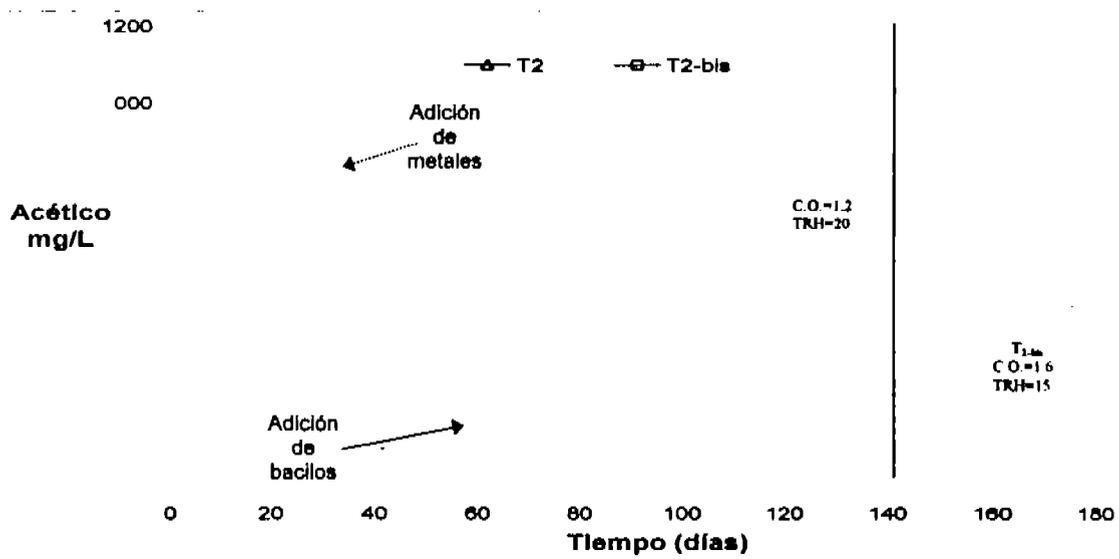


Figura 6.18. Variación del ácido acético en T2 y T2-bis

En el inicio de la investigación, las concentraciones de ácido propiónico en ambos digestores fueron menores a 50 mg/L, pero al continuar con la operación, dichas concentraciones rebasaron los 300 mg/L para después disminuir a menos de 200 (Figura 6.19).

En un estudio realizado por Espinosa *et al.*, (1995) con vinazas, se encontró que la adición de hierro, níquel, cobalto y molibdeno redujo el nivel de propiónico en más del 90%, partiendo de una concentración de 5291 mg/L. Contrario a lo reportado por estos autores, en este estudio ni la aplicación de los micronutrientes antes mencionados ni los bacilos, mostraron un efecto inmediato sobre las concentraciones de ácido propiónico. Las cales se mantuvieron alrededor de 180 mg/l. Fue a partir del día 100 que las concentraciones de propiónico en el reactor T2-bis resultaron en promedio 25 % menores a las del reactor T2, con lo cual puede decirse que las bacterias metanogénicas degradadoras de propiónico tardaron más, respecto a las degradadoras de acético, en responder a la adición de los metales.

Como se muestra en la Figura 6.19, debido al incremento de carga al cambiar las condiciones de operación del reactor T2-bis, el aumento en los valores de propiónico fue más claro que en los de acético. Es de notar que el propiónico mostró un alza en su concentración aun antes de cambiar las condiciones, comportamiento que coincide con el lote que probablemente contenía algún compuesto tóxico.

Las concentraciones de butírico en ambos reactores, cuyos resultados no se muestran, a lo largo de esta etapa se mantuvieron prácticamente sin cambio, siempre entre 100 y 200 mg/L. La aplicación de micronutrientes y la combinación de estos con los bacilos, no mostró efecto sobre este ácido.

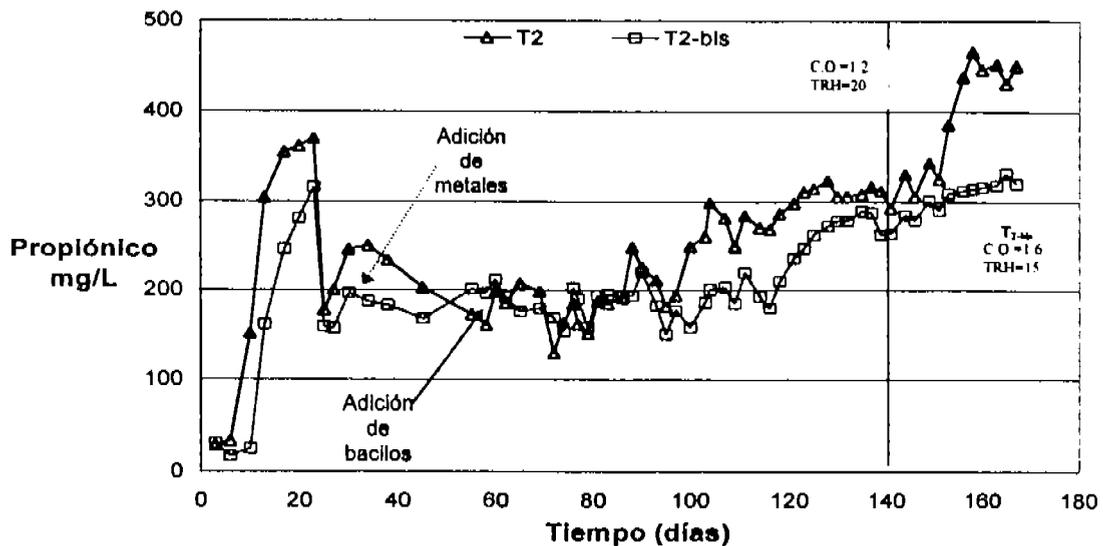


Figura 6.19. Variación del ácido propiónico en T2 y T2-bis

Entre otros compuestos, los cuales se consideran como tóxicos para los sistemas de tratamiento anaerobio, varios autores han considerado al sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) como uno de los más importantes, el cual se forma a partir de la sulfatorreducción. En esta etapa, se consideró determinar la concentración de  $H_2S$  en el biogás generado en ambos reactores, Tabla 6.7. Como se muestra, las cuatro determinaciones arrojaron valores muy altos respecto a las concentraciones reportadas en literatura como inhibitorias para la digestión anaerobia en general.

En el día 80 ambos reactores generaban concentraciones de  $H_2S$  muy similares, sin embargo, los resultados de producción de biogás, porcentaje de metano, etc., confirman que en cierta forma los micronutrientes adicionados a T2-bis disminuyeron el efecto inhibitorio causado por el  $H_2S$ , logrando un proceso más estable. Cerca del final del estudio, día 160 se determinó una concentración muy alta de  $H_2S$  en el reactor T2, concentración que coincide con la inestabilidad del sistema, pues como se mostró en los resultados anteriores, en esta fecha T2 presentó baja producción de biogás, bajo porcentaje de metano y de remoción de sólidos volátiles, además de mostrar altas concentraciones de AGV's. Este mal funcionamiento del reactor T2 se puede atribuir a que debido a la alta concentración de  $H_2S$ , se presentó inhibición en las bacterias del sistema, sobretodo en las metanogénicas acetoclásticas.

T2-bis, debido a la estabilidad generada por la aplicación de micronutrientes y el aditivo con base en bacilos presentó en el día 160 una concentración de  $H_2S$  muy similar a la reportada el día 80.

**Tabla 6.7. Concentraciones de  $H_2S$  en el biogás de los digestores**

Tiempo (días)	$H_2S$ mg/L	
	T2	T2-bis
80	2537	2450
160	5465	2830

En esta etapa, también se realizó un análisis para determinar el contenido de aluminio y micronutrientes en la alimentación como en la purga de ambos reactores, y cuyos resultados se presentan en la Tabla 6.8. Como se aprecia, ninguna de las concentraciones en mg/L de aluminio que se determinaron en las muestras de alimentación y purga corresponden al valor de 1000 mg/L que Cabirol *et al.*, (2003) encontraron como inhibitorio para las bacterias acetogénicas y metanogénicas, por lo que no se puede atribuir que la inestabilidad del reactor T2 se deba únicamente a la cantidad de aluminio presente en el sistema.

De acuerdo a los valores en mg/L de aluminio que se determinaron en las muestras de los lotes de alimentación, es claro que haya variación en las concentraciones de

entrada, ya que la cantidad de aluminio empleada para el tratamiento del agua depende de la cantidad de sólidos en ésta. La variación de concentraciones tanto de aluminio como de hierro en las purgas de T2, pueden ser resultado de la variación de estos metales en la alimentación. En el caso del reactor T2-bis, se observó una situación incomprensible, ya que en la purga se presentaron concentraciones de aluminio más altas que en la alimentación (FQ-bis). Como se aprecia, en T2-bis el hierro mostró un comportamiento similar al del aluminio; en cambio, el níquel y el cobalto, de los cuales las concentraciones en la purga fueron menores a las de la alimentación, al parecer si fueron utilizados por las bacterias, sobretodo por las metanogénas, confirmando así los resultados de Speece *et al.* (1983) y Jarrell y Dennis (1982) respecto al níquel y de Jetten *et al.* (1992) y Bhattacharya *et al.* (1995) respecto al cobalto.

Con base en la estimación que plantean Montalvo y Guerrero (2004), con excepción del Fe, las concentraciones de micronutrientes en T2 se encuentran muy por debajo de lo mínimo requerido para cumplir con las necesidades de las bacterias, que son Ni 0.01 mg/gST, Co 0.008 mg/gST y Mo 0.006 mg/gST. La dosis adicionada al digestor T2-bis, según esta referencia, sería adecuada, con excepción del molibdeno, que requeriría una dosis aún mayor.

**Tabla 6.8. Análisis de aluminio y micronutrientes en el lodo**

Muestra	Al mg/L	Concentración mg/gST				
		Al	Fe	Ni	Co	Mo
Lote 040304 (día 110)	301	6.7	0.296	**	**	**
Lote 160304 (día 122)	416	9.237	0.489	**	**	**
Lote 020404 (día 139)	284	6.312	0.324	**	**	**
Lote 190404 (día 156)	22.6	0.503	0.19	**	**	**
T2 040304 (día 110)	248	5.78	0.263	**	**	**
T2 160304 (día 122)	94	2.189	0.085	**	**	**
FQ-bis 160304 (día 122)	328	7.13	0.343	0.016	0.011	**
FQ-bis 220304 (día 128)	104	2.265	0.102	0.021	0.015	**
T2-bis 040304 (día 110)	357	8.92	0.448	0.013	0.009	**
T2-bis 160304 (día 122)	400	10.07	0.502	0.014	0.010	**

FQ-bis= lodo crudo con metales para alimentación de T<sub>2-bis</sub>

\*\* No se detectó (límite de detección 0.0005 mg/gST)

Como se sabe, el sulfuro tiende a secuestrar los iones de metales que se encuentran en el sistema para formar sulfuros metálicos y precipitar, con lo cual se reduce o elimina la disponibilidad de dichos metales hacia las bacterias. Como se muestra en la Tabla 6.9, tanto el cobalto como el molibdeno son metales traza que se encontraron en concentraciones muy bajas, inferiores al límite de detección del instrumento analítico (espectrofotómetro de absorción atómica). Tal resultado confirma que estos nutrientes traza no están disponibles para los microorganismos dentro de los digestores, inclusive para T2.bis, al que se le adicionaron estos metales. En el caso del níquel, se determinó que en FQ y T2, lodo de alimentación y purga del reactor T2, hay carencia de este

micronutriente; en el caso de FQ-bis y T2-bis, debido a que se adicionó la mezcla de metales al lodo de alimentación FQ-bis, si se detectó la presencia de dicho metal en estado disuelto. En el análisis de hierro, se comprobó la presencia de este micronutriente en todas las muestras, pues como se ha determinado en algunos estudios, este metal se encuentra con mayor frecuencia en las aguas residuales municipales y por ende en los lodos. El aluminio, metal que proviene del coagulante con que se trata el agua residual, se encontró en menor concentración en las muestras del lodo de alimentación, situación que puede atribuirse a que este metal se encuentra asociado a los floculos de lodo, y cuando estos son hidrolizados en el proceso de digestión anaerobia, una fracción de este metal se incorpora al sobrenadante, en forma disuelta.

**Tabla 6.9. Análisis de aluminio y micronutrientes disueltos en el sobrenadante de los lodos (una muestra)**

Muestra	Concentración mg/L				
	Al	Fe	Ni	Co	Mo
FQ	0.157	0.122	< 0.008	< 0.008	< 0.007
FQ-bis	< 0.085	0.038	0.019	< 0.008	< 0.007
T2	0.782	0.080	< 0.008	< 0.008	< 0.007
T2-bis	0.121	0.087	0.060	< 0.008	< 0.007

Limites de detección: 0.085, 0.021, 0.008, 0.008 y 0.007 mg/L para Al, Fe, Ni, Co y Mo respectivamente. Análisis efectuado con un espectrofotómetro de absorción atómica.

La determinación de la concentración total de metales traza (micronutrientes), no siempre arroja una adecuada información acerca de la biodisposición o toxicidad de estos. De ahí que la distribución de estos metales en sus diferentes fracciones determine la disponibilidad para la actividad metabólica de las bacterias. Por tal motivo, se consideró realizar una especiación de metales (descrita en el anexo del documento), tanto en el lodo de alimentación, como en el lodo de purga para ambos reactores.

Como se muestra en la Tabla 6.10, la forma intercambiable, que es la forma en la cual los metales se encuentran biodisponibles para las bacterias, presentó los valores más bajos en cuanto a concentración, situación que respecto a los micronutrientes no es favorable, ya que estos, al no estar disponibles, hacen que la actividad metabólica de las bacterias disminuya, llegando a un proceso ineficiente.

La mayor cantidad de aluminio y hierro se encuentra en interacción con la materia orgánica. Esto puede explicarse debido a que estos metales dentro del sistema se encuentran formando hidróxidos y oxihidroxidos, lo que los lleva a crear coloides con la materia orgánica, haciéndolos no biodisponibles. Al igual que los metales que interactúan con la materia orgánica, los que se encuentran en las formas químicas de carbonatos y sulfuros, tienen una biodisposición limitada. Para lograr que los micronutrientes que se encuentran en las formas mencionadas, estén a disposición de las bacterias, se necesita realizar cambios en distintas condiciones ambientales del

proceso, particularmente en el pH, lo cual llevaría a cambios también en detrimento del proceso anaerobio.

Las bajas concentraciones de Ni, Co y Mo, en sus distintas formas químicas, se deben a que generalmente estos metales no están presentes en las aguas residuales municipales y por ende tampoco en los lodos que se generan por el tratamiento de estas aguas.

Tabla 6.10. Especiación de Metales

Forma del Metal	Muestra	Concentración mg/L				
		Al	Fe	Ni	Co	Mo
Intercambiable	FQ	**	**	**	**	**
	FQ-bis	**	**	**	**	**
	T2	**	**	**	**	**
	T2-bis	**	**	**	**	**
Sorbido	FQ	3.22	**	**	**	**
	FQ-bis	1.188	**	**	**	**
	T2	6.128	**	**	**	**
	T2-bis	0.7926	**	**	**	**
Interacción con la materia orgánica	FQ	45.36	2.319	**	**	**
	FQ-bis	40.18	7.52	**	**	**
	T2	54.6	2.265	**	**	**
	T2-bis	39.8	7.565	**	**	**
Carbonatos	FQ	1.7	**	**	**	**
	FQ-bis	9.78	1.225	**	**	**
	T2	2.906	**	**	**	**
	T2-bis	12.35	1.225	**	**	**
Sulfuros	FQ	1.663	0.6731	**	**	**
	FQ-bis	1.287	2.848	**	**	**
	T2	1.556	0.6193	**	**	**
	T2-bis	1.323	0.5977	**	**	**

\*\* No se detecto (limite de detección 0.5 mg/L)

### 6.3.2 Caracterización microbiológica

En esta segunda etapa, al igual que en la primera, la caracterización microbiológica de los reactores se realizó con base en las técnicas anexas a la NOM-004-SEMARNAT-2002. Se analizaron coliformes fecales, *Salmonella spp.* y Huevos de Helmintos.

Respecto a los coliformes fecales (Figura 6.20), es claro que hubo un efecto positivo en la remoción de estos patógenos, ya que al trabajar bajo condiciones de termofilia (55

°C) y a TRH = 20 días, la cantidad de estos disminuyó en promedio de 1187500 a 65 NMP/gST en ambos reactores, valor que de acuerdo a la NOM-004-SEMARNAT-2002 corresponde a biosólidos Clase A. Como se observa, en ambos reactores se presentaron remociones similares de coliformes fecales, hecho que indica que la estabilidad con que se estaba llevando a cabo el proceso de digestión anaerobia no influyó sobre este parámetro y más bien lo que influye es la temperatura y el tiempo de residencia del lodo.

Los resultados de coliformes que se presentaron en el lodo de purga de ambos reactores confirman lo encontrado por Aitken y Mullennix (1992) y por De León y Jenkins (2002), al trabajar con un proceso de digestión anaerobia de lodos bajo condiciones de termofilia a 55 °C y TRH =10 d y 52 °C y TRH = 15 d respectivamente, alcanzando en ambos casos valores inferiores a 1000 NMP/gST; Oropeza *et al.*, (2001), trabajando a 55 °C, con tiempos de retención de 16 y 20 días también obtuvieron valores de coniformes fecales para clase A.

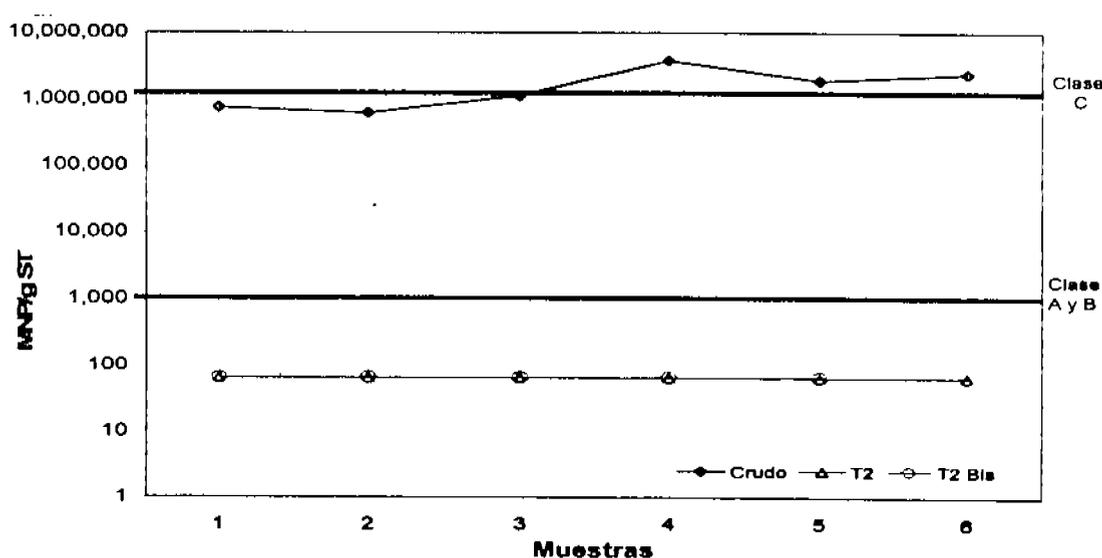


Figura 6.20. Coliformes fecales en T2 y T2-bis

En cuanto a los resultados de *Salmonella spp.*, en el lodo de alimentación se encontraron en promedio 118333 NMP/gST, valor que al aplicar un proceso de digestión anaerobia termofílico durante 20 días disminuyó hasta cero, ya que en ninguna muestra de la purga de ambos reactores, se detectó la presencia de este patógeno (Figura 6.21).

La ausencia de *Salmonella spp.* en el lodo de purga de ambos reactores era un resultado esperado, ya que al presentarse valores bajos de coliformes fecales, los cuales son más resistentes a la temperatura, la *Salmonella spp.* debía ser más afectada e incluso hasta desaparecer del sistema. Estos datos confirman resultados de Harvey y Thompson (1953), quienes encontraron que a la temperatura de 44 °C este patógeno es

eliminado totalmente. En un estudio realizado por Záborská *et al.* (2003) se encontró que bajo condiciones de 55 °C durante 5.1 días no hubo presencia de este patógeno.

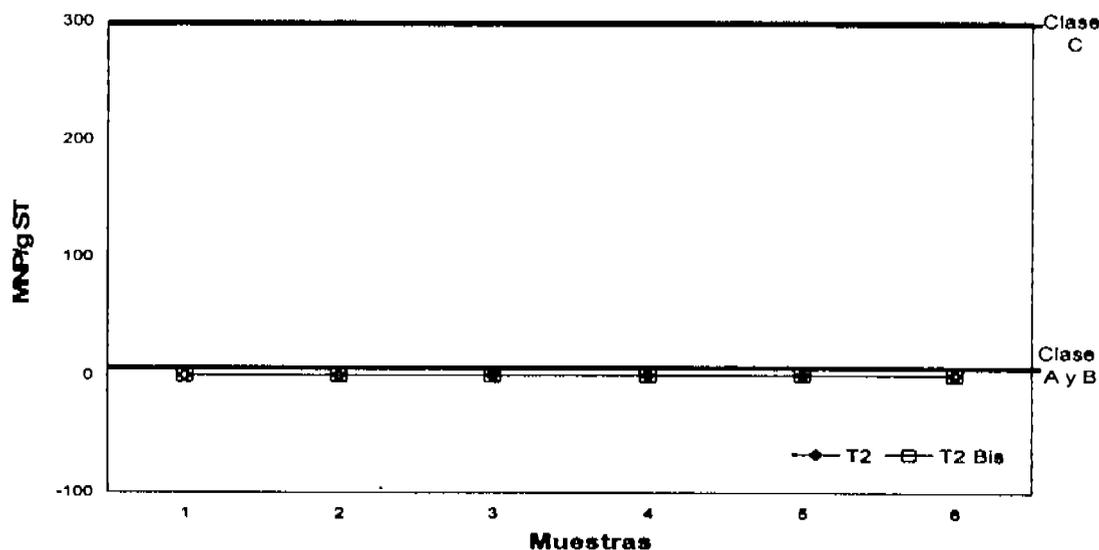


Figura 6.21. *Salmonella ssp* en T2 y T2-bis

Con relación a los huevos de helmintos, como se muestra en la Tabla 6.11, los resultados obtenidos en ambos reactores cumplen con el límite establecido en la NOM-004-SEMARNAT-2002 para biosólidos Clase A, ya que en promedio se obtuvieron valores de 0.5 +/- 0.5 huevos de helminto viables por cada gramo de sólidos totales.

El proceso de digestión anaerobia termofílica para la estabilización de lodos aplicado con un TRH = 20 días, arrojó un efecto positivo en la disminución del contenido de huevos de helmintos viables, ya que logró remociones de 92.3 % en ambos reactores. Con los resultados obtenidos, se confirma lo que Oleszkiewicz y Mavinic (2002) mencionan en su investigación de que a temperatura de 55 °C y TRH= 9 días se logró la completa inactivación de los huevos de *Ascaris spp.*; además de corroborar los resultados de Cabirol *et al.*, (2002), donde a condiciones de 55 °C y TRH= 20 días los huevos de helmintos se redujeron de 24.7 a 0.37 HH<sub>viables</sub>/gST.

En esta etapa, también se logró identificar además de *Ascaris spp.*, a los géneros *Trichuris spp.*, *Hymenolepsis spp.* y *Toxocara spp.* En la Figura 6.22a se muestra un huevo de *Ascaris spp.* y en la Figura 6.22b un huevo de helmito larvado.



Figura 6.22. a) Huevo de *Ascaris* spp. b) huevo de helminto larvado

Tabla 6.11. Huevos de helmintos

Huevos de Helmintos	Muestras		
	Lodo Crudo	T2	T2 Bis
Viables	6.5	0.5	0.5
No viables	30.0	13.0	20.2
Totales	36.5	13.5	20.7

## 7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos de las pruebas batch, se concluye que hubo un efecto positivo debido a la aplicación de aditivos enzimáticos y micronutrientes metálicos (solos y en combinación), al observarse un incremento en la producción de metano y una disminución en la concentración de AGV's.

Bajo las condiciones particulares de este estudio, la dosis identificada como más adecuada para mejorar la digestión termofílica de lodos de TPA es: por cada 50gDQO adicionar 150 mgFe, 22.5 Ni, 15 Co y 0.3 Mo, además de 30 mg del aditivo con base en bacilos por cada g de STV.

Los resultados obtenidos para T2 muestran que la metanogénesis estuvo inhibida a pesar de la baja carga orgánica aplicada, hecho particularmente evidente por la alta concentración de AGV's, la baja relación de alcalinidades y la prácticamente nula producción de biogás. Al parecer, el lodo TPA (sulfato de aluminio como coagulante) presenta características que inhiben el desarrollo de las bacterias metanogénicas. Una posible causa es que ciertos metales micronutrientes no están disponibles para el metabolismo bacteriano, al encontrarse en forma de precipitados de sulfuros.

La aplicación de aditivos enzimáticos y micronutrientes al reactor T2-bis tuvo efecto positivo en la estabilización anaerobia de lodo fisicoquímico, ya que incrementó la actividad metanogénica a casi el doble del testigo T2 y disminuyó la concentración de ácidos grasos volátiles, en particular acético, con lo cual se alcanzó un proceso de digestión anaerobia más estable y eficiente en la remoción de sólidos volátiles.

El sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ), considerado como uno de los más importantes tóxicos para los sistemas de tratamiento anaerobio, debido al efecto por la aplicación de micronutrientes y bacilos en T2-bis, se mantuvo en concentraciones que aun consideradas como inhibitorias, permitieron un mejor proceso de digestión anaerobia.

Al estar la mayor cantidad de aluminio en interacción con la materia orgánica, el metal no esta biodisponible, por lo tanto se puede descartar su efecto tóxico sobre las bacterias metanogénicas.

De acuerdo con los resultados microbiológicos, es claro que la temperatura de 55 °C influye de manera positiva en la remoción de patógenos y parásitos, pues aunque se tenga un proceso de digestión anaerobia ineficiente, si se logra la remoción de microorganismos por la acción del calentamiento.

La digestión anaerobia termófila de lodos TPA puede cumplir con los límites de patógenos y parásitos que marca la norma mexicana (NOM-004-SEMARNAT-2002) en su variante más estricta, la clase A.

## 8 REFERENCIAS

- Aitken M. D. y Mullennix R. W. (1992). Another look at thermophilic anaerobic digestion of wastewater sludge. *Water Environmental Research*. **64**, 915-919.
- Aoki N. y Kawase M. (1991). Development of High-Performance Thermophilic Two-Phase Digestion Process. *Water Science and Technology*, **23**, 1147.
- Barjenbruch M. y Kopplow O. (2003). Enzymatic, mechanical and thermal pre-treatment of surplus sludge. *Advances in Environmental Research*. **7** (2003) 715-720.
- Barrios J.A., Rodríguez A., González A., Jiménez B. y Maya C. (2001). Quality of sludge generated in wastewater treatment plants in México: Meeting the proposed regulation. Proceedings of the IWA specialised conference on sludge management: regulation, treatment, utilisation and disposal, *International Water Association*, Acapulco, México. pp. 54-61.
- Bastian R. K. (1997). Biosolids management in the United States. A state-of-the-nation overview. *Water Environment Technology*. Mayo, pp. 45-50.
- Bhattacharya S., Uberio V., Madura R. y Haghghi-Podeh M. (1995). Effect of cobalt on methanogenesis. *Environmental Technology*, Vol. 16, pp 271-278.
- Cabirol N., Rojas M. y Noyola A. (2002). Removal of helminth eggs and fecal coliforms by anaerobic thermophilic sludge digestion. *Water Science and Technology*, **45** (10), 269-274.
- Cabirol N., Barragán E., Duran A. y Noyola A. (2003). Effect of aluminium and sulphate on anaerobic digestion of sludge from wastewater enhanced primary treatment. *Water Science and Technology*, **48** (6), 235-240.
- Chiu-Yue Lin (1992). Effect on heavy metals on volatile fatty acid degradation in anaerobic digestion. *Water Research*, **26** (2), 177-183.
- Comisión Nacional del Agua, (2000). Lodos que se generan por cumplimiento de NOM-001-SEMARNAT-1996. Gerencia de Ingeniería Básica y Normas Técnicas. Comisión Nacional del Agua. México, 19 p.
- Comisión Nacional del Agua, (2001). Programa Nacional Hidráulico 2001-2006. Primera edición. México. 128 p.
- Colin F. (1983). Characterization of the physical state of sludge. COSR 68 Symposium, Brighton, England.

- Daniels B.N. y Rajagopal B.S. (1986). Assimilatory reduction of sulfate and sulfite by methanogenic bacteria. *Applied & Environ. Microbiology*, pp 51.
- De León C. y Jenkins D. (2002). Removal of fecal coliforms by thermophilic anaerobic digestion processes. *Water Science and Technology*, 46 (10), 147-152.
- Dohányos M., Záborská J. y Jénicek P. (1997). Innovative technology for the improvement of the anaerobic methane fermentation. *Water Science and Technology*, 36 (6-7), 333-340.
- Espinosa A., Rosas L., Ilangovan K. y Noyola A. (1995). Effects of trace metals on anaerobic degradation of volatile fatty acids in molasses stillage. *Water Science and Technology*, 32 ( 12), 121-129.
- Garber W.F., Ohara G.T., Colbaugh J.E. y Raksit S.K. (1975). Thermophilic digestion at the Hyperion Treatment Plant. *J. Water Pollut. Control Fedn.*, 47, 950-961.
- Garber W.F. (1982). Operating experience with Thermophilic Anaerobic Digestion. *J. Water Pollut. Control Fedn.*, 54, 1170-1175.
- Garciapiña T., Jiménez B., Barrios J. y Garibay A. (2000). Application of Lime Biosolids to Improve Saline-Sodic Soils from Northern México. Proceedings of the Joint CIWEM Aqua Enviro Consultancy Services 5<sup>th</sup> European Biosolids and Organic Residuals Conference. Published by Aqua Enviro Consultancy Services. (Ed) P. Lowe and J. Hudson, Seminar 3, paper 25, Wakefield, UK, pp. 1-6.
- Ghyoot W. y Verstraete W. (1997). Anaerobic digestion of primary sludge from chemical pre-precipitation. *Water Science and Technology*, 35 ( 6-7), 357-365.
- Gujer W. y Zehnder J.B. (1983). Conversión processes in anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, (5), 127-167.
- Hamer G., Bayers J.D. y Beger J. (1985). Thermophilic anaerobic digestion for sewage sludge stabilization. *Acta Biotechnology* 5, pp. 225-234.
- Hashimoto A. (1982). Methane from cattle waste. Effects of temperature, hydraulic retention time and influent substrate concentration in kinetic parameter (K). *Biotechnol. Bioengn.* 24, 2039-2052.
- Horan N.J., Fletcher L., Betmal S.M., Wilks S.A. y Keevil C.W. (2004). Die-off of enteric bacterial pathogens during mesophilic anaerobic digestion. *Water Research* 38 (2004), 1113-1120.
- Ilangovan K. y Noyola A. (1993). Availability of micronutrients during anaerobic digestion of molasses stillage using an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. *Environ. Technol.*, 14, 795-799.

- Ingraham J., Stanier R. y Adelberg E. (1986). Microbiología, Editorial Reverte, ISBN: 84-291-1867-5, México, pp. 307-314.
- Jackson-Moss C.A. y Duncan J.R. (1991). The effect of aluminum on anaerobic digestion. *Biotechnol. Lett.*, 13 (2), 143-148.
- Jarrell K. y Sprott G.D. (1982). Nickel transport in *Methanobacterium bryantii*. *Journal of Bacteriology*. Sept. 1982, p. 1195-1203.
- Jenkins S.R., Morgan J.M. y Sawyer C.L. (1983). Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alkalimetric titration. *Jour. of Wat. Pollut. Cont. Fed.* 55, pp. 448-453.
- Jenkins S.R., Morgan J.M. y Zhan X. (1991). Measuring the usable alkalinity of operating anaerobic digesters. *Res. Jour. Wat. Pollut. Cont. Fed.* 63 (1), 28-34.
- Jetten M., Stams A. Y Zehnder A. (1992). Methanogenesis from activate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanotherx soehngenii* and *Methanosarcina spp.* *FEMS Microbiol. Rev.* 88: 181-197.
- Jiménez B., Muñoz A.M. y Barrios J.A. (1997). Estudio para fundamentar la propuesta de norma oficial mexicana en materia de tratamiento y disposición de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas municipales. Reporte final elaborado para la Comisión Nacional del Agua, México. 107 p.
- Jiménez B. y Chávez A. (2000). El Reúso de Aguas Residuales en Riego Agrícola, *Water Mirror*, No. 2 Diciembre, pp. 6-8.
- Jones W.J. y Nagle D.P. (1987). Methanogens and the diversity of archaeobacteria. *Microbiological Reviews*. American Society of Microbiology.
- Kida K., Shigematsu T., Kijima J., Numaguchi M., Mochinaga Y., Abe N. y Morimura S. (2001). Influence of Ni<sup>2+</sup> and Co<sup>2+</sup> on methanogenic activity and the amounts of coenzymes involved in methanogenesis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 91 (6) 590-595.
- Koga Y., Masateru N., Hiroyukim M. y Masayo A.M. (1993). Ether polar lipids of methanogenic bacteria: structures, comparative aspects and biosyntheses. *Microbiological Reviews*. 57, 1, 164-182.
- Koster I. y Lettinga G. (1984). The influence of ammonia nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge. *Agric. Wastes*. 9, 205-216.
- Kruegel S., Nemeth L. y Peddie C. (1998). Extending thermophilic anaerobic digestion for producing Class A biosolids at the Greater Vancouver Regional Districts Annacis Island wastewater plant. *Water Science and Technology*, 38 (8-9), 409-416.

- Lee K.M. (1989). Destruction of enteric bacteria and viruses during two-phase digestion. *J. Water Pollut. Control Fedn.*, **61**, 1421-1432.
- Li Y., Mizuno O., Miyahara T., Naike T. y Katsumata K. (1997). Ecological analysis of the bacterial system in a full-scale egg-shaped digester treating sewage sludge. *Water Science and Technology*, **36 (6-7)**, 471-478.
- Lue-Hing C., Matthew P., Namer J., Okuno N. y Spinosa L. (1996). Sludge management in highly urbanized areas. En: *A global atlas of wastewater sludge and biosolid: use and disposal* Matthew P. (ed). Reporte científico y técnico No. 40 IAWQ, Gran Bretaña.
- Lue-Hing C., Zenz D.R. y Kuchenrither R. (1992). Municipal sewage sludge management: processing, utilization and disposal. (Ed.) Technomic, Publishing Company, Inc., USA, 661 p.
- Madigan M. y Marris B. (1997). Extremofilos. *Investigación y ciencia*. 60-66.
- Malina J.F. y Pohland F.G. (1992). Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes. Technomic Publishing Co. USA. pp. 167-207.
- Masse L., Massé D.I. y Kennedy K.J. (2003). Effect of hydrolysis pretreatment on fat degradation during anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater. *Process Biochemistry*. **38 (2003)**, 1365-1372.
- McCarty P. y McKinney R. (1961). Salt toxicity in anaerobic digestion. *J. Water Pollut. Control Fed.* **33**, 399-415.
- McCarty P.L. (1964). Anaerobic waste treatment fundamentals, Part Three: Toxic Materials and Their Control. *Pub. Works*, **95 (11)**, 91-94.
- Metcalf and Eddy Inc. (1991). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*. Ed. McGraw-Hill, USA, 1334 p.
- Metcalf & Eddy (2003). *Wastewater Engineering: treatment and reuse*. 4<sup>rd</sup> Edition. Ed. McGraw-Hill, ISBN: 0-07-112250-8, USA.
- Metcalf & Eddy, Inc. (1996). *Ingeniería de las Aguas residuales. Tratamiento vertido y reutilización*. Vol II. McGraw-Hill, Nueve Cork, 1996. pp. 341-381.
- Milán Z., Sánchez E., Weiland P., Borja R., Martín A. y Ilangovan K. (2001). Influence of different natural zeolite concentrations on the anaerobic digestion of piggery waste. *Bioresource Technology*. **80 (2001)**, 37-43.
- Milán Z., Villa P., Sánchez E., Montalvo S., Borja R., Ilangovan K. y Briones R. (2003). Effect of natural and modified zeolite addition on anaerobic digestion of piggery waste. *Water Science and Technology*, **48 (6)**, 263-269.

- Mishra S.R., Bharati K. Sethunathan N. Y Adhya T.K. (1999). Effect of heavy metals on methane production in tropical rise soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **44** (1999), 129-136.
- Montalvo S. y Guerrero L. (2003). Tratamiento Anaerobio de Residuos. Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso Chile, 413 pp.
- NOM-004-SEMARNAT-2002. *Lodos y biosólidos: Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final*. Diario Oficial. 15 de Agosto del 2003.
- Noyola A. (1994). Diseño, inoculación y arranque de reactores UASB. Tratamiento anaerobio memoria del III Taller y Seminario Latinoamericano "Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales". Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. pp. 331-340.
- Noyola A. (1998 a). Anaerobio vs. Aerobio, un debate (casi) superado. Biológico vs. Primario avanzado, ¿el nuevo debate? Ingeniería y ciencias ambientales. Núm. 34, Enero-Febrero. pp. 10-14.
- Noyola A. (1998 b). Digestión anaerobia de lodos. Memorias del curso "Digestión anaerobia de lodos y aguas residuales". Federación Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales A.C. México.
- Oleszkiewicz J.A. y Mavinic D.S. (2002). Wastewater biosolids: an overview of processing, treatment and management. *J. Environ. Eng. Sci.* **1**: 75-88.
- Orozco R. S. (2002) Subproductos del tratamiento de aguas: Tratamiento de lodos fisicoquímicos por digestión anaerobia termofílica y mesofílica. Facultad de Ingeniería Civil, UMSNH. Tesis de Licenciatura.
- Pelczar M., Reid R. y Chan E. (1988). Microbiología. Segunda Edición. McGraw-Hill. México, D.F. pp. 681-703.
- Pfeffer J.T. (1974). Temperature effects on anaerobic fermentation of domestic refuse. *Biotechnol Bioeng.* **16**, 771-787.
- Pohland F.G. y Bloodgood D.E. (1963). Laboratory Studies on Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Sludge Digestión. *J. Water Pollut. Control Fed.* **35**, 1, 11-42.
- Rimkus R., Ryan J. y Cook E. (1982). Full scale thermophilic digestión at the west-southwest sewage treatment Works, Chicago Illinois. *J. Water Pollut. Control Fed.* **54**, 11, 1447-1457.

- Rojas Oropeza M., Cabirol N., Ortega S., Castro Ortiz L.P. and Noyola A. (2001). Removal of fecal indicator organisms and parasites (fecal coliforms and helminth eggs) from municipal biologic sludge by anaerobic mesophilic and thermophilic digestion. *Water Science and Technology*, 44 (4), 97-101.
- Rowe D. (1971). Anaerobic sludge digestion. Mesophilic and thermophilic. *Wat. & Sew. Works*. 118, 3, 74-81.
- Sharma J. y Singh R. (2001). Effect of nutrients supplementation on anaerobic sludge development and activity for treating distillery effluent. *Bioresource Technology*. 79 (2001), 203-206.
- Shima S., Warkentin E., Thauer R. y Ermler U. (2002). Structure and function of enzymes involved in the methanogenic pathway utilizing carbon dioxide and molecular hydrogen. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 93 (6), 519-530.
- Speece R.E. (1983). Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental Sci. & Technology*, 17 (9): 416-427.
- Speece R.E., Parking G.F. (1983). Nickel stimulation of anaerobic digestion. *Water Resources*. 17 (6), 677-683.
- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. (1995) 19<sup>th</sup> ediction. *APHA, AWWA, WEF*. Washington, D.C.
- Stover R.C., Sommers L.E. y Silveira D.J. (1996). Evaluation of metals in wastewater sludge. *Journal WPCF*, 48 (9), Septiembre, pp 2165-2175.
- Stuckey D.C. y McCarty P.L. (1984). The effect of thermal pretreatment on the anaerobic biodegradability and toxicity of waste activated sludge. *Water Resources*, 18 (11): 1343-1353.
- Sundaram T. (1986). Thermophiles: general, molecular and applied microbiology. *App. Microbiol. Biotechnol.* 37, 130-135.
- U.S. EPA, (1992). Technical Support Document for Reduction of Pathogens and Vector Attraction in Sewage Sludge. EPA 822/R-93-004, US EPA, Cincinnati, OH.
- Varel V., Hashimoto A. y Chen J. (1980). Effect of temperature and retention time on methane production from cattle waste. *App. Envir. Microbiol.* 40, 217-222.
- Vesilind P., Hartman G. y Skene E. (1986). Sludge management & disposal for the practicing engineer. De Lewis Publisher, Inc. U.S.A.
- Watanabe H., Kitamura T., Ochis S. y Ozaki M. (1997). Inactivation of pathogenic bacteria under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Science and Technology*, 36 (6-7), 25-32.

- Water Environment Federation (1993). Sludge stabilization. Manual of practice No. FD-9. USA. pp 1-53, 81-105.
- White C.J. y Stuckey D.C. (2000). The influence of metal ion addition on the anaerobic treatment of high strength, soluble wastewaters. *Environmental Technology*, 21, 1283-1292.
- Whiteley C.G., Burgess J.E., Melamane X., Pletschke B. Y Rose P.D. (2003). The enzymology of sludge solubilisation utilising sulphate-reducing systems: the properties of lipases. *Water Research* 37 (2003), 289-296.
- Winkler M. (1994). Tratamiento biológico de aguas de desecho. Editorial Limusa. México.
- Zábranská J., Dohányos M., Jeníček P., Ruzicikova H. y Vránová A. (2003). Efficiency of autothermal aerobic digestion and thermophilic anaerobic digestion of municipal wastewater sludge in removing *Salmonella* spp. and indicator bacteria. *Water Science and Technology*, 47 (3), 151-156.
- Zeeman G., Wiegant W., Koster-Treffer M y Lettinga G. (1985). The influence of the total ammonia concentration on the thermophilic digestion of cow manure. *Agric. Wastes*, 14, 19-35.
- Zehnder A. J. B. (1978). Ecology of methane formation. En *Water Pollution Microbiology* Vol. 1., John Wiley & Sons.
- Zeikus J. y Wolfe R. (1972). *J. Bacteriology*. 109, 707-713.
- Zinder S.H., Caldwell S.C. y Angushi T. (1984). Effects of temperature on methanogenesis in thermophilic (58 °C) anaerobic digestors. *Appl. Environ Microbiol.* 47, 4, 808-813.
- Zinder S. (1988). Proceedings of 5<sup>th</sup> international symposium on anaerobic digestion. Bologna, Italia.
- Zinder S.H. (1986). Thermophilic Waste Treatment Systems. In: Brock (ed). *Thermophiles: general, molecular and applied biology*. Wiley-Interscience, New York, N.Y., 257-277.

# ANEXO

## TÉCNICA DE ESPECIACIÓN DE METALES

(Stover *et al.*, 1996)

### Metodología

Las muestras de lodo se toman directamente a la salida del reactor anaerobio en recipientes de plástico y se almacenan a 4 °C, hasta que sean analizados. Inicialmente se determinan sólidos totales y sólidos suspendidos volátiles, así como proteína; los resultados se reportan en mg o ppm del metal/mg SSV o mg metal/ST o mg metal/g de proteína del lodo. Todas las extracciones se hacen por duplicado. Usar agua desionizada para preparar las soluciones y enjuagar el material.

### Materiales y reactivos

KNO<sub>3</sub> 1M  
KF 0.5M  
Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0.1M  
EDTA 0.1M  
HNO<sub>3</sub> 1M  
HCl 0.5N  
Agua desionizada  
Vasos de precipitados de 1L  
Matraces aforados de 1L  
Tubos de centrifuga

### Equipo

Agitador de prueba de jarras  
Centrifuga  
Balanza granataria

### Procedimiento experimental

Para evaluar la forma de los metales en lodos, es necesario desarrollar un esquema de fraccionamiento preciso, capaz de recuperar metales de cada fase por separado, el procedimiento de extracción secuencial se adaptó para separar los metales en sus fracciones intercambiables, sorbidas, puentes orgánicos, carbonatos y sulfuros.

Entre cada extracción el lodo residual es lavado con 25 mL de agua desionizada, centrifugado y descartado el sobrenadante, para remover el reactivo remanente y los

metales presentes en el lodo residual de la extracción previa, (se puede guardar para analizar y verificar el porcentaje de recuperación).

La secuencia de reactivos, tiempo de extracción y proporción de la solución: sólidos, son los siguientes:

### **Metales Intercambiables**

La primera extracción para obtener metales intercambiables se realiza con una solución de  $\text{KNO}_3$  1M, con agitación en equipo de prueba de jarras a 20-25 rpm durante 16 horas, en una relación 50:1 (agente de extracción: lodo). Posteriormente se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos (4000 rpm por 25 min).

1. El sobrenadante se almacena a 4 °C y a los sólidos se les adiciona 25 ml de agua.
2. Se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos.
3. El sobrenadante del lavado se puede desechar o guardar para analizar metales en el lavado y los sólidos pasan a la siguiente extracción.

### **Metales Sorbidos**

Al lodo se le realiza la segunda extracción para metales sorbidos con KF 0.5M (pH 6.5), durante 16 horas, con agitación a 20-25 rpm y en una relación 80:1.

1. Se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos (4000 rpm por 25 min).
2. El sobrenadante se almacena a 4 °C y a los sólidos se les adiciona 25 ml de agua.
3. Se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos.
4. El sobrenadante se desecha y los sólidos pasan a la siguiente extracción.

### **Puentes Orgánicos**

Tercera extracción para metales en puentes orgánicos con  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  0.1M, con agitación a 20-25 rpm durante 16 horas y en una relación 80:1.

1. Centrifugar a 10000 rpm por 10 minutos (4000 rpm por 25 min).
2. El sobrenadante se almacena a 4 °C y a los sólidos se les adiciona 25 ml de agua.
3. Se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos.
4. El sobrenadante se desecha y los sólidos pasan a la siguiente extracción.

### **Puentes de Carbonatos**

Cuarta extracción para metales en puentes de carbono con EDTA 0.1M (pH 6.5), con agitación a 20-25 rpm durante 8 horas y en una relación 80:1.

1. Centrifugar a 10000 rpm por 10 minutos (4000 rpm por 25 min).
2. El sobrenadante se almacena a 4 °C y a los sólidos se les adiciona 25 ml de agua.
3. Se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos.
4. El sobrenadante se desecha y los sólidos pasan a la siguiente extracción.

Quinta extracción para metales en puentes de carbono (doble extracción) con EDTA 0.1M (pH 6.5), con agitación a 20-25 rpm durante 8 horas y en una relación 80:1.

1. Centrifugar a 10000 rpm por 10 minutos (4000 rpm por 25 min).

2. El sobrenadante se almacena a 4 °C y a los sólidos se les adiciona 25 ml de agua.
3. Se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos.
4. El sobrenadante se desecha y los sólidos pasan a la siguiente extracción.

**Fracción de sulfuros**

Sexta extracción para metales en fracción de sulfuros con HNO<sub>3</sub> 0.1M, con agitación leve durante 16 horas y en una relación 50:1.

1. Centrifugar a 10000 rpm por 10 minutos (4000 rpm por 25 min).
2. El sobrenadante se almacena a 4 °C y a los sólidos se les adiciona 25 ml de agua.
3. Se centrifuga a 10000 rpm por 10 minutos y se desecha el sobrenadante.