



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales
"IZTACALA"

Estudio del Arranque de Reactores VASB
Alimentados con varias Clases de Efluentes
e Inoculados con Lodos Activados
Adaptados ó Estiercol de Vaca

T E S I S

Que para obtener el Título de:

Licenciado en Biología

p r e s e n t a n :

Diana García Aguirre

Sara Mendoza Flores

México, D. F.

Agosto de 1991

INDICE

	pags.
RESUMEN.....	1
1. Introducción.....	2
1.1. Generalidades.....	2
1.2. Metanogénesis.....	4
1.2.1. Primera etapa: Hidrólisis y Fermentación.....	5
1.2.2. Segunda etapa: Homoacetogénesis.....	6
1.2.2.1. Las Bacterias OHPA.....	6
1.2.2.2. Las Bacterias Homoacetogénicas.....	8
1.2.2.3. Las Bacterias Sulfatoredutoras (BSR).....	9
1.2.3. Tercera etapa: Metanogénesis.....	10
1.3. Descripción de los Digestores Anaerobios.....	12
1.3.1. Ventajas y Desventajas.....	16
2. Antecedentes.....	18
3. Importancia del Estudio.....	20
4. Objetivo.....	22
5. Material y Método.....	22
5.1. Reactores Utilizados.....	22
5.2. Inoculos y Operación de los Reactores.....	23
5.3. Características del Agua de Alimentación.....	25
5.4. Técnicas de Análisis Químicos.....	28
5.5. Análisis Microbianos.....	30
5.6. Cinéticas.....	32
5.7. Proteínas y Azúcares Totales.....	34
6. Resultados y Discusión.....	34
6.1. Pruebas Fisicoquímicas.....	34
6.2. Granulometría.....	60
6.3. Pruebas Microbiológicas.....	66
6.3.1. Conteos Microbianos (NMP).....	66
6.3.2. Actividad.....	72
6.3.3. Proteínas, Azúcares y % de SSV.....	81
7. Reactor Alimentado con Vinazas Procedentes de una Industria Productora de Levaduras: Análisis Físicoquímico de un Arranque en Condiciones no Adecuadas.....	85
8. Conclusiones.....	92
9. Bibliografía.....	97

RESUMEN

Tres reactores UASB (1,2y3) fueron inoculados con estiércol fresco de vaca (EV), otros tres más (4,5y6) se inocularon con lodos activados adaptados (LAA), los seis se alimentaron con un efluente sintético utilizando ácido acético y propiónico como sustratos, a los reactores 2 y 5 se les adicionó al medio de alimentación 0.5g/L de glucosa anhidra y 0.2 g/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ a los reactores 3 y 6. Todos se operaron a un TRH de 24 h durante 4 meses con una carga orgánica volumétrica de 0.5 kgDQO/m³.d. La adición de sulfato ferroso se tradujo en un tiempo de arranque menor de 50 días para ambos inóculos, lograndose una reducción del lodo hasta valores de -180 mV para los LAA, que fue la causa de las mejores eficiencias logradas: 79% para LAA y 66% para EV. Al agregar glucosa al efluente no se dieron efectos positivos, ya que sólo en los LAA se alcanzó una eficiencia de remoción de 75% y un arranque en 42 días, no sucediendo lo mismo para el inoculado con EV donde se dió una fuerte baja en la eficiencia de remoción (28%). Sin embargo, la glucosa ayudó a que se diera un mayor crecimiento en número de BMH y OHPA para ambos inóculos, así el FeSO_4 no tuvo una influencia directa sobre el crecimiento bacteriano pero sí sobre la actividad específica y la velocidad máxima de degradación. Para aquellos reactores alimentados únicamente con AGVs se obtuvieron bajas eficiencias de remoción y lo más importante, el tiempo que tardaron en arrancar éstos fué mucho mayor, de 80 días; con lo que se concluyó que el inóculo más adecuado para arrancar reactores UASB son los LAA para los tipos de alimentación probados, en tanto que el EV puede ser empleado si se adiciona FeSO_4 al medio en una cantidad de 0.2g/L.

Un séptimo reactor inoculado con LAA y alimentado con vinazas a un TRH de 24h y una carga orgánica de 0.5 kgDQO/m³.d fué operado durante un mes, pero su arranque se logró sólo al momento que se disminuyó la carga orgánica a un valor de 0.21 kgDQO/m³.d, conservando el mismo TRH.

1. INTRODUCCION

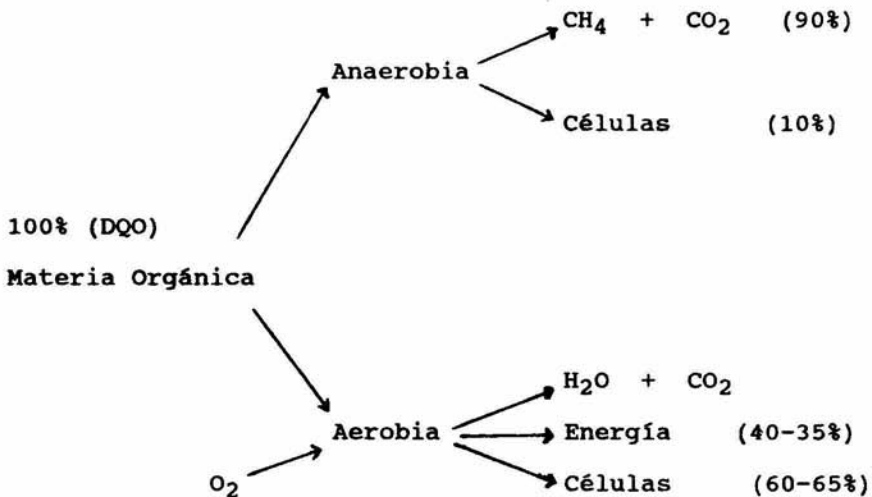
1.1. GENERALIDADES

La necesidad de prevenir la contaminación de las fuentes de agua, como consecuencia del rápido incremento de los desechos humanos, demanda adecuados tratamientos de desechos líquidos de fuentes domésticas e industriales. Los residuos líquidos orgánicos, ya sea en forma de suspensiones concentradas o en forma soluble, son generalmente tratados por procesos microbiológicos; de las dos vías metabólicas, la aerobia ha sido hasta la fecha la más utilizada, y por su parte la digestión anaerobia estuvo por mucho tiempo aplicada a contados casos, sin embargo esta última puede jugar un importante papel como un método para estabilizar y eliminar desechos tales como materiales orgánicos disueltos y suspendidos. Hasta mediados del presente siglo las bases teóricas comenzaron a ser planteadas. Hoy en día el avance es considerable; a ello ha contribuido el auge de la Biotecnología en general, y la necesidad de ejercer cada vez un control más estricto sobre los efluentes contaminantes. (Noyola, 1990).

Las reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en el proceso anaerobio, son parecidas a las que se realizan en el medio natural, en sedimentos de diversos medios acuáticos (mares, lagos), en los pantanos, en el corazón

de los árboles vivientes, en el tracto de animales (tal como en rumen), en manantiales termales y hasta en el intestino de seres humanos, sólo que en forma controlada y a velocidades de reacción mayores. Es por eso que técnica y económicamente resulta el sistema de tratamiento más adecuado para este tipo de desechos. En los procesos biológicos, la materia orgánica contaminante es usada como alimento por los microorganismos presentes en los reactores, y así obtienen la energía para reproducirse, y los compuestos contaminantes son transformados en nuevas células u otros productos que pueden ser más fácilmente separados del agua.

Los organismos anaerobios liberan materia orgánica rica en energía, ya que la energía contenida en los enlaces de los compuestos orgánicos, quedan en su mayor parte, al final del proceso, en los enlaces de metano. Es decir los organismos anaerobios no utilizan completamente la energía potencial que reciben, utilizan el 10% de la energía de su sustrato para funciones de reproducción y el 90% restante se conserva como metano. Los organismos aerobios emplean de un 60 a 65% de la energía del sustrato en la síntesis de nuevas células, y la fracción restante es utilizada para llevar a cabo otras funciones metabólicas y disipada en forma de calor -Esquema 1-, (Cuervo, 1988).



Esquema 1. Flujo de energía en los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales. (Noyola, 1990).

La energía contenida en el metano puede utilizarse como energía calorífica directamente o transformada a energía mecánica o eléctrica según las necesidades existentes en el sitio. (Noyola, 1990).

1.2. METANOGENESIS

La conversión de la materia orgánica a metano es realizada por un conjunto de poblaciones bacterianas complejas, que dentro de las condiciones medio-ambientales precisas (redox < -350 mV y pH cercano a la neutralidad), forman asociaciones estables. Este proceso se lleva a cabo en tres pasos principales (García, 1983; Guyot, 1990), -Esquema 2-.

1.2.1. Primera etapa: Hidrólisis y Fermentación.

En esta etapa los polímeros naturales tales como la celulosa, la pectina, las proteínas, etc., o compuestos de más bajo peso molecular (aminoácidos, sacáridos, lípidos, compuestos aromáticos, etc.) son transformados por hidrólisis y fermentación en ácidos carboxílicos, alcoholes, hidrógeno y dióxido de carbono. Los ácidos carboxílicos producidos son principalmente ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico, butírico, valérico, por ejemplo) .

Las bacterias responsables de esta etapa pertenecen a diferentes grupos y pueden ser anaerobias facultativas o estrictas. Entre ellas, las bacterias anaerobias celulolíticas han despertado un gran interés por su capacidad de hidrolizar la celulosa, y en esta última década se han descubierto un amplio número de bacterias celulolíticas. Actualmente se tiene un gran interés por las bacterias capaces de fermentar los compuestos aromáticos, tal como los procedentes de la lignina, los que se encuentran en los efluentes de la industria química (fenoles, ácido benzo carboxílico, ácido fenilacético, etc.), los derivados de ácidos aminados, etc.

En esta etapa si no se controla bien el reactor puede ocurrir una desestabilización del proceso entero, dado que en caso de una sobrecarga, la hidrólisis de la

materia orgánica provoca una sobreproducción de ácidos que van a acidificar exageradamente el medio y bajar el pH hasta niveles inhibitorios; además se puede producir un exceso de hidrógeno que va a inhibir la metanogénesis.

Bacterias anaerobias estrictas del género Clostridium constituyen una fracción importante en la población anaerobia responsable de la primera etapa, pero se ha reportado también la presencia de otros tipos bacterianos tales como Bacteroides, Bacillus, Enterobacterias, Pelobacter, Acetobacterium, Ilyobacter, etc.

1.2.2. Segunda etapa: Homoacetogénesis. Donde intervienen tres grupos bacterianos principales:

1.2.2.1. Las bacterias OHPA.

Durante la acetogénesis, los productos de fermentación producidos anteriormente son convertidos en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por un grupo de bacterias denominadas "bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno" o OHPA (Obligate Hydrogen Producing Acetogen). Estas bacterias son inhibidas por el hidrógeno que producen, y es necesario que éste no se acumule en el medio; por eso tienen una estrecha relación con bacterias que remueven el hidrógeno, bacterias que llamadas hidrogenofílicas y por lo general estas bacterias son metanogénicas, pero si el medio contiene sulfatos, las bacterias sulfato-reductoras (BSR)

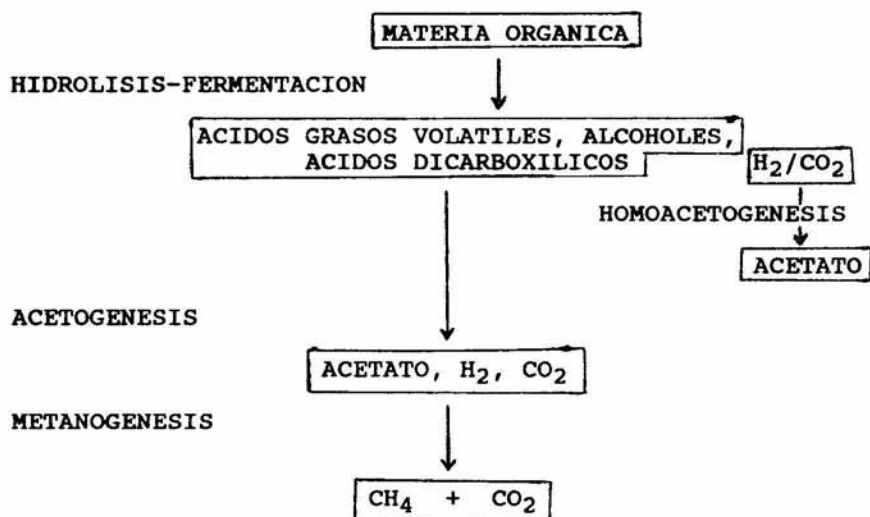
substituyen a las metanogénicas, cuando el medio no tiene sulfatos. Ciertos grupos de BSR son capaces de establecer una relación sintrófica con las metanogénicas hidrogenofílicas, de la misma manera que las bacterias OHPA.

Esta relación sintrófica que se establece entre bacterias productoras de hidrógeno y bacterias hidrogenofílicas, y que procura una ventaja para los donadores de hidrógeno recibe el nombre de transferencia interespecies de hidrógeno.

Si las presiones parciales en hidrógeno exceden 10^{-1} atm para el etanol, 10^{-3} atm para el propionato y 10^{-4} atm para el butirato, la degradación de estos compuestos por medio de la transferencia interespecie de hidrógeno no puede ocurrir. Así una sobrecarga de un reactor o una inhibición de las bacterias hidrogenofílicas, puede conducir a una sobreproducción de hidrógeno cuya acumulación va a inhibir la digestión anaerobia y llevar el reactor a fallar. Este fenómeno de transferencia interespecie tiene también su importancia a nivel de la primera etapa de la digestión anaerobia. Numerosas bacterias fermentativas son capaces de transferir electrones vía el hidrógeno a bacterias hidrogenofílicas, lo que resulta, por parte de estas bacterias, en un incremento en acetato y por consecuencia en una ganancia energética. Sin esta transferencia de hidrógeno, o en caso de una acumulación de hidrógeno, estas bacterias

fermentativas estarían en la obligación termodinámica de producir mayores cantidades de compuestos tales como etanol, lactato, propionato, butirato, etc. Lo que no es interesante para el sistema porque está "diseñado" para una producción máxima de acetato, principal precursor del metano en los reactores anaerobios.

Históricamente la primera bacteria OHPA identificada fue el llamado "organismo S" involucrado en una relación sintrófica con la bacteria metanogénica Methanobacterium MoH, para la oxidación del etanol en metano.



Esquema 2. Degradación anaeróbica de la materia orgánica.

1.2.2.2. Las bacterias Homoacetogénicas.

Este grupo es capaz de transformar una mezcla de hidrógeno-dióxido de carbono, y algunos sacáridos, tal como la glucosa y fructosa, en acetato únicamente. La reacción de homoacetogénesis se efectúa así:



Nuevos géneros han sido descubiertos en esta última década, además de las bacterias homoacetogénicas pertenecientes al género Clostridium, tal como Acetobacterium woodii, etc.

1.2.2.3. Las bacterias Sulfatoreductoras. (BSR).

Estas bacterias se caracterizan por su capacidad de reducir los sulfatos en sulfuros de hidrógeno. La importancia de este grupo en los digestores depende principalmente de la presencia de sulfato en el efluente a tratar y también de la capacidad de unas BSR de establecer en ausencia de sulfato, una transferencia interespecie de hidrógeno con bacterias metanogénicas.

Básicamente las BSR pueden ser divididas en dos grupos principales (Pfennig, et al., 1981 tomado de Guyot, J.P. 1990):

(i) las BSR del grupo I capaces de oxidar parcialmente el lactato en acetato y dióxido de carbono, la mayoría puede también utilizar el etanol. Las más representativas son Desulfovibrio vulgaris y Desulfovibrio desulfuricans, estas dos bacterias pueden establecer una transferencia interespecies de hidrógeno con una metanogénica en ausencia de sulfatos.

(ii) las BSR del grupo II realizan en presencia de sulfatos la oxidación de los ácidos grasos volátiles y de unos compuestos aromáticos. En ausencia de sulfatos, no pueden realizar una transferencia interespecie de hidrógeno, lo que deja a las OHPA la exclusividad de la degradación de los ácidos grasos volátiles cuando el efluente no tiene sulfatos.

1.2.3. Tercera etapa: Metanogénesis.

Esta etapa es llevada a cabo por el grupo de bacterias metanogénicas, este grupo tiene características fisiológicas y metabólicas particulares. Tal como las bacterias de la etapa dos, las metanogénicas son anaerobias estrictas y es necesario tener potenciales de oxido-reducción inferiores a -330 mV. para que pueda iniciarse la metanogénesis. Existen especies mesofílicas y especies termofílicas.

Las particularidades bioquímicas de las bacterias metanogénicas, tal como la composición particular de su pared, unas secuencias nucleotídicas, sus coenzimas y metabolismo, hicieron que fueran clasificadas en una nueva división Mendosicutes en la cual se encuentran las Archaeobacterias . A esta misma división pertenecen bacterias extremadamente termófilas y halófilas.

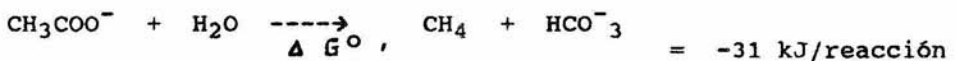
Las bacterias metanogénicas oxidan un número reducido de sustratos: hidrógeno, formato, metanol,

metilaminas, acetato, etanol, propanol-2 y ciclopentanol (Rouvière et Wolfe, 1988; Widdel, 1986 tomado de Guyot, J.P. 1990). Básicamente, estas bacterias pueden dividirse en dos grandes grupos tróficos:

(i) las bacterias hidrogenofílicas no acetoclásticas: obtienen su energía de la oxidación del hidrógeno en presencia de dióxido de carbono como aceptor de electrones, la mayoría de las bacterias de este grupo pueden utilizar el formato. Estas bacterias no pueden utilizar el acetato como fuente de energía pero unas lo utilizan como fuente de carbono. Los ejemplos más clásicos de estas bacterias y las más utilizadas en estudios bioquímicos y fisiológicos son:

- Methanobacterium formicicum : (bacilos)
- Methanospirillum hungatei : (largos filamentos)
- Methanobrevibacter sp. : (bacilos cortos)
- Methanobacterium thermoautotrophicum : (especie termofílica, bacilos largos).

(ii) las bacterias metanogénicas acetoclásticas: producen metano a partir del grupo metil del acetato según esta ecuación:



Esta reacción es de suma importancia para la digestión anaerobia, dado que el 73% del metano producido por los digestores anaerobios viene del acetato (Smith y Mah, 1966 tomado de Guyot, J.P. 1990).

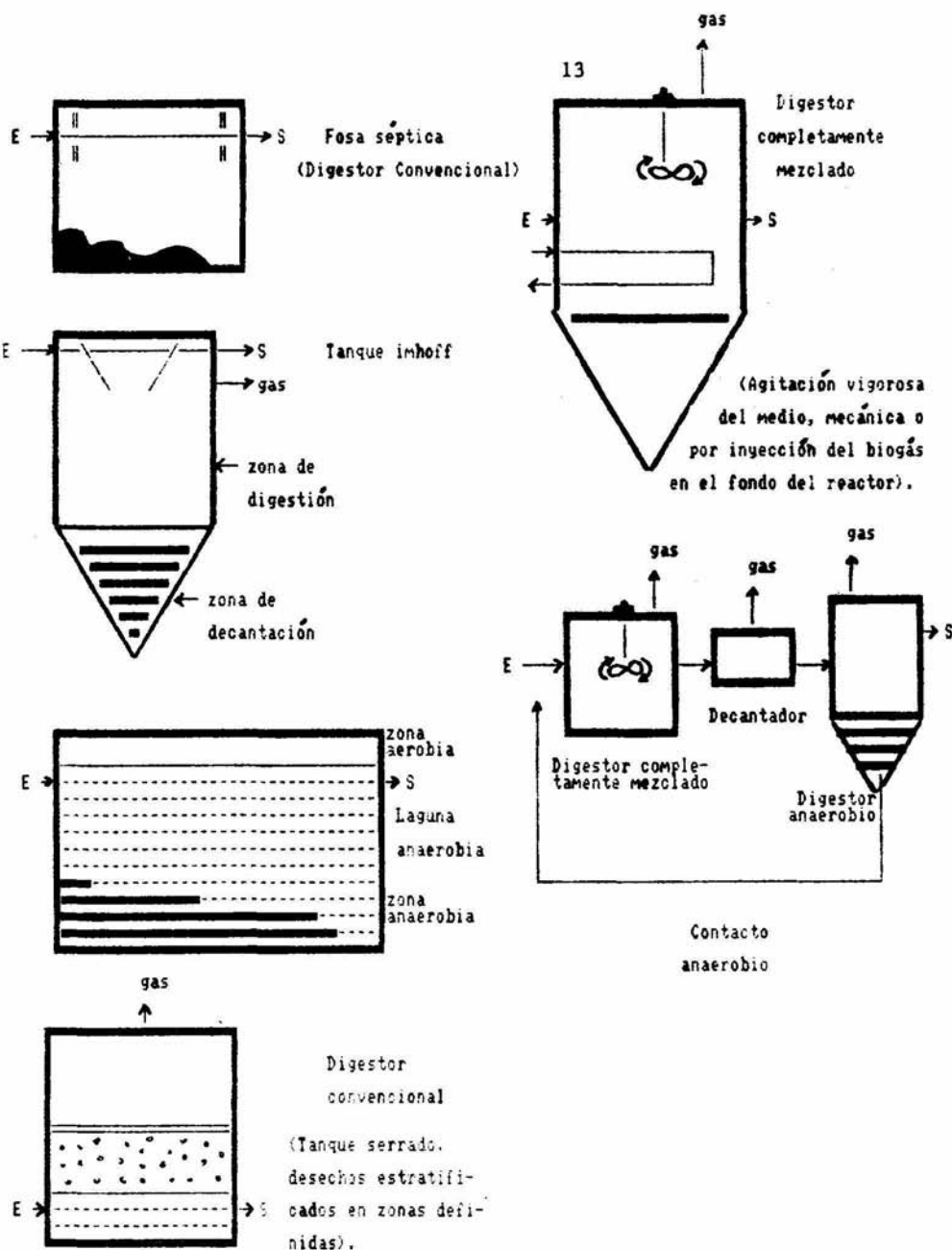
En este grupo de bacterias, algunas pueden utilizar el metanol, las metilaminas y el hidrógeno. Las metanogénicas acetoclásticas pueden dividirse en dos géneros:

- las bacterias del género Methanosarcina.
- las bacterias del género Methanosaeta : anteriormente este género era conocido bajo el nombre de "Methanothrix" (Zehnder et al., 1980 tomado de Guyot, J.P. 1990), pero recientemente Patel y Sprott 1990, (tomado de Guyot, J.P. 1990) cambiaron su designación por el de Methanosaeta; sin embargo por razones históricas y por costumbre, se sigue hablando de Methanothrix.

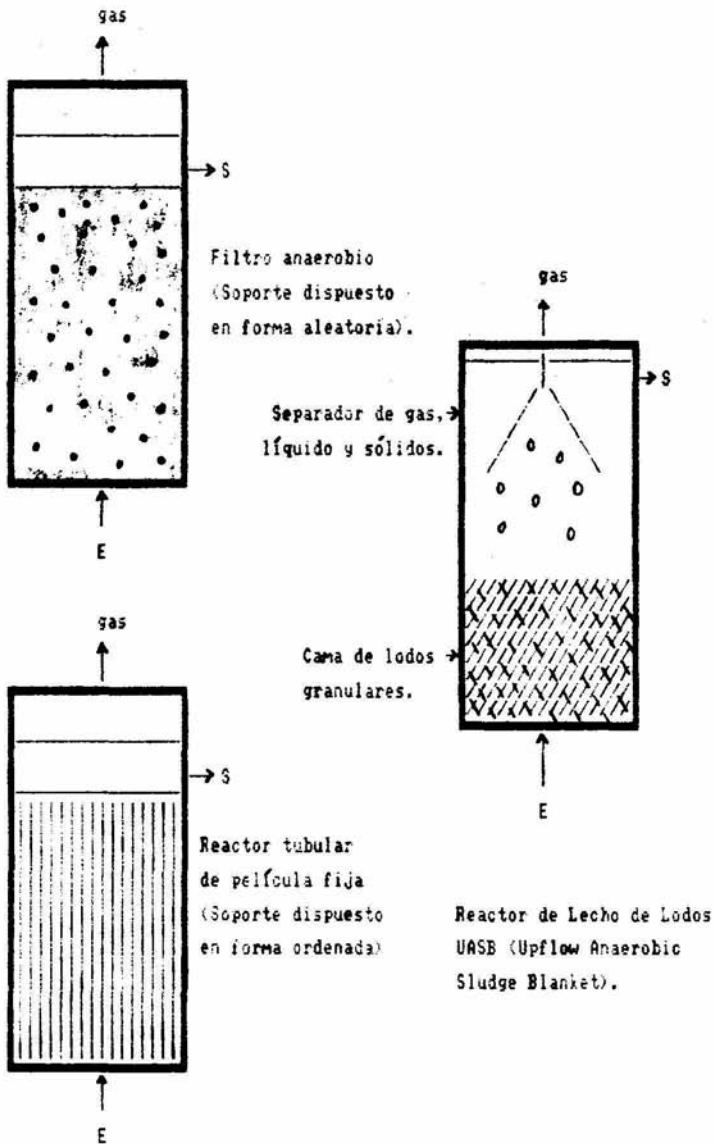
1.3. DESCRIPCION DE LOS DIGESTORES ANAEROBIOS

El desarrollo de la tecnología anaerobia ha dado lugar a tres generaciones de reactores (Noyola, 1990).

En la primera generación se comprende aquellos procesos donde la biomasa se encuentra en suspensión (Esquema 3); en los de segunda generación los microorganismos son retenidos en el reactor, ya sea al suministrarles un soporte para que se adhieran en forma de biopelícula, o bien por medio de su sedimentación (Esquema 4); los reactores de tercera generación tienen también los microorganismos en forma de biopelícula, pero el soporte se expande o fluidiza con altas velocidades de flujo.



Esquema 3. Reactores anaerobios de 1ª generación, cuya característica general es tener tiempos de retención más largos que los de 2ª generación. Encerrada, Encerrada.



Esquema 4. Reactores anaerobios de 2a. generación. E=entrada, S=salida.

Dentro del grupo de reactores de segunda generación se encuentra el reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) conocido como reactor de lecho de lodos, el cuál es un proceso bién establecido para el tratamiento anaerobio de varios desechos líquidos, (Esquema 4).

Lettinga et.al (1982) desarrollaron este tipo de reactor que se ha difundido en varios países. No requiere ningun tipo de soporte para retener la biomasa, lo que implica un ahorro importante. Su principio de funcionamiento se basa en la buena sedimentabilidad de la biomasa producida dentro del reactor, la cual se aglomera en forma de gránulos o "pellets". Estos granos cuentan con una actividad metanogénica muy elevada. Este reactor es de flujo ascendente y en la parte superior cuenta con un sistema de separación gas-líquido-sólido, el cual evita la salida de sólidos suspendidos en el efluente y favorece la evacuación del gas y la decantación de los flóculos que eventualmente llegan a la parte superior del reactor. Un punto importante en su diseño es la distribución de las entradas de agua residual, ya que una mala repartición puede provocar que ciertas zonas de la cama de lodos no sean alimentadas, desperdiciando así su actividad. (Noyola, 1990).

La capacidad de decantación de estos lodos favorece un alto grado de retención de biomasa en el reactor, que cuenta con una buena actividad metanogénica y permite lograr bajos tiempos de retención hidráulica con altos

tiempos de retención de los microorganismos (Lettinga, et.al 1982).

Al arrancar un reactor UASB lo ideal es inocularlo con un volúmen suficiente de inóculo, pero esto es facilitado cuando existen reactores UASB en operación que ya han acumulado suficientes lodos (Noyola et al., 1988), si no es necesario encontrar otras fuentes de inóculo.

1.3.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS

En México los pocos sistemas de tratamientos de aguas son del tipo aerobio, y los procesos anaerobios prácticamente no existen (sólo algunos digestores rurales de desechos agrícolas y ganaderos). Los avances colocan a la digestión anaerobia en un lugar comparable y a veces superior a los procesos aerobios. La aplicación de este proceso microbiano al tratamiento de desechos orgánicos tiene atractivos y puntos a desfavor (Lettinga, et.al 1982).

Ventajas:

- Limitada producción de lodos de desecho (ahorro considerable en el sistema de tratamiento de lodos).
- Bajos requerimientos de nutrimentos.
- Producción de energía en forma de metano.
- Requerimientos limitados de equipo (sistemas relativamente simples).

- Pueden ser aplicadas altas tasas de carga (procesos estables).
- La actividad de los lodos anaerobios puede ser preservada después de varios meses sin alimentación (adecuado a las industrias de temporada).

Desventajas:

- La digestión anaerobia es por lo regular sensible a los compuestos tales como CHCl_3 , CCl_4 , CN^- y metales pesados, así como cambios bruscos en su alimentación.
- Se requieren períodos relativamente largos para el arranque del proceso, debido a las lentas tasas de crecimiento de las bacterias anaerobias.

Por otro lado los inconvenientes son la necesidad en algunos casos de realizar un postratamiento (en el caso de descarga en un cuerpo receptor sensible), y la mala imagen tradicional de la digestión anaerobia (obstáculo a su aplicación a nivel industrial), (Lettinga *et al.*, 1982).

La calidad del agua de salida es mejor en el proceso aerobio, pero sus costos son mucho más fuertes. De requerirlo el proceso anaerobio puede ser seguido de un pulimiento aerobio, pero ya alimentado con sólo el 5% de la carga original, reduciendo considerablemente sus costos; el conjunto tendría una eficiencia superior al 99%. (Noyola, 1990).

A primera vista se puede comparar el rumen y los digestores anaerobios: en el rumen se tiene una entrada de alimento y una salida, es mezclado por movimientos musculares, y produce metano y dióxido de carbono y un alto contenido de microorganismos. El tiempo de residencia en el rumen para los organismos en suspensión y las partículas pequeñas es de un día aproximadamente. Pero en realidad los dos sistemas tienen metas diferentes. Los digestores están optimizados para una producción máxima de metano y mínima de ácidos, por el contrario el rumen es más optimizado para la producción de ácidos, los ácidos grasos volátiles son absorbidos a través de la pared del rumen, y representan el 50% de la energía asimilable en los ruminantes. En el rumen se considera que la mayoría del metano producido viene del hidrógeno. Por el contrario en los digestores es el acetato el mayor precursor del metano, (73%), (Guyot, 1988).

2. ANTECEDENTES

El tratamiento de aguas residuales en México es una necesidad urgente, debido a los efectos negativos que causa la descarga de efluentes industriales y municipales en las corrientes naturales de agua. De acuerdo con datos de la Comisión Nacional del Agua (CNA, 1989 tomado de Noyola, 1990), en las 650 poblaciones mayores de 10 000 habitantes, existen 256 plantas de tratamiento con capacidad instalada para $14 \text{ m}^3/\text{s}$ que representan un 12%

del caudal evacuado. Lo más grave es que el 65% (166) de las plantas no opera, 7% (18) opera a eficiencias menores al 40%, 23% (59) logra entre un 40 y un 80% y sólo el 5% (13) alcanzan eficiencias mayores al 80%; esto para los diferentes tipos de procesos adoptados; y en materia de depuración de las aguas de desecho industriales es aún más grave (sólo 60 plantas de acuerdo con SEDUE en 1985). Una opción a este problema es el tratamiento anaerobio de desechos, particularmente los reactores UASB (por sus ventajas ya descritas) que se consideran adaptables a las condiciones socio-económicas de México. A nivel de plantas de tratamiento, donde son calculadas inversiones muy altas, es necesario considerar otras opciones, siendo recomendados los procesos anaerobios para reducir costos sin sacrificar eficiencias de tratamiento (Noyola, 1990).

Todas estas ventajas han propiciado que se realicen diversas investigaciones en México, entre las principales se encuentran las realizadas en la UAM-I a nivel piloto, donde se construyó e instaló un reactor UASB de 110 litros que en la actualidad se encuentra en funcionamiento, y este tratamiento se combina con lírio acuático (Monroy y Noyola, 1986 tomado de Noyola et. al. 1988), con el propósito de lograr la calidad de un efluente terciario a costos sensiblemente menores. Así mismo se realizan investigaciones en el Instituto de Ingeniería de la UNAM con el fin de adaptar a las condiciones anaerobias lodos activados de una planta de tratamiento. A nivel de aplicación existen en

funcionamiento un reactor UASB piloto en la fábrica de levaduras de San Martín Texmelucan Puebla, donde las aguas ya tratadas sirviran para el riego en las actividades agrícolas. (Rodríguez, D. y Monrroy, O. 1989 y 1990).

El número de plantas de tratamiento de efluentes industriales por vía anaerobia se incrementa rápidamente en Europa (Hulshoff Pol et. al., 1986; Segura, 1983 tomados de Noyola et. al. 1988). En Brasil (Manso, 1990), Colombia (Collazos, 1990), Cuba (Valdés, Obaya y Ramos, 1990), Chile (Chamy y Alkalay, 1990), Uruguay (Soubes y Muxi, 1990) y Guatemala (Porres y Calzada, 1990 a y b) se investiga la aplicación de reactores anaerobios avanzados en el tratamiento de aguas residuales municipales e industriales. En México, a pesar de las innegables ventajas que presentan los digestores anaerobios en el contexto nacional, son muy pocas las investigaciones sobre el tema (Noyola et al., 1988) y casi nulas las aplicaciones. Así los grupos universitarios antes mencionados buscan promover esta tecnología.

3. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

Para poder desarrollar el tratamiento anaerobio y específicamente el proceso UASB, es necesario específicamente la tecnología adecuada que permita tener un arranque

favorable de los reactores, así como grandes cantidades de inóculo. Varias fuentes de inóculo pueden ser utilizadas, tales como estiércol de vaca, lodos activados adaptados anaerobicamente, lodos de fosas sépticas, lodos de otros reactores anaerobios, etc. Es necesario realizar estudios para poder evaluar las potencialidades de cada inóculo y obtener el menor tiempo de arranque en los reactores, siendo el arranque una etapa crítica para cualquier tipo de reactor anaerobio.

Varios factores pueden tener una fuerte influencia negativa sobre este arranque, entre ellos: condiciones de reducción no adecuadas, capacidad insuficiente del lodo para alcalinizar el medio y evitar condiciones de acidificación extrema que también inhibe la metanogénesis, actividades microbianas bajas.

Por otro lado, el arranque también se ve afectado por el tipo de alimentación que tengan los reactores, y si el agua a tratar contiene alguna sustancia que inhiba el proceso. En este estudio se prepararon efluentes sintéticos probando tres tipos diferentes de alimentación; esto permite en condiciones controladas, estudiar y entender más claramente los posibles contratiempos que pueden ocurrir con efluentes reales de las industrias en el momento del arranque de un digestor.

4. OBJETIVO

(i) Estudiar el arranque de reactores de lecho de lodos (UASB), alimentados con varios tipos de efluente e inoculados con lodos activados adaptados o estiércol de vaca.

(ii) Comparar la calidad de los dos tipos de inóculos, para determinar cual es el más adecuado para la inoculación de digestores anaerobios tipo UASB.

(iii) Determinar si las condiciones de operación aplicadas son las adecuadas para arrancar un reactor (UASB) alimentado con vinazas procedentes de una industria productora de levaduras, inoculado con lodos activados adaptados.

5. MATERIAL Y METODO

5.1. REACTORES UTILIZADOS

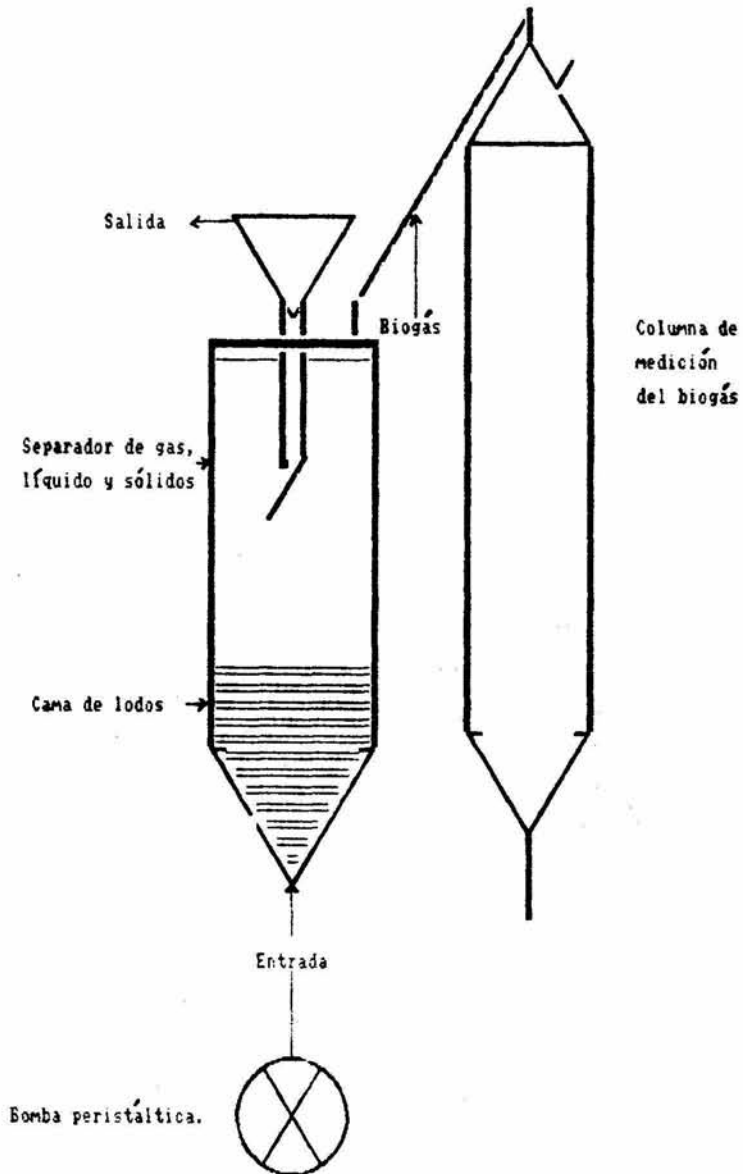
Se instalaron siete reactores UASB de 2.3 litros de volúmen útil cada uno, los cuales están formados por una columna de vidrio de 9.6 cm de diámetro interno y 36 cm de altura. La alimentación fue por flujo ascendente en donde el agua a tratar entra por la parte inferior del reactor, para ponerse en contacto con la cama del

inóculo. En la parte superior del reactor se encuentra un dispositivo para evitar la salida de materia en suspensión con el efluente y separar el biogás producido del efluente. Estos reactores se colocaron en un cuarto con temperatura controlada ($33 \pm 1^{\circ}\text{C}$). También se montaron columnas de vidrio para la medición del biogás, llenas con una solución saturada de NaCl, con rojo de metilo, a pH 4 ajustado con ácido sulfúrico, para evitar que el CO_2 se disuelva en la solución (Esquema 5).

5.2. INOCULOS Y OPERACION DE LOS REACTORES

Se emplearon dos fuentes de inóculo para arrancar los reactores: lodos activados adaptados anaerobicamente provenientes del Instituto de Ingeniería de la UNAM, y estiércol fresco de vaca. Los lodos activados fueron previamente adaptados bajo condiciones anaerobias, según el procedimiento descrito por Arias y Noyola (1988). El estiércol de vaca fresco fue tamizado con una malla de 0.80 mm de apertura con el objeto de eliminar las fibras, piedras y gránulos mayores a este tamaño, y obtener en la mayor medida posible un inóculo sin demasiadas partículas en suspensión. Los reactores con lodos activados adaptados (SSV: 9.45g/L), fueron inoculados con un litro de lodo, en estas condiciones la carga orgánica masica aplicada fue: 1.2 gDQO/gSSV.d. En los reactores inoculados con estiércol (SSV: 72.0g/L), para tener el mismo contenido en SSV por reactor y aplicar la misma carga, se hubiera debido inocular con 100 mL de

Esquema 5. Reactor UASB, dispositivo utilizado en el laboratorio.



estiércol. Lo que resultó ser un volúmen de lodo exageradamente pequeño. En el estiércol la composición de los SSV no es en su mayoría microbiana, dado la presencia de materia orgánica resultado de la digestión de los alimentos de la vaca; contrariamente a los lodos activados adaptados, en los cuales los SSV son identificados como la biomasa microbiana activa. Así se decidió aumentar notablemente el volúmen del estiércol en cada reactor, hasta 700 mL, teniendo una carga orgánica aparente inferior a la de los reactores inoculados con lodos activados adaptados. A todos los reactores se les adicionó agua anaerobia de otros reactores que se encontraban en operación, hasta ocupar todo el volúmen útil del reactor, y se dejaron adaptando con esta agua durante 4 días, pasados estos se inició la alimentación en continuo.

5.3. CARACTERISTICAS DEL AGUA DE ALIMENTACION

Seis reactores se alimentaron con agua residual sintética utilizando acetato y propionato como sustratos (tabla 1), los compuestos se disolvieron con agua de la llave en condiciones aerobias. El séptimo reactor se alimento con un efluente proveniente de una fábrica de levaduras (vinazas) con una concentración en DQO de 5000 mg/L.

Compuesto	Concentración
CH ₃ COONa.3H ₂ O	4.78 g/L
CH ₃ CH ₂ COOH	1 mL/Ll
NH ₄ Cl(industrial)	660 mg/L
(NH ₄) ₂ SO ₄ (industrial)	250 mg/L
K ₂ HPO ₄	130 mg/L
KH ₂ PO ₄	100 mg/L
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	10 mg/L
NiCl ₂ .6H ₂ O	0.2 mg/L
AlK(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	0.1 mg/L
CuCl ₂ .2H ₂ O	0.05 mg/L
CaCl ₂ anhidro	200 mg/L
MgCl ₂ .6H ₂ O	100 mg/L
ZnCl ₂	1 mg/L
CoCl ₂ .6H ₂ O	1 mg/L
MnCl ₂ .4H ₂ O	1 mg/L
NaHCO ₃ (industrial)	600 mg/L
*Glucosa anhidra	0.5 g/L
*FeSO ₄ .7H ₂ O	0.2 g/L

* Estos compuestos fueron usados como variantes en el tipo de alimentación como se indica en la tabla 2..

Tabla 1. Composición del agua residual utilizada para alimentar seis de los siete reactores.

Su alimentación se llevó a cabo por medio de bombas peristálticas masterflex a un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 24 h para todos: es decir en 24 h se trata un volúmen de efluente equivalente al volúmen útil del reactor (TRH= V reactor/Q, con Q=caudal). La operación se llevó a cabo durante 4 meses, a excepción del reactor alimentado con vinazas que se operó durante un mes. Este mismo tuvo que pararse por que no logró estabilizarse, debido a que el tiempo de retención hidráulica no fue el adecuado para este tipo de efluente, como se discutirá más adelante, y por tanto los análisis descritos a continuación se aplicaron solamente a los otros seis reactores. Las concentraciones de acetato y

propionato se seleccionaron en función de experimentos anteriores (Noyola *et al.*, 1988).

La alimentación de cada reactor se llevó a cabo como se describe en la tabla 2.

Tabla 2. Plan de alimentación de los reactores.

Inóculo	No.de reactor	Alimentación
Estiércol de vaca	{	1 AGVs
		2 AGVs + Glucosa
		3 AGVs + Sulfato ferroso
Lodos Activados Adaptados	{	4 AGVs
		5 AGVs + Glucosa
		6 AGVs + Sulfato ferroso
		7 Vinazas

* AGVs = Medio sintético.

Tal como se indica en las tablas 1 y 2 se adicionó al medio de alimentación de los reactores 2 y 5 0.5 g/L de glucosa anhidra, y 0.2 g/L de sulfato ferroso a los reactores 3 y 6, para que la producción de sulfuro de hierro a partir de sulfato o la oxidación de la glucosa favorezcan la reducción del medio a valores de potencial redox adecuados para la metanogénesis.

Los medios sintéticos preparados y las vinazas se almacenaron en un cuarto frío a 6°C, adyacente al cuarto de temperatura controlada en donde se encontraban instalados los siete reactores, esto con el fin de evitar su contaminación, y desde ahí se hacía llegar la

alimentación a los siete reactores por medio de mangueras.

5.4. TECNICAS DE ANALISIS QUIMICOS

Las técnicas de análisis químicos se realizaron según el Standard Methods (APHA, et al 1985), de la manera siguiente:

- EN EL EFLUENTE, a la entrada y a la salida del reactor, se analizaron los siguientes parámetros dos veces por semana (excepto indicación contraria):
- Demanda Química de Oxígeno (DQO) total, que representa la cantidad total de materia orgánica e inorgánica susceptible de ser oxidada por el oxígeno.
- Sólidos Suspendidos Totales (SST) que son toda la materia en suspensión incluyendo la biomasa, minerales y materia orgánica, (peso seco constante a 105 °C).
- Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) que representan la cantidad de biomasa contenida en SST, (temperatura de obtención 500 °C).

$$\text{SSVmg/L} = \frac{1000 (\text{SST} - \text{SSF})}{\text{volumen de muestra (mL)}}$$

- Sólidos Suspendidos Fijos (SSF) que representan la cantidad de materia inorgánica contenida en la muestra.
- pH y Alcalinidad a pH 4.32, tres veces por semana.

- Medición de la producción de biogás por desplazamiento del líquido de las columnas ya descritas, y su contenido en metano analizado por cromatografía de gas, con un cromatógrafo de conductividad térmica (Fisher Gas Particiones M1200), con He como gas acarreador con un flujo de 25 mL/min, con temperaturas en la columna de 50°C y en el inyector de 140-160°C. Al inicio, la medición de gas se realizó diariamente, pero a partir de los 76 días de experimentación se midió la producción de biogás con una frecuencia de cada tres días, esto con el fin de realizar mediciones con mayores tiempos de acumulación de gas y lograr así una lectura más exacta del volúmen producido.

- EN LOS LODOS, se analizaron los siguientes parámetros:

- SST, SSV y SSF.

- Índice Volumétrico de los lodos (IVL), así como la Velocidad Máxima de Decantación (Vmax), fueron determinados como lo describen Guyot, et al (1990 b).

IVL, Vmax, SST, SSV y SSF se determinaron al inicio del experimento, después cada catorce días, tres veces consecutivas, después no se siguió muestreando cada dos semanas dado que los reactores inoculados con estiércol de vaca se habían lavado mucho; por lo cual de seguirse muestreando así quedaría muy poco inóculo en los reactores, por lo tanto se decidió realizar una última medición al final del estudio.

- Granulometría, el método de Mahoney, et al (1987) fue empleado para estimar el diámetro de los gránulos: las

mediciones se realizaron a los 87 días y al final del experimento.

- pH y Eh; el potencial de óxido-reducción de los lodos se determinó con un electródo combinado constituido de un electródo de platino y de una referencia Ag/AgCl (ColeParmer N-05990-57), para obtener el potencial con respecto al electródo de hidrógeno (Eh) se adicionaron +216 mV al potencial medido (Hentges y Maier, 1972), este valor es válido para una temperatura de 35°C. Ambos parámetros se determinaron tres veces por semana.

- Aspecto de los lodos, también fue analizado el aspecto de los lodos cualitativamente al momento de inocular, y al final de experimento se midió la cantidad de lodos presente en los reactores para determinar con que carga orgánica terminaron cada uno de ellos, para lo cual se vaciaron los reactores y se midió el volúmen de lodo después de dejarlos sedimentar durante dos días.

5.5. ANALISIS MICROBIANOS

Las técnicas anaerobias de Hungate (1969), Balch y Wolfe (1976) fueron utilizadas a lo largo del estudio, tanto para la preparación de los medio de cultivo como para la transferencia de sustrato y las inoculaciones. Las bacterias anaerobias fueron cuantificadas utilizando la técnica del Número Más Probable (NMP) descrita por García, *et al.* (1982) con cinco tubos por dilución, y se cuantificaron al principio y al final del experimento. El conteo microbiano realizado al inicio del arranque para

el estiércol se llevó a cabo en dos formas: una de ellas fué preparando los medios de cultivo tal y como lo describen las técnicas anaerobias de Hungate (1969), Balch y Wolfe (1976); y la otra preparando este mismo medio, pero en este caso se agregó un 10% de extracto de estiércol al medio, para checar el efecto de esta adición sobre las cuantificaciones, dado que numerosas bacterias anaerobias del rumen necesitan de factores de crecimiento tal como ácidos grasos ramificados, que se encuentran precisamente en este líquido ruminal. Además, comparando los datos con la primera de estas dos cuantificaciones se pretende conocer cuales bacterias se pueden desarrollar en un medio carente de estos factores tal como en los reactores. El extracto de estiércol se obtuvo de la siguiente manera: a un litro de estiércol fresco sin tamizar, se le agregó un litro de agua de la llave, se agito y obtuvo una mezcla uniforme, posteriormente se centrifugó a 5000 rpm durante 30 min, el sobrenadante se refrigeró 24 horas y pasado este tiempo se centrifugó por segunda ocasión a 5000 rpm durante 30 min, este nuevo sobrenadante obtenido representa el extracto de líquido ruminal agregado al medio de cultivo.

Las muestras de inóculo fueron procesadas dentro de una cámara anaerobia tipo Mac Coy y homogenizadas utilizando un macerador de tejidos. Se cuantificaron los siguientes grupos: bacterias fermentativas (F) sólo al inicio, bacterias metanogénicas: hidrogenofílicas (BMH), acetoclásticas (BMA), y bacterias acetogénicas (OHPA), en

ausencia de sulfatos, utilizando el propionato (Op) o el butirato (Ob). Después de una incubación de 30 días a 35°C para las metanogénicas y las OHPA, se determinó cualitativamente la presencia de metano en cada uno de los tubos de dilución, lo que indicaría el crecimiento de las bacterias en el medio; esta medición se realizó por cromatografía de gas, utilizando un cromatógrafo Hewlett Packard 5890 equipado con un detector de ionización de flama y un integrador Spectraphysics SP 4290, y bajo las siguientes condiciones de uso: Nitrógeno como gas acarreador: 30ml/min, hidrógeno: 33mL/min, aire: 300mL/min, con temperaturas del detector de 220°C, inyector 210°C y horno de 200°C. La columna del cromatógrafo fue de acero inoxidable empacada con Porapak Q5 80-100 mesh.

Las bacterias fermentativas se determinaron en base a su crecimiento en los tubos después de 6 días de incubación.

5.6. CINÉTICAS

Se realizaron tres muestreos: al inicio, a los 45 días y al final del experimento. Para cada muestreo, los lodos granulares se dejaron 24 horas en la pre-cámara de acceso a la cámara anaerobia, bajo un vacío de 20 mm de Hg, con objeto de agotar los sustratos residuales de la muestra y dejar escapar el gas producido, para así reducir al mínimo la influencia de los sustratos

residuales presentes en las muestras frescas. Dentro de la cámara anaerobia fueron repartidos 4mL de muestra por frasco de suero de 60mL de volumen total("serum-bottles"), conteniendo 16mL de medio de cultivo. Los sustratos (ácido acético, propiónico y butírico) se agregaron al medio de reacción, por medio de jeringas purgadas con nitrógeno a partir de soluciones concentradas de cada ácido preparadas en anaerobiosis, para tener una concentración final en el medio de 10 mM. El inicio de la cinética correspondió con el momento de agregar el sustrato, además los experimentos se hicieron por duplicado y con un control sin sustrato. Las tomas de muestras se realizaron para el muestreo inicial de lodos cada hora durante 5 horas; para el muestreo a los 45 días: cada hora durante 6 horas, y a los tercer, cuarto y quinto días; para el último muestreo de lodo cada 30 minutos durante 6 horas. Posteriormente fueron leídos los AGVs por medio de cromatografía de gases, bajo las mismas condiciones utilizadas para determinar cualitativamente el metano de los tubos del NMP. Las curvas obtenidas graficando la concentración de AGVs contra el tiempo, permitieron determinar los siguientes parámetros cinéticos: la velocidad máxima de degradación del sustrato (V_m) y la actividad específica de los lodos ($Asp=V_m/g_{ssv} L$).

5.7. PROTEINAS Y AZUCARES TOTALES

También se realizó un análisis para determinar la cantidad de proteína presente en los lodos, usando el método del azul brillante de Coomassie G-250 con ácido perclórico propuesto por Sedmak, J.J. y Grossberg, E.S. 1977. Así mismo se hizo otro análisis para cuantificar azúcares totales por el método propuesto por Dubois et al. (1956). Ambas determinaciones se realizaron al tiempo cero del arranque, a los 30 días y al final del estudio.

El análisis de todos estos datos anteriores mencionados, nos permitió estudiar detalladamente el arranque de los reactores, comparando los dos diferentes inóculos (estiércol y lodos activados adaptados) así como los cuatro diferentes tipos de alimentación.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. PRUEBAS FISICOQUIMICAS

Por los resultados obtenidos en las pruebas de DQO, su eficiencia de remoción, así como en la producción de biogás, se determinó el tiempo de arranque de cada uno de los reactores, considerando la etapa de equilibrio en el momento en que los valores de eficiencia de remoción de DQO y producción de biogás permanecieron estacionarios

(Tabla 3). El tiempo de arranque para los reactores alimentados con AGVs + FeSO_4 fue en ambos casos aproximadamente de 50 días. Observando la figura 1 de DQO a la entrada y a la salida de los reactores, en la fase estacionaria hasta el cuarto mes de operación vemos que existe diferencia en la cantidad promedio de DQO de salida entre los dos inóculos: siendo de 1017 mg/L para el reactor inoculado con lodos activados adaptados (LAA) y de 1687 mg/L para el inoculado con estiércol de vaca (EV), teniendo respectivamente un promedio en eficiencia de DQO (figura 2) de 79 % para el primero y 66 % para el segundo sobre este período (tabla 3); en cuanto al biogás producido en cada uno de estos dos reactores (figura 3, tabla 3), se encuentra que el reactor inoculado con LAA produjo una cantidad de 2.4 L/d, y para el EV de 3.5 L/d. Las diferencias encontradas entre estos dos reactores son menores si comparamos los resultados obtenidos con los dos reactores alimentados con AGVs + Glucosa. En este caso, el período de estabilización de la eficiencia de remoción de DQO de los lodos fue mayor para el reactor inoculado con EV (72 días) que con el reactor inoculado con LAA (42 días), la eficiencia de remoción de DQO obtenida con LAA (75%) fue superior a la obtenida con el EV (28%) (figura 5, tabla 3). A la salida de los reactores la DQO fue: 1373 mg/L para LAA y 4153 mg/L para EV (figura 4, tabla 3). La producción de biogás fue muy diferente para uno y otro reactor (figura 6) así el de LAA produjo 5.2 L/d, en este reactor se observó la mayor producción de biogás, y para EV se produjo 1.3 L/d siendo

Reactor	COV kgDQO/m ³ react.d	DQOe mg/L	DQOs mg/L	S	E%	S	Biogás L/d	S
LAA:AGVs +FeSO ₄	0.49	4923	1017	358	79	7	2.4	0.78
LAA:AGVs +Glucosa	0.53	5391	1373	430	75	7	5.2	0.9
LAA:AGVs	0.48	4865	1388	517	74	7	3.8	0.7
EV:AGVs +FeSO ₄	0.49	4923	1687	509	66	8	3.5	0.7
EV:AGVs +Glucosa	0.53	5391	4153	675	28	7	1.8	0.3
EV:AGVs	0.48	4865	2947	294	40	6	2.2	0.3

Tabla 3. Valores promedios en la etapa estacionaria de cada uno de los reactores de la DQO a la entrada (DQOe), a la salida (DQOs), de remoción de DQO (E%) y producción de biogás, así como sus desviaciones estándar (S). LAA: lodos activados adaptados, con una carga orgánica masica (COM) de 1.2 gDQO/gSSV.d; EV: estiércol de vaca, con una carga orgánica masica (COM) de 0.228 gDQO/gSSV.d; COV: carga orgánica volumétrica.

Reactor	nDQO entrada	nDQO salida	nE%	nBiogás	nEh	npH lod	npH sal	nAlc	nSST	nSSV	n%CH ₄
LAA:AGVs +FeSO ₄	32	20	18	24	26	35	23	33	18	12	47
LAA:AGVs +Glucosa	32	20	22	22	25	26	28	33	12	14	49
LAA:AGVs	32	15	10	13	14	14	26	33	19	14	50
EV:AGVs +FeSO ₄	32	20	18	24	26	35	23	33	18	12	48
EV:AGVs +Glucosa	32	13	14	5	25	26	28	33	12	14	47
EV:AGVs	32	12	10	7	14	14	26	33	19	14	48

Tabla 3 bis. Número (n) de determinaciones que corresponden a los valores promedios y a las desviaciones estándares (s) de las tablas 3 y 5.

este último el que produjo menos biogás de todos los reactores (tabla 3). Por último los reactores alimentados solamente con AGVs tuvieron un tiempo de estabilización de 80 días para ambos tipos de inóculos, encontrándose valores de DQO a la salida para el reactor con LAA (figura 7) de 1388 mg/Ll y para el reactor con EV de 2947 mg/L, con una eficiencia de 74 % y 40 % respectivamente (figura 8), alcanzando una producción de biogás de 4.0 L/d para LAA y 2.15 L/d para EV (figura 9, tabla 3).

Figura 1.

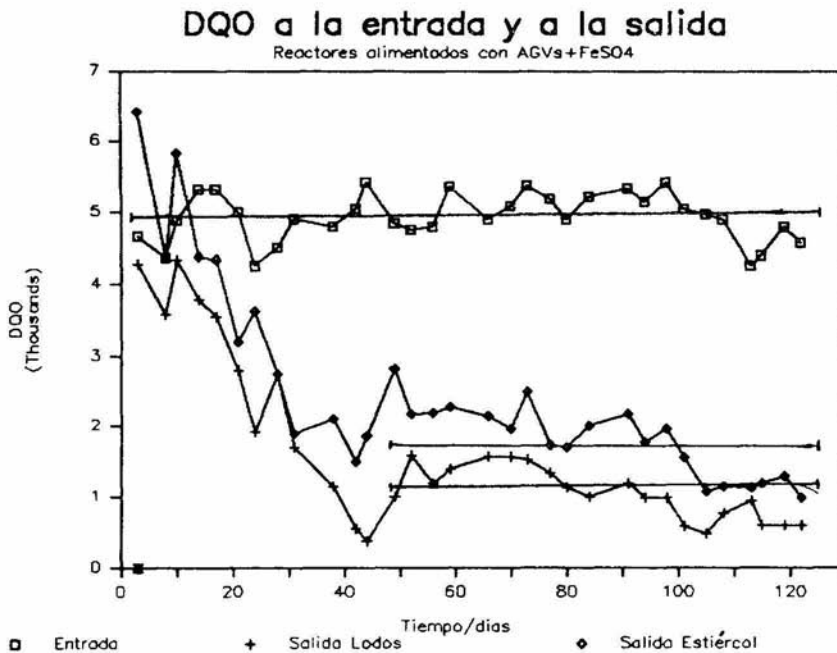


Figura 2.

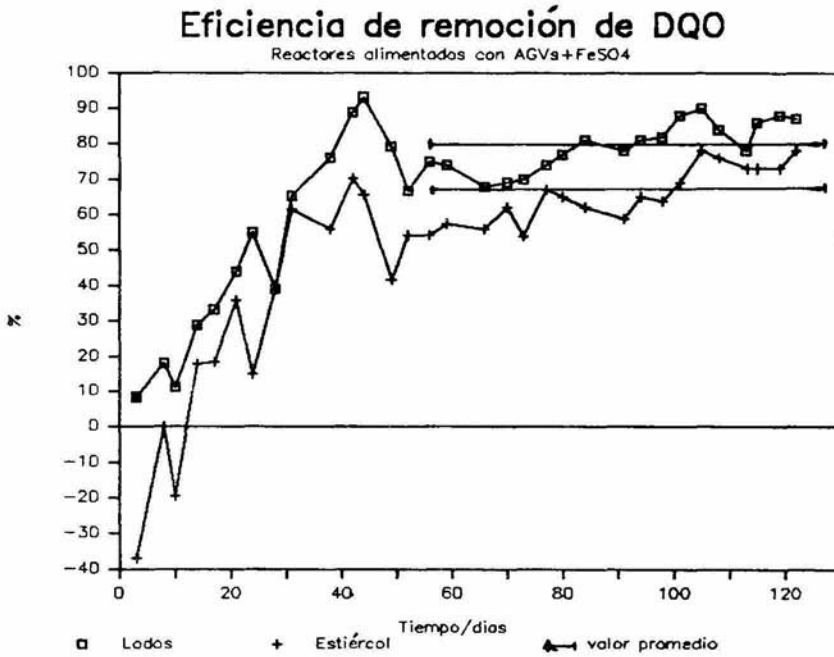


Figura 3.

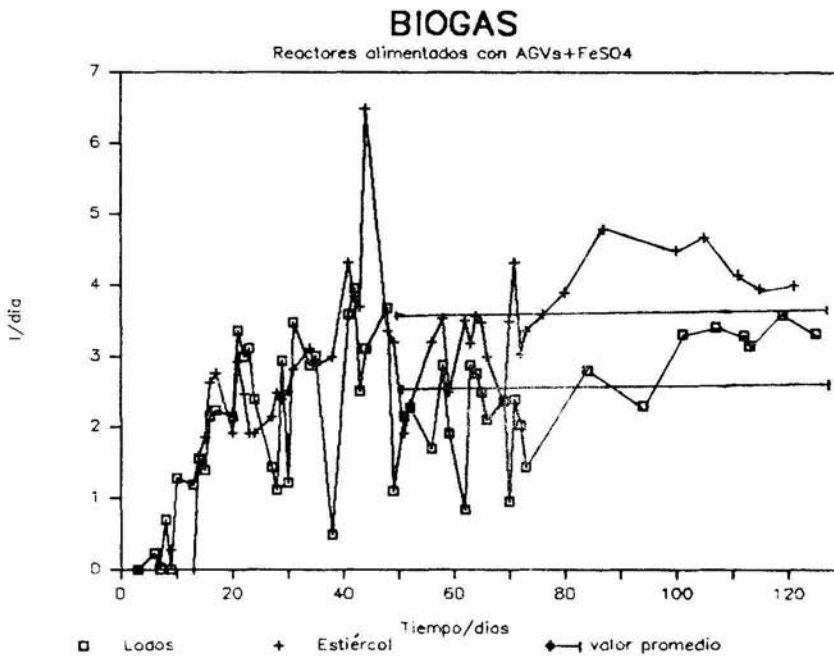


Figura 4.

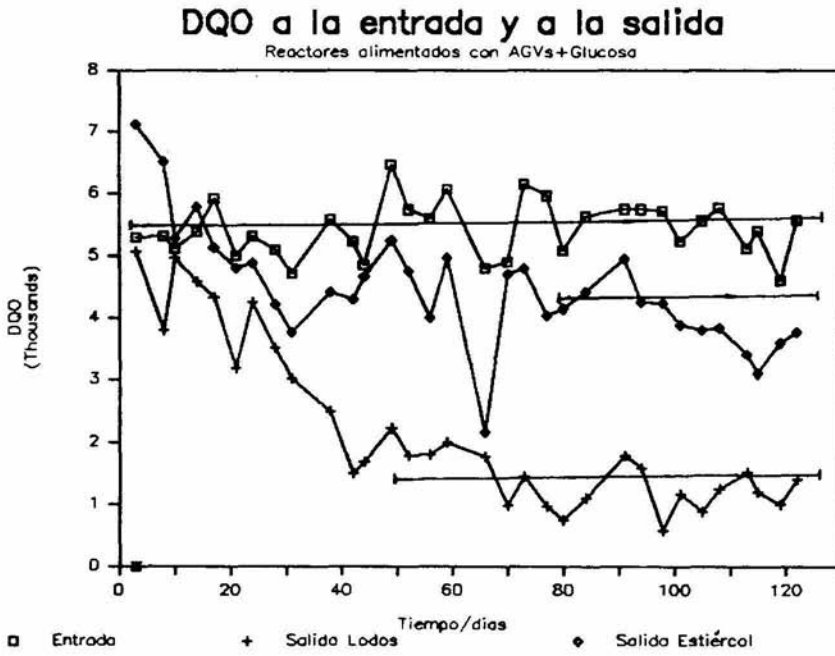


Figura 5.

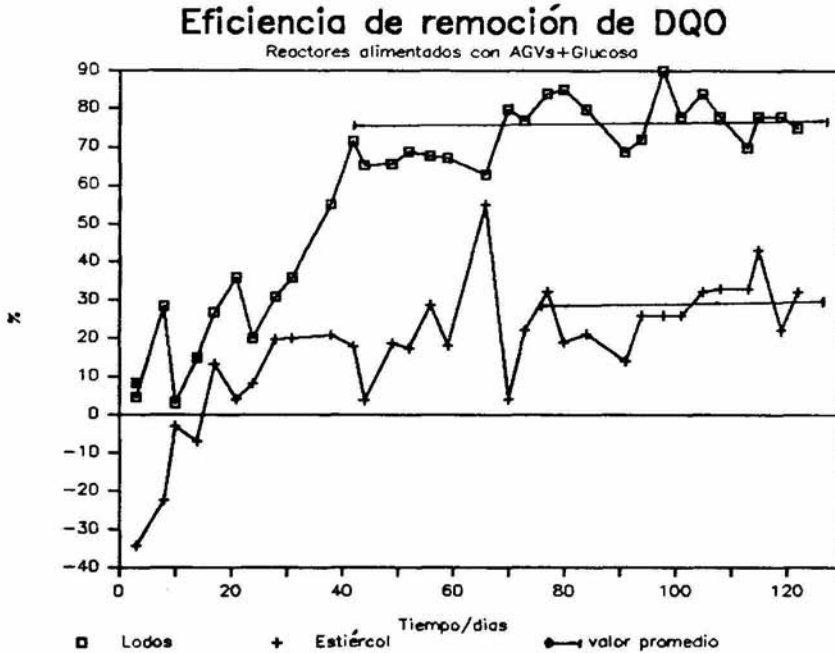


Figura 6.

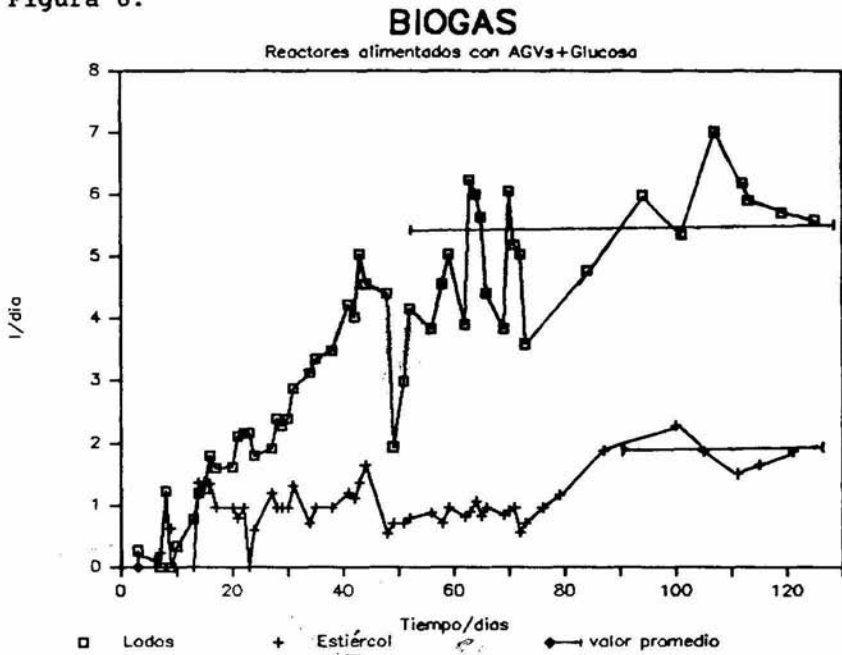


Figura 7.

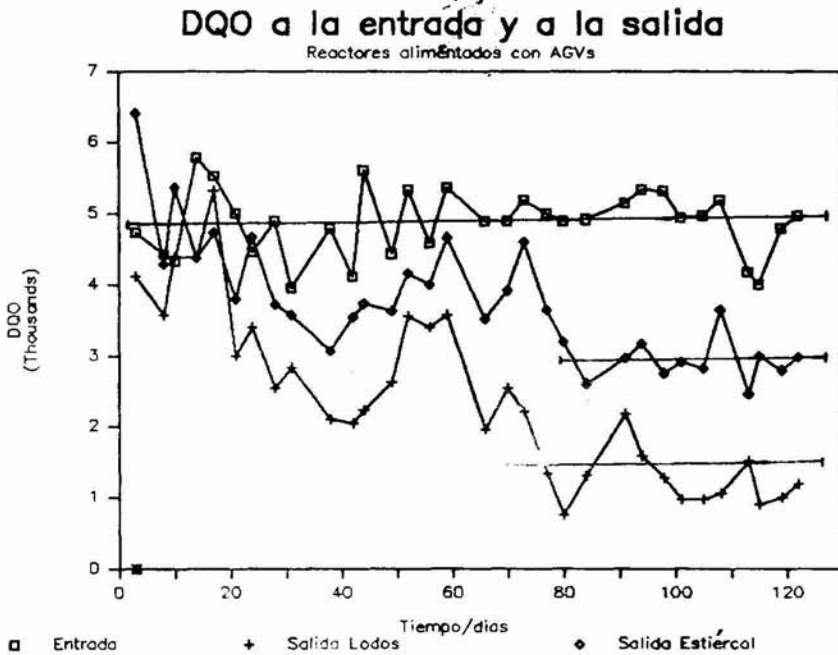


Figura 8.

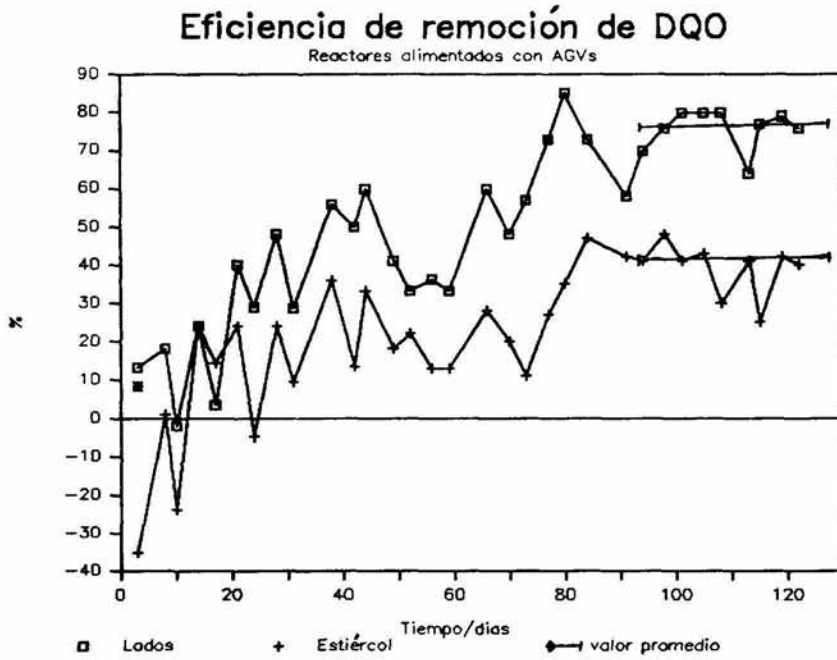
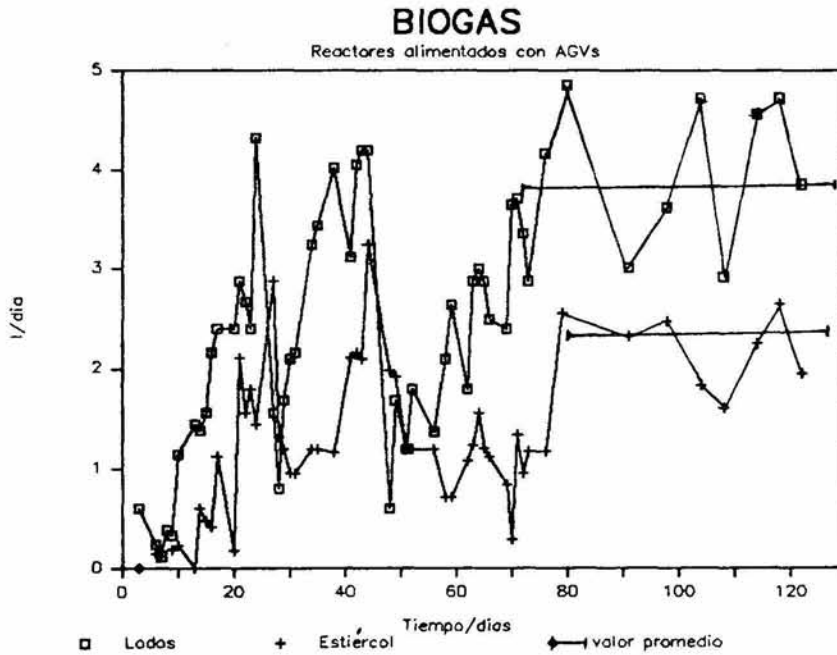


Figura 9.



En cuanto al contenido de metano en el biogás, todos los reactores presentaron un buen porcentaje de este (figura 10 a 12), que va del 60 % para el reactor inoculado con EV y alimentado con AGVs + Glucosa a un 79.3 % para el reactor inoculado con LAA con la misma alimentación (tabla 4).

Reactor	%CH ₄	S	n	C.O.Final gDQO/gSSV.d	Vol.Final mL
LAA:AGVs + FeSO ₄	68	17	47	0.93	400
LAA:AGVs +Glucosa	79	15	49	0.92	380
LAA:AGVs	66	19	50	1.09	350
EV:AGVs + FeSO ₄	74	14	48	1.52	135
EV:AGVs +Glucosa	60	19	47	2.27	145
EV:AGVs	68	15	48	2.04	100

Tabla 4. Promedio del % de metano en el biogás, desviación standar (S), número de determinaciones (n), carga orgánica y volumen final de los lodos para cada uno de los reactores.

Todo lo anterior nos indica que en general los reactores inoculados con LAA, en este estudio, presentan mejores eficiencias en la remoción de DQO de 79 a 74 % (tabla 3), no ocurriendo lo mismo con los reactores inoculados con EV que lograron una eficiencia de 28 a 66% (tabla 3), en donde el 66 % fue encontrado sólo para el reactor alimentado con AGVs + FeSO₄. Además como se puede constatar en las figuras 1, 4, a la salida de los reactores con EV, durante los primeros días de alimentación, la DQO fue superior a la de alimentación, dado que mucha materia en suspensión salió en este período (tabla 5), traduciéndose en las eficiencias de

Figura 10.

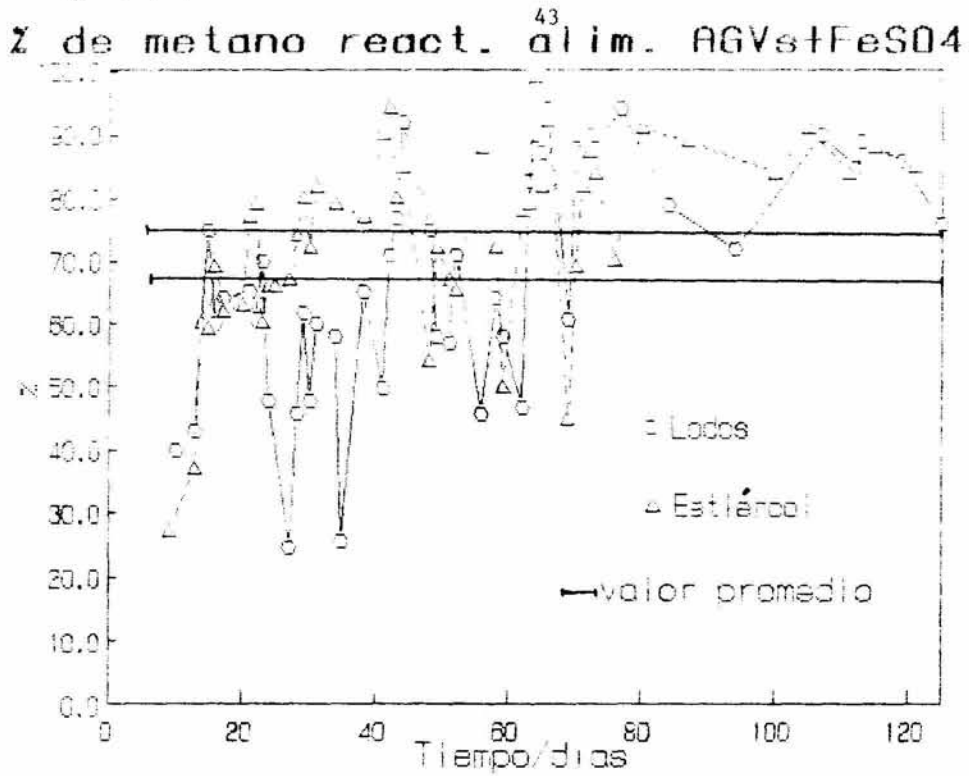


Figura 11.

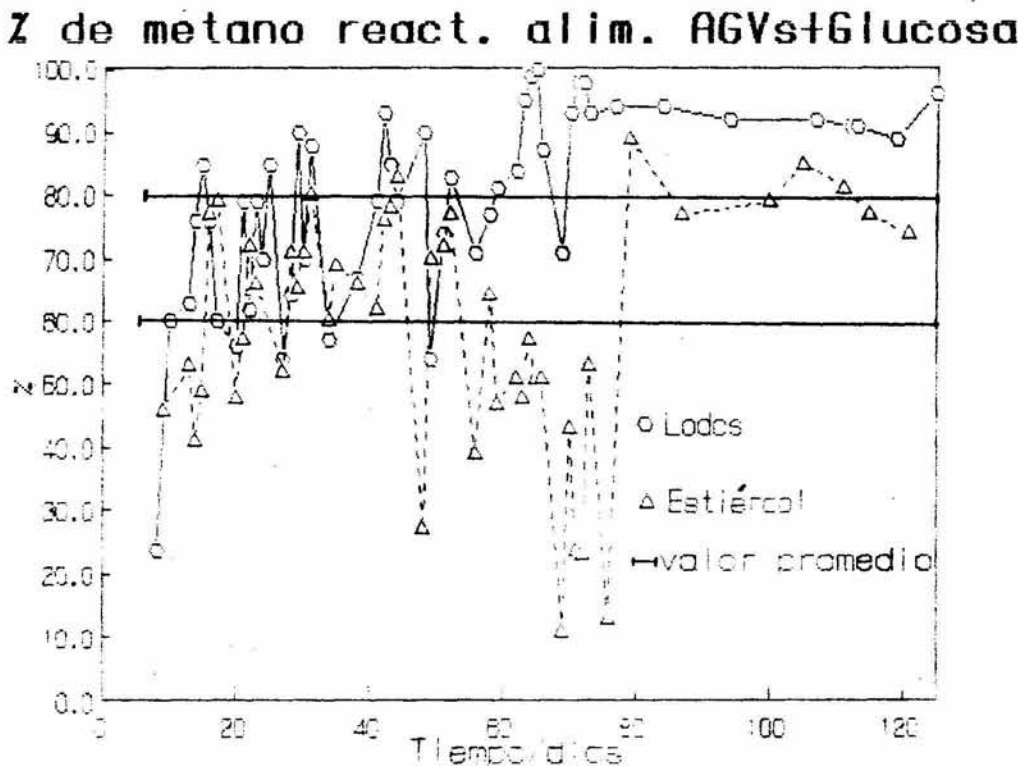


Figura 12.

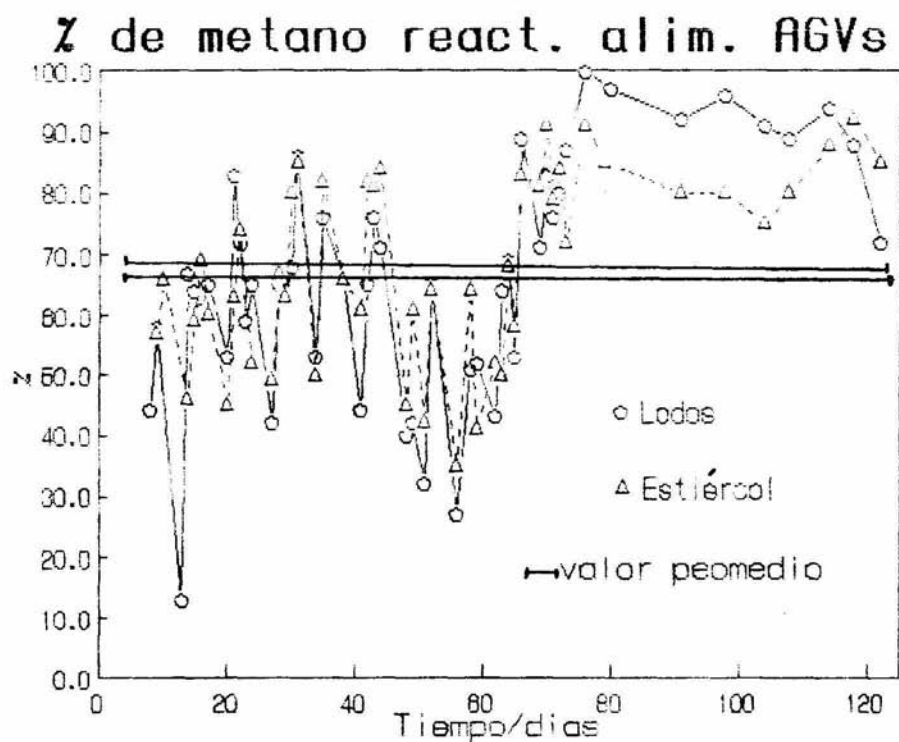
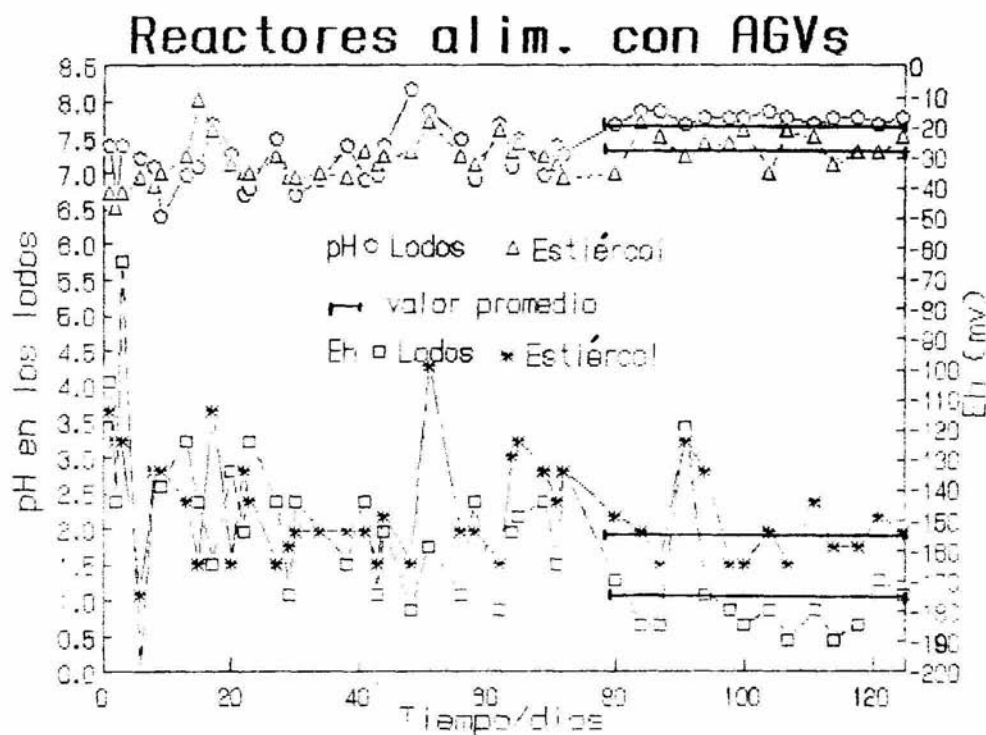


Figura 13.



remoción de DQO por valores negativos en los primeros días (figura 2, 5, 8). Estos aspectos en relación con los SSV y los índices volumétricos de lodos, se discutirán más adelante.

Al respecto de los potenciales de óxido-reducción, la tabla 5 y la figura 15 indican claramente que en el caso de los lodos alimentados con AGVs + FeSO_4 , se obtuvo el potencial más bajo con el lodo activado adaptado. En este caso observamos (figura 15) que el Eh tardó más o menos 50 días para estabilizarse a un valor promedio de: -180 mV.

Al agregar glucosa al efluente, los valores promedios de Eh fueron más elevados (tabla 5, figura 14) que en el caso de los reactores alimentados con los otros efluentes, la glucosa no propició una buena disminución del Eh, en comparación con los datos obtenidos con el efluente conteniendo los AGVs solos, tal como lo hubiéramos esperado. En el caso de los reactores alimentados con AGVs + FeSO_4 , observamos una estabilización más rápida del Eh a bajos valores de potenciales, siendo los LAA los que presentan los mejores valores (tabla 5, figura 15).

Aunque los valores de Eh encontrados por nosotros son superiores a los citados en la literatura de -330 mV como mínimo para que se lleve a cabo la metanogénesis (Zehnder, 1978), ésta se efectuó sin ningún problema en los reactores inoculados con LAA. Así mismo los valores

Figura 14.

Reactores alim. AGVs + Glucosa

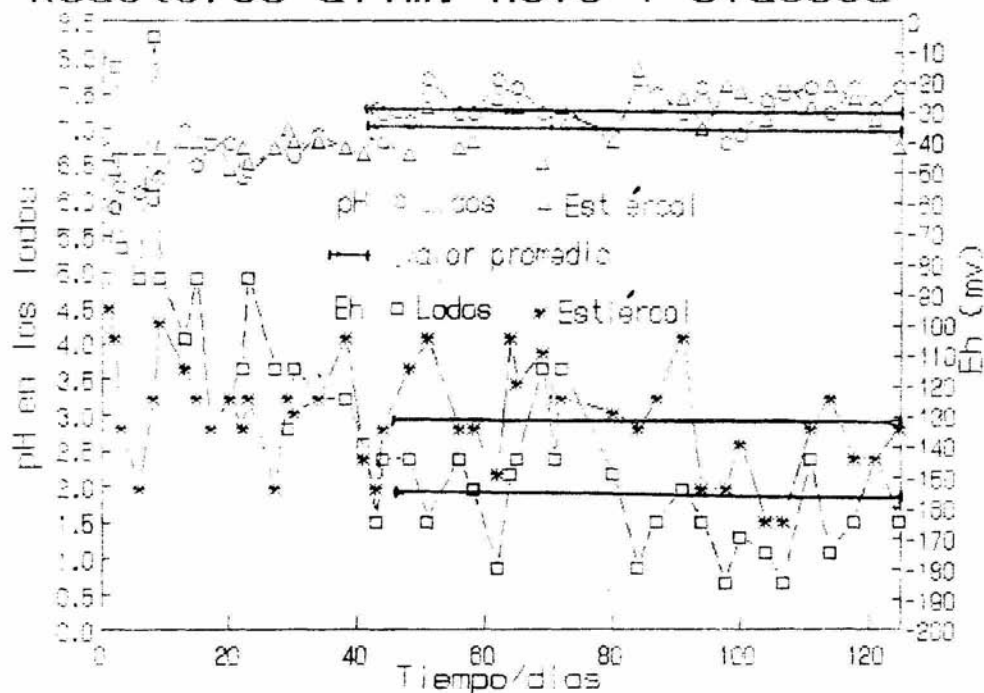
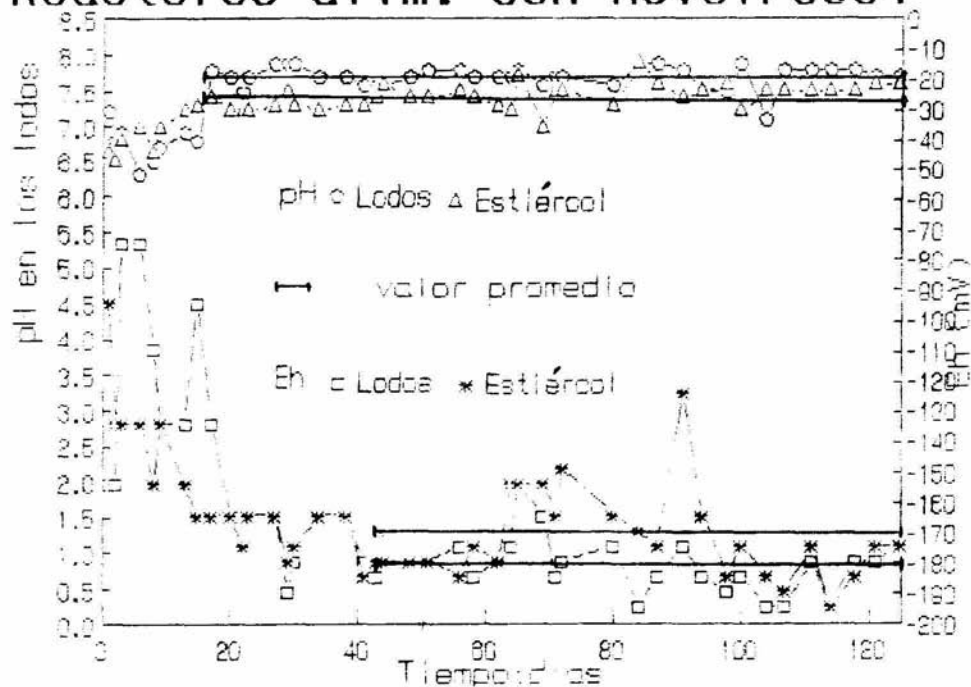


Figura 15.

Reactores alim. con AGVs+FeSO4



Reactor	Ehi mV	Eh mV	S	pHi lod	pH lod	S	pH sal	S	Alc mg/L	S	SST mg/L	S	SSVi mg/L	SSV mg/L	S
LAA:AGVs + FeSO ₄	-154	-180	9	7.2	7.7	.16	7.9	.07	3641	204	1462	406	410	287	130
LAA:AGVs +Glucosa	-94	-156	18	6.7	7.3	.27	7.7	.14	3930	267	1398	442	340	284	86
LAA:AGVs	-104	-175	17	7.4	7.7	.07	7.9	.13	3562	330	1424	464	610	272	98
EV:AGVs + FeSO ₄	-94	-171	15	6.6	7.4	.18	7.8	.10	3350	243	1689	317	1020	282	97
EV:AGVs +Glucosa	-94	-132	17	6.6	7.1	.34	7.2	.21	2989	392	2555	442	810	341	118
EV:AGVs	-114	-153	12	6.7	7.3	.20	7.6	.15	3050	332	2018	259	1080	353	119

Tabla 5. Valores iniciales (i) y valores promedios en la etapa estacionaria de cada uno de los reactores del potencial redox (Eh) y pH en los lodos, y a la salida de los reactores pH, alcalinidad, SST y SSV. LAA: lodos activados adaptados, EV: estiércol de vaca.

de pH registrados en los lodos de todos los reactores que va de 7.1 a 7.7 (figura 13, 14, 15; tabla 5) caén dentro del rango establecido para que se de un ambiente cercano a la neutralidad necesario para la metanogénesis que es de 6.7 a 7.4, encontrándose que a un pH de 6 y 8 el trabajo microbiano se ve seriamente inhibido (Rojas, 1988). Cabe mencionar que los promedios de los LAA son ligeramente superiores a los de EV en los reactores.

La alcalinidad encontrada a la salida del efluente de los reactores fue de 2989 a 3930 mg/l, siendo la más baja para el reactor alimentado con AGVs + Glucosa e inoculado con EV y el valor más alto para el reactor alimentado con AGVs + Glucosa e inoculado con LAA (tabla 5, figura 16, 17, 18). Entre los dos reactores alimentados con AGVs + FeSO_4 (figura 16), la diferencia en la alcalinidad es menor en comparacion con los otros reactores (figura 17, 18). Con los reactores inoculados con EV aparece que el FeSO_4 estabiliza la alcalinidad, siendo menores las variaciones de este parámetro. Muy relacionado a la alcalinidad se encuentra el pH de salida el cual se incrementa en la proporción que es mayor la alcalinidad, teniendo valores que van de 7.2 a 7.9 en los diferentes reactores (figura 19, 20, 21). Lo que nos indica que en todos los reactores se dió una alcalinización, por parte de los microorganismos presentes en cada reactor, siendo los reactores inoculados con LAA los que presentan valores más altos de alcalinidad y de pH en los lodos y el efluente.

Figura 16.

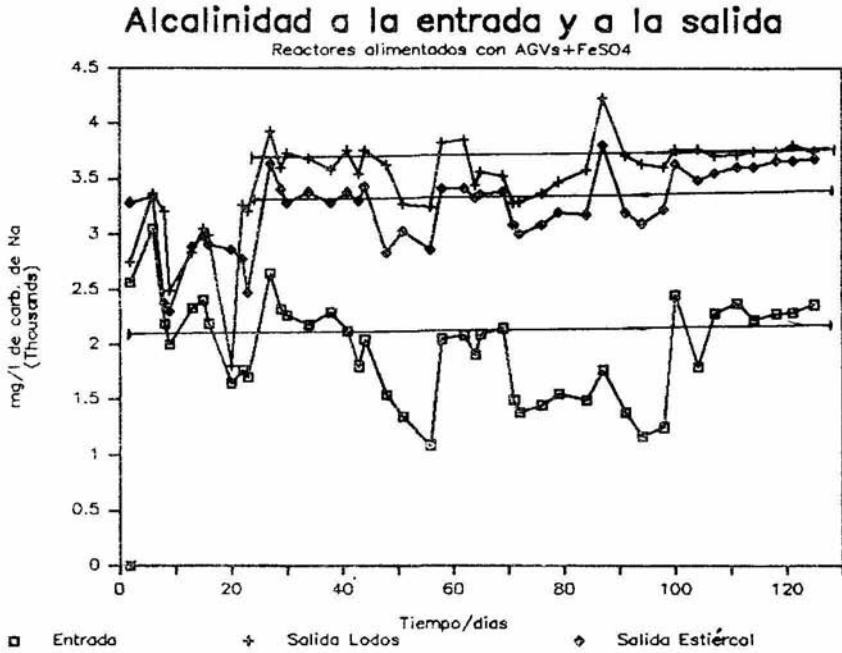


Figura 17.

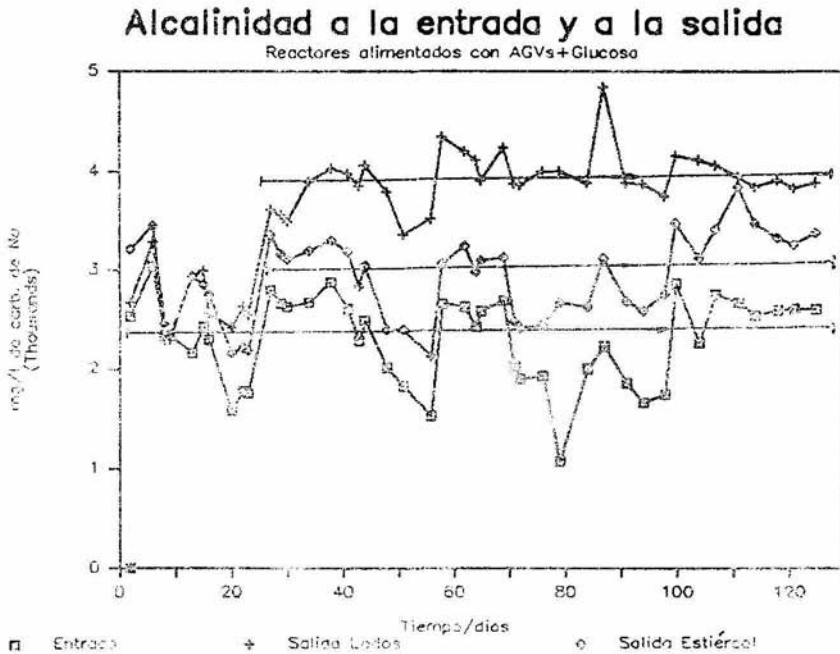


Figura 18.

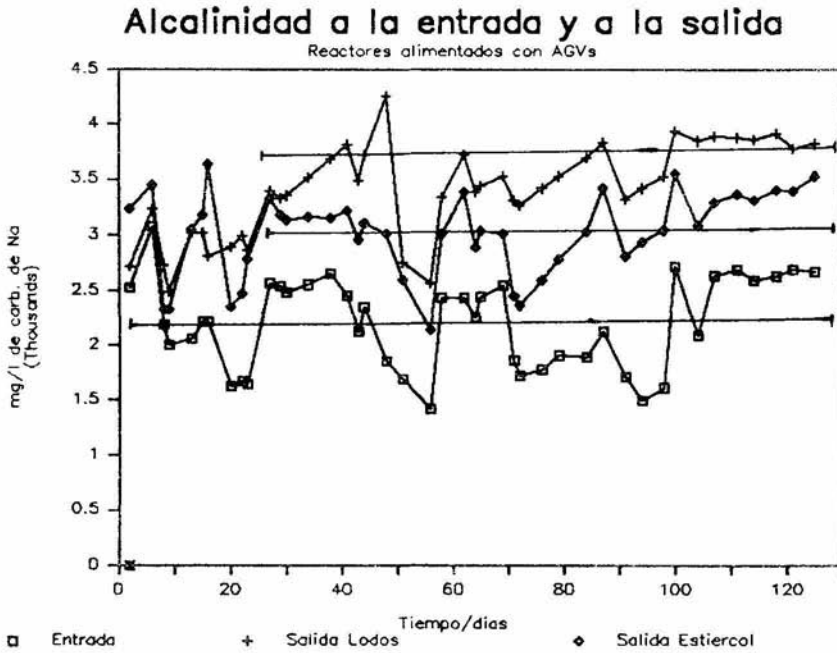


Figura 19.

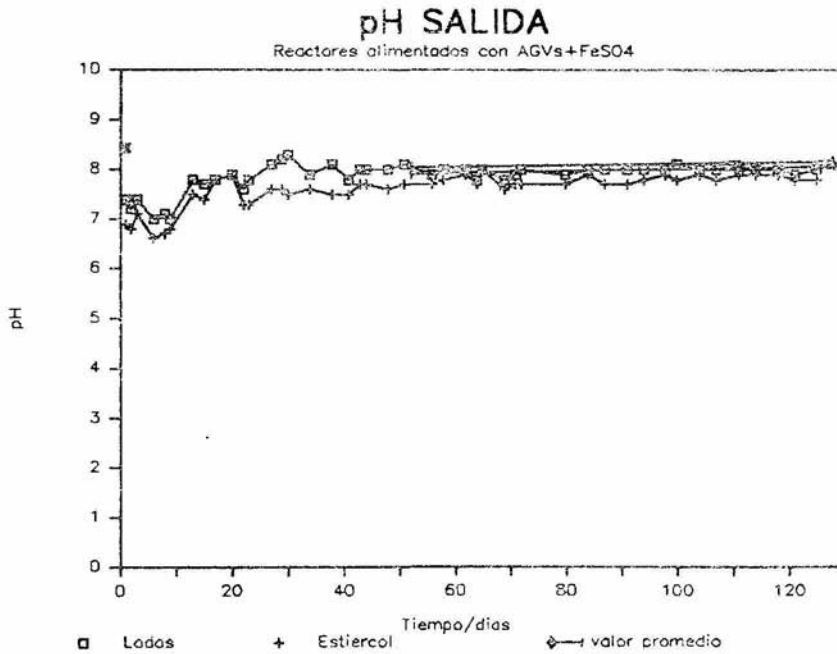


Figura 20.

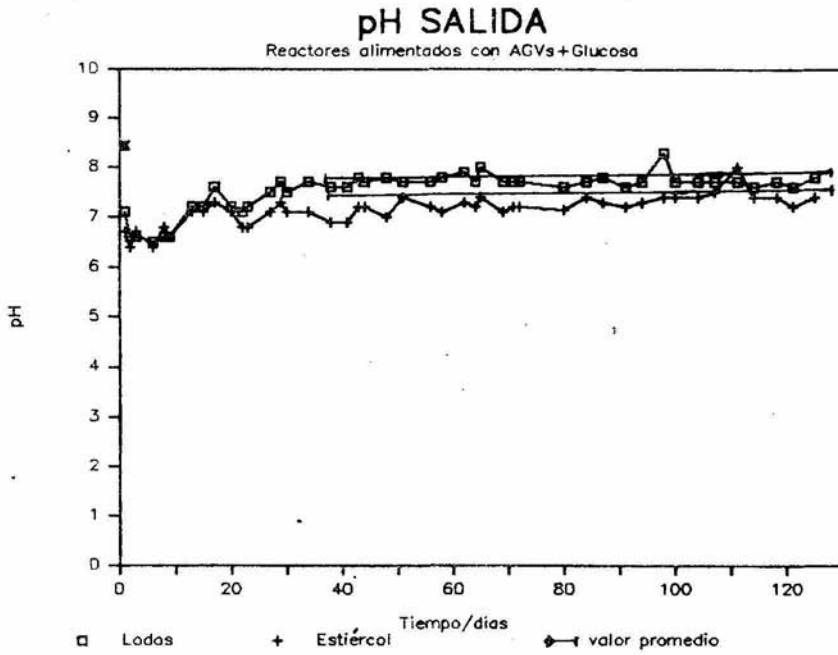
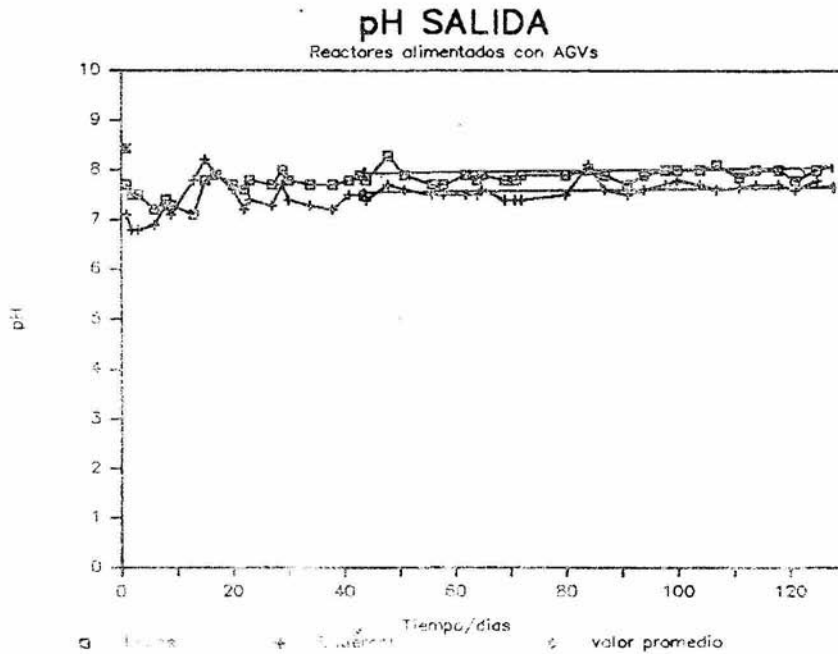


Figura 21.



Todo lo anterior nos lleva a decir que el tipo de alimentación usado para cada reactor tuvo un efecto particular en cada uno, siendo así mismo diferente para cada tipo de inóculo. Los reactores que presentaban en su alimentación el FeSO_4 mostraron una mayor adaptación de los microorganismos que se encontraban presentes, ya que el FeSO_4 creó las condiciones necesarias para que la metanogénesis pudiera llevarse a cabo, dado que las bacterias sulfato-reductoras lo reducen a sulfuro ferroso (FeS) formándose un precipitado que no deja sulfuro de hidrógeno disuelto que es un inhibidor de la metanogénesis (Espinoza, Guyot, y Macarie, 1990). Por otro lado, además de ser una fuente de azufre para las células, los sulfuros de hierro mejoran las condiciones reducidas del medio, lo que resulta muy positivo para que las bacterias se adapten al nuevo medio (Guyot, 1988). Este efecto positivo resultó ser más evidente en el reactor con EV, dado que de los tres reactores que lo presentaron fue el único que pudo tener eficiencias de remoción de DQO comparable con las que alcanzaron los reactores inoculados con LAA, en donde el reactor alimentado con AGVs + FeSO_4 presentó la mayor eficiencia de remoción de DQO de todos los reactores con este inóculo. Por otra parte, contrariamente a lo esperado, la adición de glucosa en concentración baja no propició mejores condiciones de operación de los reactores. Inclusive, en el caso del reactor con EV, observamos una baja fuerte en la eficiencia de remoción de DQO.

Por otra parte, en el caso de los reactores alimentados con AGVs no se agregó a la alimentación ningún compuesto que creara condiciones adecuadas de reducción en el medio, que favoreciera el establecimiento de los microorganismos, dando como resultado que estos reactores tardaran más tiempo en llegar a una etapa de equilibrio (de 70 a 80 días). Sin embargo, hay diferencias entre los dos inóculos, teniendo que en el reactor inoculado con LAA se observa una buena eficiencia de remoción de DQO (74%), y en el reactor inoculado con EV la eficiencia fue baja (40%)

En las figuras 22, 23 y 24 se tienen los resultados de la prueba de sólidos totales (SST) medidos en la alimentación (influyente) y en el efluente a la salida de los reactores, encontrándose que en los reactores inoculados con LAA hubo una mayor remoción de SST dentro del reactor. Únicamente en el caso del reactor inoculado con EV y alimentado con AGVs + FeSO_4 hubo una remoción de SST comparable con la de los LAA, ya que en el caso de los reactores con EV alimentados con AGVs + Glucosa y AGVs la remoción fue menor.

Los SST con este tipo de alimentación están principalmente constituidos por las sales minerales, de los sustratos y de lodos (en la salida). Los sustratos son digeridos por la microflora, y las sales minerales utilizadas por los mismos o retenidos en los lodos: absorbidos o precipitados. El EV presentaba al inocular los reactores la tendencia a dejar en suspensión una materia muy fina que escapaba de los reactores, lo que se tradujo en los primeros días por valores altos de SST a la salida del reactor (figura 22, 23, 24) y valores negativos de DQO.

Después de esta fase los lodos (EV) presentarán mejores características de decantación, pero la mala actividad de estos lodos (en relación con las malas eficiencias de los reactores) y la naturaleza de este lodo no estabilizado, hacía que siguiera saliendo del reactor una gran cantidad de SST. Al contrario el LAA, ya estaba estabilizado y no presentaba en el medio sobrenadante tantas partículas finas en suspensión como en los reactores con EV.

Para que los sistemas anaerobios puedan convertir los Sólidos Suspendidos (SS) y la DQO en metano, deben reunir dos condiciones:

- Los sólidos suspendidos biodegradables presentes en el desecho deben ser eficientemente atrapados o retenidos.

- Se deben mantener tiempos de retención de lodo suficientemente largos para permitir la hidrólisis completa de estos sólidos atrapados (Lettinga, y Hulshoff Pol, 1986).

Figura 22.

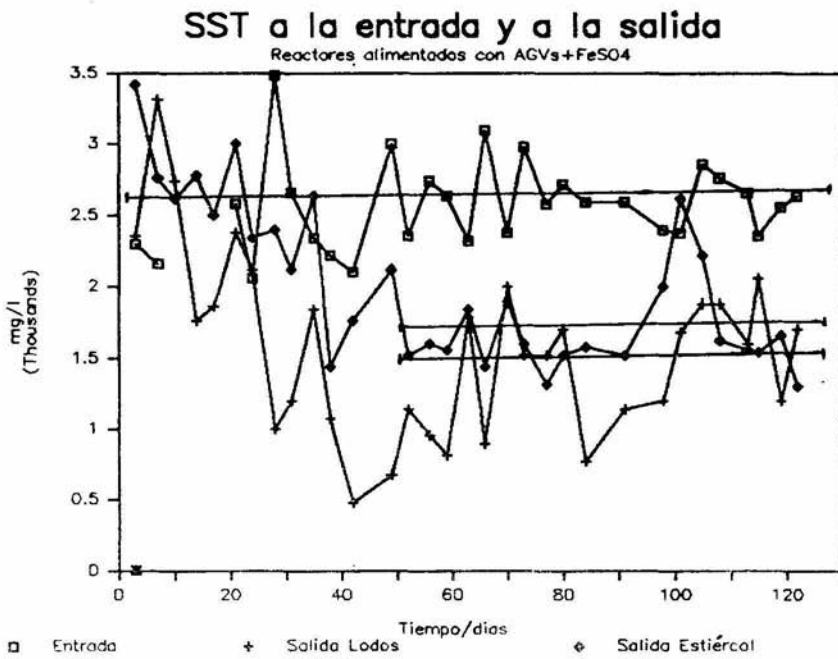


Figura 23.

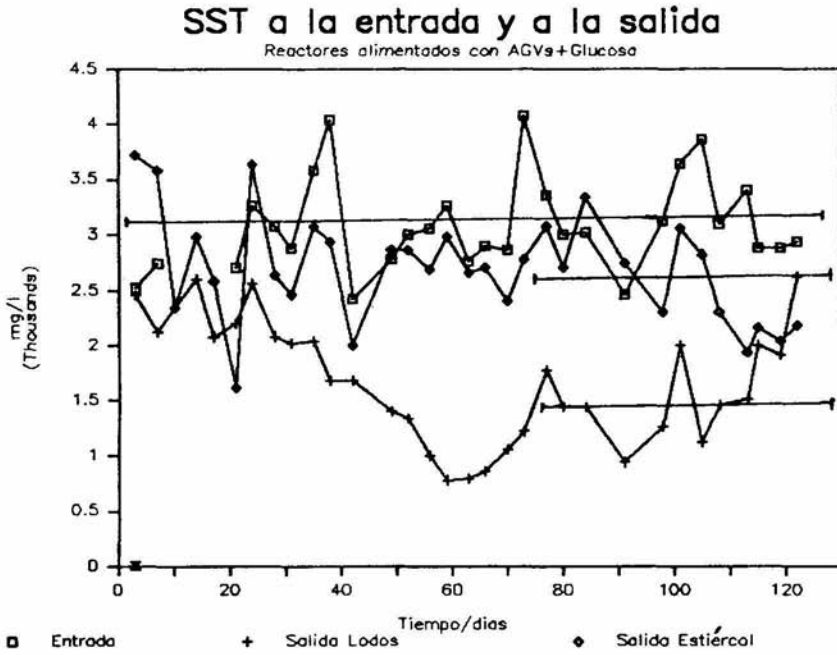
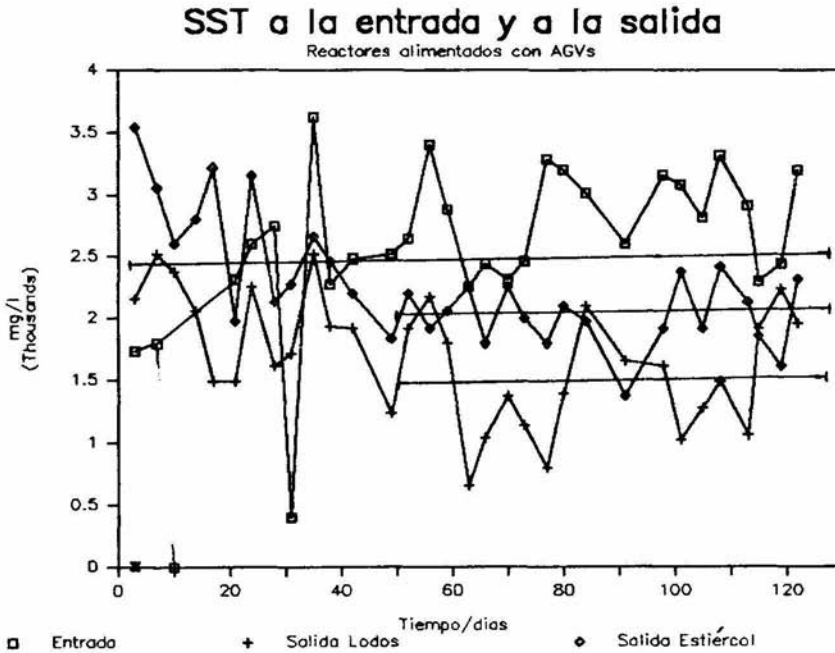


Figura 24.



En el proceso de arranque de los reactores se registró una etapa de selectividad de los microorganismos dentro de los reactores y durante ésta una cierta cantidad de inóculo contenido en los reactores fue lavado, quedando solamente la biomasa con una buena sedimentación. El registro de los sólidos suspendidos totales y volátiles (SST, SSV) a la salida de los reactores nos indicó este lavado de los lodos, encontrándose que en todos los reactores inoculados con EV la cantidad de SS que salieron fue mayor que la cantidad que salió en el caso de los reactores inoculados con LAA. Observando las figuras 22 a 24 se tiene que existe una mayor diferencia en la cantidad de SST que sale de los reactores inoculados con EV alimentados con AGVs + Glucosa y AGVs, en comparación con el reactor alimentado con AGVs + FeSO_4 , obviamente este tipo de alimentación ayuda a la retención de la biomasa al crearse los precipitados de sulfuro ferroso. En las figuras 25, 26, 27 se observa que en la etapa de adaptación del inóculo, después de comenzar la alimentación, hay una salida muy grande de SSV, la cual va disminuyendo hasta mantenerse dentro de una cantidad estable; sin embargo como ya se mencionó, en los reactores inoculados con EV este lavado fue mayor, lo que propicio que la cama de lodos disminuyera considerablemente, y al final del experimento, al medir el volumen de los lodos en los reactores, se encontró que en los de EV se registraron los volúmenes más pequeños y

en consecuencia las cargas orgánicas fueron mayores en estos reactores al final del experimento (tabla 4).

Figura 25.

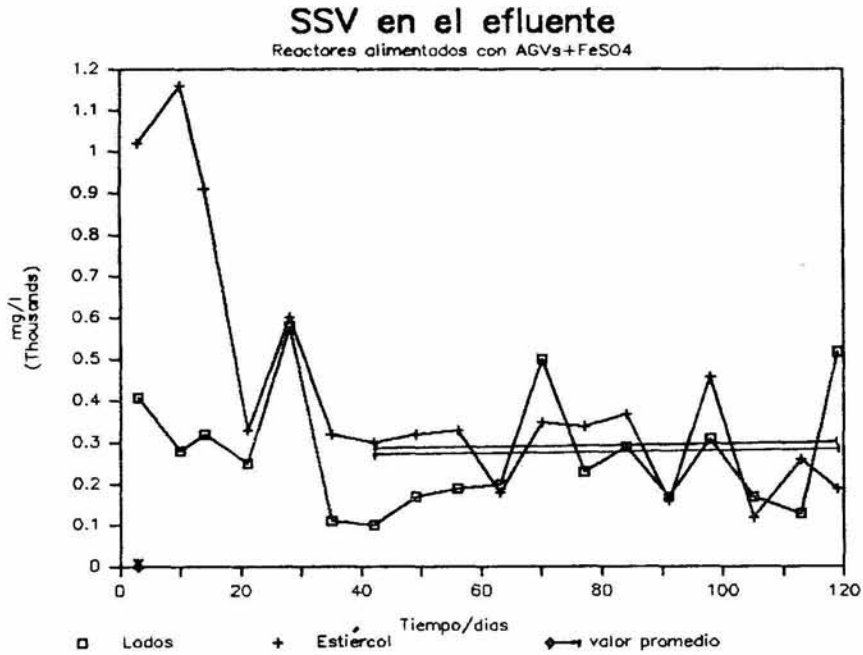


Figura 26.

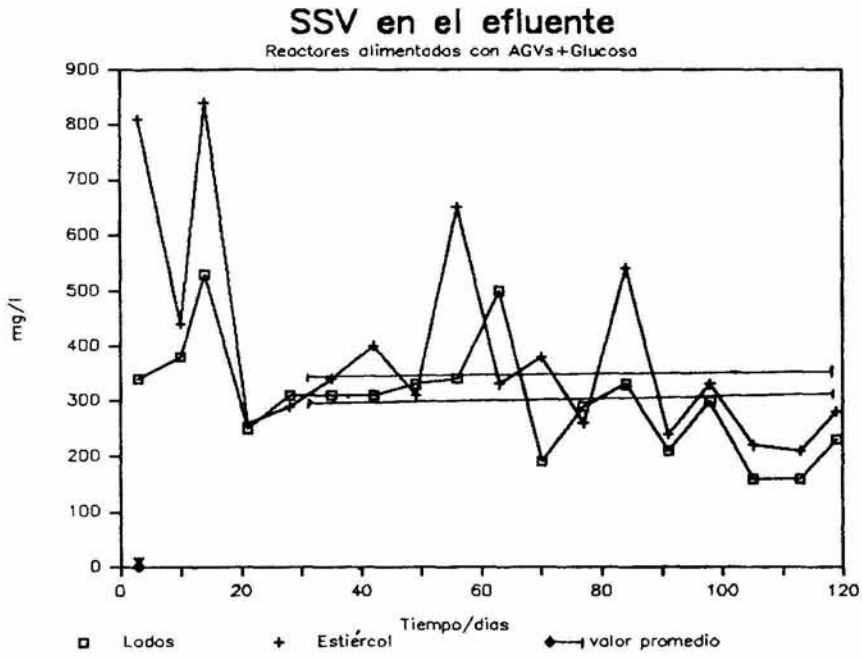
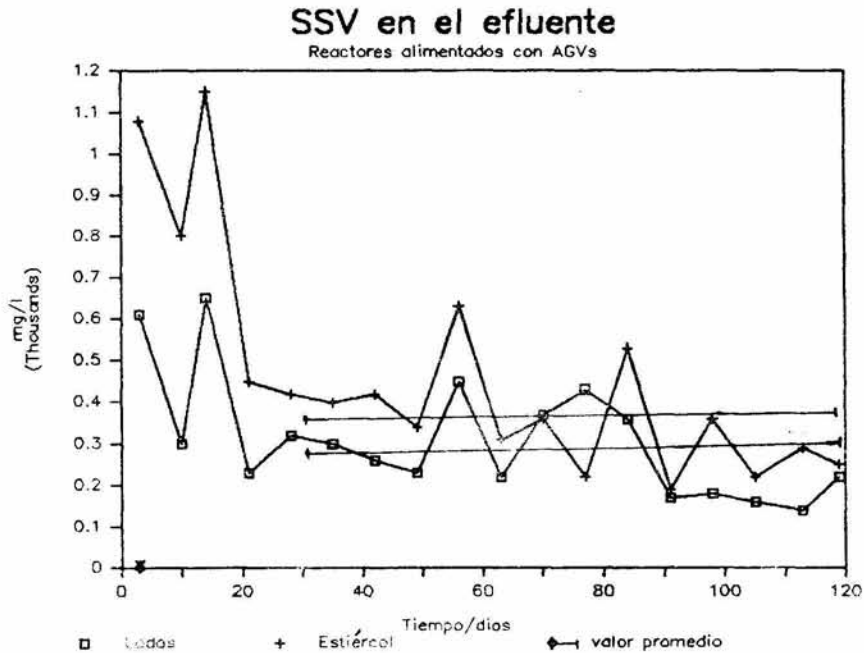


Figura 27.



6.2. GRANULOMETRIA

Una de las razones importantes por las que la granulación es promovida en el proceso UASB es la retención preferencial de bacterias de los gránulos (presentes en el inóculo), en la parte más baja del reactor, al menos si el proceso es operado apropiadamente durante el arranque. Como el alimento es introducido por la parte más baja del reactor, es ahí donde existe el máximo desarrollo. Los ingredientes dispersados y/o los lodos no sedimentables (incluyendo flóculos de lodos de filamentos bacteriales) serán lavados fuera del sistema preferencialmente, y consecuentemente más y más el crecimiento se concentrara en las bacterias segregadas en los lodos sedimentados (Lettinga, et al., 1982).

Al principio de este experimento se presentó una etapa de adaptación del inóculo en todos los reactores, ocasionándose en los primeros días de alimentación una selectividad de los microorganismos constituyentes del lodo, observada por la salida de los lodos que no presentaban buenas características de sedimentación. Este fenómeno ya ha sido observado al inicio del arranque como lo menciona Wu, et.al (1987), donde una buena cantidad de lodo fue expulsada del reactor, resultando un decremento en la cantidad total de lodos retenidos, desarrollándose lodos granulares en la región de la cama de lodos al fondo del reactor.

El análisis del tamaño de los gránulos en los reactores nos mostró que sí se dió la granulación en todos observándose tamaños que van de 0.103 a 0.277mm, encontrándose el día 87 los menores tamaños para los reactores inoculados con estiércol de vaca y alimentados con AGVs más glucosa y AGVs (tabla 6). Observando los resultados de las dos mediciones realizadas, una a los 87 días y la final a los 142 días, se tiene que hubo poco incremento en el tamaño del gránulo, esto puede deberse a que el intervalo de tiempo entre una y otra medición fue relativamente pequeño (55 días), tomando en cuenta que para los 87 días en que se realizo la primer medición, la mayoría de los reactores ya se encontraban en la etapa de equilibrio y para entonces los gránulos ya se encontraban establecidos y por lo tanto el tamaño del gránulo no aumento considerablemente hacia el final del experimento.

Reactores	87 días	Final(142 días)
LAA:AGVs+FeSO ₄	0.24	0.21
LAA:AGVs+Glu	0.19	0.21
LAA:AGVs	0.27	0.25
EV:AGVs+FeSO ₄	0.22	0.23
EV:AGVs+Glu	0.13	0.18
EV:AGVs	0.10	0.22

Tabla 6. Que muestra el tamaño de los gránulos a los 87 días y al final en mm.

No se nota una influencia en el tamaño de los granos al agregar FeSO₄.

Una característica de estos lodos, debido al precipitado es un color negro, incluyendo al reactor

inoculado con estiércol de vaca, diferente al color observado en los demás reactores que no presentaron en su alimentación FeSO_4 .

Al final del experimento, los lodos presentaron un diámetro promedio similar: las diferentes alimentaciones y los diferentes tipos de inóculos no influyeron en este valor durante este tiempo.

En los reactores alimentados con AGVs e inoculado con lodos activados adaptados o estiércol de vaca, hubo una granulación correcta, lo que nos indica que con este tipo de alimentación es posible cultivar lodos granulares (Lettinga, et al. 1982).

Muchos otros factores son considerados importantes por diferentes investigadores para el proceso de granulación: las buenas condiciones para el crecimiento de las bacterias metanogénicas, la concentración de cationes bivalentes, el tiempo de retención hidráulica y la velocidad ascensional del líquido, la concentración del influente, la compresión gravitacional de las partículas del lodo, y la velocidad ascensional del biogás liberado. Una presión selectiva para los agregados bacterianos con buenas propiedades de sedimentación por deslave de los agregados más pequeños es considerado como favorable. La actividad metanogénica del material sembrado y la naturaleza y cantidad de partículas inertes en el material sembrado, también juega un papel

importante en los procesos de granulación (Wiegant y Man, 1986); por otro lado Boulenger y col., reportaron que la aplicación de cargas demasiado elevadas podrían desfavorecer el fenómeno de granulación.

Los resultados obtenidos de Índice Volumétrico de lodos SVi, (tabla 7) muestran que en general los lodos en todos los reactores tuvieron un buen coeficiente de sedimentación al final del experimento. para el caso del inóculo con LAA, al inicio este coeficiente fue alto: 224.3 mL/g y a lo largo del tiempo de operación este fue mejorando, observándose hacia el final que el reactor que presento el mayor SVi fue el alimentado con AGVs + Glucosa, seguido por el reactor alimentado con AGVs y en tercer lugar el reactor alimentado con AGVs + FeSO_4 . Mientras que para los reactores inoculados con EV al tiempo cero, no pudo ser determinado este coeficiente de sedimentación ya que al realizar la medición, el líquido contenido en la probeta tomo el color del estiércol haciendo imposible que se observara el volumen de lodo que se iba sedimentando, aún después de una hora en que la probeta fue agitada, pero a los 139 días el que mostró mejor SVi fue el alimentado con AGVs seguido por el reactor con AGVs + FeSO_4 y al último el reactor con AGVs + Glucosa, este último presentando el valor más alto de todos los reactores. Sin embargo, todos los valores obtenidos se encuentran dentro del intervalo establecido para los lodos granulares con un SVi entre 10 y 20 mL/g y para un lodo no granular que presenta buena floculación

con un SVi del orden de 20 a 40 mL/g (Lettinga, et al., 1982). Esto nos indica que en todos los reactores el inóculo utilizado presento una adaptación ya sea mayor o menor a las condiciones ambientales y al tipo de alimentación, y aunque los reactores inoculados con EV alimentados con AGVs + Glucosa y con AGVs no presentaron buenas eficiencias en la remoción de la DQO y la producción de biogas, su inóculo se encaminaba hacia una formación de gránulos con características físicas normales.

Reactor	T0	16d	29d	43d	139d
LAA:AGVs					
+FeSO ₄	224.3	75.4	59.0	56.7	23.2
LAA:AGVs					
+Glucosa	224.3	64.7	58.6	54.6	10.0
LAA:AGVs	224.3	63.0	63.7	70.0	13.2
EV:AGVs					
+FeSO ₄		26.0	17.0	21.4	18.3
EV:AGVs					
+Glucosa		32.6	35.0	34.0	34.6
EV: AGVs		19.0	23.7	20.3	9.4

Tabla 7. Donde se observan los valores de SVi de los lodos en los reactores a lo largo del experimento en mL/gr (30min).

Podemos observar que los reactores inoculados con LAA presentaron una mayor variación en el SVi del tiempo inicial al final (de 224.3 a 23.2-10.0 mL/g (30 min)); mientras que los inoculados con EV tuvieron menos variaciones, manteniendose este coeficiente casi constante para el caso del reactor alimentado con AGVs + Glucosa. Lo que nos indica que la parte sedimentable del estiércol tiene ya buenas características de decantación,

pero dado el lavado intensivo de este lodo ligado con el hecho que contenía mucha materia en suspensión no decantable, al final la fracción detenida en los reactores fue mínima.

Noyola (1990), reportó valores semejantes a los encontrados aquí de 37mL/g, de un reactor UASB inoculado con LAA y alimentado con una mezcla de ácido acético y propiónico. Así mismo Harada, et al., (1988) encontraron valores de SVi de 18.0 y 16.9 mL/g, para los lodos de reactores alimentados con aguas conteniendo AGVs.

En cuanto a las velocidades de sedimentación encontradas, estas no tuvieron grandes variaciones desde el inicio del experimento hasta el final (tabla 8), encontrando valores estables tanto para LAA como para EV.

Reactor	T0	16d	29d	43d	139d
*AGVs + FeSO ₄	45.0	49.8	52.1	48.7	45.9
*AGVs + Glucosa		46.5	55.4	50.9	50.9
*AGVs		46.5	52.1	48.7	45.9

*Los valores corresponden a ambos tipos de inóculo a excepción de AGVs + FeSO₄ al T0 el cual corresponde solamente a LAA.

Tabla 8. Velocidades de sedimentación de los lodos (cm/min).

6.3. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

6.3.1. CONTEOS MICROBIANOS (NMP)

Al observar la tabla 9 de la cuantificación de los diferentes grupos bacterianos (NMP), se observa en general que en los reactores inoculados con lodos activados adaptados, el número inicial de bacterias que contenía el lodo al iniciar el experimento es ya adecuado, y superior al conteo realizado al tiempo 0 con el estiércol (tabla 10).

En los conteos finales los números de bacterias metanogénicas aumentaron, excepto en el caso de las metanogénicas hidrogenofílicas (BMH) de los LAA alimentados con AGVs y FeSO_4 cuyo número disminuyó levemente (tabla 9).

Los lodos (EV, LAA) alimentados con AGVs + glucosa presentaron al final el mayor número de BMH y de acetogénicas productoras obligatorias de hidrógeno (OHPA). Esto se puede explicar por un aumento en la producción de AGVs e hidrógeno derivados de la fermentación de la glucosa, abasteciendo más sustratos a estos dos grupos de bacterias y favoreciendo así el crecimiento celular. Al respecto de las metanogénicas acetoclásticas (BMA), se nota el mayor número en los lodos (LAA y EV) alimentados con los AGVs; pero es

difícil establecer una diferencia significativa para los lodos de tipo LAA, dado que los conteos dan número de BMA con el mismo orden de magnitud (10^9), y que la precisión del conteo por el NMP no es muy grande.

TABLA 9

Cuantificación de los microorganismos en lodos activados adaptados utilizando el NMP con 5 tubos por dilución, al tiempo inicial (T0) y al tiempo final (cuatro meses y medio).

	No. microorganismos por gSSV			
	Lodos T0	LAA:AGVs + FeSO ₄ (.2g/L)	LAA:AGVs + G (0.5g/L)	LAA:AGVs (Acet.yProp)
BMH	3×10^{10}	7×10^9	2×10^{11}	9×10^{10}
BMA	4×10^8	4×10^9	4.5×10^9	9×10^9
OHPA (Op)	7×10^7	1×10^7	9×10^7	2.5×10^7
OHPA (Ob)	4×10^7	4×10^7	3×10^8	6×10^7

TABLA 10

Cuantificación de los microorganismos en estiércol de vaca utilizando el NMP con 5 tubos por dilución, al tiempo inicial (T0) y al tiempo final (cuatro meses y medio).

	No. de microorganismos por gSSV				
	EV:T0 s/ext.	EV:T0 c/ext.	EV:AGVs+ FeSO ₄ .2g/L	EV:AGVs+ G 0.5g/L	EV:AGVs+ (AcetyProp)
BMH	5.5×10^8	3×10^9	3.5×10^{10}	8×10^{10}	4.5×10^{10}
BMA	9×10^3	2×10^7	5×10^9	2.5×10^{10}	1×10^{10}
OHPA(Op)	3×10^6	0.8×10^6	5×10^5	9×10^8	2×10^7
OHPA(Ob)	-	2×10^5	6×10^6	2.5×10^9	5×10^7

BMH: Bacterias metanógenas hidrogenofílicas

BMA: Bacterias metanógenas acetoclásticas

OHPA(Op): Bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno utilizadoras de propionato.

OHPA(Ob): Bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno utilizadoras de butirato.

Comparando el número inicial de bacterias de este trabajo con el realizado por Guyot, J.P. (1988), que también cuantificaron bacterias metanogénicas, hidrogenofílicas, acetoclásticas y OHPA utilizadoras de propionato en lodos granulares a los ocho meses de operación, Tabla 11. Se observa que la cantidad de bacterias acetoclásticas y OHPA utilizadoras de propionato es semejante al encontrado en este trabajo, con $3 \cdot 10^8$ y $2 \cdot 10^8$ respectivamente, mientras que para las metanogénicas hidrogenofílicas encontraron 10^9 teniendo que este último valor es menor al encontrado por nosotros; esto significa que el lodo activado adaptado que se utilizó para inocular los reactores contaba con una buena población de bacterias hidrogenofílicas principalmente, aunque también resultó ser muy adecuada la cantidad de bacterias acetoclásticas y OHPA utilizadoras de propionato. Si la misma tabla 11 se compara con los conteos finales de la tabla 9 vemos que nuestro experimento dió un mejor número de bacterias metanogénicas y OHPA.

TABLA 11

Cuantificación de microorganismos en lodos granulares utilizando el NMP con 5 tubos por dilución.

	No. microorganismos por gSSV
Metanógenas Hidrogenofílicas	10^9
Metanógenas Acetoclásticas	$3 \cdot 10^8$
OHPA (Op)	$2 \cdot 10^8$

En lo que se refiere a la numeración de estiércol utilizado como inóculo se encontró que las bacterias metanogénicas del rumen necesitan factores de crecimiento que se encuentran en el líquido ruminal, tales como ácidos grasos ramificados. Hay que precisar también que las bacterias OHPA son estrictamente dependientes de las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas, y que si estas últimas no pueden crecer, entonces no crecen tampoco las OHPA. Esto se demostró principalmente con las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas; no tenemos literatura reportando esta necesidad para las bacterias metanogénicas acetoclásticas del rumen.

Así, con el inóculo fresco (estiércol) al tiempo inicial se decidió de proceder a dos cuantificaciones en paralelo: una con medios complementados con extracto de líquido ruminal, y una con medio sin extracto de líquido ruminal. Con el propósito de demostrar la necesidad de estas bacterias de tener cofactores de crecimiento, y además cuantificar las bacterias que pueden desarrollarse en un medio sin estos factores. Las necesidades especiales que tienen las bacterias metanogénicas del rumen pueden ser consideradas como una dificultad para utilizar el estiércol como inóculo, pero dado que se supone que en el reactor se cuenta con la comunidad completa de las bacterias anaerobias procedentes del rumen, se podría considerar que se tienen las mismas relaciones de simbiosis, es decir que las bacterias que

producen los factores de crecimiento en el rumen siguen haciendolo en el reactor para el provecho de las bacterias metanogénicas.

Al examinar los conteos con el estiércol al tiempo 0 (tabla 10), se verifica el efecto positivo del extracto ruminal sobre el número de BMH, pero también observamos un incremento de las BMA al agregar el extracto. Sin embargo no se nota un efecto sobre las bacterias OHPA utilizadoras de propionato, quienes parecen no ser afectadas por este factor.

Al tiempo final del experimento se volvieron a cuantificar a las bacterias del reactor pero sin agregar al medio extracto ruminal. Tal como lo podemos constatar en la tabla 10, se pudieron cuantificar los diferentes grupos de bacterias anaerobias y se obtuvieron conteos que se pueden considerar como buenos. Esto implica que la composición microbiana del estiércol se cambió a lo largo del tiempo de arranque de los reactores, para seleccionar una población bacteriana metanogénica que no requiere estos factores de crecimiento. Esto significa también que las condiciones de operación de los reactores (flujo continuo más alimentación sin extracto ruminal) operaron una presión de selección negativa sobre las bacterias metanogénicas que requieren factores de crecimiento, para favorecer el crecimiento de bacterias menos exigentes.

Efectivamente hay que tomar en cuenta que al tiempo inicial en el estiércol fresco con los medios de cultivo sin líquido ruminal, se pudieron cuantificar bacterias aunque en menores proporciones que con los medios complementados. Lo que significa entonces que si hay un potencial de bacterias metanogénicas que podrían crecer en condiciones diferentes de las del rumen, sin que se agreguen los factores de crecimiento; entonces esto podría implicar que se necesitaría un tiempo mayor para arrancar reactores con estiércol, para dar tiempo a estas bacterias de crecer en cantidades adecuadas.

El resultado del NMP para los reactores inoculados con estiércol de vaca indica que la cantidad de bacterias en general, se incrementó hacia el final del experimento (tabla 10). Al tiempo inicial la cuantificación de los grupos bacterianos de estiércol con medios con extracto de líquido ruminal muestra una prevalescencia de bacterias metanogénicas hidrogenofílicas, en comparación con los demás grupos. Esto es de esperarse si tomamos en cuenta que en el rumen no se lleva a cabo mayoritariamente la conversión de la materia orgánica a CO_2 y CH_4 vía los AGVs, ya que los rumiantes dependen de la absorción y subsecuente oxidación de los ácidos grasos volátiles que les sirven como nutrimento por lo que optimizan la producción de AGVs y minimizan la producción de metano a partir de estos compuestos, en donde el metano producido proviene del hidrógeno, del formato y

metanol generado en el primer paso de la degradación (Zehnder, 1978). Hobson (1982) encontró que las bacterias utilizadoras de hidrógeno más CO_2 crecen más rápido en el rumen que en los digestores, y que las concentraciones residuales de hidrógeno en el rumen son mucho más grandes que en los digestores, lo que conduce a una inhibición de la metanogénesis a partir de los AGVs en el rumen.

El hecho de haber obtenido una cantidad de bacterias metanogénicas acetoclásticas, OHPA utilizadoras de propionato y OHPA utilizadoras de butirato relativamente buena, de la numeración de bacterias al tiempo inicial con medios con extracto de líquido ruminal (tabla 10), podría hacernos pensar que aunque estas bacterias no son necesarias en el rumen, y que se encuentran de alguna manera inhibidas por las concentraciones de hidrógeno dentro del rumen, ellas pueden crecer en este ambiente utilizando otra ruta metabólica. Sin embargo para hacer válida esta suposición es necesario realizar más estudios al respecto.

6.3.2. ACTIVIDAD

En las pruebas de actividad realizadas al tiempo 0, tanto para LAA a 5 h y 3,4 y 5 días de incubación del experimento de cinética (figura 28), como para el EV a 5 h de incubación (figura 29), se encontró que no hubo degradación de los ácidos grasos probados (ácido acético, propiónico y butírico, 10 mM cada uno). Indicando que

Figura 28.

Cinética de degradación AGVs por LAA T0

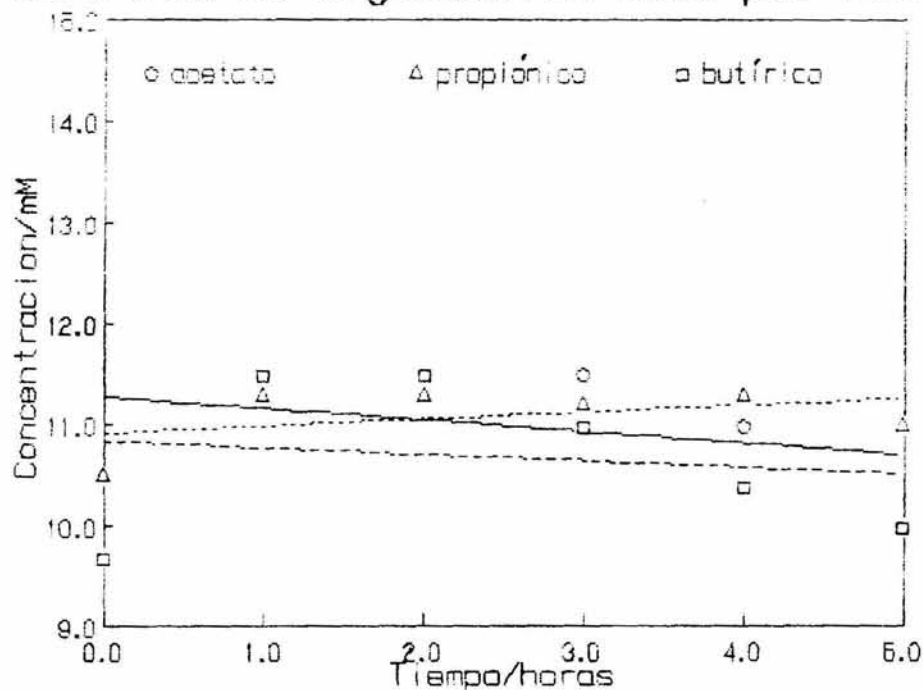
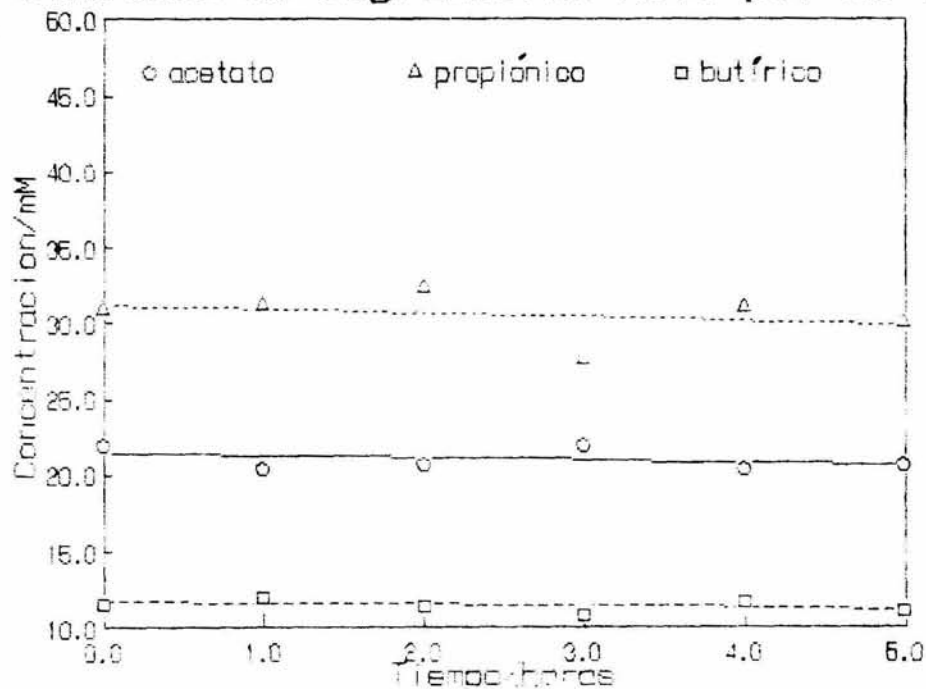


Figura 29.

Cinética de degradación AGVs por EV T0



aunque los diferentes grupos microbianos sí están presentes (por lo encontrado en el NMP al inicio), éstas no están adaptadas a degradar el tipo de sustrato que se les adicionó en el tiempo requerido para tener una buena cinética. En el siguiente muestreo a los 45 días se encontró que sólo en algunos reactores empezaba a haber degradación para el acetato durante 6 h de incubación, como es el caso de los reactores alimentados con AGVs + FeSO_4 para ambos inóculos y el reactor inoculado con LAA y alimentado con AGVs (tabla 12). Dejando incubar más tiempo estos experimentos de cinéticas, observamos que en el caso de LAA, el butirato y el propionato, entre los días 3 y 5, son utilizados, siendo el lodo con FeSO_4 los más efectivos (figura 30, 31). En el caso del estiércol con AGVs y FeSO_4 , el butirato desapareció en 5 días pero el propionato no fue degradado (figura 32).

Reactor	Vmax mM/L/h	Asp mM/gSSV/h
LAA:AGVs+ FeSO_4	1.67	0.7
LAA:AGVs	0.44	0.25
EV:AGVs+ FeSO_4	2.75	0.54
LAA:AGVs+Glucosa	0	0
EV:AGVs+Glucosa	0	0
EV:AGVs	0	0

Tabla 12. Velocidad máxima de metanogénesis (V_{max}) y actividad específica (Asp) de degradación del acetato por los lodos a los 45 días de operación.

En la actividad final a los 141 días todos los reactores degradan el acetato en menos de 6 h (tabla 13). Dependiendo del tipo de alimentación se tiene que la velocidad máxima de metanogénesis (V_{max}) y la actividad

Figura 30.

Cinética de degradación de ABY'S por LAA.

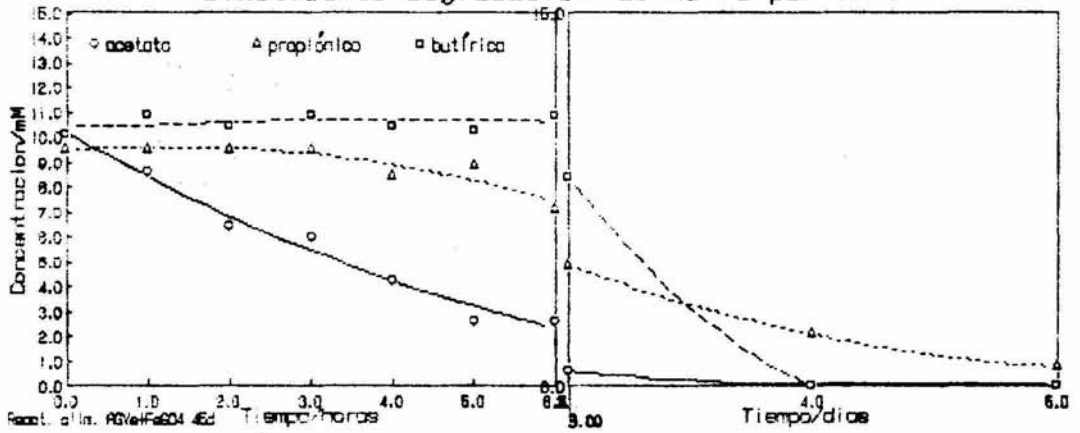


Figura 31.

Cinética de degradación de ABY'S por LAA

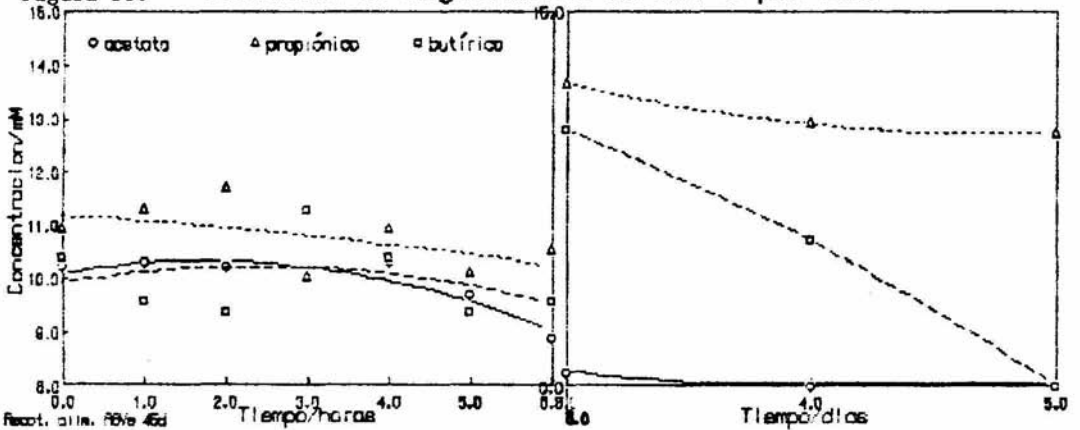
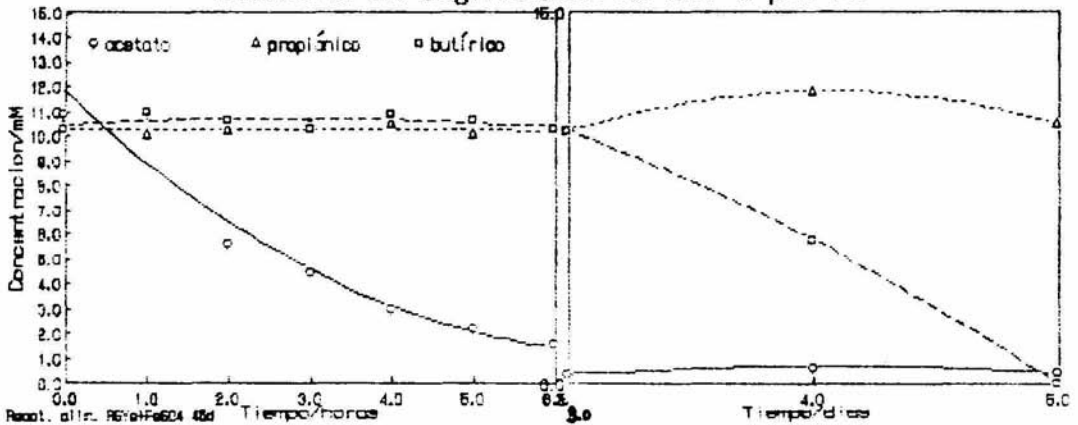


Figura 32.

Cinética de degradación de ABY'S por EV



específica (Asp) a partir del acetato varía. La mayor actividad específica, así como la V_{max} , se encontró en los reactores que presentaban en su alimentación $FeSO_4$ (figura 33 y 34) siguiéndoles los reactores con AGVs + Glucosa (figura 35 y 36) y finalmente los alimentados con AGVs (figura 37 y 38).

Reactor	V_{max} mM/L/h	Asp mM/gSSV/h
LAA:AGVs+ $FeSO_4$	2.5	0.51
LAA:AGVs+Glucosa	2.33	0.44
LAA:AGVs	0.96	0.21
EV:AGVs+ $FeSO_4$	3.43	0.52
EV:AGVs+Glucosa	1.51	0.36
EV:AGVs	1.85	0.31

Tabla 13. Velocidad máxima (V_{max}) de metanogénesis y actividad específica (Asp) de degradación del acetato por los lodos al final del experimento (día 141).

Se confirma nuevamente el efecto positivo del $FeSO_4$ sobre el establecimiento de las bacterias en los reactores con ambos inóculos. Así, al agregar $FeSO_4$, las diferencias de actividades acetoclásticas observadas en los otros tipos de alimentaciones (tabla 13) desaparecen y se obtienen Asp iguales, tal como el mismo número de BMA (tabla 10). Al comparar los conteos bacterianos (tabla 10), en los lodos con $FeSO_4$ se encuentran los números más bajos de BMA, así el efecto de $FeSO_4$ no es directamente sobre el crecimiento bacteriano pero sobre las actividades de éstas: las condiciones generadas por este compuesto podrían favorecer un desacoplamiento energético entre el crecimiento y la producción de energía (Guyot et al. 1990). La adición de glucosa al medio tuvo también un efecto positivo sobre las

Cinética de degradación AGVs por LAA

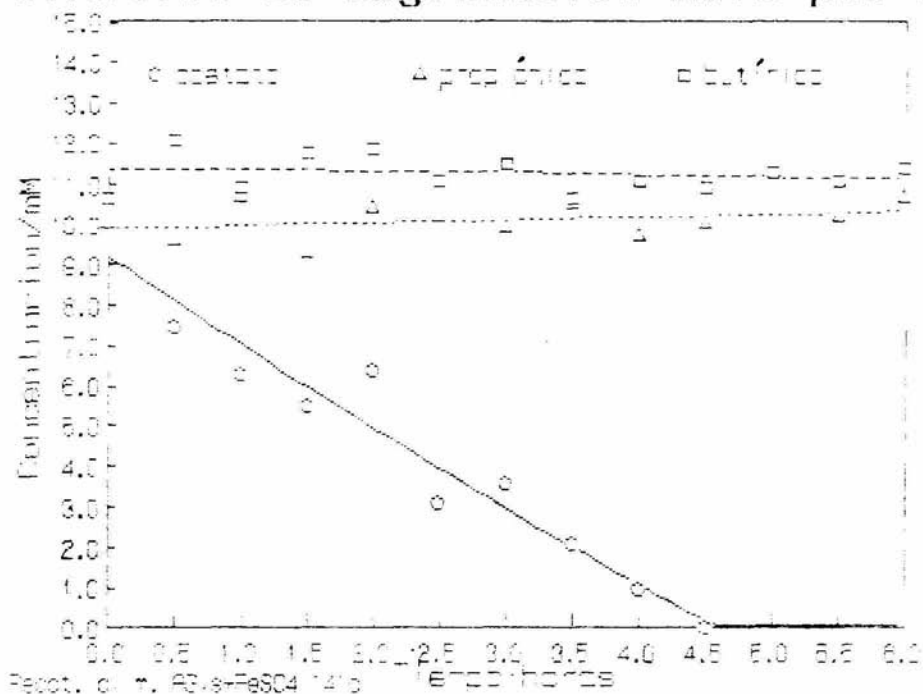


Figure 34.

Cinética de degradación AGVs por EV

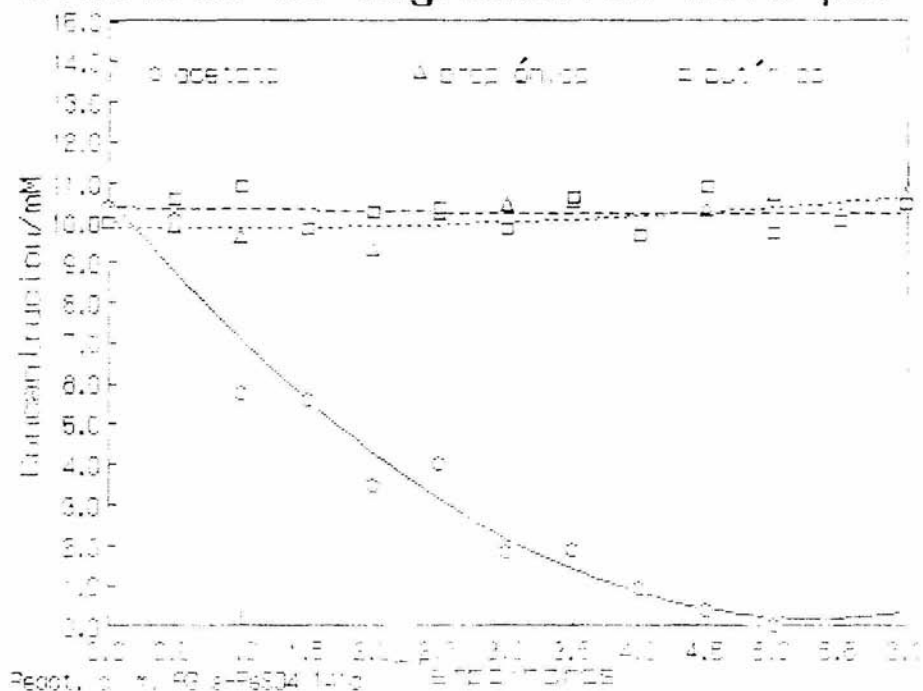


Figure 35.

Cinética de degradación AGVs por LAA

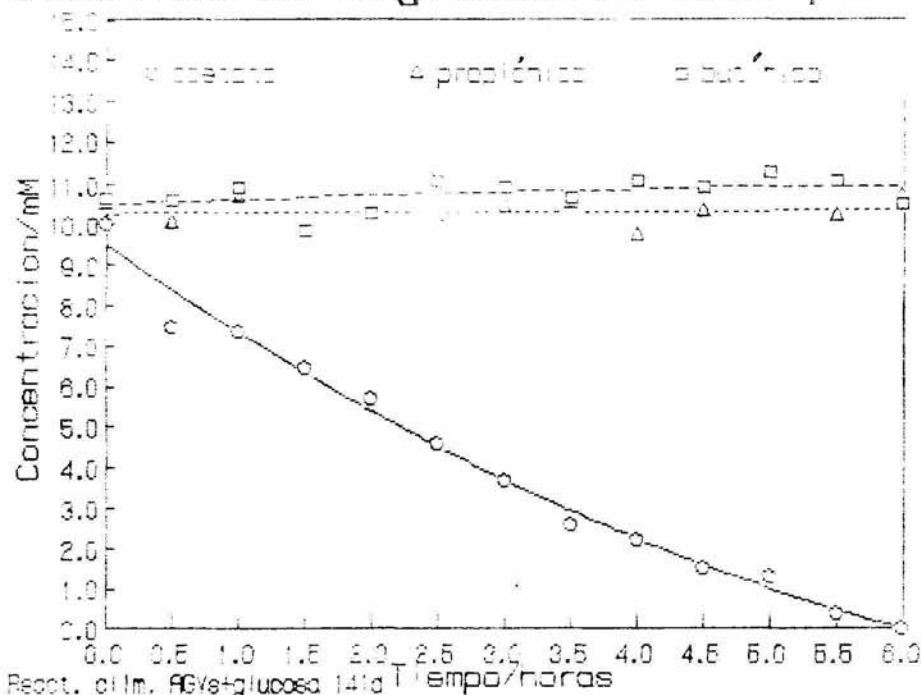
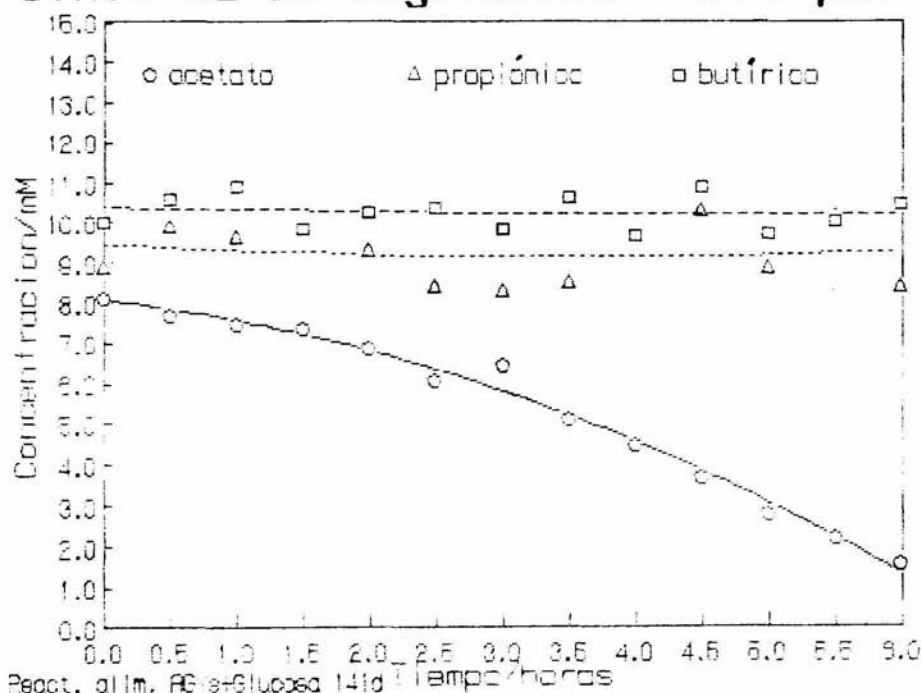


Figure 36.

Cinética de degradación AGVs por EV



Cinética de degradación AGVs por LAA

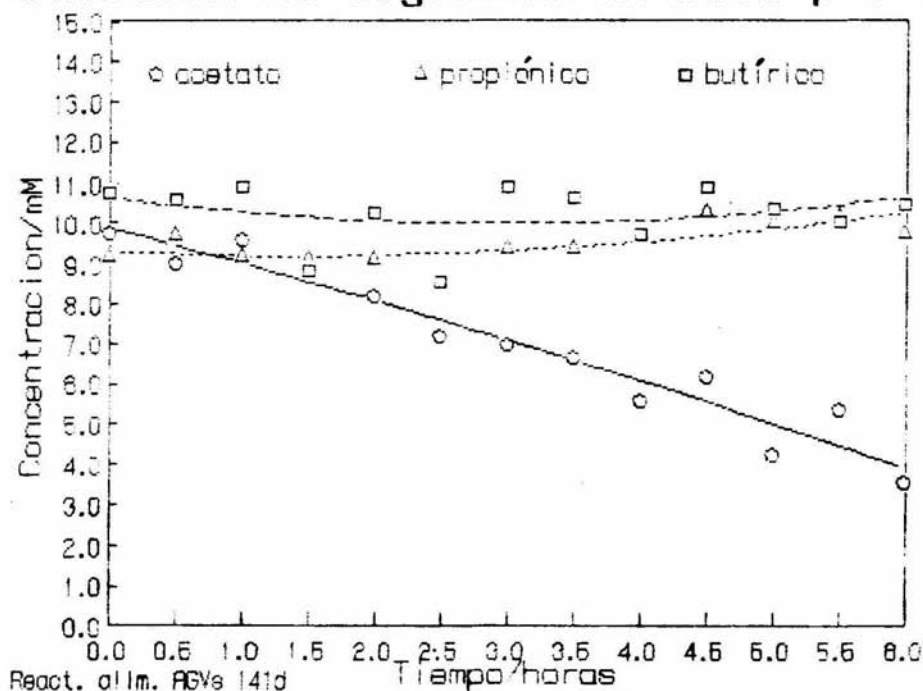
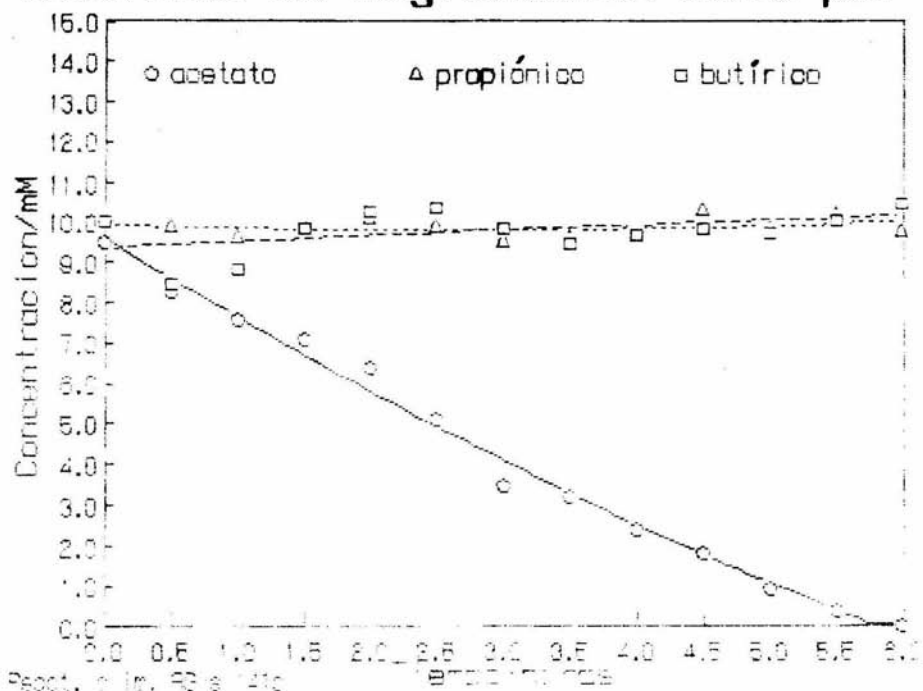


Figura 38.

Cinética de degradación AGVs por EV



actividades acetoclásticas (figura 35, 36) que es más notable en el reactor inoculado con LAA (tabla 13). El reactor con el mismo inóculo y alimentado con AGVs presentó la menor actividad específica así como V_{max} (figura 37, tabla 13). De un punto de vista general, para ambos tipos de inóculo, podemos clasificar la influencia del tipo de alimentación sobre la actividad acetoclástica de esta manera: $AGVs + FeSO_4 > AGVs + glucosa > AGVs$. Estos valores fueron tomados durante 6 h de incubación y en este tiempo no se registró degradación de propiónico y butírico (figura 33 a 38), quizá a mayor tiempo si se dió una degradación.

La razón por la que no se desarrollaron buenas actividades para el propiónico y el butírico pudo deberse a que el tiempo de operación de los reactores no permitió que crecieran a un nivel adecuado las bacterias que degradan estos ácidos, o que no se obtuvieron las condiciones requeridas en los reactores para favorecer buenas actividades. En un trabajo de Guyot et al. (1990) se tuvo conteos de OHPA similares a los muestreos, pero con lodos con buenas actividades desde los 3 meses de operación. Estas diferencias se podrían explicar por el origen de los inóculos, dado que Guyot et al. (1990) utilizaron un lodo que no fue adaptado de la misma manera que los que utilizamos.

Dolfing, (1985) calculó para el acetato actividades de 0.3 a 1.14 mM/gSSV/h y Guyot *et al.* (1990) de 0.9 a 1.4 mM/gSSV/h; mientras que Hulshoff Pol *et al.* (1986) encontró que con una mezcla de AGVs los valores de actividad metabólica específica se encuentran dentro de un rango de 0.39 a 1.62 mM de CH₄/gSSV/h; encontrando que nuestros valores al tiempo final caen dentro de estos rangos.

6.3.3. PROTEINAS, AZUCARES Y % DE SSV

Observando la tabla 14 donde se muestran los % de SSV así como los % de SSF en los lodos se tiene que en los reactores se presentó una disminución continua de los SSV, excepto en el caso de los LAA con FeSO₄. Según las figuras 39 y 39 bis los reactores alimentados con AGVs + FeSO₄ presentan una tendencia a mantener el % de SSV, aunque para el caso del reactor inoculado con EV y esta misma alimentación se presenta un descenso de este porcentaje al inicio, pero posteriormente se mantiene constante. Los lodos (LAA, EV) (figura 39, 39 bis) alimentados con AGVs sólo sufren una caída fuerte del porcentaje en SSV, lo mismo ocurre con los LAA alimentados con AGVs y glucosa. En el caso del EV con este tipo de alimentación, la caída del porcentaje es menos drástica hasta el día 140, pero al final hubo también una disminución importante de este valor. El efecto positivo del sulfato ferroso para impedir esta disminución del porcentaje en SSV es notable. En los

Reactor	Lod.T0	16d	29d	43d	139	170d
LAA:AGVs+FeSO ₄						
SSV gr./L	9.4	7.3	11.4	12.5	24.1	12.5
SST gr/L	23.2	14.3	22.3	23.9	58.4	37.6
% SSV	40.6	51.7	51.2	52.4	41.2	46.6
% SSF	59.3	48.2	48.7	47.5	58.7	53.3
Proteína %/ssv			0.13		3.0	
Azúcar %/ssv			5.0		5.0	
LAA:AGVs+Glucosa						
SSV gr/L.		10.2	10.1	8.6	26.3	19.0
SST gr/L.		18.5	19.1	16.8	103.3	56.3
% SSV		55.0	53.2	51.5	25.5	33.8
% SSF		44.9	46.7	48.4	74.4	66.1
Proteína %/ssv			6.7		2.1	
Azúcar %/ssv			12.0		3.5	
LAA:AGVs						
SSV gr/L		9.3	8.7	6.6	22.5	14.1
SST gr/L		17.7	16.9	13.6	84.6	63.6
% SSV		52.5	51.5	48.5	26.4	22.2
% SSF		47.4	48.4	51.4	73.5	77.7
Proteína %/ssv			0.3		3.3	
Azúcar %/ssv			6.0		5.3	
EV:AGVs+FeSO ₄						
SSV gr/L	Est.T0	20.1	32.2	25.1	32.9	24.3
SST gr/L	45.0	29.3	58.4	44.7	56.5	43.0
% SSV	95.3	68.6	55.1	56.1	58.1	56.5
% SSF	75.5	31.3	44.8	43.8	41.8	43.4
Proteína %/ssv	24.4	9.2	2.0		6.6	
Azúcar %/ssv	10.1		7.0		12.0	
EV:AGVs+Glucosa						
SSV gr/L		17.7	19.6	13.8	20.5	16.1
SST gr/L		23.3	26.2	18.7	31.2	39.3
% SSV		76.2	75.1	73.9	65.6	41.0
% SSF		23.7	24.8	26.0	34.3	58.9
Proteína %/ssv			8.0		11.2	
Azúcar %/ssv			27.3		20.0	
EV:AGVs						
SSV gr/L		29.9	23.5	21.2	28.9	18.8
SST gr/L		54.2	38.8	35.3	102.4	54.7
% SSV		55.1	60.5	60.1	28.2	34.4
% SSF		44.8	39.5	39.8	71.7	65.5
Proteína %/ssv			3.0		3.0	
Azúcar %/ssv			20.0		7.5	

Tabla 14. Valores de gramos de SSV, SST así como el porcentaje de SSV y SSF; y el porcentaje de proteínas y azúcares en los lodos de los reactores en los diferentes tiempos muestreados.

Figura 33.

% SSV en lodos reactores con LAA

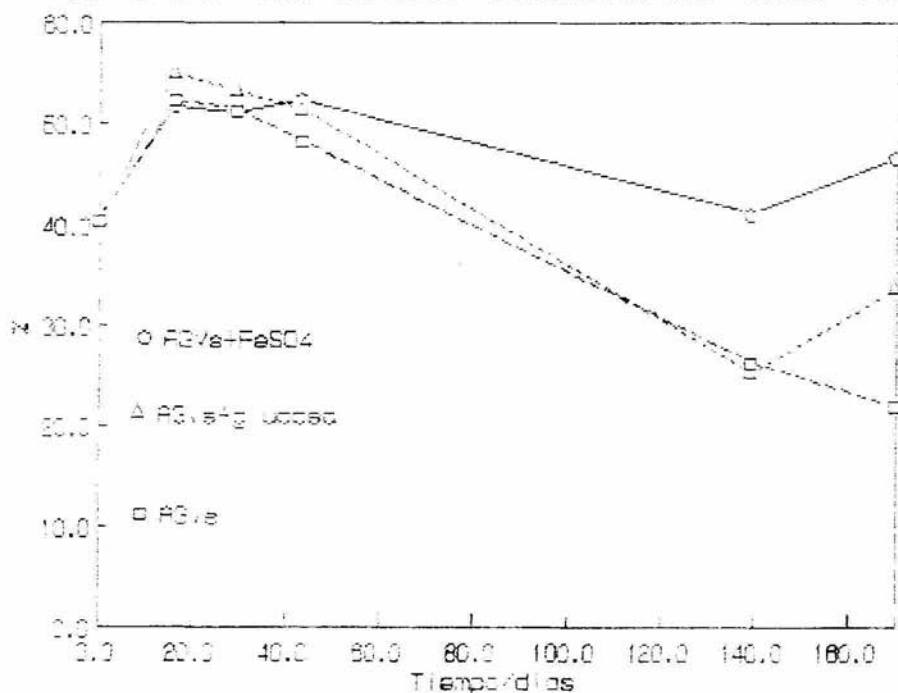
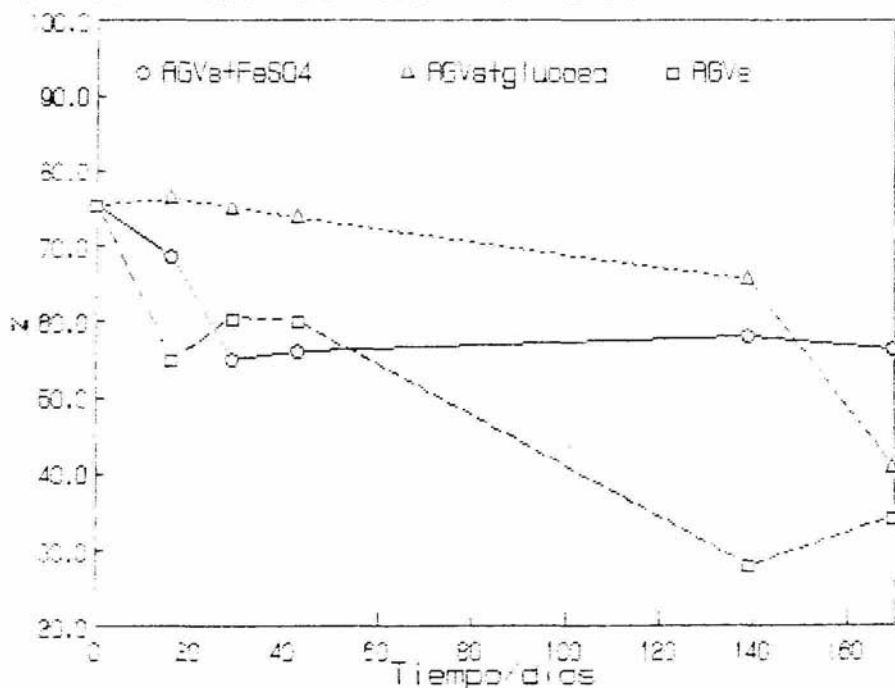


Figura 33 bis.

% SSV en lodos reactores con EV



otros casos, parece difícil relacionar la disminución del porcentaje en SSV con un aumento en la acumulación de los sólidos fijos, dado que en el caso de los lodos alimentados con FeSO_4 y AGVs no hubo tal efecto tan marcado. Las disminuciones en el porcentaje de SSV pueden deberse ya sea a una hidrólisis de la biomasa, o al lavado del reactor, el sulfato ferroso probablemente ha impedido este último fenómeno al tener la biomasa agregada con los precipitados de sulfato ferroso.

La disminución del porcentaje de SSV se traduce por un aumento en el porcentaje de SSF, lo que se relaciona con la disminución del valor del IVL de los lodos (tabla 7); excepto en el caso del estiércol alimentado con AGVs + glucosa, cuyo comportamiento atípico en relación con el IVL y el porcentaje de SSV (tablas 7 y 14, figura 39 bis) hacen pensar que se favoreció un lodo con bacterias que aprovecharon de la glucosa, y promovieron un lodo con malas características de decantación, cerca de un lodo flotante (bulking sludge).

En este caso, al leer la tabla 14, vemos que estos lodos tienen el mayor porcentaje en azúcares totales y proteínas al día 139, lo que va en el sentido de nuestra hipótesis.

Estos valores de azúcares totales y proteínas son muy bajos si se comparan con los obtenidos con Dolfig (1985), y el contenido en SSF es muy elevado. La

composición de la fracción volátil no parece ser realista, lo que implica cuestionarse en cuanto a la validez de las metodologías de análisis de azúcares y proteínas, en particular en el caso de las proteínas. En el laboratorio se había comprobado la técnica de Lowry para análisis de proteínas, pero se demostró que con esta había demasiadas interferencias en los lodos, en particular con los sulfuros. La técnica con el azul de Coomassie es la que ofrecía la mejor alternativa para analizar las proteínas, y es utilizada por otros laboratorios con las mismas aplicaciones. De la misma manera, la técnica de Dubois para las azúcares es la que se utiliza comunmente para los lodos. Es difícil explicar por que tenemos tan bajas concentraciones en estos compuestos, además de las limitaciones de estas técnicas de análisis, podría ser probable que se acumularan con los lodos otras sustancias (de reserva, hexopolimeros) que no se pueden cuantificar así.

7. REACTOR ALIMENTADO CON VINAZAS PROCEDENTES DE UNA INDUSTRIA PRODUCTORA DE LEVADURA: ANALISIS FISICO-QUIMICO DE UN ARRANQUE EN CONDICIONES NO-ADECUADAS.

Un reactor UASB inoculado con LAA fue alimentado con vinazas diluidas, a un TRH de 24 h. Dos cargas orgánicas volumétricas (de 0.5 y 0.21 kg DQO/m³reactor.d) fueron aplicadas al variar la concentración de DQO en la alimentación, conservando el mismo TRH: del día 0 al día

27 la carga fué de 0.5 kgDQO/m³reactor.d, y del día 28 al día 38 fue de 0.21 kgDQO/m³reactor.d. Respectivamente las concentraciones de DQO correspondientes en la alimentación fueron: 4898 mg/L y 2181mg/L.

Al examinar las figuras 40, 41, vemos que no hubo un arranque satisfactorio del reactor al aplicar una carga de 0.5 kgDQO/m³reactor.d, durante los 27 primeros días: globalmente la eficiencia de remoción de DQO era casi nula y la producción de biogás despreciable. Durante los 10 primeros días se observa una disminución del pH hasta 5, que vuelve progresivamente a subir cerca de la neutralidad al alcalinizar la alimentación con bicarbonato a partir del día 6 (figura 42 y 43). Hasta el día 27 no se produce alcalinidad por parte del reactor, lo que justifica la adición de bicarbonato (figura 43). En los 20 primeros días se observa una disminución del Eh hasta un valor promedio de -127mV. Entre los días 20 y 27, en que se tienen condiciones adecuadas de pH y Eh (figura 42), se nota un leve incremento en la producción de biogás (figura 41), sin que haya una variación significativa de remoción de DQO, dado las variaciones importantes de este valor (figura 40). Al examinar la figura 44, se tiene una leve remoción de SST hasta el día 16, después el sistema no presenta capacidad para eliminar los SST. Al respecto de los SSV, no hay remoción detectable (figura 45).

Figura 40.

Reactor alimentado con Vinaza

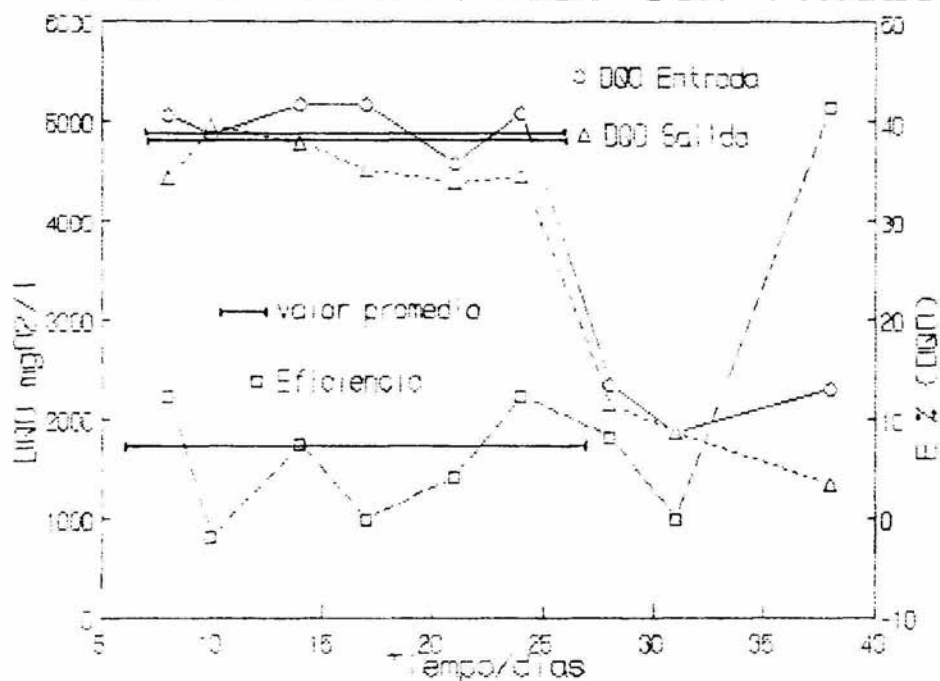


Figura 41.

Reactor alimentado con Vinaza

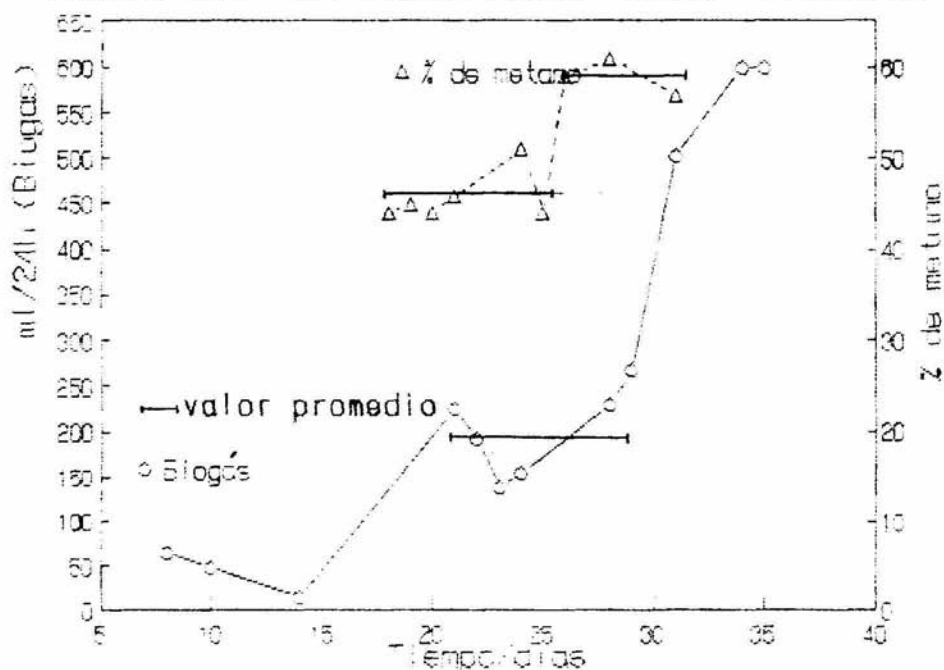
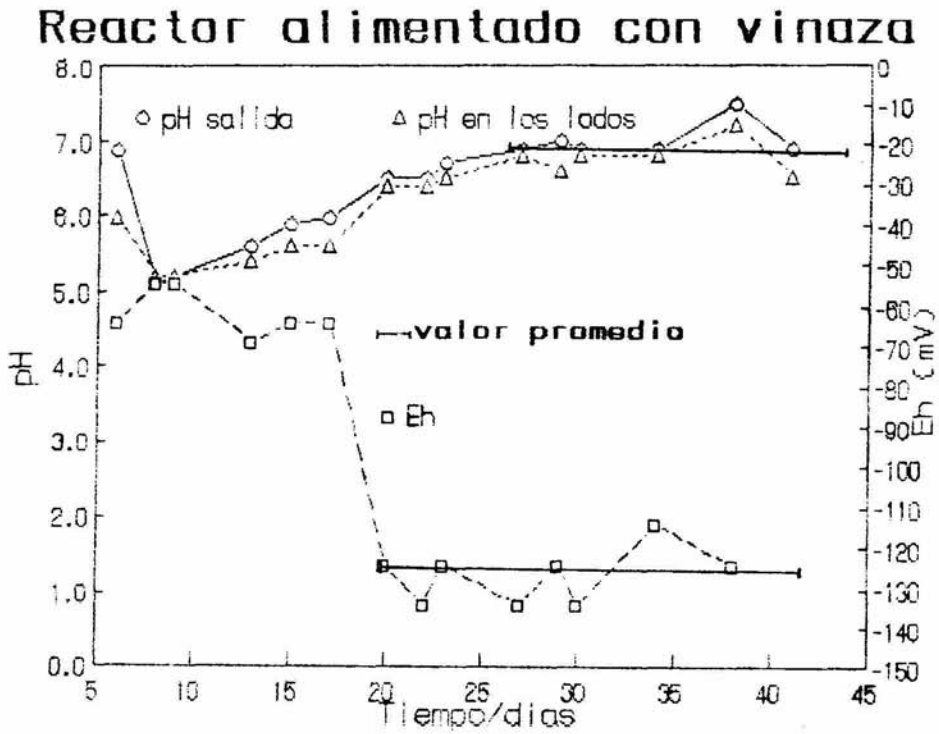


Figura 42.



Así, a pesar de restablecer el pH en el reactor y tener un Eh adecuado, vemos que en condiciones similares de operación a las de los reactores alimentados con los AGVs previamente estudiados, no logramos un arranque del reactor alimentado con vinazas. Este efluente a esta carga ($0.5 \text{ kgDQO/m}^3\text{reactor.d}$) es fuertemente inhibitor, por lo que decidimos bajar el día 28 la carga a $0.21 \text{ kgDQO/m}^3\text{reactor.d}$, conservando el mismo TRH. Al cambiar estas condiciones, observamos que aumenta en 15 días hasta 40% la eficiencia de remoción de DQO (figura 40), y 600 mL/d la producción de biogás (figura 41), mientras que se registra una producción de alcalinidad en el reactor (figura 43). Durante este período los pH y Eh siguen siendo adecuados (figura 42), pero no se nota una remoción significativa de sólidos suspendidos (figura 44 y 45). Lo que significa que la inhibición observada previamente no era irreversible, y que al cambiar las condiciones de operación, disminuyendo la carga orgánica, se logró arrancar el proceso. Sin embargo, por falta de tiempo, no se prosiguió este estudio y no podemos concluir sobre las eficiencias finales de este reactor. Sin embargo, en este caso fue interesante observar condiciones de arranque, en un reactor alimentado con efluentes tan difíciles como estas vinazas.

Figura 43.

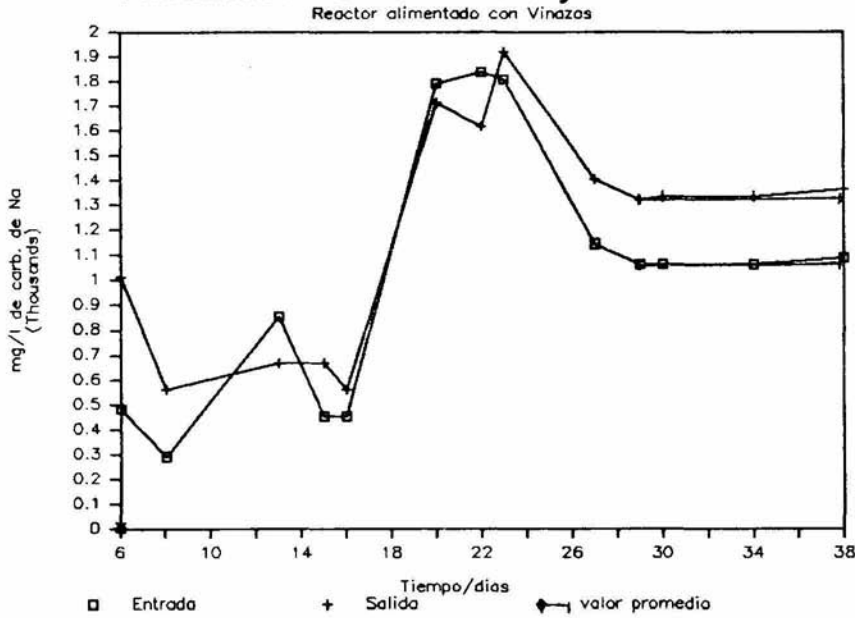
Alicalinidad a la entrada y a la salida

Figura 44.

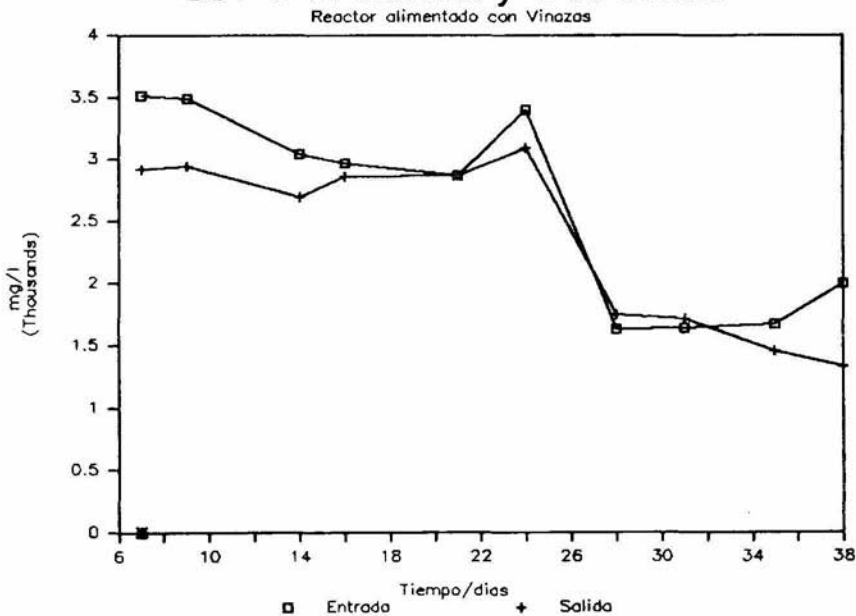
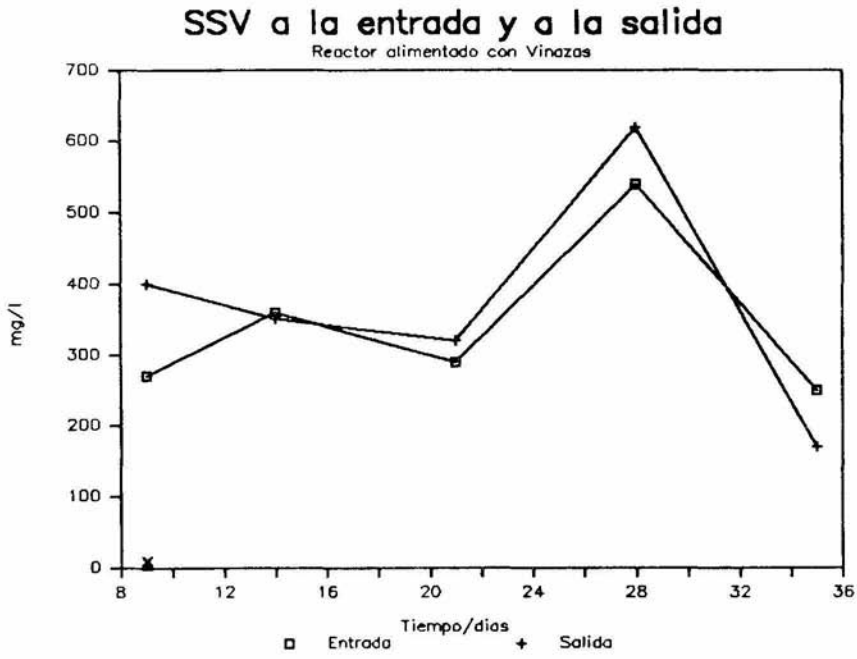
SST a la entrada y a la salida

Figura 45.



8. CONCLUSIONES

El uso del Lodo Activado Adaptado como inóculo para arrancar reactores UASB resultó ser bueno para los tipos de alimentación probados, por lo que puede considerarse una buena alternativa, ya que contienen una considerable cantidad de bacterias metanogénicas para utilizarse como material "semilla" para reactores anaerobios, además de sus buenas características de sedimentación y floculación. Es relativamente fácil obtener grandes cantidades de lodo de plantas de lodos activados aerobios, los cuales se componen de grandes cantidades de biomasa. La existencia de bacterias metanogénicas en lodos activados ha sido comprobada pero no ha sido investigada en detalle. Los autores proponen que su existencia puede ser atribuida a algún núcleo anaerobio en los flóculos de los lodos activados: el flóculo esta compuesto por tres porciones, una zona aerobia, una zona anóxica y un núcleo severamente anaerobio. Otra posible razón de la existencia de bacterias metanogénicas en los lodos activados es debido a la tolerancia al oxígeno de algunas bacterias (Wu, W. et al. 1987).

La adición de FeSO_4 (0.2 g/l) al medio de alimentación, resultó ser benéfico, ya que crearon las condiciones adecuadas de óxido-reducción en los lodos. Con LAA se obtuvieron las mayores eficiencias de remoción de DQO que son de 79 y 75% para los reactores alimentados

con AGVs + FeSO_4 y AGVs + Glucosa respectivamente; el tiempo de arranque de estos dos reactores fué menor comparado con el tiempo que tardo en llegar a una etapa de equilibrio el reactor alimentado con AGVs y que sin embargo obtuvo una eficiencia de remoción de DQO semejante a los anteriores y que fue de 74%. También con este inóculo alimentado con AGVs + Glucosa se obtuvo la mayor producción de biogás que fue de 5.2 L/d con el mayor porcentaje en metano de 79%.

Los LAA presentaron una buena población bacteriana metanogénica al inicio del experimento, la cual aumento al final excepto para los reactores alimentados con AGVs + FeSO_4 cuyo número disminuyó levemente. Así mismo el número de bacterias metanogénicas cuantificadas para el EV, se incremento al final de la operación de los reactores. Encontrandose que ambos inóculos, LAA y EV alimentados con AGVs + Glucosa presentaron el mayor número de BMH y de bacterias OHPA.

La mayor actividad específica (Asp), así como la V_{max} , se encontró en los reactores que presentaban en su alimentación FeSO_4 siguiendoles los reactores con AGVs + Glucosa y finalmente los alimentados con AGVs. El efecto del FeSO_4 no es directamente sobre el crecimiento bacteriano pero sobre las actividades de estas: las condiciones generadas por este compuesto podrían favorecer un desacoplamiento energético entre el crecimiento y la producción de energía.

Las bacterias del rumen requieren de factores de crecimiento que se encuentran en el líquido ruminal; es posible seleccionar bacterias metanogénicas del rumen que puedan crecer en reactores anaerobios ya sea por que estas bacterias son menos exigentes que cuando se encuentran en el rumen, o por que se siguen dando las relaciones de sintrofia necesarias entre estas sin necesidad de adicionar extracto de líquido ruminal a los reactores.

El mayor problema no radica en el establecimiento de estas bacterias sino en el tiempo tan prolongado que se requeriría para arrancar reactores inoculados con estiércol de vaca, lo cual es un factor determinante para decir hasta que punto puede ser útil este material como inóculo, ya que lo que se pretende es lograr menores tiempos en el arranque.

Sin embargo en el caso de usar estiércol de vaca como inóculo, existen unas principales limitaciones que son la menor cantidad de bacterias metanogénicas presentes por g/SSV y las exigencias específicas de las bacterias del rumen, lo que es uno de los obstáculos para lograr que este inóculo sea apropiado para el arranque de los reactores. Otros puntos importantes en desfavor de este inóculo, son el lavado del reactor y su actividad microbiana más baja, que se traducen por eficiencias de

remoción de DQO inferiores a las obtenidas con los reactores inoculados con LAA.

Para los tipos de alimentación probados el estiércol de vaca no resultó ser un inóculo adecuado, a menos que se adicione FeSO_4 (0.2g/l) al medio, encontrándose para este reactor la mayor eficiencia de remoción de DQO de 66%, pero con las limitaciones ya mencionadas.

El TRH de 24 h aplicado al reactor alimentado con vinazas a una carga orgánica de $0.5 \text{ kg DQO/m}^3 \cdot \text{d}$, no resultó ser el adecuado para lograr su arranque; a pesar de restablecer el pH en el reactor y tener un Eh adecuado se observa que en condiciones similares de operación a las de los reactores alimentados con los AGVs previamente estudiados, no se logró un arranque del reactor alimentado con vinazas. Sin embargo, al disminuir la carga orgánica hasta $0.21 \text{ kg DQO/m}^3 \cdot \text{d}$ (TRH=24h) se logró el arranque del reactor.

Es de suma importancia tener un control de las condiciones de operación al inicio del arranque de los reactores, ya que de esto depende un arranque lo más rápido posible, así como el buen funcionamiento de los mismos.

El estudio de efluentes sintéticos es importante para poder controlar las variables que puedan afectar al tratar un efluente natural. Cada tipo de efluente

necesita de un estudio que permita determinar los requerimientos particulares del tipo de inóculo, y las condiciones futuras de operación de los reactores pilotos e industriales. El estudio que hemos realizado es de suma importancia, porque se logró determinar un inóculo apropiado para los digestores anaerobios.

9. BIBLIOGRAFIA

APHA. AWWA and WPCF. (1985). Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 16th edition. Washington DC

Arias Osorio, A. y Noyola Robles, A. (1988). Tratamiento de un Agua Residual Urbana Mediante el Reactor Anaerobio de Lecho de Lodos (UASB). en avances de Investigación en Ingeniería Química. 1987, en Prensa.

Balch, W.E. and Wolfe, R.S. (1976). New Approach to the Cultivation of Methanogenic Bacteria: 2-mercaptoethanolsulfonic acid (HS-Com)-dependent Growth of Methanobacterium ruminantium in a Pressurized Atmosphere. Appl. Environ. Microbiol., 32: 781-791.

Collazos, Ch.C.J. (1990). Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas en Bucaramanga (Colombia) Mediante Reactores UASB y Lagunas Facultativas. Memorias de las Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales en América Latina. UNAM, México. 1-16.

Cuervo, F.H. (1988). Generalidades Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales. Manual del Curso Tratamiento Anaerobico de Aguas Residuales - Microbiología y Bioquímica. Medellín, Colombia.

Chamy, M.R. y Alkalay, L.D. (1990). La Tecnología de la Digestión Anaerobia en Chile. Memorias de las Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales en América Latina. UNAM, México. 301-314.

Dolfing, J. (1985). Kinetics of Methane Formation by Granular Sludge at Low Substrate Concentrations. The Influence of Mass Transfer Limitation. Appl. Microbiol. Biotechnol., 22: 77-81.

Dubois, K.A.M. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, and Fred Smith. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Analytical Chemistry. 28,3: 350-356.

Espinoza, A. Guyot, J.P. Y Macarie, H. (1990), Digestion Anaerobia de un Efluente Sintético Conteniendo Acido P.Toluico. En: Memoria del VII Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, A.C. Oaxaca. pp. C-166, C-171..

García, J.L. Guyot, J.P., Oliver, B., Trad, M., and Paycheng, C. (1982). Ecologie de la Digestion Anaerobie. Cha. ORSTOM, Ser. Biol., 45: 3-15.

García, J.L. (1983). Relations Between Acidogenesis and the Utilization of Lactate, Sulfate and Nitrate During Anaerobic Digestion. Memorias del 2do. Simposio Panamericano de Combustibles y Productos Químicos Vía Fermentación. UAM-I/ICAITI. Guatemala.

Guyot, J.P., Macarie, H., and Noyola, A. (1990 a). Anaerobic Digestion of a Petrochemical Wastewater Using the UASB Process. Appl. Biochem. Biotechnol. 24/25:579-589.

Guyot, J.P., Noyola, A., and Monroy, O. (1990 b). Evolution of Microbial Activities and Population in Granular Sludge From an UASB Reactor. Biotechnol. Lett. 2,12: 155-160.

Guyot, J.P., Traore, I. and García, J.L. (1985). Methane Production From Propionate by Methanogenic Mixed Culture. FEMS. Microbiol. Lett. 1,26: 329-332.

Guyot, J.P. (1988). Microbiología de la Digestion Anaerobia. Manual del Curso Tratamiento Anaerobico de Aguas Residuales- Microbiología y Bioquímica. Medellín, Colombia. 1-87.

Guyot, J.P. (1990). Introducción a la Microbiología de los Digestores Anaerobios. Memorias de las Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobios de Aguas Residuales en América Latina. UNAM, México. 83-95.

Harada, H., Endo, G., Tohya, Y. and Momonoi, K. (1988). High Rate Performance and its Related Characteristics of Granulated Sludges in UASB Reactors Treating Various Wastewaters. Proceedings of the Fifth International Symposium on Anaerobic Digestion. Bologna, Italy.

Hentges, D.J. and Maier, B.R. (1972). Theoretical Basis for Anaerobic Methodology. Av. J. Cli. Nut. 19,25: 1294-1305.

Hobson, P.N. (1982). The Microbiology of the Rumen and Anaerobic Digesters: A Comparison. Memorias del 2do. Simposio Panamericano de Combustibles y Productos Químicos Vía Fermentación. UAM-I/ICAITI, Guatemala.

Hulshoff-Pol, L.W., J.J.M. Van de Worp, G.Lettinga, W.A. Beverloo (1986). Physical Characterization of Anaerobic Granular Sludge in : Anaerobic Treatment. A. Growth-up Technology Aquatech 86. Amsteden p. 89-101.

Hungate, R.E. (1969). A Roll Tube Method for the Cultivation of Strict Anaerobes. Methods in Microbiology. Norris J.R. and Robbins D.W. eds. Academic Press Inc. New. York. 33: 117-132.

Lettinga, G. and Hulshoff Pol (1986). Adelantos en el Diseño, Operación y Economía de Reactores Anaerobios.

Manual del Curso Tratamiento Anaeróbico de Aguas Residuales. Microbiología y Bioquímica. Medellín, Colombia.

Lettinga, G., de Zeeuw, W.J., Hulshoff Pol, L.H., Hobma, S.W., Grin, P.C., Wiegant, W.M., van Velsen, A.F.M., Koster, I.W. (1982). Anaerobic Wastewater Treatment Using the UASB-Treatment. Process. Memorias del 2do. Simposio Avances en Digestion Anaerobia: Combustibles por Fermentación. UAM-I/ICAITI, Guatemala.

Mahoney, E.M., Varangu, L.K., Cairns, W.L., Kosaric, W., Murray, R.G.E. (1987). The Effect of Calcium on Microbial Aggregation During UASB Reactor Start Up. Wat. Sci. Technol. 19:249-260.

Manso, V.S.M. (1990). Domestic Sewage Treatment by UASB Reactor in Brazil. Memorias de las Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales en América Latina. UNAM, México. 267-286.

Noyola, A., Guyot, J.P. y Monroy, O. (1988). Comparación Experimental de Dos Tipos de Reactores Anaerobios Avanzados. Memorias del I Simposio Nacional sobre Ingeniería Ambiental. UNAM, México, 179-197.

Noyola, A. (1990). Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales: Una Experiencia de Adaptación de Tecnología en México. Memorias de Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales en América Latina. UNAM, México. 337-358.

Porres, C. y Calzada, J.F. (1990 a). Planta Piloto Para el Tratamiento de Vinazas de Destilería. Memorias de las Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales en América Latina. UNAM, México. 247-254.

Porres, C. y Calzada, J.F. (1990 b). Planta Piloto Para el Tratamiento de Efluentes Procedentes de Despulpado y Lavado (Aguas Mielles) de Café. Memorias de las Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales en América Latina. UNAM, México. 255-266.

Rodríguez, D. y Monroy, O. (1989). Tratamiento Anaerobio de las Aguas Residuales de la Industria de Levaduras, III Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, Monterrey N.L.

Rodríguez, D. y Monroy, O. (1990). Tratamiento Anaerobio de las Aguas Residuales de la Industria de Levaduras a Nivel Piloto, en Memorias de VII Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Oaxaca Oax., C51-C56.

Rojas, Ch.O. (1988). La Alcalinidad como Parámetro de Control de los Acidos Grasos Volátiles en Digestores Anaerobios. Manual del Curso Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales-Microbiología y Bioquímica. Medellín, Colombia.

Sedmak, J.J., and Grossberg, E.S. (1977). A Rapid, Sensitive, and Versatile Assay for Protein Using Coomassie Brilliant Blue G 250. *Analytical Biochemistry*. Academic Press, Inc. 79; 544-552.

Soubes, M. y Muxi, L. (1990). Ensayos Para la Evaluación del Potencial Metanogénico de Inóculos y Efluentes. *Memorias de las Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales en América Latina*. UNAM, México. 193-200.

Valdés, J.M.E., Obaya, A.M.C., y Ramos, A.J. (1990). Experiencias Cubanas en el Proceso de Digestión Anaerobica con el Uso de los Reactores UASB. *Memorias de las Conferencias Sobre Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales en América Latina*. UNAM, México. 49-68.

Wiegant, W.M. and Man, A.W.W.A. (1986). Granulation of Biomass in Thermophilic Up Flow Anaerobic Sludge Blanket Reactor Treating Acidified Wastewater. *Biotechnol. Bioeng.* 28: 718-727.

Wu, W., Hu, J., Gu, X., Zhao, Y., Zang, H. and Gu, G. (1987). Cultivation of Anaerobic Granular Sludge in UASB Reactors With Aerobic Activated Sludge as Seed. *Wat. Res.* 21,7: 789-799.

Zehnder, A.J.B. (1978). Ecology of Methane Formation. In *Water Pollution Microbiology* Mitchell R. ed., John Wiley & Sons, Inc. 349-378.