

45 A  
1ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**



**"DESARROLLO DE UN PROYECTO PARA LA  
OBTENCION DE BIOGAS A PARTIR DE LOS LODOS  
RESIDUALES DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTO  
AEROBIO DE AGUAS NEGRAS"**

**TESIS MANCOMUNADA**

**Y PARA OBTENER EL TITULO DE  
Q U I M I C O  
P R E S E N T A I  
CINTHYA GEORGINA RODRIGUEZ TREJO**

**MEXICO, D. F.**

**FALLA DE CRIGEN**

**1991**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

<b>I INTRODUCCION</b> .....	1
<b>II OBJETIVOS</b> .....	3
<b>III GENERALIDADES</b>	
3.0 Introducción .....	4
3.1 Antecedentes .....	7
3.2 Historia .....	8
3.3 Fermentación metánica .....	11
3.3.1 Proceso de la fermentación .....	14
3.3.2 Comportamiento de la digestión anaerobia .....	17
3.3.3 Composición del gas .....	20
3.3.4 Principales derivados de la biomasa .....	21
3.4 Microorganismos metanogénicos .....	22
<b>IV MARCO DE REFERENCIA</b>	
4.0 Digestores	
4.1 Generalidades .....	27
4.2 Bases para el diseño del digestor .....	32
4.2.1 Digestores industriales .....	34

4.2.1.1 Tecnología en discontinuo	34
4.2.1.2 Tecnología en continuo	37
1.-Procedimiento de mezcla total	37
2.-Proceso por contacto anaerobio	40
3.-Proceso en 2 etapas	42
4.-Lecho de flujo ascendente de lodo	43
5.-Proceso de filtro anaerobio	45
6.-Reactor de lecho expandido y de masa fija	48
4.3 Tecnologías aplicadas actualmente	50
4.4 Experiencias previas en México	57

## V PROYECTO

5.1 Introducción	59
5.2 Prospectivas tecnológicas	60
5.2.1 Proyecto propuesto	60
5.2.2 Estado de arte y tendencias	63
5.3 Recursos humanos	65
5.4 Infraestructura	65
5.5 Metodologías	71
Sólidos	71
DBO	72
DQO	74

Nitrógeno .....	75
Nitrógeno orgánico (Mét. Kjeldhal) .....	77
Lípidos .....	78
Método de Extracción Soxhlet .....	78
Temperatura .....	80
Determinación de pH y Alcalinidad .....	81
Técnicas que utilizan Cromatografía de Gases .....	83
Cuantificación y caracterización del gas .....	84
Ácidos grasos volátiles .....	90
Coenzima F <sub>420</sub> .....	92
Tiempo de retención .....	95
Muestreo .....	96
<b>VI CONCLUSIONES .....</b>	<b>97</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>100</b>

# CAPITULO I

## INTRODUCCION

La producción de metano a partir de fermentaciones anaerobias de desechos orgánicos no es novedad, ya que a fines del siglo pasado se empleó tecnología casi empírica, pero actualmente ha llegado a ser un proceso natural para la obtención de energéticos alternos, y como un esfuerzo para controlar la contaminación.

La preocupación imperante en la disponibilidad del petróleo y/o sus subproductos ha generado un interés acentuado en el proceso de digestión anaerobia como fuente de producción de combustible (Metano) y fertilizantes por medio de la acción microbiana de diferentes tipos de desechos, como una fuente de energía renovable.

En países como Inglaterra, Bélgica, Francia, Italia, India, China y Estados Unidos se ha incursionado en el desarrollo de diversas tecnologías aplicando el proceso de digestión anaerobia a diferentes tipos de desechos para obtener Metano y otros productos .

En México el desarrollo de esta tecnología no ha tenido gran auge. Se aplicó esta tecnología para abastecer de energía eléctrica y combustible a una zona aislada y carente de servicios, pero el factor educacional y económico contribuyeron a que la aplicación de este proyecto no pudiera ser lo que se esperaba, abandonándose así la posibilidad de aplicar esta tecnología a otras zonas.

Fué de nuestro interés, tener una visión de la situación mundial y del país sobre el desarrollo de las diferentes tecnologías aplicadas a la digestión anaerobia para

obtener biogas, encontrando que en México aún estamos muy alejados de lo que se ha realizado en el resto del mundo.

El objetivo primordial de este trabajo consiste en la recopilación bibliográfica como fuente para el desarrollo de un proyecto que permita en un futuro la investigación de procesos innovativos utilizando métodos anaerobios para la degradación de materia orgánica contaminante (lodos residuales de una planta de tratamiento aerobio de aguas negras) y obtener como subproducto biogas, y así evitar los efectos adversos que estos causan en el medio ambiente. Se ve la necesidad de plantear la infraestructura así como las metodologías requeridas para la optimización del proceso.

El equipo mínimo requerido para su aplicación a escala de laboratorio y las metodologías planteadas se escogieron en base a los factores y variables que afectan al proceso y a su futura optimización, aunque estas no son las únicas que pueden ser útiles para el desarrollo del proceso.

Este proceso podría ser aplicado tomando en cuenta que se necesita educar a la población de nuestro país a separar sus desechos orgánicos inorgánicos y no degradables, para que en un futuro, el empleo de esta tecnología permita obtener beneficios en cuanto a la contaminación ambiental y obtención de energéticos.

Además, de que se requiere la capacitación y formación de profesionistas especializados en esta área poco conocida en México.

## **CAPITULO II**

### **OBJETIVOS**

-El objetivo de este trabajo de investigación bibliográfica en Biotecnología es aplicar esta ciencia a problemas energéticos y ambientales reales, como en el caso específico de la degradación de lodos residuales de una planta de tratamiento aerobio de aguas negras, para evitar el impacto ecológico que estos tienen.

-Con base a la revisión bibliográfica desarrollada en este trabajo, proponer un método de tratamiento anaerobio para la biometanización de lodos residuales.

-Proponer las metodologías y equipo necesario en el funcionamiento a escala de laboratorio para el establecimiento de las condiciones óptimas del proceso para su posterior aplicación a planta piloto y/o uso industrial. .



# CAPITULO III

## GENERALIDADES

### 3.0 INTRODUCCION.

Desde los tiempos más remotos el hombre ha utilizado microorganismos para preparar bebidas y alimentos, mucho antes que la existencia de los microorganismos fuera reconocida y estudiada en el Siglo XIX.

Los descubrimientos sucesivos de antibióticos durante la 2ª Guerra Mundial y sobre todo después de 1949 han favorecido la microbiología industrial, también otras industrias como la farmacéutica y las agroalimentarias (fermentaciones) la han hecho evolucionar en forma marcada.

El término "Biotecnología" aparece hacia 1960, denominando así al uso de la capacidad metabólica de los microorganismos. La biotecnología moderna se inicia con los trabajos preliminares de Fleming en 1929-1932 sobre la penicilina y sobre todo con la producción industrial de este antibiótico en 1941 por Florey.

La palabra biotecnología está formada por dos vocablos: Bio del griego "bios" que significa vida y tecnología del griego "technicus" y "logos" que juntos significan tratado de términos técnicos y puede definirse a la Biotecnología como "la evaluación y uso de agentes biológicos y materiales en la producción de bienes y servicios".

(1,28) La Biotecnología se caracteriza por su aspecto interdisciplinario y sistemático ya que en ella intervienen ciencias como la Química, la Ingeniería

Química e Industrial, la Microbiología, la Ingeniería Genética, las Matemáticas, la Ingeniería clásica y la investigación económica. (27)

Las aplicaciones nuevas y/o tradicionales de la biotecnología son:

- Las industrias de fermentaciones.
- Las industrias agroalimentarias: producción de forraje o alimento de uso animal
- Metabolitos que son usados en las industrias químicas y farmacéuticas.
- La industria alimentaria.
- El tratamiento y la utilización de subproductos agrícolas e industriales y sus derivados.
- La producción de energéticos: alcoholes, biogas, producción de  $H_2$ .
- El tratamiento de minerales (Biometalúrgia): lixiviación y extracción de elementos metálicos (Fe,Cu,Pb,Zn).
- Biotransformadores o biodegradadores: tratamiento de aguas residuales, transformaciones de residuos sólidos e industriales. (27, 28).

Actualmente la Biotecnología es un área primordial en la que se han realizado muchos trabajos, buscando solución a problemas de la población actual, partiendo de recursos naturales renovables de bajo costo, los microorganismos y metabolitos que son de interés. (82,97)

Una de las aplicaciones de la Biotecnología que ha cobrado mayor fuerza es su enfoque a la resolución de problemas de contaminación ambiental y la producción de energía. (29,83,96)

En las áreas metropolitanas y zonas conurbadas, el aumento de la población y la industrialización ha provocado cambios perjudiciales debido a la contaminación

ambiental, generando efectos contra la salud de los individuos y el deterioro de la fauna y la flora. En la mayoría de las ciudades con problemas de contaminación esta se debe al crecimiento desmedido de la población, a la gran concentración de todo tipo de vehículos y a las descargas no controladas (en el aire, agua y suelo) de desechos domésticos e industriales. (1,2,3,4,5)

La contaminación es el precio que debe pagar una comunidad por su industrialización, entendiéndose como contaminación a "toda materia o sustancia, sus combinaciones o compuestos, que al incorporarse al aire, agua o suelo puede alterar o modificar sus características naturales o las del medio ambiente". (5,6)

El aire tiene como principales contaminantes las partículas sólidas o polvos generados por tolvaneras, plantas de energía eléctrica, fábricas de cemento, fundidoras de acero, refinerías de petróleo y automóviles.

Las fuentes de contaminación del agua y suelo son muy diversas, siendo las de mayor importancia la descarga de aguas negras domésticas, de hospitales, las descargas de plantas industriales, los residuos de fertilizantes, plaguicidas y alimento para ganado. (5,30)

Es probable que observando los desarrollos y descubrimientos hechos en el campo de la Biotecnología los países en desarrollo tienen la alternativa de lograr modificaciones considerables en las políticas energéticas en forma similar a los grandes países industrializados a beneficio de esta "Bioindustria" donde nos son indispensables los numerosos y variados productos como:

- Combustibles:  $\text{CH}_4$ , Metanol, Etanol, Hidrocarburos,  $\text{H}_2$ ,...
- Proteínas alimentarias.
- Abonos.
- Productos farmacéuticos.
- Materias primas: ácidos orgánicos, alcoholes, ...

Entre estos productos mal valorizados como fuentes de producción de energéticos y/o subproductos se encuentran desechos de la agricultura, de la industria y aún domésticos.

Es preciso asociar fuertes capitales para poder abrir caminos a la investigación para que la tecnología nacional no este a gran distancia de la internacional. Se deben plantear los medios y los métodos que conlleven al desarrollo de esta tecnología. (50)

### 3.1 ANTECEDENTES

El desarrollo de la microbiología esta marcado en el Siglo XIX por el descubrimiento del papel que tienen los microorganismos en las transformaciones de la materia orgánica, el fin de la creencia de la generación espontánea y el papel que juegan los microorganismos en la génesis de las enfermedades.

Los microorganismos se clasifican en 4 categorías de seres vivientes: algas, hongos, protozoarios y bacterias que constituyen el Reino de los Protistas caracterizados por una organización simple. Aunque todas las células tienen muchas cosas en común, en realidad existen 2 planos básicos de arquitectura celular, las cuales difieren unos de otros en muchos aspectos fundamentales. Estos dos tipos de células se llaman procariotes y eucariotes, residiendo la diferencia más importante en la estructura del núcleo. El eucariote tiene un verdadero núcleo (eu=bien; karyon=núcleo), el cual es una estructura rodeada por una membrana dentro de la cual están los cromosomas que contienen el material hereditario. El procariote por el contrario, no tiene verdadero núcleo ni cromosomas, y su material hereditario está contenido en una sola molécula desnuda de DNA.

Puesto que las células de las plantas y animales superiores son todas eucarióticas, es probable que los microorganismos eucariotes fueran los predecesores de los organismos superiores, mientras que los procariotes representan una rama que nunca evolucionó más allá del estado microbiano.

Los microorganismos procariotes son capaces de desarrollar un metabolismo aerobio y/o anaerobio, el cual dependerá de las condiciones en las que se encuentren.

Desde el punto de vista de obtención de la biometanización, el proceso metabólico que nos interesa es la degradación biológica realizada bajo condiciones de anaerobiosis, dicho proceso se conoce con el nombre general de fermentación y se define como "proceso de oxidación anaerobia de una fuente orgánica de energía en ausencia de un aceptor externo de electrones". Los microorganismos pueden efectuar procesos característicos. Estos conocimientos sobre los procesos de fermentación permitieron el progreso de las técnicas de preparación de diversos productos y permitieron que se evitaran sus alteraciones, es decir, obtener productos diferentes al deseado implicando esto también grandes pérdidas económicas a la industria. (13, 15,34)

### **3.2 HISTORIA.**

En 1776 Volta descubrió por primera vez el metano o "gas de los pantanos".

Durante 1806-1808 Humprey Davy encontró una mezcla de gas carbónico y de gases ricos en carbono en las emanaciones gaseosas del estiércol que sobrenadaba en agua, colectó 0.31 l de metano y el doble de dióxido de carbono (15).

Gayon en 1884, atribuye la formación de gas combustible a la actividad de los microorganismos anaerobios en el curso de una fermentación de estiércol a 35 °C.

Bechamp en 1866, demostró que la formación de metano es un proceso biológico (11).

En 1875, Popoff agregó por primera vez materiales celulósicos a los fangos con fines de fermentación y pudo producir hidrógeno y metano.

En 1894, Omelianski hace patente que hay dos fermentos distintos: uno de ellos es el fermento metánico, el cual es destruido a 75 °C.

Deherain y Dupont en 1899 obtuvieron un gas que contenía 50% de gas carbónico.

Los primeros ensayos para una instalación que produjera metano datan de 1900.

En 1901, Schengon describió mas detalladamente las características morfológicas de las metanobacterias y surgió un concepto relativamente claro de su capacidad de conversión.

Omelianski en 1916 aisló por primera vez un cultivo de metanobacterias (cepa no pura).

En 1920, Imhoff desarrolla un método de fabricación continua de metano, introduciendo periodicamente una cantidad de sustancias orgánicas en una gran masa de fermentación.

A partir de entonces se han desarrollado y puesto en práctica los procedimientos para la digestión anaerobia de las materias sólidas contenidas en el agua de albañal, así como la recuperación de gas, lo que se hace en numerosas ciudades.

Fué hasta 1932, que M.Ducellier comienza a hacer mediciones sistemáticas sobre el estiércol.

En 1941, con M. Isman se registró una patente para producir gas a partir de estiércol.

En 1950, Hungate estableció la técnica anaerobia, desarrollada por Bryant, que coadyuvó al estudio de las metanobacterias. (54)

Hacia 1956, Baker, reconoció a las metanobacterias como un grupo bacteriano coherente en base a su fisiología y a los sustratos limitantes en su crecimiento.

En 1967, Bryant, purifica el *Metanobacillus omelianskii* y lo identificó como una unión de una cepa MOH de bacterias metanogénicas con una cepa "S" de bacterias productoras de hidrógeno y de ácido acético.

Pero las fuentes convencionales de energía (petróleo en especial) abundantes y de bajo costo provocaron que la metanización fuese abandonada poco a poco en los países industrializados.

Fué después de 1970, principalmente por el aumento en el costo de la energía que se reemprendieron las investigaciones sobre la fermentación metánica, gracias a los progresos tecnológicos y a los nuevos descubrimientos microbiológicos. (45,82,87,88)

Parece ineludible volver a interesarse por fuentes de carbono renovable, disponibles en cantidades importantes, "la biomasa", que es producida en grandes cantidades en casi todas las latitudes del planeta, como una fuente potencial de energía considerable, con la ventaja de ser renovable, transformable y almacenable (14,31,32,33,35). Las poblaciones microbianas, las producciones de los bosques, las agrícolas, las acuáticas y aún algunos residuos domésticos o industriales constituyen esta biomasa. La utilización y la evaluación de esta biomasa como una fuente potencial de energético depende de las estrategias que se consideren. (76,77,78,88,94,97)

### 3.3 FERMENTACION METANICA.

La formación de metano en la naturaleza tiene lugar en una amplia variedad de hábitats anaerobios y es llevada a cabo exclusivamente por bacterias anaerobias obligadas de varios géneros. (62)

Todos los desechos de origen animal y vegetal que contienen hidratos de carbono (particularmente almidón y azúcares) pueden ser la base de las fermentaciones. (69)

Entre los procesos anaerobios microbianos de residuos orgánicos (en solución o semisólidos) es marcadamente interesante una: la fermentación o digestión metánica, metanogénesis o biometanación.

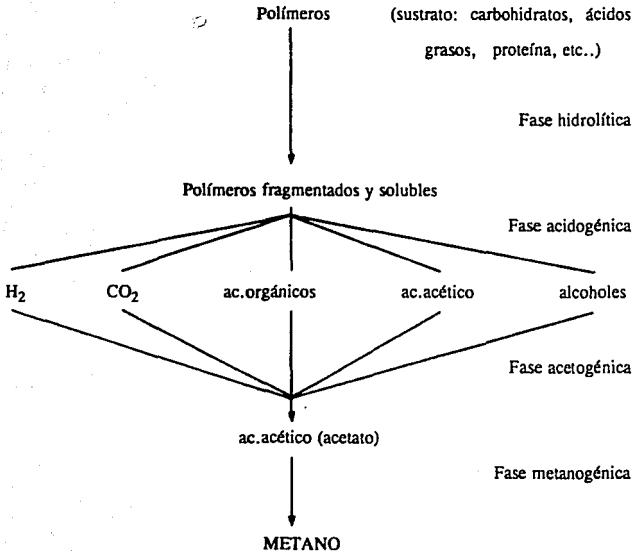
La degradación de la materia orgánica compleja por digestión, conduce a la producción de un gas compuesto principalmente de metano y gas carbónico. Esta fermentación se lleva a cabo por diversas poblaciones de microorganismos denominados como biomasa activa. (11,63,81,98)

Las bacterias son los principales microorganismos involucrados en el proceso fermentativo, aunque algunos protozoarios ciliados y flagelados así como hongos anaerobios también pueden estar presentes y tomar parte en el proceso, aunque su efecto es despreciable. (11,53)

Los sustratos utilizados por estas bacterias y los productos que ellas fabrican permiten distinguir varias fases en la cadena de reacciones de la biosíntesis del metano: hidrólisis del sustrato, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, consideradas como las etapas bioquímicas del proceso y que implica la actividad de un grupo de microorganismos trabajando en simbiosis y que se ilustran en el siguiente esquema:



## METABOLISMO ANAEROBIO



### Hidrólisis del sustrato.

Las grandes y complejas moléculas del sustrato (lípidos, glúcidos, proteínas, etc..) son hidrolizadas y transformadas en moléculas más sencillas por acción de bacterias (llevadas a cabo por exoenzimas, y produciendo sustratos solubles).

La hidrólisis se reconoce como una etapa limitante, dado que algunos residuos orgánicos naturales (desechos lignocelulósicos) son muy resistentes a la acción

bacteriana. Es posible que la acción combinada de enzimas y bacterias permitan optimizar esta fase de la fermentación. (17,34,37,38)

#### Acidogénesis.

Una parte de los monómeros producidos por la hidrólisis del sustrato es transformada en ácidos grasos (ácido acético, propiónico, butírico, etc...) alcoholes (metanol, etanol, etc...) gas carbónico e hidrógeno. Esta fase se compone de poblaciones complejas de bacterias, en su mayoría anaerobias estrictas. (36,56,60,62)

#### Acetogénesis.

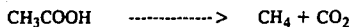
En esta etapa se transforman los productos de la acidogénesis en precursores de metano, (ácido acético, ácido fórmico, ácido carbónico). Estas reacciones permiten evitar una acumulación de ácidos grasos volátiles diferentes al acético, los cuales a concentraciones muy elevadas se convierten en inhibidores de la metanogénesis. (73,82,88)

#### Metanogénesis.

Es el paso terminal del proceso de digestión anaerobia, que es llevado a cabo por las bacterias metanogénicas que son organismos anaerobios estrictos, realizan la síntesis del metano especialmente a partir de hidrógeno como donador de electrones, y gas carbónico como aceptor de electrones:

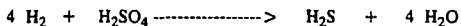


Y a partir de ácido acético:



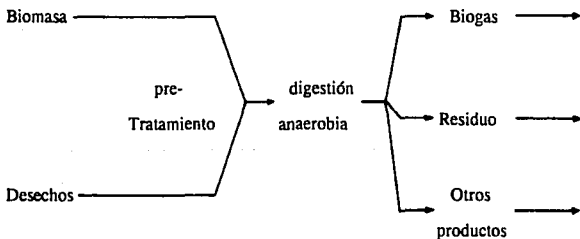
Cuando otros aceptores de hidrógeno como nitratos o sulfatos están presentes, las reacciones de formación de metano antes mencionadas pueden ser reemplazadas parcial o totalmente por otras reacciones.

Las metanobacterias normalmente compiten débilmente por el hidrógeno y si hay sulfatos en abundancia, todo el hidrógeno disponible puede ser consumido por bacterias sulfato-reductoras:



lo que no favorece al proceso (puede llegar a inhibirlo). (102,103)

### 3.3.1 PROCESO DE LA FERMENTACION



El proceso de la fermentación esta formado por:

**Biomasa:** Definiendo así a la población microbiana activa, para su desarrollo requieren la reducción de los niveles de metales pesados (tóxicos) y antibióticos; el tratamiento en la biomasa y los desechos no deben ser tóxicos para la bacteria que efectua la digestión, siendo necesario precipitar los metales pesados con  $H_2S$ : esto puede causar serios problemas a la biomasa si se desea que esta sirva para fertilizantes. (55,74,79)

**Desechos:** Teóricamente, todos los compuestos orgánicos pueden ser degradados a  $CH_4$  y  $CO_2$ , pero hay algunos compuestos orgánicos tales como hidrocarburos, lignina, éter y ciertos plásticos que no pueden ser degradados anaerobicamente en condiciones normales.

El material difícil de degradar debe ser parcialmente hidrolizado por pretratamientos termoquímicos o biológicos. Por consiguiente, es necesario tomar en cuenta un gran número de aspectos de la materia orgánica para considerarla como sustrato potencial para una digestión anaerobia.

**Pretratamiento:** Los efluentes diluidos deben ser concentrados para elevar la afinidad del microorganismo por el sustrato. Como se menciona en el parrafo anterior, el material difícil de degradar debe ser parcialmente roto por pretratamientos termoquímicos o biológicos, tomando en cuenta varios aspectos de la materia orgánica para considerarla como sustrato potencial de la digestión anaerobia. Si van a ser procesados sustratos ricos en hidrocarburos, nitrógeno, fósforo y azúfre se deben limitar y deben anadirse con precaución en forma mineral o como nutrientes adicionados al desecho (abono). (9,10,12)

Los hidrocarburos halogenados, cianuros y metales pesados en concentraciones elevadas tienen efecto tóxico en los procesos anaerobios. (9)

**Digestión anaerobia:** Ha sido usada para el tratamiento de aguas municipales, industriales y desechos de agricultura. En esta se lleva a cabo la degradación de la materia orgánica hacia los productos y/o subproductos deseados.

Recientemente se habla de dos formas de tecnología para llevar a cabo esta digestión: (1) es reciclando en una etapa todo el proceso y (2) separando la hidrólisis y acidogénesis de la acetogénesis y metanogénesis. (87,93)

**Biogas:** Teóricamente alrededor del 90% de la energía química disponible en la materia orgánica es retenida en la producción de metano o biogas, siendo este el producto más importante, aunque prácticamente se ha visto que se produce aproximadamente un 40-80% de metano. Este puede ser quemado, convertido en metanol por procesos químicos o temporalmente almacenado; este gas puede ser utilizado como combustible. (11,12,51)

**Residuos y otros productos:** Pueden ser usados como fertilizantes y las condiciones sólidas (nitrógeno y fósforo) así como otros bioelementos presentes en la alimentación original del digestor, son conservados en el proceso (14,16,25,92). El agua puede ser

reciclada al sistema. La formación de ácidos orgánicos en vez de metano puede ser posible. Se ha sugerido también la producción de electricidad usando el biogas producido a partir de este proceso con los microorganismos. (94,95,97,99)

### 3.3.2 COMPORTAMIENTO DE LA DIGESTION ANAEROBIA.

(condiciones del proceso).

El proceso de tratamiento anaerobio ha sido ampliamente usado para la estabilización de lodos y desechos municipales de plantas de tratamiento, y para aguas residuales industriales. (92)

Las técnicas que utilizan procesos microbiológicos incluyen un número de parámetros especiales y condiciones ambientales. De particular influencia son:

- Temperatura: Generalmente se admite que la digestión anaerobia no se puede efectuar sino a temperaturas superiores a 10 °C e inferiores a 65 °C. Dentro de estos límites la producción de metano tiene dos puntos óptimos, uno en zona mesofílica hacia los 40 °C y otro en la zona termofílica entre 50-55 °C, se ha demostrado que en esta última, se producen grandes volúmenes de gas con elevadas cargas de alimentación y pequeños tiempos de retención. (75,79,86)
- pH: En las diferentes etapas de la fermentación, el pH fluctúa entre 6.5 y 8.0. La disminución de pH por debajo de 6.5 puede significar una concentración demasiado fuerte de ácidos grasos volátiles y por lo tanto la inhibición de la metanogénesis, la cual se detiene a pH 5.5 (12,15). Por arriba de pH 8.0 se comprueba la formación de hidrógeno y de amoníaco. El equilibrio del pH es asegurado por los bicarbonatos disueltos.
- Tiempo de permanencia de los sustratos por metanizar ( tiempo de retención): Es el tiempo de permanencia óptimo en que los desechos o efluentes en el digestor son degradados y producen gas dentro del digestor y depende de la composición

del sustrato y las condiciones de funcionamiento que se mantienen (tipo de procedimiento, T, pH, etc...).

-Potencial redox: Los ensayos realizados en cultivos puros han demostrado que las bacterias metanogénicas solo actúan a un bajo potencial redox de -300 a -330 mV; por esto es conveniente evitar la introducción al digestor de elementos oxidantes y particularmente de asegurar una buena hermeticidad para evitar la inhibición de las metanobacterias.

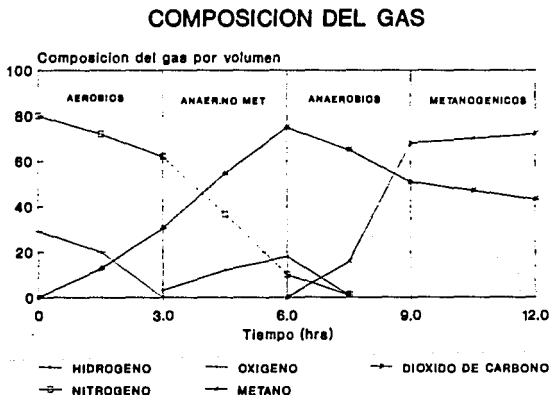
- Nutrientes e inhibidores: Habitualmente se admite como óptima una relación carbono/nitrógeno de 35 y carbono/fósforo de 150. El nitrógeno existe en grandes cantidades en la mayoría de los sustratos metanizables y bajo la forma de  $\text{NO}_3^-$ . Si se encuentra en cantidades superiores a 150 mg/l, el nitrógeno puede convertirse en inhibidor de la metanogénesis ya que su poder oxidante puede afectar elevando el potencial redox. Los iones sulfato ( $\text{SO}_4^{=}$ ) son inhibidores a concentraciones superiores a 100 o 200 mg/l; su presencia induce el desprendimiento de  $\text{H}_2$  y sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ) teniendo este último una acción corrosiva en el digestor y como inhibidor del proceso. En cantidades bajas el desprendimiento de  $\text{H}_2$  y  $\text{H}_2\text{S}$  puede tener un efecto benéfico ya que abaten el potencial redox y precipita los iones metálicos tóxicos en forma de sulfuros (Cu, Zn, Ni, Hg, etc...) (17). Los microorganismos además de la fuente de carbono orgánico, nitrógeno y azufre, necesitan fósforo, potasio, calcio, magnesio y los siguientes elementos trazas: fierro, manganeso, molibdeno, zinc, cobre, selenio, wolframio y níquel. (9,60,90,91)

- **Agitación:** Esta permite obtener una buena homogeneidad del contenido del digestor y favorece el intercambio de calor. Por otra parte, permite asegurar la degasificación de los lodos. Esta agitación puede realizarse mecánicamente, por simple recirculación del gas, del efluente o por la producción in situ del gas (15,34).
- **Agua:** Necesita un mínimo del 25% de H<sub>2</sub>O para producir un máximo rendimiento de gas, 60-80% (12,15,82,88,92).



### 3.3.3 COMPOSICION DEL GAS.

Varía de acuerdo con el tiempo y el grado en que se haya producido el gas. La composición del gas depende de la composición del sustrato, de que tanto se dejen las fases (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis) y de su intensidad. Los principales componentes del gas usualmente son  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}_2$  y trazas de otros gases. (12,52)



### 3.3.4 PRINCIPALES DERIVADOS DE LA BIOMASA.

Una vez que el proceso ha sido adaptado los principales usos que se le puede dar a los derivados de la biomasa son:

-La derivación termoquímica: Se trata de la combustión y de la pirólisis (se somete a la biomasa a temperaturas por arriba de 500 °C) que produce monóxido de carbono, carbono, grafito y un poco de metano. La gasificación produce una mezcla de CO, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>. Tolerancia a cantidades de agua en el sustrato de 10-12%. (33,87)

-La derivación alcohólica: Hidrólisis de subproductos del cultivo y de su fermentación que da etanol, o la síntesis del metanol a partir de dióxido de carbono e hidrógeno, productos de la pirólisis.

-La derivación Biológica o metanización: Esta bien adaptada a los productos húmedos como el estiércol. Una parte de la masa carbonada que se somete a la degradación anaerobia sufre una mineralización progresiva entendiéndose a esto como la eliminación de compuestos orgánicos biodegradables que da origen a un gas rico en metano y el residuo de la fermentación tiene aún valor como fertilizante.

El rendimiento energético que se obtiene en la purificación mediante digestión anaerobia es satisfactorio, permite además la recuperación de gas metano, CH<sub>4</sub>. La fermentación metánica es una forma de purificación más económica que la purificación clásica por vía aerobia, por los efluentes a los cuales se puede aplicar (efluentes muy cargados de material orgánico disuelto).

Esta derivación microbiológica debe considerarse bajo varios aspectos:

- a) Permite la biosíntesis de metabolitos, tales como el metano, que tiene uso limitado como combustible. El metano está constituido sólo por carbono e hidrógeno: es un alcano, el más sencillo de los hidrocarburos. (14,15,71,72)
  
- b) Desde el punto de vista energético el metanol puede sintetizarse a partir de metano, siendo uno de los principales productos básicos de la industria química. (70,71,79)
  
- c) Origina la producción de biomasa (todo) valiosa en la agricultura y aún en alimentos para animales. (71,79,102)

### 3.4 MICROORGANISMOS METANOGENICOS

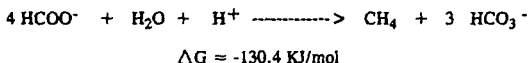
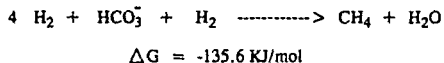
Los microorganismos metanogénicos son organismos "clave" en la producción de metano a partir de material de desechos. Sin este grupo de microorganismos, la degradación efectiva total de la materia orgánica puede detenerse debido a la acumulación de los productos de la fermentación microbiana, es decir, ácidos grasos y alcoholes. (11,12,26)

Las bacterias metanogénicas son "bacterias verdaderas" a las que se han denominado Archae-bacterias, constituyendo los organismos vivientes más antiguos en la tierra y están compuestas de muchas especies con una muy diferente morfología celular, pero fisiológicamente unidos por sus necesidades de formar metano como producto final de su metabolismo energético. Sus mecanismos de rendimiento de energía no son totalmente conocidos. No forman endosporas, requieren ambientes anaerobios

estrictos para desarrollarse y un potencial redox por debajo de -300 mV cuando son cultivos puros, y si no lo son pueden sobrevivir al exponerlos a oxígeno protegiéndolos por métodos especiales. (39,54,66,83)

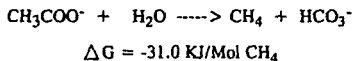
Tienen requerimientos nutricionales simples y la mayor parte de las especies requieren solamente sales minerales con dióxido de carbono, amonio y sulfato como requerimientos minerales. El amonio es una fuente esencial de nitrógeno para el desarrollo y no se conocen que requieran aminoácidos o péptidos como fuente de nitrógeno. Algunas especies pueden usar cisteína en lugar de sulfuro como fuente de azufre; otras especies requieren la adición de acetato y 2-metilbutirato. La coenzima M y coenzima F<sub>420</sub> están involucradas en la transferencia de grupos metilo; el factor B es requerido para la formación de la enzima de metano desde la metil-CoM; siendo estas enzimas características de las metanogénicas. La síntesis de ATP puede ser una vía de transporte de electrones ligados a la fosforilación. La secuencia de oligonucleótidos 16S de la molécula de RNA ribosomal han sido usadas para clasificar a estos microorganismos. Un análisis de las bacterias metanogénicas indica que pueden ser diferenciadas de diversos grupos de microorganismos, los cuales pueden ser un grupo primitivo representando una antigua divergencia en la evolución de procariotas, ya que su fuente de energía, H<sub>2</sub>, y su aceptor de electrones, CO<sub>2</sub>, estuvieron presentes en la tierra primitiva puesto que ambos se producen en condiciones anaerobias que son las que prevalecían en aquellos tiempos. Análisis químicos de su pared celular indican que estas no contienen peptidoglicano. Las metanogénicas utilizan sustratos limitados, siendo los más importantes: H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> usado por la mayoría de las especies. (11,44,54,61,66)

El formato usado por muchas especies es un equivalente de fuente de energía además de que es uno de los productos que más se forman en las reacciones de fermentación:



La reacción está lejos de favorecer el uso de hidrógeno y formación de metano. (46,68)

El acetato constituye alrededor del 65-70% del metano producido a partir de la materia orgánica y es utilizado por algunas especies:



Aún cuando una gran cantidad de hidrógeno es producido durante la digestión las bacterias metanogénicas mantienen una baja concentración de hidrógeno. La fuente de energía preferida, tal como  $\text{H}_2$  o  $\text{CH}_3\text{OH}$ , pueden regular la degradación del acetato siendo similar a la represión catabólica donde una o más enzimas necesarias para el uso del acetato están reprimidas. (11,12)

No hay que confundir a las metanobacterias o metanogénicas con las bacterias de oxidación del metano, ya que las primeras son anaerobias estrictas y las segundas son todas aerobias utilizando al  $\text{CH}_4$  como su principal fuente de energía y carbono.

En la siguiente tabla se muestran la taxonomía de las bacterias metanogénicas, catalogada en base a la comparación de la fracción 16S del RNAr

ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE		
<i>Methanobacteriales</i>	<i>Methanobacteriaceae</i>	1. <i>Methanobacterium</i>	<i>M. formicum</i>		
			<i>M. bryantii</i>		
			<i>M. thermoautotrophicum</i>		
				2. <i>Methanobrevibacter</i>	<i>M. ruminantium</i>
					<i>M. arboriphilus</i>
					<i>M. emithii</i>
		<i>Methanococcales</i>	<i>Methanococcaceae</i>	3. <i>Methanococcus</i>	<i>M. vannielii</i>
					<i>M. voltae</i>
		<i>Methanomicrobiales</i>	<i>Methanomicrobiaceae</i>	4. <i>Methanocrobium</i>	<i>M. mobile</i>
	5. <i>Methanogenium</i>			<i>M. cariaci</i>	
				<i>M. marienigri</i>	
	6. <i>Methanospirillum</i>			<i>M. hungarei</i>	
	<i>Methanosarcinaceae</i>	7. <i>Methanosarcina</i>	<i>M. barkeri</i>		

La morfología y la composición de la pared celular para cada una es la siguiente:

- 1.- Bacilos largos: pseudomureina.
- 2.- Bacilos cortos: pseudomureina.
- 3.-Cocos regulares e irregulares: subunidades de proteínas con trazas de glucosaminas.
- 4.- Bacilos curvos cortos: subunidades de proteínas.
- 5.- Cocos altamente irregulares: subunidades de proteínas.
- 6.- Bacilos curvos largos: subunidades de proteínas con cubierta externa.
- 7.- Cocos irregulares en paquetes: heteropolisacáridos.

Tienen con diferente Gram y su fuente de obtención puede ser: rumen, fango residual y barro.

Se conocen bacterias metanogénicas mesofílicas y termofílicas pero todavía no se han hecho estudios taxonómicos detallados. (11,43)

# CAPITULO IV

## MARCO DE REFERENCIA

### 4.0 DIGESTORES

#### 4.1 GENERALIDADES

La producción de metano a partir de fermentaciones anaerobias de desechos orgánicos no es un proceso nuevo. A fines del siglo pasado se empleó tecnología casi empírica, pero actualmente ha llegado a ser un proceso natural para la obtención de energéticos alternos, y un esfuerzo para controlar la contaminación. (89)

La preocupación de la disponibilidad del petróleo y sus subproductos ha generado un interés acentuado en el proceso de digestión anaerobia como fuente de producción de combustible (metano/biogás) y fertilizantes (residuo inocuo abundante en Nitrógeno) por medio de la acción microbiana de estiércol, esiduos agrícolas y aguas residuales entre otros, como una fuente de energía renovable. (9,15,97,104)

Estos procesos tienen una larga historia. El interés en el tema ha aumentado y disminuido de acuerdo a las condiciones económicas imperantes. Sus aplicaciones son muy amplias tanto a nivel rural como a escala industrial. El proceso se basa en el conocimiento de la vía metabólica de la metanogénesis que desempeñan bacterias anaerobias estrictas.

Como se mencionó anteriormente la degradación de material orgánico es un proceso natural y se compone de varias etapas: en la primera, las macromoléculas



son degradadas a unidades funcionales, es decir, las proteínas, lípidos y polisacáridos son fermentados a aminoácidos, ácidos grasos y azúcares. Esta etapa recibe el nombre de fermentación o etapa acidogénica.

La segunda etapa, conocida como intermedia, consiste en la producción de ácidos grasos volátiles, etanol y lactato a partir de las unidades funcionales de la etapa fermentativa. Obtenidas las moléculas más pequeñas estas son transformadas en acetato y formiato.

En el paso terminal, se produce metano a partir del acetato y formiato.(46)

Los tres pasos son llevados a cabo por microorganismos de diferentes especies pertenecientes a un ecosistema natural como se ha podido observar en los pantanos.

(65)

Bajo los principios mencionados se han desarrollado los diferentes tipos de digestores, que logran condiciones anaerobias mejores que las naturales de lagos y pantanos, al igual que una mejor producción de metano.

Un fermentador, biorreactor o digestor es un recipiente o cuba en el cual se desarrolla el proceso microbiológico, conteniendo la fase biótica y abiótica del proceso. La fase biótica corresponde a la población microbiana viva y la fase abiótica al ambiente inmediato (medio nutritivo) que contiene las sustancias necesarias para la acción microbiana (crecimiento y producción de metabolitos) (10,15). Existen gran variedad de digestores diseñados para la obtención de biogas; básicamente pueden ser clasificados en suburbanos o rurales e industriales. Dentro de los digestores suburbanos o rurales, los procesos más simples y comunes son las lagunas y los tanques sépticos. (20,98,99)

Las lagunas son un proceso de digestión anaerobia para el tratamiento de desechos de alta humedad; utilizan el mismo fenómeno que Volta observó en la naturaleza. Consiste en un foso forrado con concreto y otros materiales impermeables y abierto a la atmósfera. El metabolismo tiene lugar en la superficie de los líquidos, sin embargo a niveles más profundos, el líquido y los sólidos presentes son atacados por microorganismos anaerobios estabilizando la materia orgánica. (66).

Las lagunas son una práctica común para la estabilización de lodos residuales como un tratamiento secundario en áreas rurales.(Fig.1a y 1b)

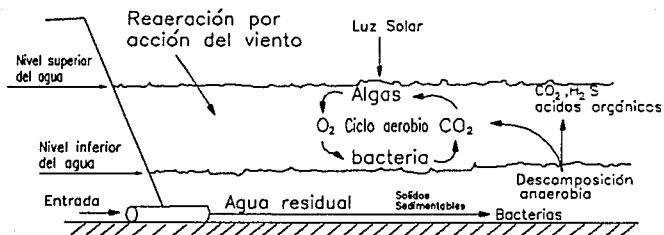


Fig. 1A Diagrama esquemático de la estabilización facultativa de una laguna mostrando las reacciones básicas biológicas de bacterias y algas.

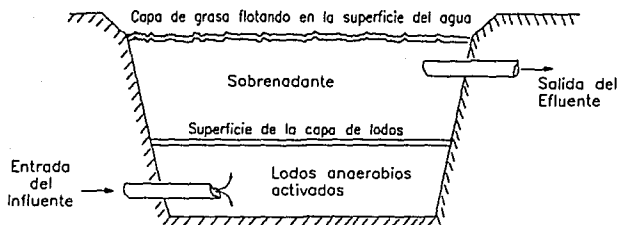


Fig. 1B Diagrama esquemático de una laguna anaerobia para el tratamiento de aguas residuales.

Otro viejo y simple digestor anaerobio es la Fosa séptica. Es usada principalmente para desechos domésticos, aunque algunas utilizan desechos de cerdo de granjas, estiércol u otros desechos agrícolas. Los desechos se alimentan a una cámara por medio de fuerzas gravitacionales. Los sólidos se asientan y son metabolizados anaerobicamente, los gases son evacuados hacia la atmósfera y la acumulación gradual de sólidos es removida periódicamente. (Fig.2) (16,40)

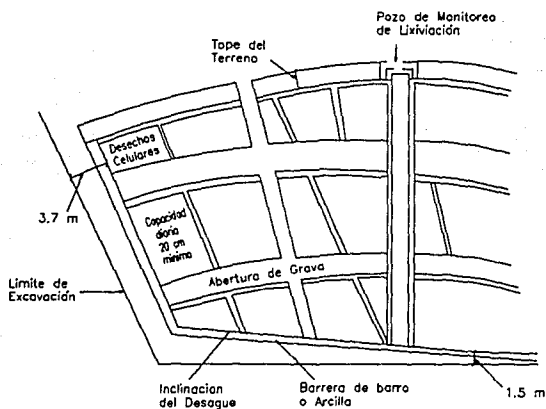


Fig. 2 Fosa Séptica

Diagrama de un corte seccional de una fosa séptica. Los desechos celulares están formados por la compactación de los desechos sólidos y la capacidad diaria con una capa de tierra, las capas de grava proveen una vía para que se evacuen los gases a la superficie. El pozo nos permite monitorear la lixiviación.

El proceso de metanogénesis en los digestores suburbanos se lleva a cabo en forma empírica, sin optimización ni identificación de variables. Esto dió origen a estudios posteriores para la creación de digestores industriales.(14,103)

#### **4.2 BASES PARA EL DISEÑO DEL DIGESTOR.**

Cualquiera que sea el microorganismo, el digestor debe permitir un buen contacto entre las dos fases (biótica y abiótica) del sistema. Para lograr una cinética óptima, el buen funcionamiento del proceso está asociado a transferencia entre las células y el medio de cultivo (transferencia de masa). Para que esta transferencia puede efectuarse correctamente, la repartición de las células en el medio de cultivo debe ser homogéneo. Las células microbianas y los flocúlos celulares tienden a sedimentarse o a flotar, en función del tipo de microorganismo y de la edad del cultivo. De esto resulta una heterogeneidad perjudicial para un buen desarrollo del proceso: en la zona no ocupada por la masa celular el sustrato no es degradado, por consiguiente no puede tener lugar el crecimiento microbiano y a la inversa, en la zona ocupada por las células los productos del metabolismo tienden a acumularse y por débil que sea su papel inhibitor sobre las células, el fenómeno presenta una disminución en la eficiencia del proceso.

El crecimiento microbiano es generalmente exotérmico, por lo que el digestor debe facilitar la transferencia de calor.

La distribución homogénea en el medio evita el fenómeno de sobre-calentamiento local peligroso (dependiendo del proceso anaerobio que se desarrolle) dada la sensibilidad al calor de los procesos microbiológicos. En el caso de tiempos de retención prolongados, la pérdida de calor a través de las paredes del digestor es generalmente compensada administrando calor por medio de un sistema de calentamiento externo en la recirculación del proceso. Es necesaria cierta agitación

en el medio para que el calor se disperse con el fin de que se lleve a cabo adecuadamente la transferencia de este. Si el influente contiene sólidos, se necesita un mínimo de agitación para evitar el depósito de sólidos y el desarrollo de zonas de inactividad microbiana.

La homogeneidad de las suspensiones celulares se obtiene en la práctica industrial en diferentes formas:

-Por medio de homogenización externa y,

-Por inyección de gas o por el propio gas resultante del proceso microbiano.

Es necesario proteger al digestor de contaminantes cuando la fermentación se hace en forma discontinua, con el fin de no afectar el desarrollo de un nuevo ciclo.

La agitación es la operación que crea o acelera el contacto entre las fases del proceso de fermentación. Debe favorecer mediante turbulencias los intercambios térmicos (calentamiento, enfriamiento) entre el cultivo y el dispositivo previsto para ello.

(12,15,17)

El proceso de recirculación de los reactores anaerobios de lodos activados puede ser adaptado para cada tipo de líquido residual, para el diseño del reactor, las condiciones de temperatura, concentración de sólidos, etc., con el fin de ser económicamente eficientes. (70,87,103)

#### **4.2.1 DIGESTORES INDUSTRIALES**

Los países industrializados han perfeccionado el proceso de fermentación anaerobia en una gran variedad de métodos para el tratamiento de desechos industriales, municipales y de granjas, habiéndose efectuado gran cantidad de estudios de investigación antes de 1970 en Francia, Alemania, Estados Unidos y Reino Unido. (14,98,99,100)

Actualmente, el desarrollo de los procesos de fermentación anaerobia se han encaminado a la optimización del tratamiento de materia orgánica, enfatizándose la maximización de producción de gas metano, la disminución del tiempo de retención y la mayor degradación posible.

Debido a las variaciones en la composición física y química de los sustratos se han desarrollado gran variedad de conceptos sobre digestión, partiendo desde un proceso simple hasta uno altamente complejo en función del proceso que se desee desarrollar, distinguiéndose dos tecnologías: Tecnología en Discontinuo y Tecnología en Contínuo. (9,14.15,63)

##### **4.2.1.1 TECNOLOGIA EN DISCONTINUO**

Fué desarrollada por Ducellier e Isman y después por Inra (15). Se aplica principalmente al tratamiento de desechos fácilmente degradables.

El sustrato se introduce al digestor y después de la fermentación (aproximadamente 40 días) se extrae de la cuba.

Para tener una producción constante de gas la instalación se compone generalmente de varias cubas (algunos afirman que lo óptimo son 3).

Esta tecnología ha evolucionado permitiendo una mecanización casi completa de las operaciones. Se conduce en forma muy sencilla y es interesante para el tratamiento de estiércol pajoso y de materiales húmedos (20-25% de materia seca). Sin embargo, la aplicación de esta tecnología está limitada a las pequeñas instalaciones.

El primer digestor fué construido en 1895 por Donald Cameron en la ciudad de Exeter, R.U.. El sustrato del que se partió fueron aguas residuales (de alcantarillado), y el metano producido se empleó en el alumbrado de los alrededores de la planta.

Los digestores industriales clásicos son usualmente de forma oval o cilíndrica. Están contruidos de concreto o metal. El sustrato metanogénico y la mezclas de digestión se encuentran en forma de suspensiones líquidas.

El más sencillo de los digestores es el conocido como Digestor Convencional en Una Sola Etapa y consiste en un tanque de almacenamiento de desechos en el que se lleva a cabo la estabilización biológica y la separación sólido-líquido. (Fig.3)

Este proceso se desarrolla sin calentamiento ni agitación mecánica. Los sólidos en descomposición son más densos que el líquido por lo que se sedimentan y forman dos fases. Debido a que hay formación de gases, estos emigran a la superficie pudiendo ser removidos por la parte superior del digestor.

Este tipo de digestores dejó de usarse debido a que los tiempos de retención eran excesivamente largos y que el sistema era inadecuado. Las condiciones para una separación gravitacional adecuada no eran satisfactorios ya que no permitían un buen contacto entre el sustrato y los microorganismos para una buena acción



biológica. Los tiempos de retención eran de 20 a 30 días para los líquidos y aún mayores para los sólidos. (15,20)

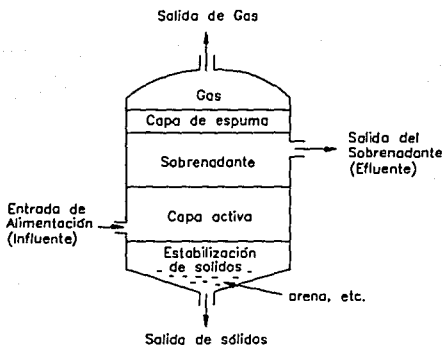


Fig. 3 Digestor convencional de una etapa

La estratificación de desechos altamente diluidos se lleva a cabo en una unidad del digestor convencional de una etapa. Las características de operación estándar son: no necesita calentamiento, relación de carga de 0.64 a 1.60 Kg SV/m día, tiempo de retención de 30 a 60 días, alimentación no continua y remoción de productos y subproductos, y estratificación de sólidos.

#### 4.2.1.2 TECNOLOGIA EN CONTINUO

El sustrato se introduce una o varias veces por día en forma continua, teniendo como límite la capacidad del digestor. Este procedimiento se emplea para toda clase de desechos líquidos que contengan como máximo 10% de materia seca, lo cual presupone una excesiva dilución en los casos de desechos con alto contenido en materia seca y una preparación indispensable del sustrato sólido por trituración mecánica para convertirlo en partículas finas (en el caso de la paja).

Aunque el funcionamiento sea totalmente automático (circulación del sustrato por medio de bombas), esta técnica demanda un tecnicismo y una vigilancia sostenida ya que su operación es delicada.

Se han desarrollado numerosas variantes de este procedimiento:

##### 1.-PROCEDIMIENTO DE MEZCLA TOTAL.

Este procedimiento necesita de tiempos de retención y capacidad del digestor muy amplia. Este sistema, un tanto rústico, ha sido adaptado a los efluentes de ganadería.

El reactor conocido como tanque de agitación continua, CSTR (Continuously Stirred Tank Reactor), es un digestor convencional en el cual no hay acumulación de biomasa activa. Los tiempos de retención hidráulica son iguales a los tiempos de retención de biomasa activa y las concentraciones de biomasa activa en el licor de mezcla son tan bajas que a altas cargas por unidad de volumen del reactor no son aplicables especialmente para desechos simples. (Fig.4)

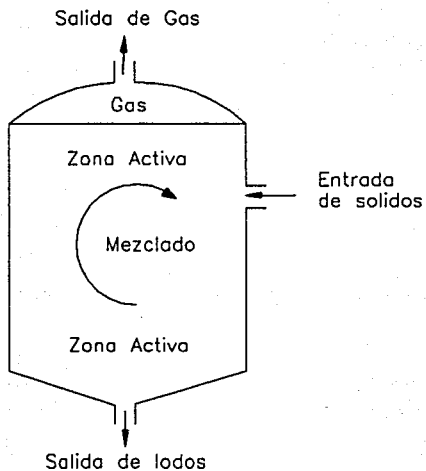


Fig. 4 Digestor de Mezcla Total

Puede ser operado con elevadas cargas,  
 0.1-0.2 lb de solidos volátiles /pie /día,  
 y cortos tiempos de retención (15 a 20 días).

El reactor de flujo tapón (Plug Flow Reactor) es un digestor simplificado, el cual es construido con materiales baratos.

Aunque no se conocían sus principios por un tiempo, su mejor expresión fué establecida en el sistema desarrollado por Jewell y colaboradores en la Universidad de Cornell, el cual hizo una adaptación del reactor horizontal. El digestor esta enterrado y esta constituido por una cubierta de Hypalin (3 veces más barato que un reservorio de paredes rígidas). Está última hace la función de digestor y de gasómetro; la presión positiva asegura la entrada de aire externo al sistema. El digestor cuenta con el equipo necesario para alimentar y remover el material digerido. Este reactor es de operación muy sencilla. Conociendose también como reactor horizontal. (Fig.5)

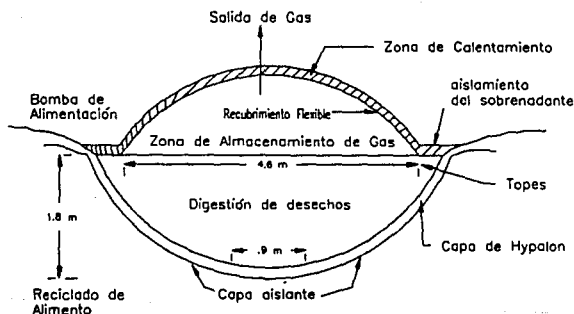


Fig. 5 Reactor de Flujo de Tapa

Diagrama esquemático de un corte seccional del reactor de flujo de tapa o reactor horizontal.

Para poder diferenciar el tiempo de retención de biomasa activa, el tiempo de retención hidráulica y el aumento de la concentración de biomasa activa en el licor de mezcla han sido realizados los siguientes sistemas:

## 2.-PROCESO POR CONTACTO ANAEROBIO (Anaerobic Contac Process).

Se permite disminuir el tiempo de retención (con instalaciones más compactas) a algunos días y hasta algunas horas, recirculando los lodos decantados, aumentando así el contenido de microorganismos en el digestor. Este fué el primer reactor de retención de biomasa. (Fig.6)

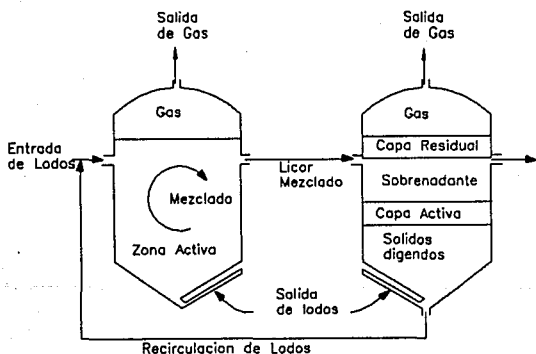


Fig. 6 Digestor de Contacto Anaerobio

Diagrama esquemático del digestor de contacto anaerobio involucrando una digestión de cargas grandes seguidas por un tanque de separación con recirculación de sólidos.

El desempeño del reactor depende marcadamente de la eficiencia con la cual los microorganismos y los sólidos suspendidos sedimenten. Un factor adicional es el grado en que el lodo y los desechos se mezclen en el reactor, requiriéndose de un buen mezclado. Sin embargo, es esencial que las características de sedimentación no se vean afectadas. Este proceso es adecuado para desechos con sólidos difícilmente degradables.

Las mayores limitantes de este proceso son causadas por la dificultad de obtener una buena sedimentación, y en reactores de gran escala la limitación es la obtención de un mezclado adecuado.

Modificaciones en este proceso dieron origen al proceso UASB. (40,99,100)

### 3.-PROCESO EN DOS ETAPAS.

Se utiliza principalmente en el laboratorio. Permite separar la fase metanogénica de la acidogénica en dos digestores distintos, permitiendo así aumentar la producción de gas y el contenido de metano. (Fig.7) (47,98)

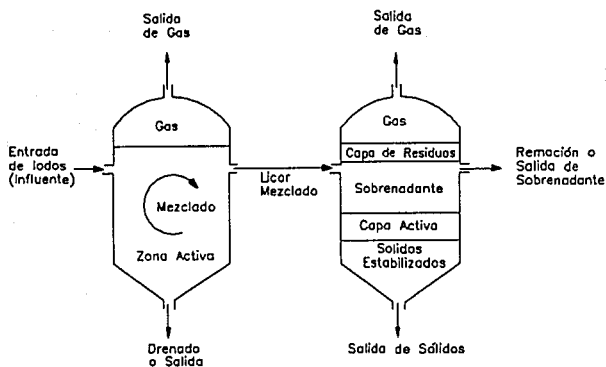


Fig. 7 Digestión Anaerobia en 2 Etapas

Diagrama esquemático de un digestor de dos etapas que consiste en un digestor de cargas elevadas en la primera etapa y una digestión convencional sin agitación en la segunda etapa

#### 4.-LECHO DE FLUJO ASCENDENTE DE LODO, UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket).

Este procedimiento fué puesto en práctica por Lettinga (1970) (15) con el fin de evitar la exposición de los microorganismos a condiciones ambientales adversas, evitando así efectos negativos en el proceso y preservar la simbiosis bacteriana. Este reactor puede ser aplicado a tratamiento anaerobio de diversos tipos de aguas residuales. (67,76)

Este reactor está caracterizado por un régimen de flujo ascendente. La separación de la fase gas-sólido (gas-lodo) tiene lugar en una campana localizada en la sección principal del reactor. En la sección de sedimentación tiene lugar la separación de la fase sólido-líquido (lodo-agua). El agua residuales introducida y distribuida en el fondo del reactor, donde se localiza el lecho de lodos con alta concentración de microorganismos, de modo que el nutriente principal entra en contacto con ellos. El reactor de flujo ascendente es mezclado por la entrada de aguas residuales y por la producción de biogas. (Fig.8) (67,100)

Se ha reportado que el proceso de UASB ha sido aplicado en numerosas ocasiones. Las relaciones de carga utilizadas son relativamente altas, con un promedio de remoción eficiente en un 80% o más de aguas residuales con bajo contenido de sólidos y decrece con aguas residuales con alta concentración de sólidos suspendidos tales como aguas residuales domésticas. Esto es atribuido a la sensibilidad del reactor, el cual distribuye adecuadamente los sólidos en el tubo de entrada.



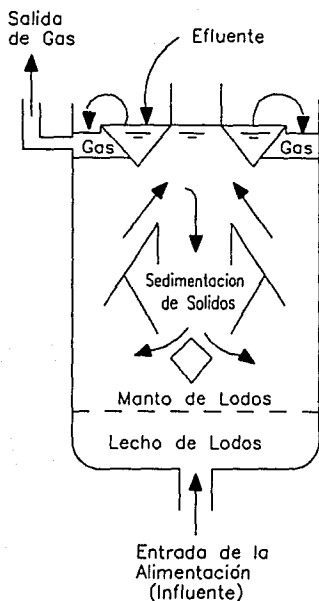


Fig. 8 Digestor de lecho de flujo ascendente de lodo

Se basa en las características de sedimentación de los lodos, el mezclado se produce por la circulación del flujo y por las burbujas de gas al subir. El flujo es de forma laminar y fluye en forma ascendente, tiene tiempos de retención cortos.

El proceso UASB puede ser aplicado prácticamente dependiendo de la selección de las condiciones locales. Una concentración muy alta de lodo en el digestor le confiere una gran resistencia a las variaciones de los parámetros de la digestión (variación de cantidad y calidad) y los tiempos de retención son reducidos (entre 4 y 8 horas para el tratamiento de desechos con poca carga orgánica). (74)

La biomasa se mantiene en el digestor por las condiciones ambientales constantes y por el suave tratamiento de la simbiosis de bacterias acidogénicas y metanogénicas que llevan a la formación de pequeños aglomerados o floculos bacterianos que se sedimentan debido a sus propiedades particulares de sedimentación y granulación.

Ningún proceso puede ser preferido para todas las aplicaciones posibles, pero una selección adecuada puede ser el factor para que las bacterias encuentren las condiciones favorables para la agregación de floculos estables como en el caso del proceso UASB. (37,99)

#### 5.-PROCESO DE FILTRO ANAEROBIO (Anaerobic Filter Process).

Fué desarrollado por Young y McCarty en 1967 (15). El flujo por purificar se adiciona por la parte inferior y fluye en forma ascendente. Este reactor contiene un soporte sólido o material de empaque inerte. El empaque tiene la función de separar el gas y proveer áreas para la depositación de sólidos suspendidos; el flujo por purificar se pasa por la superficie inerte que retiene en suspensión a las bacterias anaerobias manteniendo así una importante concentración de biomasa. Debido a que los sólidos suspendidos tienden a depositarse en el fondo del reactor la actividad microbiana tiene lugar en el fondo del reactor. (Fig.9)

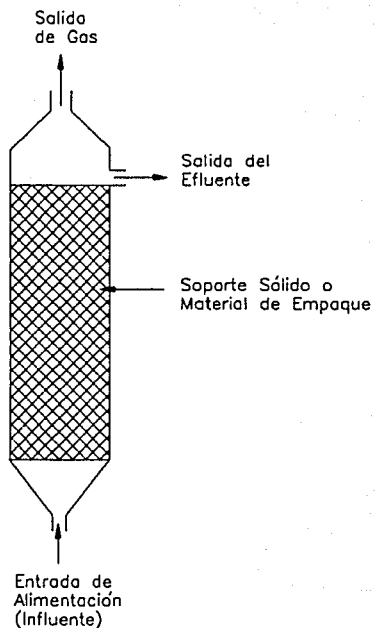


Fig. 9 Digestor de Filtro Anaeróbico

Diagrama esquemático de un digestor de filtro anaeróbico, el cual contiene un soporte sólido inerte, y el flujo del influente es de forma ascendente.

Este proceso es particularmente adaptable a desechos solubles que pueden ser diluidos por recirculación de efluentes, o desechos de materia orgánica suspendida fácilmente degradable. (58)

La principal limitante de este proceso se debe a la acumulación de sólidos en el material de empaque que pueden taponar el reactor, interfiriendo así con la operación. En reactores de gran capacidad no hay una adecuada distribución de líquidos lo cual puede provocar una falla total del proceso.

El inadecuado potencial de bombeo y la dificultad de asegurar una adecuada distribución de flujo en el fondo del reactor han sido las causas principales que limitan la aplicación de este proceso, aunque ha sido ampliamente usado en la industria de alimentos. (49,99,100)

## 6.-REACTOR DE LECHO EXPANDIDO Y DE MASA FIJA, AAFEB (Anaerobic Attached Film Expanded Bed).

La biomasa se fija sobre partículas muy finas que aseguran una superficie de fijación muy importante, tales como el plástico, grava, gránulos de vidrio y alumina, los cuales son usados por su gran superficie de contacto . (Fig.10)

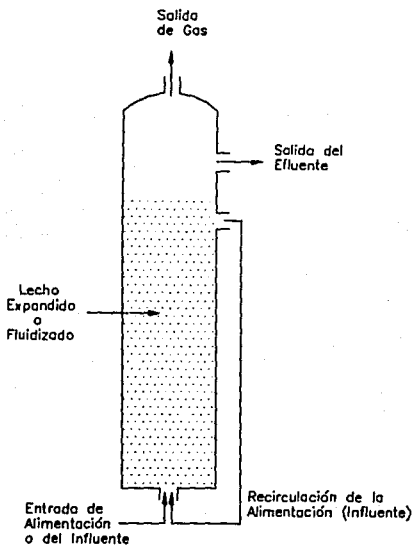


Fig. 10 Reactor de Lecho Expandido y de Masa Fija

Diagrama del reactor de lecho expandido y de masa fija, el cual consiste de una columna empacada con partículas móviles muy pequeñas.

Los digestores pueden ser alimentados tanto por flujo ascendente como por flujo descendente, conservando una densidad alta y uniforme de biomasa, además, agrupamientos celulares de bacterias acetogénicas y metanogénicas pueden formarse sin ningún disturbio, induciendo un metabolismo rápido y estable.

La relación del efluente y la expansión resultante del lecho (10-25%) determina si se trató de un reactor fluidizado o de lecho expandido.

Lechos de contacto con grandes espacios libres son recomendados para aguas residuales con grandes contenidos sólidos de materia fácilmente degradable para prevenir taponamientos. Se han realizado ensayos en el laboratorio en reactores de un litro, y bajo reserva de que tengan un buen funcionamiento a escala industrial, las ventajas de este procedimiento serían numerosas: costo de inversión menor que por un tratamiento clásico, buena depuración del efluente y baja producción de lodos residuales. En base a estas características se cree que este tipo de reactor será el preferido en el futuro, excepto para desechos difíciles de degradar, tales como la celulosa, en el cual el paso limitante de la fermentación anaerobia es la conversión de ácido acético a metano. (75)

Los primeros reactores de lecho expandido y biomasa fija a gran escala se encuentran en construcción en los E.U.A. (21,29,30,41,100).

### 4.3.-TECNOLOGIAS APLICADAS ACTUALMENTE.

Como se mencionó anteriormente, los digestores pueden clasificarse en suburbanos o rurales e industriales. En China, India, Arabia y algunos países latinoamericanos se emplean los digestores suburbanos y el proceso consiste principalmente en vaciar desechos animales, vegetales y domésticos en lagunas de acuocultivo de donde se retoman para ser procesados en un fermentador anaerobio y obtener así el gas, electricidad y fertilizantes.

En China, un fermentador anaerobio familiar de una capacidad de 4-6 m<sup>3</sup> produce aproximadamente 1 m<sup>3</sup> de gas al día, producción suficiente para satisfacer las necesidades cotidianas de combustible y energía eléctrica de una familia de 5 miembros. Se ha observado que la capacidad de producción de gas va a depender de las estaciones del año, siendo mayor en verano y menor en invierno. El gas obtenido a partir de sistemas comunales se alimenta a un generador de combustión interna, satisfaciendo de 90 a 100% la demanda eléctrica y de alumbrado de la comunidad. El diseño básico de digestores, tanto familiares como comunales consiste en una cámara en forma de cúpula invertida enterrada y un tanque superior de almacenamiento de líquidos localizado generalmente a un lado del digestor.

El lodo es introducido a la cámara por medio de un sistema de alimentación continuo. No existe ningún tipo de agitación mecánica en la cámara. El tanque superior actúa como regulador de presión, al producirse el gas el nivel del líquido en la cámara de digestión es menor al del tanque superior, así, al abrir la línea de gas, el aire comprimido del tanque superior fuerza al líquido a bajar su nivel, aumentando el nivel del líquido de la cámara, liberando así el gas insoluble contenido en los lodos. El almacenamiento de gas en los digestores familiares se hace en la cámara de digestión. En los fermentadores comunales, éste es almacenado en esféras, generalmente de PVC.

El material de desecho que se digiere es una mezcla de excreciones humanas, deyecciones de cerdo con migas de comida, cáscaras de fruta, bagazo de caña, bulbos de lirio acuático y pasto: en algunos casos también se incluyen desechos de gusano de seda.

La construcción del equipo es de bajo costo. En China, los digestores instalados en Xindu consumen aproximadamente un 80% del total de desechos producidos en la comunidad. El costo del digestor se reparte entre el Estado (60%) y la familia que lo construye (40%).

Un grupo especializado se ocupa de las dimensiones de los digestores, de la capacitación del usuario, de la limpieza de las cámaras y de la seguridad de las mismas.

Un estudio global de los sistemas chino indican que mediante el uso de los biorreactores se ha logrado elevar el nivel de vida de las comunidades rurales. El aprovechamiento de los lodos finales ha sustituido en un 20 a 30% la importación de fertilizantes, además de que se utilizan los residuos como alimento en pozas de peces (piscicultura). (Fig.11) (14,16,20,98,99)



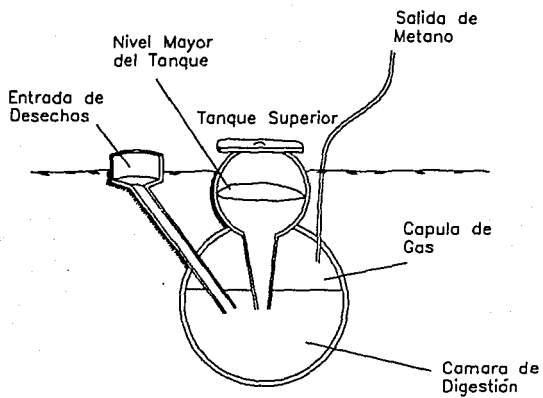


Fig. 11 Fermentador Chino

Los fermentadores industriales han sido diseñados con un control de condiciones, que permiten la optimización del proceso natural.

Un ejemplo de sistemas para la obtención industrial de biogas, es el diseñado por industrias estadounidenses, localizado en Bartow, Florida.

Los objetivos que perseguía la construcción de dicho complejo industrial eran:

- Instalar un fermentador industrial con una capacidad de 50,000 lb/día de desechos provenientes de 20 000 reses de engorda.
- Utilizar el combustible producido en el complejo de una forma comercial.
- Recuperar los sólidos de eliminación, es decir, la materia sólida producto de la degradación anaerobia y emplearlo como alimento de ganado.
- Diseñar el sistema con flexibilidad para poder explorar diferentes condiciones de operación.

Dicho complejo se compone de:

- a) Establos con capacidad para 20 000 reses. La construcción de los establos permite la recolección del estiércol en 3 canales que son evacuados por bombeo cada 3 horas.
- b) El proceso metanogénico se lleva a cabo en fermentadores, equipados con un mezclador axial que asegura la uniformidad del material contenido en el tanque y el contacto entre los microorganismos y el sustrato. Para mantener la temperatura de operación, se emplea el vapor de una caldera anexa al sistema.

Diariamente, una porción del contenido del digester se purga para eliminar material no digerido.

- c) Los sólidos evacuados son separados mediante un sistema de centrifugación y el líquido se envía a lagunas construidas especialmente para este fin.
- d) El metano producido, fluye del sistema de fermentación al sistema de combustión donde se almacena en un tanque de 800 pies de alto, enviándolo

posteriormente a una caldera de la planta de empaque de carne (K II) y al motogenerador. (23)

La producción de biogas es de 3-5 pies /lb de sólidos volátiles.

Las condiciones del proceso son:

-Temperatura 55 °C y 65 °C.

-Tiempo de retención: 10 días a 55 °C.

3 días a 65 °C.

-El contenido de sólidos volátiles promedio en el estiércol de las cabezas de ganado es del 10%.

-En caso de que seas necesario según el contenido de nutrientes bacterianos en el estiércol, se enriquecen con sustancias químicas suplementarias.

e) Evaluación de la recuperación de calor del efluente mediante un intercambio de calor regenerativo. (66)

f) Evaluación del desgaste alternativo del equipo y materiales de floculación.

Las variables que se han manejado para optimizar el sistema son:

(1) la disminución del tiempo de retención y,

(2) dar más valor al producto proteico que se recicla.

El material semisólido que sale del proceso contiene 20% de proteína cruda, que puede utilizarse para alimentar a las vacas.

Considerando que el precio comercial del alimento para ganado es de \$210 U.S.D/Ton. y que este contiene 40% de proteína cruda, la producción del sistema es de 11 toneladas diarias, esto representa un valor comercial de \$1,122 U.S.D diarios o \$409,500 U.S.D. al año.

La suma del valor de los productos del sistema es de \$616,674 U.S.D. al año.

La inversión para la investigación previa y construcción del sistema fué de \$1.25 U.S.D.millones y el gasto anual de operación es de \$150,000 U.S.D.

Según los cálculos que presentan en la bibliografía, mencionan que en dos años se recuperó la inversión y las ganancias anuales fueron de \$573,400 U.S.D. (Fig. 12)

Con los dos ejemplos de digestores mencionados así como de otros similares, se puede pensar que la investigación e instalaciones de un sistema de obtención de biogas para tratar desechos que representen un beneficio ecológico, social y tecnológico sean un medio para la obtención de energía, alimentos o fertilizantes. (21,22,34).

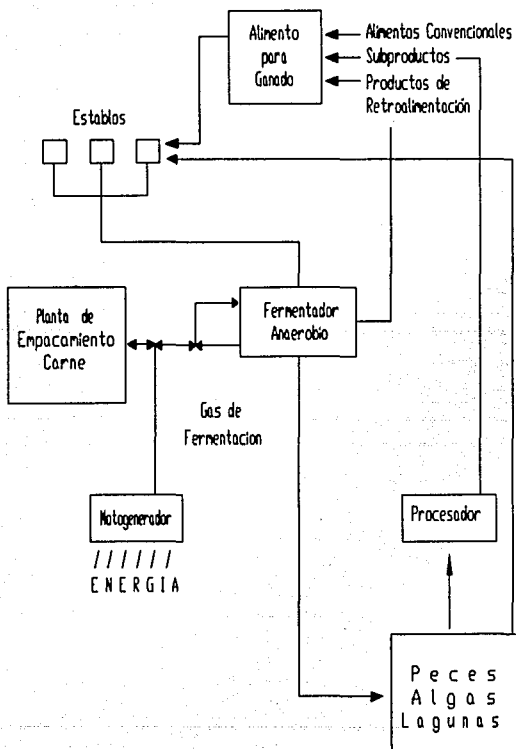


Fig. 12 Sistema Integrado de Bartow, Florida

#### 4.4. EXPERIENCIAS PREVIAS EN MEXICO.

En México se han desarrollado algunas investigaciones acerca de obtención de biogas. Se tiene conocimiento de que existen digestores experimentales en el interior de la República, pero el único trabajo reportado a nivel internacional es el realizado por el Instituto de Investigaciones Eléctricas de Cuernavaca, Morelos.

El objetivo del trabajo desarrollado en el I.I.E. era el abastecimiento de energía eléctrica a comunidades rurales aisladas, que carecen de este servicio; para realizar este fin se desarrolló una investigación sobre la factibilidad de instalar digestores, productores de biogas en zonas rurales.

El tipo de digestores que se desarrollaron, son suburbanos, como los instalados en China; es decir, una cámara subterránea en la cual es evacuado el gas. El combustible alimentaba un motogenerador que abastecía de energía eléctrica a la comunidad.

La investigación consistió en determinar las condiciones óptimas del proceso. Las únicas variables controladas fueron: contenido de sólidos totales en los desechos orgánicos, tiempo de retención y la posibilidad de enriquecer los desechos. (Fig.13)

El problema que presentó este trabajo fué que era necesario que la comunidad trasladara los desechos al lugar donde se situaba el digestor y esto provocó que el sistema no resultara adecuado para cumplir su objetivo. (25)

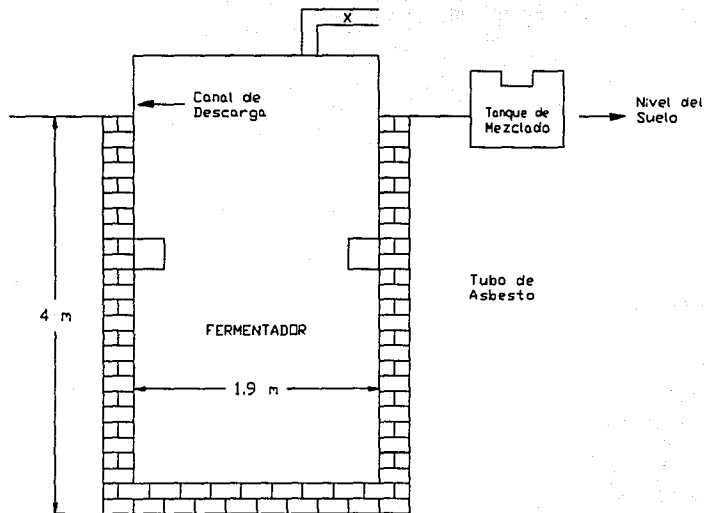


Fig. 13 Fermentador diseñado por el Instituto de Investigaciones Eléctricas

## **CAPITULO V**

### **PROYECTO**

#### **5.1 INTRODUCCION.**

La planeación de una investigación formal, con manejo de variables y aplicación de tecnología adecuada, ha empezado a desarrollarse hasta ahora en nuestro país, aunque ya ha sido realizado en muchos países industrializados.

La inquietud mundial acerca de este tema y sus grandes ventajas, hace necesario que en nuestro país se profundice la investigación al respecto, adaptando esta tecnología a nuestro medio.

La producción de biogas es tan solo una parte del área de bioprocesos, pero igualmente otros aspectos de la Biotecnología no se han tocado en el entorno industrial de México. Existen investigaciones de importancia mundial desarrolladas por científicos mexicanos en el área de ingeniería genética, para la obtención de fármacos tales como vacunas, hormonas, etc., pero en muy pocas se ha incursionado en sus aplicaciones industriales. (25)



## **5.2. PROSPECTIVAS TECNOLOGICAS**

### **5.2.1 PROYECTO PROPUESTO.**

De acuerdo a la información recopilada y como una medida de saneamiento ecológico se propone este proyecto, en el cual los lodos secundarios de una planta de tratamiento aerobio de aguas, que se producen en gran cantidad y los cuales son depositados en terrenos o ríos afectando el medio ambiente, sean tratados por métodos anaerobios. Estos lodos tienen un gran contenido de materia orgánica (por provenir de aguas residuales domésticas) y pueden ser utilizados como una fuente de producción de gas metano, aplicando un proceso de digestión anaerobia, en el cual se seleccionara el reactor o digestor más adecuado para este sustrato, así como las condiciones óptimas en el desarrollo del proceso siendo un medio para eliminar el negativo impacto ecológico que estos lodos representan. (60,64)

El biogas obtenido podrá ser utilizado como "fuente de energía eléctrica" o combustible adicional de la planta y , el efluente puede ser recirculado a los reactores de tratamiento aerobio.

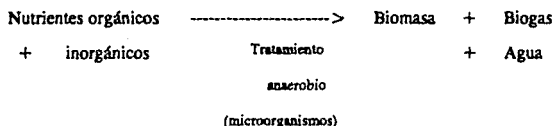
Además, se proponen las metodologías, equipo, reactor y parámetros necesarios para el funcionamiento del tratamiento anaerobio.

De acuerdo a los resultados que se obtengan el el futuro, esta metodología además de usarse para el procesamiento de lodos residuales de plantas de tratamiento de aguas, también podría dar las bases para aplicarlo a otros desechos de origen orgánico (basura por ejemplo) logrando otras fuentes de obtención de energía y evitando principalmente el impacto ecológico de estos desechos sobre la naturaleza.

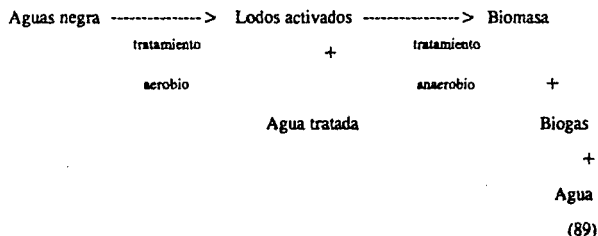
En base a los objetivos planteados, se han definido las acciones que hay que realizar para el desarrollo de esta investigación presentandolos en una forma concreta y esquematizada:

**Diagrama de las Bases para la Investigación de Tratamiento anaerobio de lodos activados:**

1. Un paso:



2. Mixto o combinado:



Como se observa en el diagrama, pueden seguirse dos rutas básicas.

La elección entre ellas, depende del origen y condiciones del material a digerir.

Para ambas rutas, el paso que es de nuestro interés es el tratamiento anaerobio, el cual se basa en la vía metabólica de metanogénesis. Existen condiciones específicas para que el desarrollo de la vía se efectúe : teóricamente se requiere de

ausencia total de oxígeno y requerimientos nutricionales específicos, aunque prácticamente se ha visto que no son necesarias condiciones tan estrictas para que se desarrolle el proceso. Igualmente existen parámetros que son variables del proceso:

- \* Temperatura: intervalo termofílico (55-65 °C)  
intervalo mesofílico (30-37 °C)
- \* pH : puede variar entre 6.7 y 8.
- \* Tiempo de retención óptimo para el proceso: se puede determinar de acuerdo a una curva de tiempo de retención hidráulico contra el % de degradación de la materia presente en el reactor.
- \* Enriquecimiento de los desechos: los desechos pueden ser mezclados con otras sustancias o especies microbianas, para lograr mayor producción de metano.

El manejo de estas variables, para la optimización del proceso, debe llevarse a cabo tomando en cuenta los siguientes factores:

- \* Capacidad y tipo del sistema elegido.
- \* Origen de los desechos. Este factor varía de acuerdo a la región geográfica y a su origen.
- \* Factibilidad económica.

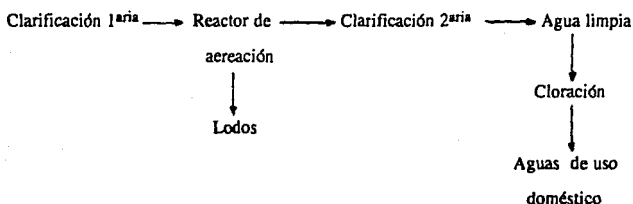
(50,64,66,90)

### 5.2.2 ESTADO DE ARTE Y TENDENCIAS.

Existen plantas de tratamiento de Aguas Negras, las cuales tienen como principal objetivo, el abastecimiento de agua de riego y uso doméstico (no potable).

El tratamiento de aguas negras en nuestro país se efectúa principalmente mediante el proceso conocido como Lodos Activados. Dicho proceso consiste en la digestión aeróbica de desechos orgánicos, que representa la sedimentación de los sólidos contenidos en las aguas negras.

El sistema puede consistir en varios trenes de tratamiento. Cada tren sigue la siguiente secuencia:



La etapa más importante se desempeña en el reactor de aereación.

La sedimentación de los sólidos se realiza debido a la acción metabólica de un sistema de protozoarios (24).

Los lodos que se aislan del reactor de aereación y el clarificador secundario, son desechados cuando un análisis de los mismos muestra la aparición de bacterias en las

regiones con un grado de oxigenación menor, como lo son las esquinas y el fondo del reactor.

Actualmente los lodos de desecho son evacuados por bombeo y dirigidos a ríos localizados en los límites circundantes de las plantas, en otros casos son secados y depositados en terrenos. Esta acción contamina las aguas de los ríos y suelos con una población microbiológica elevada.

El tratamiento de los lodos desechados aún no se ha definido, pudiéndose plantear varias opciones: dejar que se sequen al sol y sirvan como fertilizantes, construir lagunas para el secado de los mismos o hacerles un tratamiento biológico.

Siguiendo el diagrama de desarrollo del proceso, se propone un tratamiento anaerobio para los lodos de desecho, utilizando un reactor o digester tipo UASB, ya que este ha sido utilizado en el tratamiento de diversos tipos de aguas residuales con un alto porcentaje de remoción de sólidos, además de que presenta una gran resistencia a la variación de los parámetros de digestión y tiempos de retención reducidos.

Se sugiere caracterizar los lodos de desecho y valorar su potencial metanogénico, con el fin de que posteriormente se desarrolle la investigación para la implantación de una planta piloto que parta del uso de lodos residuales como materia prima y un reactor de tipo UASB.

Aunque existen otros tipos de digestores que pueden ser utilizados para el tratamiento de este tipo de desecho, consideramos que el proceso UASB para nuestros propósitos es el que mejor se adecúa.

Con esta acción se lograría, además de obtención de energía mediante el uso del metano, un mejoramiento ecológico.

### **5.3. RECURSOS HUMANOS**

1.-Para definir los recursos humanos necesarios, es importante considerar a Biotecnología como una ciencia interdisciplinaria que requiere profesionales en Química, Bioquímica, Microbiología, Ingeniería Química e investigación económica, siendo estos profesionales los necesarios para cubrir las áreas que serán empleadas. La Ingeniería Bioquímica y Química se podrán utilizar en la etapa inicial de la investigación, en donde se recomienda hacer una evaluación de las condiciones que se estudien en el laboratorio para lograr el escalamiento a una planta piloto.

Se ha contemplado la posibilidad de que se requiera en un futuro, un químico de alimentos, para el estudio y aplicación de productos secundarios (como proteína de uso animal).

### **5.4. INFRAESTRUCTURA.**

Considerando las necesidades para la instalación de un laboratorio de biotecnología, donde se realizará investigación sobre el estudio de digestión anaerobia, se considera la adquisición de equipo, material y reactivos que permitan una infraestructura adecuada.

#### **1.-Equipo.**

El equipo solicitado, servirá para desempeñar el trabajo de análisis y manejo de materiales biológicos tales como:

-Cromatógrafo de gases: que será empleado para la caracterización biogas producido durante y después del proceso de fermentación.

- Espectrofotómetro UV/Vis: se emplea para la identificación de metabolitos de los microorganismos presentes, que pueden dar a conocer la tendencia y estado del proceso.
- Fluorómetro: en la detección de coenzimas y su caracterización (este puede ser sustituido por un HPLC con detector de fluorescencia).
- Equipo Kjeldahl: para la detección y cuantificación de nitrógeno proteico (puede ser automatizado para obtener los resultados de una manera rápida y eficaz).
- Equipo Goldfish: extracción y cuantificación de lípidos.
- Microscopio, incubadora, cuantacolonias, refrigerador, esterilizador, homogeneizador, centrifugas de alta y baja velocidad, campanas de flujo laminar: Este equipo será empleado para el análisis, manejo, conservación y aislamiento de microorganismos y material biológico.
- Potenciómetro, parrillas de agitación, baños de temperatura, cronómetros, balanza analítica y gravimétrica, mufla y estufa: para la medición y control de las variables del proceso.
- Material de vidrio: embudos de cola corta y larga, matraces Erlenmeyer, vasos de precipitados, vidrio de reloj, etc..

La mayor parte del equipo ha sido seleccionado con la finalidad de obtener resultados precisos en corto tiempo, ya que el desarrollo de una investigación de este tipo, requiere de condiciones estables de trabajo para evitar la desnaturalización de enzimas, y en casos extremos la inhibición o muerte de los microorganismos activos, al igual de proponer con éstos las condiciones y parámetros óptimos del proceso.

## 2.-Laboratorio.

El laboratorio debe cumplir ciertos requisitos:

- Distribución adecuada , que permita libre movilidad del personal.

- Suficiente lugar de trabajo (mesas).
- Sistema de extracción (campanas) sencillo y de flujo laminar.
- Un lugar específico, aislado, para el manejo de metabolitos desnaturizables (cuarto frío, el cual debe estar a una temperatura no mayor de 5 °C).
- La situación del laboratorio debe ser tal, que se evite la contaminación de los cultivos, causada por el paso y contacto con personas ajenas al laboratorio, que desconozcan el manejo y cuidados requeridos.
- Buena iluminación y ventilación.
- Servicios de seguridad, como todo laboratorio de investigación: regaderas, extintores, etc.
- Debe ser de dimensiones adecuadas, para la instalación del equipo específico fijo, sin que este estorbe en el área de trabajo activo.

### 3.-Equipo de computo.

Parte del equipo propuesto (cromatógrafo de gases, espectrofotómetro UV/Vis y fluorómetro), además de su módulo de detección de señales e integrador, puede ser adaptado a un sistema de computo, para mayor control e identificación de espectros, por selección en bancos de memoria integrados a un software que permita cubrir con mayor eficiencia los objetivos de este proyecto.

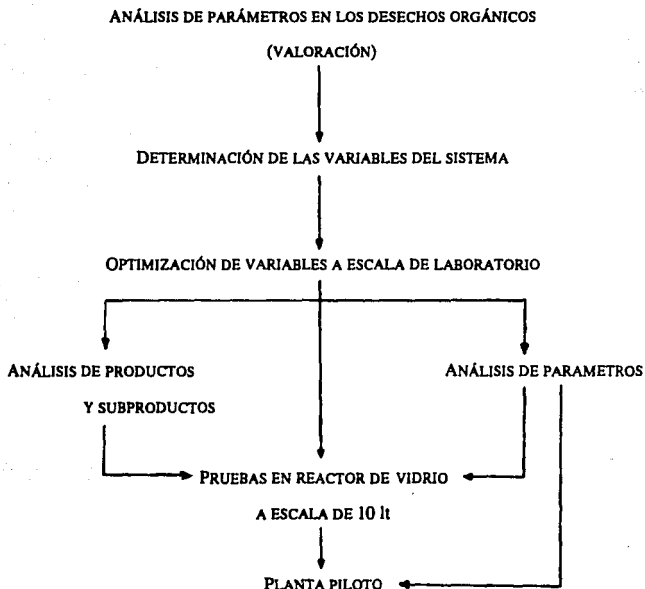
El sistema de computo podrá estar integrado al espectrofotómetro UV/Vis y el resto de los equipos pueden ser conectados a él, además de poder ser empleado para otros fines.

De la elección de las condiciones adecuadas después de realizar un análisis teórico experimental de las variables, dependerá si la degradación anaerobia de lodos activados residuales presenta ventajas energéticas y ecológicas, y sea un sistema factible de desarrollar, de acuerdo al esquema y objetivos que se persiguen.



El análisis teórico-experimental de las variables deberá realizarse desde el punto de vista bioquímico, químico, microbiológico, su aplicación a ingeniería y su factibilidad económica.

Con el fin de estudiar las variables del sistema en una forma integral y práctica, se puede plantear un esquema a seguir:



En el caso del proyecto de degradación de lodos activados por un proceso anaerobio con producción de biogas, se ha estudiado el desarrollo de las diferentes metodologías, haciéndose una selección de aquellas que resulten más apropiadas, para los objetivos definidos, así como la infraestructura planeada.

En la literatura se han encontrado técnicas, que van desde la aplicación de métodos gravimétricos y volumétricos, hasta métodos espectroscópicos de alta complejidad, para la caracterización y análisis de las variables que intervienen en este estudio. En el caso del proyecto de producción de Biogas, se ha estudiado el desarrollo de las diferentes metodologías, haciéndose una selección de aquellas que resulten más apropiadas, para los objetivos definidos, así como la infraestructura planeada.

Las variables que serán analizadas en la materia prima, durante el proceso y los productos obtenidos con la metodología seleccionada se enumeran en el cuadro I.

Las metodologías seleccionadas podrán ser sujetas a cambios, de acuerdo a los resultados obtenidos, así como las necesidades que se presenten durante la investigación, además de que permitan conocer y evaluar el funcionamiento del sistema así como tomar las medidas necesarias para solucionar los problemas que se presenten hasta optimizar el proceso.

**CUADRO I**

<b>Variables</b>	<b>Metodología</b>
Sólidos Totales	Gravimétrica
Sólidos Volátiles	Gravimétrica y Cromatográfica
Demanda Química de Oxígeno	Combinación de Volumétricas y Automatizadas
Demanda Bioquímica de Oxígeno	Volumétricas y Bioquímicas
Nitrógeno (proteico)	Kjeldahl
Acidos Volátiles	Arraste de vapor, Volumétricos Cromatográficos
Coenzima F420	Espectroscopía de Fluorescencia
Lípidos	Extracción
Microbiología	Visuales, métodos de cultivo Espectrofotométricas
Cuantificación y caracterización de gas	Cromatográficas
pH y Alcalinidad	Potenciométrica y/o volumétrica
Temperatura	Termométrica
Tiempo de retención	Función de otras variables
Muestreo	Función de otras variables

## 5.5 METODOLOGIAS.

### SOLIDOS.

#### 1.-Generalidades.

La definición usual de sólidos se refiere a la materia que permanece como residuo después de evaporar y secar a 103-105 °C la muestra de agua.

La determinación de sólidos suspendidos es extremadamente valiosa en los análisis de aguas contaminadas y de aguas residuales. Es uno de los mejores parámetros usados para valorar la concentración de las aguas residuales domésticas y para determinar la eficiencia de las unidades de tratamiento.

En el trabajo de control de la contaminación de corrientes, se considera que todos los sólidos suspendidos, son sólidos sedimentables, no siendo el tiempo un factor limitante. La sedimentación se espera que ocurra a través de la floculación biológica y química; de aquí que la medida de sólidos suspendidos se considere tan significativa como la DBO.

Los lodos son acumulaciones de sólidos sedimentables. Su medida es importante en ingeniería práctica para determinar la conducta física de las corrientes residuales que entran a las masas de agua naturales.

La determinación de sólidos sedimentables tiene aplicaciones muy importantes; se usa extensamente en el análisis de aguas residuales industriales, para determinar la necesidad y el diseño de tanques de sedimentación primaria en plantas de tratamiento de aguas residuales para determinar la eficiencia de las unidades de sedimentación.

## DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO.

### 1. Generalidades.

La prueba analítica de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) es una estimación de la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar materia orgánica de una muestra de aguas residuales, por medio de una población microbiana heterogénea. Esta prueba es un procedimiento de bioensayos que comprende la medida del oxígeno consumido por los organismos vivos (principalmente bacterias) para utilizar como alimento la materia orgánica presente en un desecho en condiciones muy similares a las naturales. Teóricamente se requiere un tiempo infinito para la oxidación biológica completa. Sin embargo, un período de 20 días todavía es grande para esperar resultados en la mayoría de los casos. Se ha encontrado, por experiencia, que un porcentaje razonable grande de la DBO total se logra en 5 días, aproximadamente el 70-80% en aguas residuales domésticas e industriales, por consiguiente, el período de 5 días de incubación se ha aceptado como estándar. Para ciertos desechos industriales. La demanda de oxígeno de las aguas residuales y de los efluentes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas o industriales es ejercida por 3 clases de materiales:

- a) material orgánico carbonoso utilizable como fuente de alimento por los organismos aerobios.
- b) nitrógeno oxidable derivado de nitritos, amoníaco y compuestos de nitrógeno orgánico que sirven como alimento para bacterias específicas (Nitrosomonas y Nitrobacter).
- c) ciertos compuestos químicos reductores ( hierro ferroso, sulfitos, sulfuros y aldehídos) que reaccionan con el oxígeno disuelto molecular.

En aguas residuales domésticas crudas y sedimentadas, gran parte de la demanda de oxígeno se debe a la primer clase de materiales y se determina por la prueba de la demanda bioquímica de oxígeno antes mencionada.

## DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO.

### Principio.

La determinación de la demanda química de oxígeno (DQO), proporciona la medida del oxígeno que es equivalente a la porción de materia orgánica, presente en una muestra de agua, capaz de oxidarse por procedimientos químicos (oxidantes fuertes), se ha encontrado que el dicromato de potasio es el más práctico ya que es un oxidante potente en soluciones fuertemente ácidas.

Una de sus principales limitaciones es su incapacidad para diferenciar la materia orgánica biológicamente oxidable de la inerte. Además, no proporciona una evidencia de la velocidad a la cual el material biológicamente activo se estabilizaría en las condiciones que existen en la naturaleza.

Su mayor ventaja es la rapidez con que se efectúa, ya que se necesitan 3 horas como máximo para su valoración, en lugar de los 5 días que se requieren para medir la demanda bioquímica de oxígeno (DBO).

La DQO puede ser el único método para determinar la carga orgánica de desechos que contienen sustancias tóxicas.

### Significado Sanitario.

La demanda química de oxígeno es un parámetro importante y rápido para determinar el grado de contaminación de corrientes y aguas residuales industriales y para el control de las plantas de tratamiento de aguas de desecho. Junto con la prueba de DBO, la DQO es útil para indicar la presencia de sustancias tóxicas y de sustancias orgánicas resistentes biológicamente.

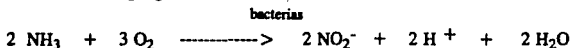
## NITROGENO

### 1. Discusión general.

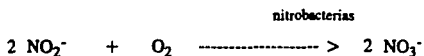
Los diferentes tipos de nitrógeno son de gran interés, debido a la importancia que tienen en los procesos de la vida de las plantas y animales. Las bacterias efectúan cambios de valencia, positivas o negativas dependiendo de las condiciones previas aerobias ó anaerobias que existan.

Compuestos de N	Nitrógeno amoniacoal NH <sub>3</sub>	Derivados orgánicos N	Anhídrido del ac. nítrico N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Anhídrido del ácido nítrico N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
Valencia de Nitrógeno	3 -	0 +	3 +	5 +

Los desechos humanos y animales transportados por las aguas residuales contienen nitrógeno en forma orgánica. En condiciones aerobias, las bacterias autótrofas nitrificantes (el grupo de las nitrosomonas) convierte al amoníaco a nitritos aprovechando la energía generada en tal oxidación:



Los nitritos a su vez, son oxidados a nitratos por el grupo de nitrobacter:





En condiciones anaerobias, los nitratos y nitritos son reducidos mediante el proceso llamado desnitrificación. Posiblemente los nitratos son reducidos a nitritos y a continuación se efectúa la reducción de nitritos.

Contadas bacterias reducen los nitritos a amoníaco; la mayoría de ellas, lo reducen a nitrógeno gaseoso el cual escapa a la atmósfera. La ventaja de la desnitrificación, es la eliminación de nitrógeno de los desechos, cuando esto es requerido para la prevención del crecimiento indeseable de algas y otras plantas acuáticas en cuerpos de agua receptores.

#### Método de análisis.

Para las necesidades del control de variables del proceso es importante la determinación de: N-amoniaco y N-orgánico.

### NITROGENO AMONIACAL.

#### Principio.

Todo el nitrógeno existente como ión amonio o en equilibrio se considera como N-amoniaco:



Se efectua por el método de Nesslerización directa que es aconsejable que se haga en muestras claras que tienen poco o ningún color y turbiedad, lo mismo que cantidades significativas de interferencia.

## **NITROGENO ORGANICO.**

### **Método Kjeldahl.**

#### **1.-Principio.**

En la determinación del nitrógeno total, Kjeldahl cuantifica el nitrógeno amoniacal y orgánico. El Nitrógeno orgánico incluye el nitrógeno de los aminoácidos, aminas, amidas, imidas y nitroderivados. En las aguas residuales domésticas está en forma de proteínas o de sus productos de degradación: polipéptidos y aminoácidos. Muchos de los compuestos orgánicos que contienen nitrógeno se derivan del amoníaco, y de la destrucción de la materia orgánica por oxidación.

Las valoraciones del nitrógeno tanto orgánico como amoniacal son una medida de la cantidad de materia orgánica y/o nitrógeno proteico presente y es necesario puesto que el nitrógeno puede convertirse en inhibidor de la metanogénesis (en concentraciones superiores a 150 mg/ml) ya que su poder oxidante puede afectar elevando el potencial redox e inhibe el desarrollo de las bacterias metanogénicas.

## **LIPIDOS**

### **Grasas y aceites.**

#### **Principio.**

Aceites, grasas, ceras y ácidos grasos son las principales sustancias clasificadas como "grasa" en las aguas residuales domésticas. Las aguas residuales industriales pueden contener ésteres simples y posiblemente, otros compuestos de la misma categoría.

El término "aceite" representa una amplia variedad de hidrocarburos de bajo a elevado peso molecular, de origen mineral, que abarca desde la gasolina hasta combustibles y aceites lubricantes. En adición, incluye todos los glicéridos de origen animal y vegetal que son líquidos a la temperatura ordinaria.

Aceites y grasas pueden estar presentes en el agua como una emulsión de residuos industriales o de fuentes similares, o en solución como una fracción ligera del petróleo.

Además los aceites y grasas imparten al agua sabor y olor desagradables, afectando también el sabor de los peces para consumo doméstico.

#### **Selección del método (Método de Extracción Soxhlet).**

#### **Principio.**

La determinación de grasa, nos mide cuantitativamente grupos de sustancias con características físicas similares, principalmente su solubilidad en el solvente usado (generalmente hexano).

Cualquier material recolectado se llama grasa y cualquier sustancia filtrable, soluble en hexano, como es el caso del azufre elemental y de ciertos colorantes orgánicos, se extrae como grasa.

La presencia y determinación de los lípidos es importante, ya que estas macromoléculas son degradadas en la etapa acidogénica y puede ser una medida indirecta de la cantidad de materia orgánica degradable. Esta variable no es inhibidora del proceso si se encuentra en concentraciones bajas, si se encuentra en concentraciones elevadas se pueden formar ácidos que pueden llegar a bajar el pH del proceso e inhibir el desarrollo de este.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

## TEMPERATURA

El concepto de temperatura se refiere a la propiedad termodinámica que determina la existencia o inexistencia de equilibrio térmico entre dos o más sistemas. Los diferentes tipos de desechos, la temperatura juega un papel fundamental en la autopurificación de los desechos orgánicos, afectando simultáneamente la rapidez de estabilización de la materia orgánica y el nivel de saturación del oxígeno disuelto (OD).

La temperatura es un parámetro importante en la digestión anaerobia ya que ésta se lleva a cabo a temperaturas superiores a 10 °C e inferiores a 65 °C teniendo dos puntos óptimos para el desarrollo del proceso: a 40 °C y 50-55 °C, que son las temperaturas en las que las bacterias metanogénicas se desarrollan mejor. La elección de estas dependerá sin duda del sistema de reactor o digestor que se elija.

## DETERMINACION DE pH Y ALCALINIDAD.

El símbolo pH representa el potencial de iones hidronio o exponente de H y ha sido adoptado universalmente para expresar la actividad del ión hidrógeno, en moles/litro. La escala práctica del pH comprende del 0 para soluciones muy ácidas hasta el 14 para soluciones muy alcalinas, con el valor medio de 7 que corresponde a la neutralidad exacta a 25 °C.

En el tratamiento de aguas residuales y desechos industriales en el que se emplean procesos biológicos, el pH debe ser controlado dentro de un ámbito favorable a los microorganismos. Tanto un pH elevado como bajo pueden ser perjudiciales, ocasionando una inactividad a los microorganismos esenciales en los procesos de tratamiento de aguas residuales.

La alcalinidad de las aguas naturales es debida principalmente a sales de ácidos débiles, contribuyendo también las bases débiles y fuertes. Los bicarbonatos representan la principal forma de alcalinidad, siendo formados por la acción del CO<sub>2</sub> sobre materiales básicos en el suelo. Aunque son muchos los materiales que pueden contribuir a la alcalinidad en las aguas naturales o tratadas, se debe principalmente a los hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos presentes.

**Significado sanitario.**

Las aguas altamente alcalinas no son aceptables para el abastecimiento público, teniendo que ser sometidas a tratamiento para su uso.

La alcalinidad total se determina por métodos volumétricos usando como indicador fenolftaleína y el pH se puede medir bien sea colorimétricamente o potenciométricamente.

La determinación de ambos parámetros es importante ya que durante la fermentación el pH varía entre 6.5 y 8.0. Una disminución de pH por abajo de 6.5 puede significar una concentración demasiado fuerte de ácidos grasos volátiles y por lo tanto la inhibición de la metanogénesis. Por arriba de pH 8.0 se comprueba la formación de hidrógeno y amoníaco.

## TECNICAS QUE UTILIZAN CROMATOGRAFIA DE GASES.

Introducción.

Principio

La cromatografía de gases es un método físico para separar sustancias volátiles por penetración de una corriente de gas a través de una fase estacionaria, el cual es un lecho de extensa área superficial y puede ser un sólido o una delgada película que recubre el sólido. La fase móvil se denomina "gas portador", el cual es un gas inerte o líquido cuya finalidad es transportar las moléculas de la muestra a través de la columna.

Los resultados del análisis se obtienen en un registro gráfico que recibe el nombre de "Cromatograma", en el se indican los componentes y el grado de concentración en que estaban presentes en determinado tiempo.

Con técnica de cromatografía de gases pueden medirse rápidamente muchas propiedades físicas, tales como el área superficial, isothermas de adsorción, calores de disolución, coeficientes de actividad, coeficientes de partición, pesos moleculares y presiones de vapor. Por lo general, estos procedimientos permiten obtener resultados rápidos, comparables en exactitud a los métodos clásicos más lentos.

Las principales ventajas de la cromatografía son: alta resolución, velocidad, sensibilidad, sencillez y resultados cuantitativos.

La técnica de cromatografía es útil para la determinación de los ácidos grasos volátiles así como para la cuantificación y caracterización del gas producido en el digestor.



## CUANTIFICACION Y CARACTERIZACION DEL GAS

### Equipo y Material.

- 1.-Cromatógrafo con detector de conductividad térmica, que contiene una columna cromatográfica de 1/8" de diámetro externo y de 2 mm de diámetro interno empacada con Porapak Q de 80/100 mallas.
- 2.-Registrador con rollo de papel y plumilla para registrar.
- 3.-Cilindro de gas Helio, con regulador de presión que esté unido al cromatógrafo por medio de una tubería de 1/4" con sus respectivas uniones.
- 4.-Jeringa para gases con válvula para muestreo (pressure-Lok) de 1 ml.
- 5.-Muestreador de gas.
- 6.-Cronómetro.
- 7.-Medidor de burbuja.

### Instalación del equipo.

Procurar instalar el cromatógrafo en un lugar ventilado del laboratorio y de ser posible instalar el cilindro de gas Helio fuera del laboratorio, también en un lugar ventilado y protegido de la intemperie. Esto se debe a que el gas Helio es un gas inerte envasado a alta presión, que puede causar asfixia ya que desplaza al oxígeno del medio ambiente. Manejar el cilindro con cuidado, evite golpear la válvula del cilindro, no golpear o sacudir las tuberías del gas. Por seguridad se deben mantener sujetos los cilindros.

Instalar el regulador de presión en el cilindro y conectar éste al cromatógrafo por medio del tubo de gas de 1/4". Abrir lentamente la válvula del cilindro, después la válvula que regula la presión de salida a 60 psig. Revisar que no se presenten fugas en las conexiones, con la ayuda de la espuma producida por una solución jabonosa,

si se presentan fugas utilice la cinta de teflón en las roscas de unión. Si no hay fugas regule la presión de salida y cerrar la válvula del cilindro. Conectar el registrador a la conexión de salida del detector del cromatógrafo por medio del cable adecuado.

#### Acondicionamiento del cromatógrafo.

- Antes de encender el cromatógrafo (power, on) revisar que esté en posición de apagado (off) el interruptor de los filamentos del detector (det power).
- Abrir lentamente la válvula, regular la presión de salida a 40 psig.
- Proceder a regular los flujos de gas Helio en las salidas del detector del cromatógrafo a un flujo de 15 ml/min, con la ayuda del medidor de flujo de burbuja y un cronómetro, abriendo o cerrando las válvulas de control correspondientes del cromatógrafo.
- Con el control de temperatura del inyector (inj port control) regular la temperatura a 60 °C, de igual forma con el control de temperatura del detector (det temp control). El control de temperatura de la columna se mantendrá apagado. La revisión de las temperaturas se hace por medio de un selector en la parte central del cromatógrafo.
- Poner el control de atenuación en posición 16, encender el registrador y ponerlo en posición de "standby" y en 5 mv (input), dejar que se estabilice el equipo de 1 a 2 horas.
- Proceder a comprobar que la señal de salida del detector es estable de la siguiente manera:
  - a).-Poner en el registrador la posición de registro (record).
  - b).-Encender los filamentos (det power on) y ajustarlos a 125 mA (current).

- c).-Colocar la plumilla del registrador a la mitad de la escala del papel por medio del control de ajuste de la línea base (zero) del registro y en caso necesario con el ajuste del cromatógrafo (zero).
- d).-Por medio del control de velocidad de la carta del registrador, seleccionar una velocidad de carta de 1 cm/min.
- e).-Dejar en esas condiciones por un tiempo de 10 min. Si la línea base es rectilínea, la señal de salida del detector del cromatógrafo es estable.

**Nota:**

Cuando se utilice por primera vez la columna, se debe acondicionar subiendo la temperatura del horno con el control de la temperatura de la columna (col temp control) a 200 °C y la temperatura del detector a 250 °C (det temp control) de 4 a 5 horas con un flujo de gas Helio en la columna de 30 ml/min.

Mantener apagados los filamentos del detector.

- f).-Inyectar con la jeringa de gases 0.1 ml de aire, ajustar la línea base de acuerdo al pico registrado, después de que se aparezca el pico y se establezca la línea base, apagar la velocidad de la carta y levantar la plumilla del registrador.

**Procedimiento.**

**Muestreo.-**

-Con la ayuda del bulbo muestreador con dos válvulas, tomar la muestra de biogas de la línea de muestreo de la campana de almacenamiento, purgando previamente la línea.

-Conectar el bulbo por uno de los extremos con una conexión adecuada (tubo látex), abrir las dos válvulas del bulbo de muestreo, abrir la válvula de la línea y

dejar fluir el gas el tiempo necesario para que se desplace el aire contenido en el bulbo.

-Cerrar al mismo tiempo la válvula de salida del bulbo y la de la línea de muestreo de la campana y por último la de la válvula de la entrada del bulbo.

-Seleccionar una velocidad de carta en 2 y mantener la posición de apagado en el registrador.

#### Inyección de la muestra.

-Ajustar la línea base del registrador y seleccionar el punto de inicio.

-Con la jeringa para gases tomar una porción de biogas del bulbo muestreador de 0.1 a 0.5 ml (seleccionar el volumen de inyección, para que a las condiciones dadas del cromatógrafo y del integrador se obtenga una altura máxima del pico más grande de alrededor de las 3/4 partes del papel graficador).

-Inyectar al cromatógrafo introduciendo toda la aguja de la jeringa en el inyector en una forma rápida y suave. Al terminar de inyectar accionar el interruptor de la velocidad de la carta en cm/min y esperar que aparezcan los picos correspondientes al metano y bióxido de carbono.

#### Identificación de componentes.

A las condiciones dadas para el análisis los tiempos de retención promedio son:

-48 seg para el nitrógeno ( se puede considerar como el tiempo de retención del aire ),

-1 min 20 seg para el metano y,

-2 min 40 seg para el bióxido de carbono.

#### Cuantificación.

Calcular las áreas de los picos de cada componente por medio de triangulación de la siguiente manera:

- a).-Trazar líneas tangenciales a los puntos de inflexión.
- b).-Trazar como base del triángulo la línea base del cromatograma.
- c).-El ancho de la base es la distancia entre las intersecciones de las tangentes a los puntos de inflexión con la línea base (B) .
- d).-Tomar como altura la distancia entre la base y el intercepto de las líneas tangenciales a los puntos de inflexión (A).

Emplear la siguiente fórmula:

$$\text{Area del Pico} = \frac{B \times A}{2}$$

Multiplicar el área correspondiente al metano por 0.45.

Multiplicar el área correspondiente al bióxido de carbono por 0.915 (Recordándose que los valores numéricos anteriores corresponden a factores de peso para obtener las áreas corregidas).

Normalizar de la siguiente manera:

$$\begin{array}{r} \text{Area corregida del metano} \\ + \text{ Area corregida del bióxido de carbono} \\ \hline \end{array}$$

Suma de áreas corregidas

**Cálculo en % en peso:**

$$\frac{\text{Area corregida del metano}}{\text{Suma de áreas corregidas}} = \% \text{ de CH}_4$$

$$\frac{\text{Area corregida del bióxido de carbono}}{\text{Suma de áreas corregidas}} = \% \text{ de CO}_2$$

**(Realizar 3 análisis de cada muestra, las variaciones no deberán ser de mas de 1 % para cada componente. Sacar promedio.)**

**La determinación de la composición del gas es una medida de un desarrollo adecuado del proceso.**

## ACIDOS GRASOS VOLATILES

### Principio.

Cantidades significativas de ácidos grasos volátiles (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>) son formados como intermediarios en la digestión anaerobia de lodos residuales y otros desechos orgánicos. En el digestor, los ácidos son convertidos por bacterias metanogénicas en metano y dióxido de carbono. Los análisis a menudo indican una elevación en la concentración de los ácidos volátiles, acompañada por la reducción en la producción de gas. La determinación de la concentración de los ácidos grasos en los lodos puede proporcionarnos una útil indicación del funcionamiento del digestor.

Los ácidos grasos totales pueden ser determinados por diferentes métodos, pero el uso de las técnicas de cromatografía de gases, permiten que cada ácido pueda ser determinado individualmente y el procedimiento puede ser automatizado. El método de cromatografía que se utiliza para esta determinación es el de Gas-Líquido con un detector de ionización de flama.

Las sustancias normalmente presentes en los lodos no han sido bien definidas como interferencias pero alguna sustancia la cual tenga un tiempo de retención similar al de los ácidos volátiles en la columna de cromatografía puede ser una probable interferencia.

Es importante determinar ácidos grasos, ya que una elevada producción de estos puede llegar a bajar el pH e inhibir el proceso.

### **Otras metodologías.**

La medida de los ácidos orgánicos ya sea por adsorción y elución por una columna de cromatografía o por destilación (con o sin vapor) pueden ser usadas como una prueba de control para digestores anaerobios.

Separacion por cromatográfica de columna de ácidos organicos.

Una muestra acuosa acidificada conteniendo ácidos orgánicos es adsorbida en una columna de ácido silícico y estos ácidos son eluidos con n-butanol en cloroformo.

El eluido es colectado y titulado con una base estandar. Todas las cadenas cortas (1 a 6 carbonos) de ácidos orgánicos son eluidos con el sistema de solvente usado en el método y son reportados colectivamente como ácidos orgánicos totales.



## COENZIMA F<sub>420</sub>

### Introducción.

El Cofactor F<sub>420</sub> es una coenzima que las bacterias metanogénicas tienen la capacidad de sintetizar. Se trata de una enzima transportadora de electrones que se caracteriza por la intensa fluorescencia verde-azulada que presenta cuando se encuentra en su forma oxidada y se expone a la luz ultravioleta.

Esta propiedad se debe a su constitución flavínica. Tal fluorescencia y característica ha sido utilizada para estimar la actividad metanogénica.

Un método para evaluar la actividad metanogénica de lodos anaerobios es a través de la determinación de la concentración del Cofactor F<sub>420</sub> por fluorimetría aplicado a lodos provenientes de biodigestores. La espectroscopia de fluorescencia (espectrofluorimetría) ha adquirido un papel de importancia en el análisis debido a que en los compuestos aplicables la fluorescencia produce una alta sensibilidad (del orden de unas cuantas partes por billón) y es un método muy específico.

### METODO

Un método utilizado es el propuesto por Binot y colaboradores a fin de comparar la actividad metanogénica de un lodo durante la biodigestión anaerobia.

#### Material y Métodos.

Muestra: Lodos provenientes de la fermentación de 2 biodigestores que operen en forma cíclica y con tiempos de retención hidráulica de 10 días y cuyo volumen útil y volumen inicial sean de:

biodigestor 1:  $V_{\text{reactor}} \text{ (L)} = 6.60$ ;  $V_{\text{útil}} \text{ (L)} = 6.00$ ,

biodigestor 2:  $V_{\text{reactor}} \text{ (L)} = 7.60$ ;  $V_{\text{útil}} \text{ (L)} = 6.30$ .

#### Curva patrón.

Para trazar la curva patrón relacionando la concentración del Cofactor F<sub>420</sub> y la fluorescencia se utiliza una solución acuosa de 2.57 mg/l de coenzima pura.

El procedimiento para la obtención de la curva es:

- dilución de la solución del Cofactor F<sub>420</sub> pura para obtener las siguientes concentraciones en 7 mg/l: 0.0775, 0.3875, 0.7750, 1.550, 2.2350, 3.100, 3.8750, 4.6500, 5.4250, 6.200, 6.9750, 7.7500.
- adicionar 15 ml de isopropanol y 2 ml de solución de KOH 1N a 5 ml de cada dilución.
- leer la fluorescencia en espectrofluorómetro a una longitud de onda de excitación de 425 nm o de emisión de 470 nm.

#### Procedimiento de la muestra.

- Homogenización y pesado de la muestra,
- adicionar agua desionizada a la muestra,
- centrifugar a 12000g por 10 minuto (centrífuga Sorvall, rotor 5534, diámetro 4.25 pulgadas).
- desechar el sobrenadante y resuspender en volumen conocido de agua desionizada manteniendo la suspensión en baño maría por 10 minutos.
- centrifugar a 12000g por 10 minutos.
- adicionar 15 ml de isopropanol y 2 ml de solución de KOH 1N a 5 ml de sobrenadante.
- Leer la fluorescencia en espectrofluorómetro en las longitudes de onda antes mencionadas.

Es necesario obtener la cantidad de sólidos volátiles de la muestra para obtener la concentración de la coenzima  $F_{420}$  por unidad de sólidos volátiles en los lodos (7mg  $F_{420}$ /g SV).

Nyns y colaboradores, basados en los trabajos de Wolfe y col. en Urbana, proponen el siguiente método:

- a) 10 g del licor de mezclado calentarlo a 100°C durante 10 minutos.
- b) Centrifugar a 9000g por 10 minutos a una temperatura de 4 °C y desechar el sedimento.
- c) Añadir 3 volúmenes de isopropanol y centrifugar a 9000g por 10 minutos a 4 °C.
- d) Tomar el extracto y diluirlo con isopropanol-agua (3:1).
- e) Añadir un volumen de KOH 1N.
- f) Medir la intensidad de emisión a 470 nm o la intensidad de excitación a 425 nm.

**NOTA:**

Cuando no hay un registro máximo o importante de excitación espectral a 425 nm (emisión 470 nm) se recomienda realizar el paso a y b, además de agregar a 5 ml del sobrenadante un exceso de  $KMnO_4$  (0.1-1.5 ml) y mantener por 5 minutos a temperatura ambiente. Añadir un exceso de  $H_2O_2$  (3%) (1-2 ml), y proseguir la técnica normal a partir del paso c.

La determinación de la Coenzima  $F_{420}$  es una medida de la viabilidad y concentración de las bacterias metanogénicas.

## TIEMPO DE RETENCION

El tiempo de retención hidráulica es el tiempo de permanencia en que los desechos o los efluentes en el digestor son degradados dentro de él y depende de la composición del sustrato y las condiciones de funcionamiento que se mantienen (tipo de procedimiento, temperatura, pH, etc.). Igualmente se necesita realizar una curva de tiempo de retención hidráulico contra el porcentaje de degradación de la alimentación.

Generalmente se hace el cálculo por días de la siguiente manera:

$$\text{Tiempo de retención } (\theta) = \frac{(V)}{(V_d)}$$

dondé:

$$\begin{aligned} V &= \text{ volúmen de fermentación (Capacidad del digestor)} \\ V_d &= \text{ volúmen de alimentación por día} \end{aligned}$$

Nota:

Este cálculo es para alimentación continua. Cuando se realiza en forma semicontinua o batch, el tiempo de retención se refiere al intervalo de tiempo que va desde el inicio de la operación del digestor hasta el de la descarga.

El tiempo de retención dependers de: la concentración de materia sólida disuelta y del tipo y geometría del reactor elegido.

## MUESTREO

### Como tomar muestras, tiempo y lugar.

Se recomienda tomar las muestras de:

- superficie del reactor.
- mitad del reactor.
- fondo del reactor.
- efluente.
- influyente.

Estas se obtendrán por aditamentos especialmente (llaves de paso) colocados en las zonas de muestreo del sistema de digestión.

Para preservar las muestras, generalmente entre la colección de las muestras y el análisis de las variables del proceso existe un intervalo de tiempo que puede ser de horas o días. Durante este tiempo, toman lugar reacciones físicas, químicas y bioquímicas que cambian las características de la muestra. Para evitar esto, es necesario preservar las muestras adicionando preservativos químicos o bajando la temperatura para retardar dichas reacciones.

El tiempo de toma de muestra dependera del tipo de reactor y efluente que se este utilizando así como de los parámetros que se estén analizando.

# CAPITULO VI

## CONCLUSIONES

Al término de este trabajo, podemos concluir lo siguiente:

La digestión anaerobia a diferencia de la digestión aerobia es un proceso atractivo para el tratamiento de desechos por muchas razones:

- 1.-Maneja fácilmente desechos con niveles de concentración de sólidos elevados, que el proceso aerobio no maneja o que maneja con gran dificultad.
- 2.-Solamente una parte de materia orgánica es transformada a biomasa, lo que reduce el problema posterior de deposición
- 3.-El producto final (Metano) se separa automáticamente por su baja solubilidad, aunque su captación no es algo sencillo.
- 4.-Se sabe que los microorganismos tienen requerimientos nutricionales bajos.

- 5.-Se pueden obtener subproductos tales como proteína alimentaria de uso animal, abono y utilizar el metano obtenido como una fuente de producción de electricidad o combustible de bajo poder.
- 6.-Comprobamos a través de la bibliografía, que en estos procesos se recupera la inversión en un plazo razonable.
- 7.-El tratamiento anaerobio de lodos residuales ha sido poco incursionado y como este es un desecho con alto contenido de materia orgánica fácilmente degradable, se ve la posibilidad de usar éste lodo como materia prima para ayudar así al problema de deposición de los lodos, el cual es un foco de contaminación ambiental y como una fuente de obtención de energéticos (Metano principalmente).
- 8.-Sugerimos el sistema de digestión anaerobia usando el proceso conocido como UASB (UPFLOW ANAEROBIC SLUDGE BLANKET) porque admite una carga relativamente elevada, con un promedio de remoción eficiente de desechos con alta concentración de sólidos, como los lodos activados, además de que confiere una gran estabilidad a las condiciones del proceso y los tiempos de retención son reducidos, haciendo que los microorganismos encuentren condiciones favorables para su desarrollo.

9.-El equipo mínimo requerido para su aplicación a escala de laboratorio y las metodologías planteadas se escogieron en base a los factores y variables que afectan al proceso y a su futura optimización, aunque estas no son las únicas que pueden ser útiles para el desarrollo del proceso.

10.-Este proceso de digestión anaerobia puede ser aplicado a diferentes tipos de desechos (domésticos, industriales y agrícolas) tomando en cuenta que se necesita educar a la población de nuestro país a separar sus desechos orgánicos, inorgánicos y no degradables, para que en un futuro, el empleo de esta tecnología permita obtener beneficios en cuanto a la contaminación ambiental que originan estos y la obtención de energéticos.

11.-Además, creemos que se requiere la capacitación y formación de profesionistas especializados en esta área poco conocida en México.



## BIBLIOGRAFIA

- 1.-Diccionario enciclopédico Salvat.  
Tomo 12 Shang-Z  
1971.
- 2.-Ocaña,S.H.L.  
Seguridad laboral y ciudadana.  
CARDI , 12: 321-322  
1987
- 3.- Minero Alfaro Nadine Esperanza  
Mecanismos de resistencia de los microorganismos a los metales pesados y su aplicación a la contaminación ambiental. Tesis 1988.
- 4.- Ecología, 100 acciones necesarias  
Folleto de la Comisión Nacional de Ecología  
Enero, 1987
- 5.-El estado del medio ambiente  
Folleto de la SSA, Subsecretaria del Mejoramiento del Ambiente 1981  
Talleres Gráficos de la Nación, México,D.F.
- 6.- Emel,C.T.  
Ecología y biología de las poblaciones  
1975  
Ed. Interamericana  
2a Edición, México,D.F.
- 7.-I.Perez; H.Naveau; E.J.Nyns.  
Organigrama de decisión de un proceso de biometanización apropiada a un sustrato biomasa dado.  
Rev.Agroquímica Tecnol.Alim. 23 (2), 1983.

8.-Asinari di San Marzano et al.  
Du processus biologique de la methanogenesi au  
procede technologique de la biomethanisation:  
dimensionnement, conception et conduite des digesteurs.  
Technique Eau Assainissement, 406, 7-15.

9.-H.Sixt and H.Sahm.  
Biomethanation.  
Consultans, Inst. fur Biotechnologie der Kernfor-  
schungsanlage.  
Julich.GmbH. West Germany

10.-Pascal Pipyn and Willy Verstraete.  
Waste classification for digestibility in anaerobic systems.  
Lab. of General Applied Microbial.

11.-M.J.McInery; M.P.Bryant; D.A.Stafford  
Metabolics stages and Energetics of Microbial  
Anaerobic digestion.

12.-R.Buvet; M.F.Fox; D.J.Picken  
Biomethane. Production and uses

13.-Thomas D.Brock  
Biología de los microorganismos.  
2ª Ed. Omega S.A. 2 Edición  
Barcelona, 1978

14.-J.Van Brakel  
Biogas before 1970 : a review.  
Trop.Sci. 1980, 22 (2)

15.- Rene Scriban  
Biotecnología  
Edit. Manual Moderno  
1985

16.-Holly Kaufman

Biogas in China :Small scale, Decentralized Anaerobic Digestion

Alternative Sources of Energy / 51

pg 24-27

17.-D.J.Lizdas; W.B.Coe;M.H.Turk.

Field experiments with an anaerobic fermentation pilot plant.

Fuel Gas Production from Biomass.

chapter 14

18.-D.J.Lizdas; W.P.Coe;

Operation of a full-scale, integrated manure anaerobic fermentation facility.

Project Engineer Enviromental & Energy Systems  
Hamilton Standard Division.

19.-J.L.Mechior; H.P.Naveau; E.J.Nyns.

Disposal of liquid and solid effluents from a Methane digester.

Biomethane, production and uses . section 3.7

20.-Elizabeth Wilson Langton

Fuel gas production from biomass

Digestion design concepts. Chapter 4, 63-109.

21.-R.A.Binot; T.Bol; H.P.Naveau; E.J.Nyns.

Biomethanation by immobilised fluidised cells.

Wat.Sci. Tech. Vol. 15

Copenhagen

pp 103-105.

22.-Reciclaje de materias orgánicas y biogas. Una experiencia en China, 1984.

FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe

Santiago de Chile, 1986.

**23.-Biotechnology**

**Ed. Bjurstrom**

**Chemical Engineers, Febr 18, 1985**

**Fluor Engineers Inc.**

**24.-Hector Segovia Reyes.**

**Correlación entre los protozoarios de la clase ciliata y algunos parámetros fisicoquímicos (OD, pH, T, S y SST); en el licor mezclado de la planta de tratamientos de aguas residuales "San Rafael" de PEMEX, con un sistema de lodos activados en Cd. Guadalupe, N.L, México.**

**Tesis, febrero 1989.**

**Univ. de Nuevo León,**

**25.-A.M.Martínez; P.Mulas del Pozo**

**Research on biogas and utilization in isolates rural communities.**

**Fuel Gas production from biomass**

**chapter 8, 121-133.**

**26.-Press mud additive to increase biogas production from cattle waste.**

**Current Science, July 20, 1981, Vol. 50, N2o 14, pp 640-643.**

**27.-Mordejai Morris Strauch Milstein.**

**Historia de la Biotecnología.**

**Ciencia y Desarrollo, CONACYT.**

**Vol XIV, N2o 84 (Ene-Feb 1989).**

**pp 17-32.**

**28.-Enrique Galindo Fentanes.**

**Biotecnología: oportunidades y amenazas.**

**Ciencia y desarrollo, CONACYT.**

**may-jun 1988, N2o 80, ano XIV**

**pp 21.**

29.-S.Satyanarayan; J.Venkataraman; S.N.Kaul.  
Performance Evaluation of Two Stages Anaerobic  
Fixed Film Fixed Bed Reactor System Treating Dairy  
Wastewater Using Special Media.  
Indian.J.Environmental Protection.  
Vol. 8, N2o 12, Dec 1988.  
pp 919-925.

30.-K.V.Hwang; H.Brauer.  
Anaerobic wastewater treatment with biogas production  
in a pulsed bioreactor.  
BFT-Biotech-Forum 4 (1987)3  
pp 118-119.

31.-J.A.Russel; P.M.Molton; S.D.Landsman.  
Chemical comparisons of liquid fuel produced by  
thermochemical liquefaction of various biomass  
materials.  
Thermal Degradation of Cellulose in Alkali.  
3<sup>er</sup> Miami International Conference on Alternative  
Energy Resources.

32.-Ingeniería Ambiental.  
Año 2, No 5, 1989.  
pp 40.

33.-Boletín de Energía Solar  
Academia de Ciencias de Cuba.  
N2o 3, 198  
pp 15.

34.-L. de Faveri; E.J.Nyns; H.P.Naveau.  
La biométhanisation: conception des digesteurs et  
principes du choix de matières.  
Revue M. Tijfschrift.  
Vol. 30, N2o 1/2.

35.-T.Kobayashi; T.Hashinaga; E.Mikami; T.Suzuki.  
Methanogenic degradation of phenol and benzoate in  
acclimated sludges.

36.-M.A.M. Reis; L.M.D. Goncalves; M.J.T.Carrondo.  
Sulfate reduction in acidogenic phase anaerobic digestion.  
Wat. Sci. Tech. Vol. 20, N2o 11/12, pp 345-351. 1988

37.-P.J.F.M.Hack; L.H.A.Habets.  
Experience with full-scale Biopaq-UASB-plants treating  
various types of effluent.  
pp 238-246.

38.-K.Minami; Y.Tanimoto; M.Tasaki; S.Ogawa;  
K.Okamura.  
Influence of sulfate on methane fermentation in a  
defined medium.  
Wat.Sci. Tech. Vol. 20, N2o 11/12, pp 451-453. 1988.

39.-R.Singh; M.K. Jain; P.Tauro.  
Press mud as additive to increase biogas production  
from cattle waste.  
Current Science, July 20, 1981, Vol. 50 N2o 14, pp 640-  
643.

40.-R.C. Singh.  
Recent Advances in Biogas Production Technology and  
Anaerobic Digestion.  
Indian J.Environmental. HLTH. Vol 29, N2o 4,345-349  
(1987).

41.-J.Venkataraman; S.Satyanarayan; S.N.Kaul.  
Effect of depth on Reactor Performance of an Anaerobic  
Packed Bed Reactor for dairy waste.  
Indian J. Environmental Protection, Vol 8, N2o 10,  
october 1988.  
pp 743-748.

42.-P.Habrés-Luengo; J.Mata-Alvarez.  
The hydrolytic step in a dry digestion system  
biological wastes. 0269-7483188  
Elsevier Applied Science Publisher Ltd. England.

43.-Algunas orientaciones para la caracterización de las  
aguas residuales. Evaluación y operación de los sistemas  
de lagunas de tratamiento en la industria azucarera.  
2ª Edición. ICIDCA. Subdirección de Biotecnología.  
Cuba.

44.-D.D.Nagle, Jr; R.S. Wolfe.  
Methanogenesis.  
Chemical and Biochemical fundamentals.  
Cap.22 pp 415-438.

45.-L.Audoini; F.Meyer; A. de Pierrefeu.  
Un nouveau réacteur anaérobie f biomasse immobilisée  
l'eau, L'industrie, Les Nuisances.  
No 106, dec. 1986.

46.-J.P.Guyot; F.Ramirez.  
Inhibition of the anaerobic acetate degradation by formate.  
Biotechnology Letters. Vol. 11, N2o 5, 365-368 (1989).

47.-T.D.Hayes; H.D.Isaacson; J.R.Frank  
Production of high methane content product by two  
phase anaerobic digestion.  
Patent N2o. 4,722,741.  
Date of Patent feb. 2, 1988.

48.-G.H.Fynn; S.W.Rankin.  
Methanogenesis by methanogen species immobilised on  
reticulated foam biomass support particles.  
Inhibition of methane production at high substrate  
concentrations.  
Biotechnology Letters, Vol. 9, N2o 1, pp 67-70 (1987).

49.-F.Ehlinger; J.M.Audic; G.M. Faup.  
Changes in organic compounds during microbial clogging  
in an anaerobic filter.  
Process Biochemistry, August 1988.

50.-A.Buekens; J.Poels.  
Définition, nomenclature et identification des déchets.  
La Tribune du CEBEDEAU, N2o 529, 40, pp 23-34,  
1987.  
Belgique.

51.-D.B.Archer; M.G.Hilton; P.Adams; H.Wiecko.  
Hydrogen as a process control index in a pilot scale  
anaerobic digester.  
Biotechnology Letters, Vol. 8, N2o 3, 197-202 (1986).

52.-R.F.Hickey; J.VanderWeilen; M.S. Switzenbaum.  
Production of trace levels of carbon monoxide during  
methanogenesis on acetate and methanol.  
Biotechnology Letters, Vol. 9N20 1, 63-66 (1987).

53.-E.B.Pike' E.G. Carrington; S.A.Harman.  
Destruction of Salmonellas, enterovirus, and ova of  
parasites in waste water sludges by pasteurisation  
and anaerobic digestion.  
Wat.Sci. Tech. Vol. 20, N2o11/12, pp 337-343, 1988.

54.-G. de la Serna; P. Villa; L. Diaz.  
Microorganismos en los procesos de digestion anaerobia.  
Revista ICIDCA Vol. XXII N2o 2, 1988.

55.-D.Strauch; K.Winterhalder.  
Effect of disinfectants, additives and antimicrobial drugs  
on anaerobic digestion.  
pp 515-522.



56.-R.Boopathy.

Microbial ecology during anaerobic fermentation of coffee pulp.

Asian Environment.

pp 20-22.

57.-J.F.Hansen;M.Indergaard;K.Ostgaard;O.A.Baevre;  
T.A.Pederse; A.Jensen.

Anaerobic digestion of *Laminaria* spp. and *Ascophyllum nodosum* and application of end products.

58.-John Elmerdahl Olsen.

Studies on the reduction of pathogenic and indicator bacteria in liquid pig manure created by sedimentation and anaerobic filter digestion for methane generation.

Biological wastes 0269-7483/88.

Elsevier Applied Science Publisher Ltd. England.

59.-Y.C.Chung; J.B. Neethling.

Microbial activity measurements for anaerobic sludges digestion.

Journal WPCF, Vol. 61, N2O 3, march 1989.

pp 343-349.

60.-M.Yoda; M.Kitagawa; Y.Miyaji.

Long term competition between sulfate-reducing and methane-producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm.

Wat. Res. Vol. 21, N2o. 12, pp 1547-1556, 1987.

61.-B. de Corte; K.Verhalden; P.Bossier; W.Verstraete.

Effect on methane digestion of decreased H<sub>2</sub> partial pressure by means of phototrophic or sulfate-reducing bacteria grown in an auxiliary reactor.

Appl. Microbial. Biotechnol. (1988) 27: 410-415.

- 62.-M.Chartrain; J.G.Zeikus.  
Microbial ecophysiology of Whey Biomethanation:  
Characterization of bacterial trophic populations and  
prevalent species in continuous culture.  
Applied and Environmental Microbiol., Jan 1986.  
Vol. 51, N2o. 1, pp 188-196.
- 63.-J.L.Melchior; R.Binot; I. AguilarPerz; H.Naveau;  
E.J.Nyns.  
Biomethanation: its future development and the influence  
of the physiology of methanogenesis.  
J.Chemical Tech. Biotechnol. 1982, 32, 189-197.
- 64.-A.Legros; C.M.Asinari di san Marzano;  
H.P.Naveau; E.J.Nyns.  
Fermentation profiles in bioconversions.  
Biotechnology Letters Vol. 5, 7-12 (1988).
- 65.-W.Trosch;E.Keller; H.Chmiel.  
Microbial generation of methane.Comparison between  
single-and-two stage processing in agitated tower  
reactors.  
The methanogenic population.
- 66.-E.J.Nyns.  
Conférence plénière sur l'état de la biochimie et de la  
microbiologie de la digestion méthanique.  
Biochemistry and Microbiology of anaerobic digestion  
state of  
the art review (plenary lecture).  
Trib. CEBEDEAU, N453-454, 34, pp 351 356. Belgique.
- 67.-J.P.Guyot; A.Noyola; O.Monroy.  
Evolution of microbial activities and population in  
granular sludges from an UASB reactor.  
Biotechnology Letters, Vol. 12, N2o 2, 155-160 (1990).

68.-J.P.Guyot; F.Ramirez.

Inhibition of the anaerobic acetate degradation by formate.  
Biotechnology Letters Vol. 11, N2o 5, 365-368 (1989).

69.-J.M.Scharer; M.Moo-Young; M.Fujita.

Methane production by anaerobic digestion of animal manures.  
Biotechnology Letters Vol. 3, N2o 5, 231-237 (1981).

70.-H.M.Lapp; E.E.Robertson.

Biogas production from animal manure.  
Fuel Gas Production from Biomass.  
Chapter 5, pp 73-83.

71.-M.Borick; S.L.Spahr; M.P.Bryant.

Methane production from cattle waste in laboratory reactors at 40 and 60 °C after solid-liquid separation.  
Journal of Dairy Science, Vol. 63, N2o. 11, 1980.

72.-J.C.Converse; G.W.Evans; K.L.Robinson;  
W.Gibbons; M.Gibbons.

Methane production from a large-size on farm digester for pultry manure.  
Livestock Waste: a Renewable Resource.  
pp 122-125.

73.-M.H.Hédouit.

Méthanisation des déjections animales dépollution et production d'énergie.  
Rev. Gén. Therm. Fr. N2o 303, 228-235, mars 1987.

74.-H.Gamal-El-Din.

Biogas production from antibiotic-contaminated cow manure.  
Fac. of Agriculture, Cairo University, Fayum, Egypt.  
pp 480-487.

75.-W.D.Murray; L.Van den Berg.  
Effect of support materials on the development of  
microbial fixed films converting acetic acid to methane.  
J. Appl. Bact 51: 257-265 (1981).

76.-H.Jiau; W.Weimin; G.Xiasheng.  
Dep. of environmental Engineering, Qinghua University,  
Beijing  
(PRC) june 25, 1985.

77.-Economic and environmental consequences of  
anaerobic digestion of animal wastes.  
1981 International Gas Research Conference.  
pp 824-832.

78.-G.Shelef; S.Kimchie; H.Grynberg.  
Organic loadings and methane production in anaerobic  
digestion of agricultural wastes.  
Fuel Gas Production from Biomass.  
Chapter 10,pp 259-271.

79.-G.Shelef; S.Kimchie; H.Grynberg.  
High-rate thermophilic anaerobic digestion of  
Agricultural  
Wastes.  
Biotechnology and Bioengineering Symp. N2o. 10, 341-  
351 (1980).

80.-D.K.Sharma; H.A.Mbise.  
"Biocrude" and "Biomethane" from croton  
bonplandianum.  
Resources,Conservation and Recycling, 1 (1983) 111-122.

81.-Production of biogas from tropical waste food  
materials.  
Dep. of Mechanical Engineering Univ. of Nigeria,  
Nsukka, Nigeria.  
pp 936-938.

- 82.-Mario Zilli; Attilio Converti.  
Rifiuti solidi urbani: il trattamento biologico.  
AES gennais-febbraio 1987, 63-66.
- 83.-F.Cayrol; H.Barthélémy.  
Une valorisation énergétique et agronomique des déchets  
qui respecte l'environnement: le procédé Valorga.
- 84.-R.E.Speece.  
A survey of municipal anaerobic sludge digesters and  
diagnostic activity assays.  
Wat.Res. Vol. 22, N2o 3, pp 365-372, 1988.
- 85.-V.A.Malik; S.L.Lerner; D.L.Maclean.  
Electricity, methane and liquid carbon dioxide production  
from landfill gas.  
Gas Separation & Purification 1987, Vol. 1, Dec.  
pp77-83.
- 86.-W.F.Garber; G.T.O'Hara; J.E.Colbaugh;  
S.K.Raksit.  
Thermophilic digestion at the Hyperion Treatment plant.
- 87.-David C.Junge.  
The state of the art of producing synthetic fuels  
from biomass.  
Alternative Energy Sources.  
pp 251-330.
- 88.- L. Van der Berg.  
Anaerobic digestion of wastes.  
Conservation & Recycling, Vol. 5, No 1, pp 5-14, 1982.
- 89.-Perry L.McCarty.  
Anaerobic wastes Treatment fundamentals.  
Part one / Chemistry and Microbiology.  
Public works for september, 1964.  
pp 107-112.

90.-Perry L. McCarty.

Anaerobic wastes Treatment fundamentals.  
Part two / Environmental Requieriments and Control.  
Public Works for october, 1964.  
pp 123-126.

91.-Perry L. McCarty.

Anaerobic wastes Treatment fundamentals.  
Part three / Toxic Material and their Control.  
Public Works for November, 1964.  
pp 91-94..

92 -Perry L. McCarty.

Anaerobic wastes Treatment fundamentals.  
Part four / Process Design.  
Public Works for December, 1964.  
pp 95-99.

93.-F.Colin; G.L.Ferrero; M.Gerletti; P.Hobson;  
P.L'Hermite; H.P.Naveau; E.J.Nyns.

Proposal for the definition of parameters and  
analytical measurements applicable to the anaerobic  
digestion processes.  
Agricultural Wastes 7(1983) 183-193.

94.-T.Bol; J.L.Fripiat; H.P.Naveau; E.J.Nyns.

Relation entre le bilan énergétique et les paramètres  
de conduite d'un digesteur méthanique.  
La Technique de l'eau et de l'assainissement.  
juin-juillet 1981 pp 7-16.

95.-W.B.Coe; A.Davenport.

Design, construction, and star-up of a full gas  
production system at a large environmental feedlot.  
Fuel Gas Production from Biomass.  
Chapter 12, pp 173- 182.

96.-M.T.Augoustinos; T.J.Britz; R.P.Tracey.  
Anaerobic digestion of a petrochemical effluent using  
an anaerobic hybrid digester.  
Biotechnology Letters Vol. 11, N2o 5, 369-374 (1989).

97.-W.J.Jewell.  
Future trends in digester design.  
Departement of Agricultural Engineering Cornell  
University,  
202 Riley-Robb Hall, Ithaca,N.Y. 1485 3, USA.  
pp 467-489.

98.-E.J.Nyns; H.P.Naveau; R.Chome; Y.Bertand.  
Digester - A worldwide review.  
Laboratory of applied enzimology and laboratory of  
natural  
polimers, University of Louvain, 13-1348.  
Louvain-Le neuve, Belgicum.  
pp 37-59.

99.-E.C.Price.  
Methods of Biogas generation and comparisons.  
New Jersey Institute of Technology.  
Newark, New Jersey 07102, USA.  
pp 171-188.

100.-L. Van den Berg.  
High rate reactors for methane production.  
Division of biological sciences.  
National Research Council.  
Ottawa, Ontario, Canada KIA OR6.

101.-W.J.Wiycik; W.J.Jewell.  
Dry anaerobic fermentation.  
Biotechnol. Bioeng. Symp. 10,43, 1980.

102.-R.K.Malik; R.Singh; P.Tauro.  
Fuel gases from biogas digesters.  
Biological Wastes Treatment, pp 1-34, 1989.

103 -C.M.Asinary di San Marzano; R.Binot; M. de Bruyn; M. de la Fontaine; J.L.Fripiat; A.I.Ibrahim; H.P.Naveau; E.J.Nyns.

Volatile fatty acids, an important state parameter for the control of the reliability and the productivities of methane anaerobic digestions.

Biomass 1 (1981) 47-59.

104.-Thomas D.Hayes et al.

Production og high methane content product by two phase anaerobic digestion.

Gas Research Institute, Chicago Ill.

Appl No 710,328.

Filed Mar 11,1985.

Patent number 4,722,741.

Date of patent Feb 2, 1988.

## TECNICAS

J.A.Ogunrombi; J.C.Onuoha.

Studies on BOD & COD of wastewater of Ahmadu

Bello University,

Nigeria.

Indian J. Enviromental HLTH.

Vol. 24, N 3, 219-233, 1982.

C.N. Sawyer; D.L.McCarty.

Biochemical Oxygen Demand

Chemistry for Enviromental Engineering

Chapter 22, pp 416-431.

Theriaux,E,J.

The oxygen demand of polluted water

Public Health Bulletin.

No.173 (1927)



Moore, E.W.; Thomas, H.A.; Snow, W.B.  
Simplified method for analysis of BOD data  
Sewage Industrial Wastes  
Vol. 22, 10, (1950)

Thomas, H. A. Jr.  
Graphical determination of BOD curve constants  
Water and Sewage Works  
Vol. 97, 123, (1950)

Orford, H.E.; Rand M.C.; Gellman, I.  
A single dilution technique for BOD studies.  
Sewage and Industrial Wastes  
Vol. 25, 284, (1953).

Pair, G.M.  
The log difference method of estimating the constants of  
the first  
stage BOD curve  
Sewage Works Journal  
Vol. 8, 432, (1936)

Thomas H.A.Jr.  
Analysis of the BOD Curve  
Sewage Works Journal  
Vol. 12, 504, (1940)

Thomas, H.A.Jr.  
Slope method of evaluating the constants of the first stage  
curve  
Sewage Works Journal  
Vol. 9, 425, (1937)

Hoover, S.R.; Jasewicz, L.; Porges, N.  
An interpretation of the BOD test in terms of  
endogenous respiration of bacteria.  
Sewage and Industrial Wastes.  
Vol. 25, 1163, (1953).

**Rhame, G.A.**

**A two point method for estimation of first stage BOD.  
Sewage and Industrial Wastes.  
Vol. 28, 10878, (1956)**

**Orford, H. E ; Ingram, W.T.**  
**Deoxygenation of Sewage I, II, III.**  
**Sewage and Industrial Wastes.**  
**Vol. 25, 419, 424 y 566 (1953)**

**APHA, AWWA, WPCF**  
**Standar method for examination of water and wastewater**  
**11ª Ed. 1963**

**APHA, AWWA, WPCF**  
**Standar method for examination of water and**  
**wastewater**  
**13ª Ed. 1971.**

**Sawyer, C.N.; McCarty, P.L.**  
**Chemistry for sanitary enginners**  
**2ª Ed. 1967**  
**Mc Graw Hill**

**Therox; Eldridge; Malhmann.**  
**Analysis of water and sewage.**  
**12ª Ed.**

**Orozco, F.**  
**Análisis Químico Cuantitativo.**  
**6ª Edición. Ed. Porrúa, 1970.**

**WPCF (Water Pollution Control Federation).**  
**Simplified laboratory procedures for wastewater**  
**Examination.**  
**Publication No. 18.**

Velz, J. Clarence.  
Applied stream sanitation.  
1970.

Eckenfelder, W.W.Jr.  
Water quality engineering.  
1970.

Sawyer, C.N.; McCarty, P. L.  
Chemistry for sanitary engineers.  
2ª Ed. 1967.  
Ed. McGraw Hill

Crespi, M; Huertas, J.A.  
Determinación simplificada de la demanda química de  
oxígeno por el método de dicromato.  
Bol.Intextar., 1986, N2o. 89.

Bristow, J.L.  
Biochemical oxygen demand by a simplified procedure.  
Wat. Sci. Tech. Vol. 21, N2o 2, pp 177-182, 1989.

Green, M; Shelef, G; Moraine, R.  
Chemical and biochemical oxygen demand as  
indicators of biodegradable substrate concentration.  
Wat.Pollut.Control, pp 655-658, 1981.

Heddle, F; Russel, J.M.  
Some sources of error in the 5 day biochemical oxygen  
demand (BOD<sub>5</sub>) test: a note.  
New Zealand Journal of Science, 1982, Vol. 25: 47-51.

Vido, L.  
La determinazione del BOD<sub>5</sub> nei reflui. Considerazioni  
teoriche e pratiche.  
Tintoria N2o 5, pp 145-149, Maggio 1983

Larroya, A; Salgot, M; Cardús, J.  
Determinación de la demanda bioquímica y química de  
oxígeno en efluentes de la Costa Brava:  
INTERRELACIONES.  
Circular Farmacéutica. Año XL, N2o 276,  
Jul/Agos/Sept. (1982).  
pp 249-267.

Sawyer, Clair N; McCarty Derri L.  
Biochemical oxygen demand.  
Chemistry for enviromental engineering.  
Chapter 22, pp 416-438.  
Mc Graw Hill./

Capri, M.G; Marais, G.v.R.  
pH adjustment in anaerobic digestion.  
Water Research, Vol. 9, pp. 307-313. 1975.

Kim, A.G; Douglas, L.J.  
A gas chromatographic method for analyzing  
mixtures of hydrocarbon and inorganic gases.  
Journal of Chromatographic Science, Vol. 11, pp  
615-617  
December 1973.

S. B. Dave  
A Comparison of the Chromatographic Propierties of  
Porous Polymers.  
Journal of Chromatographic Science 7:389-398.

Walter R. Supina  
The Packed Column in Gas Chromatography  
Supelco (1979)

W. A. Dietz  
Response Factors for Gas Chromatography Analysis  
Journal of Chromatographic Analysis 68 - 71 (1967)

H.M. McNair  
Basic Gas Chromatography  
Varian Aerograph (1969)

McNair, H.M.  
Cromatografía de gases.  
Secretaría General de la Organización de los Estados  
Americanos. Programa regional del Desarrollo  
Científico y Tecnológico.  
Washington, D.C. 1981.

Chmielowski, J; Simpson, J.R; Isaac, P.  
Use of gas chromatographic in sludge digestion.  
Sewage and Industrial Wastes, Vol. 31, No 11,  
November 1959.

Brovko, N; Chen, Y.  
Optimizing gas production, methane content, and  
buffer capacity in digester operation.  
Water & Sewagw Works, pp 54-57, July 1977

Porschmann, J.; Welsch, T.; Porschmann, S.  
Gas chromatographic analysis of free fatty acids Part  
1. /  
Principles and methodic variants.  
Acta Biotechnol. 7 (1987) 5, 469-477.

Cecchi, Franco.; Basei, R.; Frazzini, P.; Traverso,  
G.; De  
Poli, F.  
Determinazione gas-cromatografica di VFA etanolo  
metanolo acido lattico nel monitoraggio di processi di  
digestione anaerobica.  
Acqua-Aria- 8- 1988. pp 993-997.

Banfield, F.S; Meek, D.M; Lowden, G.F.  
Manual and automated gas-chromatographic procedures  
for the determination on volatile fatty acids.

Water Research Centre. Technical report, February 1978.  
pp 1-14.

DiLallo, R; Albertson, O.  
Volatile Acids by direct titration.  
Journal WPCF, Vol. 33, N2o 4, April 1961.

Buvet, R; Nyns, E.J.  
Analytical techniques and process parameters.  
Biomethane, Section 2.6, pp 109-120.

Merrit, Willard; Settle, Dean.  
Métodos instrumentales de análisis.  
Cap. 4 y Cap 15.  
Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V.  
México, 1986.

APHA, AWWA, WPCF  
Standard methods for the examination of water and  
wastewater.  
Edition 17<sup>a</sup> . 1989.