

116
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ADAPTACION DE UN INOCULO MESOFILICO A
CONDICIONES DE OPERACION TERMOFILICAS

T E S I S

Que para obtener el Título de

B I O L O G A

presenta

MARIA DOLORES MENDIETA HERNANDEZ



México, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Indice.

INDICE

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
1.1. Antecedentes.....	4
1.2. Reactor UASB.....	9
1.3. Bioquímica de la digestión anaerobia.....	13
1.4. Microbiología de la digestión anaerobia.....	18
2. Objetivos.....	23
3. Metodología.....	24
3.1. Parámetros considerados.....	25
3.2. Reactor UASB.....	28
3.3. Análisis del Influenta.....	30
3.4. Análisis del efluente.....	30
3.5. Análisis de lodos.....	30
3.6. Análisis de metano.....	30
4. Resultados y Discusión.....	32
4.1. Etapa de adaptación del inóculo en condiciones termofílicas en un reactor en Batch.....	32

Resumen.

RESUMEN

El tratamiento anaerobio termofílico de aguas residuales se ha presentado como una alternativa atractiva del sistema mesofílico debido a sus tasas metabólicas más altas y a su tiempo de retención más bajo, para el tratamiento de diversos efluentes industriales.

El presente trabajo se desarrolló en base a que algunas industrias envasadoras de alimentos, destilerías, procesadoras de papel y de papas, descargan sus residuos a altas temperaturas (60-90 °C) (Wiegant *et al.*, 1985), y su enfriamiento implica altos costos, los cuales pueden ser aminorados con un sistema termofílico que permita su tratamiento.

El estudio se llevó a cabo con la adaptación de un lodo granular mesofílico a condiciones de operación termofílicas (55 °C), en un reactor UASB (Reactor de lecho de lodos y flujo ascendente) en Batch (lote). Este proceso duró aproximadamente 35 días, durante los cuales se realizaron cinco adiciones de acetato. Cuando se observó un comportamiento estable del reactor, se procedió a manejarlo en continuo. Se utilizaron entonces diferentes cargas volumétricas (Bv), 1.28 Kg DQO/d/m³ (44 d), 6.4 Kg DQO/d/m³ (20 d) y 12.8 Kg DQO/d/m³ (8 d), con porcentajes de remoción de 80-91 % , 78-92 % , 73-64 % , respectivamente. El mayor porcentaje de metano se obtuvo durante la aplicación de la segunda carga volumétrica (78 - 96 %). El TRH fue mantenido a 12 h.

Introducción.

1. INTRODUCCION

El tratamiento anaerobio de aguas residuales se ha propuesto como una alternativa importante para la depuración de diversos efluentes tanto industriales como domésticos.

La fermentación metanogénica es un proceso anaerobio complejo de conversión de la materia orgánica en acetato, dióxido de carbono, hidrógeno y finalmente metano. La biometanización es realizada por comunidades bacterianas complejas, las cuales bajo condiciones ambientales adecuadas (potencial redox de -350 mv, pH cerca de la neutralidad), dan lugar a asociaciones estables (García, 1991).

El principio básico del tratamiento anaerobio de las aguas residuales consiste en la transformación de la materia orgánica en un gas: el biogas, que contiene principalmente metano y dióxido de carbono (Guyot, 1992).

La degradación anaerobia en los digestores procede en tres etapas (Mc Inerney y Bryant, 1981):

- Una primera etapa de hidrólisis y fermentación.
- Una segunda etapa de acetogénesis.
- Una tercera etapa de metanogénesis.

La metanogénesis es un fenómeno que puede ocurrir a rangos de temperatura mesofílicos ($30-40$ °C) o termofílicos ($45-65$ °C). Los digestores anaerobios son utilizados a temperaturas de operación

de 35 °C (Guyot, 1992).

La digestión anaerobia termofílica puede presentarse como una alternativa atractiva a la digestión mesofílica debido a las tasas más altas de crecimiento de las bacterias involucradas y consecuentemente, actividades máximas más altas por unidad de biomasa (Wiegant et al., 1985).

Se ha buscado desarrollar sistemas que permitan controlar la biomasa activa en el reactor y desacoplar la retención celular de la retención hidráulica, ya que la capacidad de tratamiento de reactores anaerobios está dada por la cantidad de biomasa activa que puede retener el sistema y por el contacto eficiente que puede establecerse entre el lodo y el agua residual (Noyola et al., 1989; El-Mamouni et al., 1992). El sistema más aplicado y reconocido actualmente es el reactor anaerobio de lecho de lodos y flujo ascendente UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) (Lettinga et al., 1983).

Se han realizado considerables esfuerzos para el desarrollo de estudios de procesos anaeróbicos para tratar diversos efluentes industriales debido al impacto negativo que provocan en el ambiente, y considerando las ventajas de los sistemas termofílicos, aunadas a las del reactor UASB, se ha buscado obtener resultados que proporcionen los objetivos propuestos.

Antecedentes.

1.1 ANTECEDENTES

La aplicación de la digestión anaerobia bajo condiciones termofílicas es considerada como una alternativa atractiva, especialmente para el tratamiento de aguas residuales biodegradables y concentradas (van Lier et al., 1992). El uso de la digestión anaerobia termofílica (45 °C - 65 °C) para convertir residuos orgánicos a CH₄ fue uno de los primeros trabajos biotecnológicos con bacterias termofílicas (Zinder, 1990).

El potencial biológico de metanógenas termofílicas típicamente aisladas de lodos de digestores y sedimentos, ha sido objeto de mucha investigación durante varios años. La degradación anaerobia termofílica de materia orgánica residual y producción concomitante del combustible metano es una realidad, pero los problemas de control y costos no han permitido su pleno desarrollo (Kelly y Deming, 1988). Potenciales muy altos de carga con buenas eficiencias de tratamiento se han registrado en varios estudios. Sin embargo, hasta el momento sólo un número limitado de reactores termofílicos a escala industrial están en operación. Además los estudios no mencionan la aplicación de sistemas termofílicos de "alta tasa" a escala industrial. Las principales razones para esta discrepancia son (van Lier et al., 1992):

- 1) en comparación al proceso de digestión mesofílica las investigaciones realizadas en esta área son escasas.

- ii) la investigación preliminar realizada en sistemas mezclados convencionales demostró una alta sensibilidad del proceso.
- iii) una actitud renuente de industriales hacia alguna nueva tecnología.

En los últimos años muchos investigadores han realizado diversos trabajos que tratan la optimización del proceso UASB, entre ellos la operación del mismo en el rango termofílico, dadas sus ventajas cinéticas (Obaya et al., 1991). Numerosos estudios de reactores a nivel laboratorio y escala piloto, han demostrado que una amplia variedad de residuos agrícolas, industriales y domésticos pueden ser tratados por digestión anaerobia termofílica (Zinder, 1990).

Una mayor ventaja de la digestión termofílica es que las tasas metabólicas son usualmente más altas que las correspondientes del proceso mesofílico, y que el tiempo de retención puede ser dos veces más bajo (Zinder, 1990). También se ha encontrado que gránulos de lodo en reactores UASB termofílicos produjeron metano en cantidad dos veces mayor que la producida por gránulos similares de reactores mesofílicos (Wiegant et al., 1986).

Otra ventaja del proceso termofílico es que el agua tiene una viscosidad más baja a temperaturas altas, haciendo más fácil el mezclado y el secado de los lodos de purga. También, los organismos patógenos son esencialmente pasteurizados, haciendo el producto final más sanitario. La desventaja obvia de la digestión anaerobia termofílica es que debe emplearse más energía para

mantener temperaturas más altas (Zinder, 1990).

Se han aislado cepas termofílicas de los géneros metanogénicos acetotróficos *Methanosarcina* y *Methanotherix*. Sus propiedades son generalmente similares a aquellas de sus homólogos mesofílicos, excepto que ellas pueden crecer dos a cuatro veces más rápidamente. Este crecimiento más rápido puede explicar las tasas de reacción más altas y los tiempos de retención más cortos posibles en digestores anaerobios (Zinder, 1990). *Methanosarcina* parece ser un generalista con una alta tasa de crecimiento, pero baja afinidad por el acetato. *Methanotherix* es especialista teniendo una alta afinidad por el acetato pero una baja tasa de crecimiento. El nivel límite inferior para el uso del acetato es mucho más bajo para *Methanotherix* (7-70 μM) que para *Methanosarcina* (0.2-1.2 mM) (Jetten et al., 1992).

Las bacterias metanogénicas sólo pueden utilizar un número limitado de sustratos simples ($\text{H}_2\text{-CO}_2$), acetato, formato, metanol, metilaminas, etc.) (Zinder, 1990). El acetato es el precursor de aproximadamente dos terceras partes del metano producido en los biorreactores anaerobios mesofílicos y termofílicos (Zinder, 1990, Jetten et al., 1992, Ohtsubo et al., 1992).

La conversión de acetato por metanogénicas es el paso limitante en la degradación de la materia orgánica fácilmente hidrolizable bajo condiciones anaeróbicas, por lo tanto, el estudio de metanogénicas acetoclasticas es de relevancia para el entendimiento de procesos anaeróbicos en el tratamiento de

aguas residuales de varias fuentes (Jetten et al., 1992).

A principio de la década de los años ochenta un grupo de instituciones de América Latina previeron que uno de los serios problemas del continente, la contaminación ambiental, podía ser atacado en uno de sus frentes usando la tecnología de la digestión anaerobia. El desarrollo de la legislación ambiental en varios países ha hecho que una renovada atención sea puesta en los aspectos de ingeniería de los digestores anaerobios (Calzada, 1990).

1.2 REACTOR UASB

El reactor anaerobio de lecho de lodos y flujo ascendente UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) (Fig. 1) fue desarrollado por Lettinga y colaboradores (1980), y se ha difundido en varios países por su simplicidad y eficiencia.

Su principio de funcionamiento se basa en la buena sedimentabilidad de la biomasa producida dentro del reactor, la cual se aglomera en forma de granos o "pellets" hasta de 5 mm de diámetro. Estos granos cuentan con una actividad metanogénica muy elevada, lo que explica los buenos resultados del proceso. El reactor es de flujo ascendente y en la parte superior cuenta con un sistema de separación gas-líquido-sólido, el cual evita la salida de sólidos suspendidos en el efluente y favorece la evacuación del gas y la decantación de los flocúlos que eventualmente llegan a la parte superior del reactor (Noyola, 1990). Generalmente no requiere de ningún tipo de soporte para retener la biomasa, ya que ésta es mantenida en suspensión por las burbujas de gas producidas (Stronach et al., 1986).

La concentración de sólidos solubles volátiles (SSV) en el lecho de lodos está entre 40-70 g/L, con velocidades de sedimentación de 50 m/h. En la parte superior del lecho (blanket) la concentración es de 10 a 30 g SSV/L. En promedio se tiene, para todo el reactor, 20-40 g SSV/L (Stronach et al., 1986;

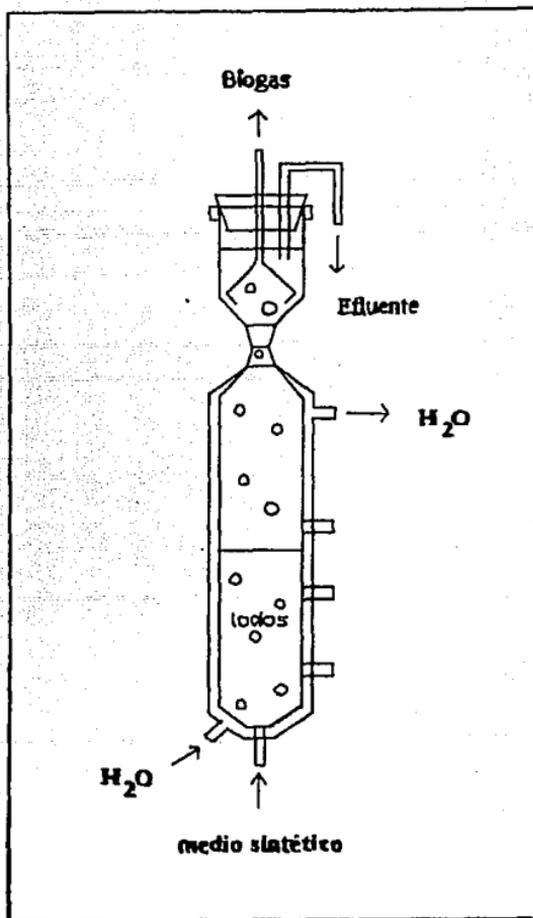


Figura 1. Reactor UASB.

Noyola, 1992).

La efectividad de un bioreactor anaerobio está esencialmente basada sobre la cantidad de biomasa que puede ser retenida en el reactor, la actividad específica de la biomasa y el grado de contacto que puede ser establecido entre la biomasa y el sustrato. Cuando se alcanzan dichas características, se pueden aplicar mayores tasas orgánicas y tratar aguas residuales de alta concentración. El reactor anaerobio más popular, capaz de retener una gran cantidad de biomasa, es el UASB, que tiene un número de ventajas sobre otros reactores anaerobios, especialmente su capacidad para retener más biomasa activa en el reactor y para evitar taponamientos y cortocircuitos, problemas que son comunes con los reactores de filtro anaerobio y de película fija estacionaria de flujo descendente (El-Mamouni et al., 1992).

La retención de la biomasa, característica común en todos los reactores anaerobios, tiene como objeto (Monroy, 1992):

- a) aumentar el tiempo de retención de sólidos (TRS) para dar tiempo a que la biomasa se adapte a su medio (estabilidad), y a que se degrade la materia orgánica (eficiencia).

$$\frac{DQO_e}{DQO_s} \times 100 = E \%$$

- b) disminuir el tiempo de retención hidráulico (TRH = V/F) y con esto, el volumen del reactor y los costos.

No obstante, una seria desventaja del reactor UASB es la posibilidad de la excesiva expansión del lecho de lodos y la

pérdida de biomasa con el efluente. (El-Mamouni et al., 1992).

El tratamiento anaerobio de aguas residuales es una posibilidad para la reducción de contaminación del agua, la cual hoy en día recibe más atención. En este proceso, las bacterias anaerobias convierten los contaminantes orgánicos del agua residual en metano, dióxido de carbono, y biomasa. En adición a la flexibilidad, confiabilidad, y simplicidad, la producción de metano y la poca producción de lodos son aspectos que hacen el proceso económica y tecnológicamente atractivo (Bolle et al., 1986).

El diseño del reactor deberá estar basado sobre una cuidadosa evaluación de las características del agua residual. Aparte de los parámetros químicos más importantes, tales como DQO y NH_4^+ , sólidos suspendidos, tóxicos y/o componentes inhibitorios, pH, información especial debería ser obtenida de fluctuaciones en la tasa de flujo del agua residual y en sus componentes (Lettinga y Hulshoff, 1991).

La aplicación de este proceso microbiano al tratamiento de desechos orgánicos tiene puntos a favor y en contra (Tabla 1).

Tabla 1. Ventajas y desventajas del reactor UASB.

(Noyola, 1992).

REACTOR UASB	
VENTAJAS	DESVENTAJAS
-Soporta altas cargas (20 Kg DQO/m ³ -d).	-La granulación es lenta y no necesariamente controlable.
-Bajo requerimiento de energía.	-No todas las aguas favorecen la granulación.
-Construcción relativamente simple.	-Requerimiento de inóculo de determinadas características.
-Con inóculo apropiado puede arrancar en forma inmediata.	-Sensible a SS, G y A (grasas y aminoácidos) en el influente.
-Aplicable a pequeña y gran escala.	-Sensible a aguas que forman precipitados.
-Operación comparativamente simple.	-Riesgos de flotación de los grancos durante rearranques.
-Proceso ampliamente probado.	

1.3 BIOQUIMICA DE LA DIGESTION ANAEROBIA

Se denomina digestión anaerobia a la secuencia de procesos metabólicos que originan la degradación de sustancias orgánicas en ausencia de oxígeno molecular para dar como productos una serie de compuestos cuyo grado de reducción impide su uso posterior por microorganismos anaerobios (Benefield y Randall, 1980).

La degradación de la materia orgánica procede en tres etapas: 1) hidrólisis de los polímeros biológicos por los microorganismos hidrolíticos y acidogénesis de los compuestos sencillos formados por las bacterias fermentativas, 2) acetogénesis de los metabolitos de la fermentación (ácidos orgánicos, ácidos grasos volátiles (AGV), alcoholes) por las bacterias homoacetogénicas y sintróficas, 3) metanogénesis a partir de $H_2 + CO_2$ por las bacterias metanogénicas. Estas etapas son realizadas por dos grandes grupos de microorganismos: una microflora primaria capaz de hidrolizar y de fermentar los productos de esta hidrólisis en compuestos sencillos, frecuentemente ácidos, y una microflora secundaria capaz de usar solamente los productos de la descomposición primaria, para la producción final de metano (García, 1991).

Aunque la degradación anaerobia de biopolímeros en ecosistemas naturales o controlados por el hombre es un proceso bastante complejo, el flujo de carbón puede ser representado por un

esquema de degradación relativamente simple con sus distintas fases (fig. 2).

Los sustratos de polímeros tales como celulosa o proteínas, si están presentes, deben ser hidrolizados a monómeros solubles y oligómeros antes que los organismos fermentativos puedan usarlos. Generalmente, los productos de la fermentación son ácidos orgánicos, H_2 y CO_2 . Los ácidos orgánicos de cadena más larga que el acetato (principalmente propionato y butirato) y otros productos de la fermentación, tales como el etanol y lactato, son oxidados a acetato por las bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno. Las reacciones que estos organismos llevan a cabo son posibles sólo si la presión parcial del hidrógeno es mantenida abajo de 10^{-3} atm (aprox. 100 Pa) por los organismos consumidores de hidrógeno, tales como metanógenas o sulfato reductoras (Zinder, 1990).

El resultado de los pasos anteriores es convertir la materia orgánica compleja a los dos sustratos principales para la metanogénesis: H_2-CO_2 y acetato. Las bacterias metanógenas consumidoras de hidrógeno compiten por los mismos sustratos que las acetógenas consumidoras de hidrógeno, usualmente ganan la competición porque ellas son capaces de usar el hidrógeno a más bajas presiones parciales (comienzo mínimo = 2-10 Pa) que las acetógenas (comienzo mínimo = 40-100 Pa). Las metanógenas acetotróficas descarboxilan el acetato a CH_4 y CO_2 . Se ha encontrado que generalmente dos terceras partes de todo el metano producido es derivado de la descarboxilación del acetato,

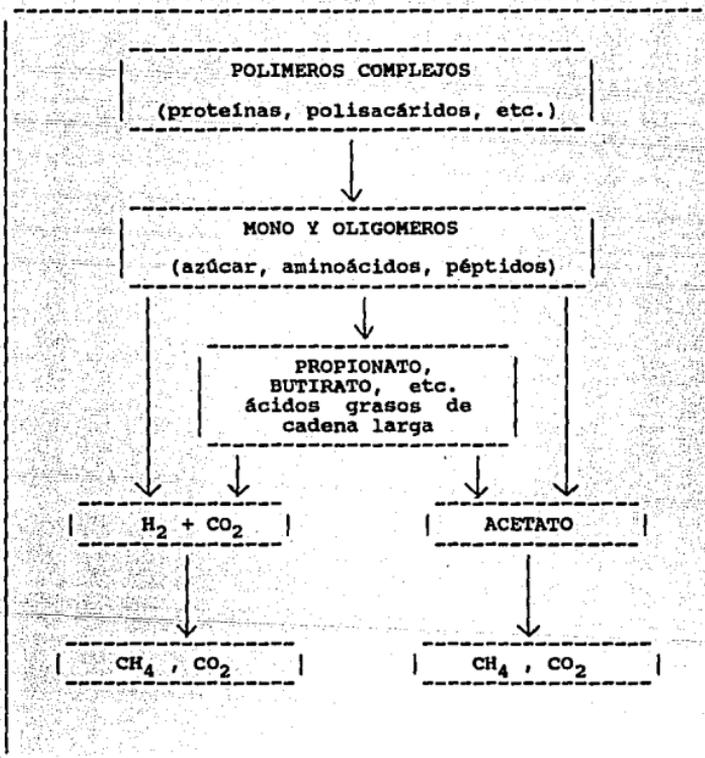


Fig. 2. Flujo de carbono a metano y dióxido de carbono en un bioreactor anaerobio. (Zinder, 1990).

mientras que una parte es de la reducción del CO_2 , con pequeñas cantidades derivadas de otros sustratos, tales como el metanol o las metilaminas, dependiendo del sustrato.

Etapas de la Digestión Anaerobia.

Primera etapa. Hidrólisis y Fermentación.

Los polímeros naturales como la celulosa, la pectina, las proteínas, etc., o compuestos de más bajo peso molecular (aminoácidos, sacáridos, lípidos, compuestos aromáticos, etc.) son transformados por hidrólisis y fermentación en ácidos carboxílicos, hidrógeno y dióxido de carbono. Los ácidos carboxílicos son principalmente ácidos grasos volátiles: acetato, propionato, n- e iso-butilato y n- e iso-valérico (Moreno, 1990; Guyot, 1992).

Cuando se trata de fermentar moléculas solubles fácilmente hidrolizables, tal como algunos compuestos naturales que se encuentran en muchos efluentes de la industria agro-alimenticia, la hidrólisis y la fermentación no presentan ningún problema. Se debe controlar esta etapa para evitar una acidificación rápida del reactor, debido a que puede presentarse una sobrecarga de hidrólisis de la materia orgánica que provoque una sobreproducción de ácidos que acidifique el medio y baje el pH a niveles inhibitorios (Guyot, 1992).

Segunda etapa. Acidogénesis.

Los productos de la fermentación producidos anteriormente son convertidos en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por

un grupo de bacterias denominadas "bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno" (OPHA = obligate hydrogen producing acetogen) (Guyot, 1992).

Los principales sustratos de esta etapa son los AGV (principalmente propionato y butirato) y etanol, que son transformados en productos precursores del metano: acético y H_2 , CO_2 , además esto evita la acumulación de ácidos grasos volátiles que en concentraciones altas puede inhibir la metanogénesis (Moreno, 1990).

Tercera etapa. Metanogénesis.

Se realiza utilizando como sustrato el acetato, o bien el H_2-CO_2 (Moreno, 1990), por un consorcio bacteriano estrictamente que lleva a cabo la síntesis del metano a partir del acetato.

1.4 MICROBIOLOGIA DE LA DIGESTION ANAEROBIA

(etapa de metanogénesis)

La capacidad de convertir acetato a CH_4 y CO_2 está restringida a los géneros *Methanosarcina* y *Methanothrix* (Zinder, 1990) del Phylum Methanomicrobiales, perteneciente a las Arqueobacterias (Thauer et al., 1989).

Las bacterias metanogénicas forman el grupo mejor caracterizado entre las arqueobacterias. Aunque exhiben una amplia diversidad de morfologías y hábitats, son homogéneas con respecto a su metabolismo. Son anaerobias que tienen la habilidad única para sintetizar metano de H_2 - CO_2 y otros componentes, tales como formato, metilaminas, metanol o acetato, dependiendo del organismo (Kelly y Deming, 1988; García, 1991; Zinder, 1990).

Se han propuesto relaciones entre varias especies metanogénicas basadas en los grados de secuencia homóloga encontrada en los fragmentos aislados 16S RNA r (Kelly y Deming, 1988; Guyot, 1990; Brock et al., 1987; García, 1991), y la evidencia de investigaciones sobre la pared celular: estructura y composición distribución de lípidos y metabolismo intermediario apoyan estas conclusiones (Kelly y Deming 1988).

No presentan mureína, pero sí una pseudomureína o subunidades proteicas según el orden taxonómico (Balch et al., 1979; García, 1991). Otra característica de las metanogénicas es la presencia de un transportador de electrones, el factor 420, responsable de

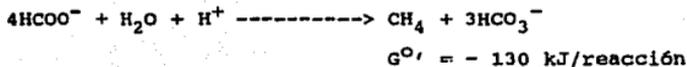
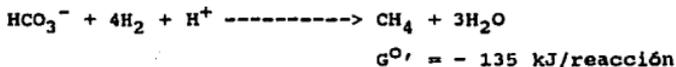
la autofluorescencia azul-verde cuando las células son expuestas a una luz ultravioleta de 420 nm de longitud de onda (García, 1991), y la coenzima M o HS-CoM que sirve para la transportación del grupo metil bajo la forma de metil-coenzima M (CH₃-S-CoM), este grupo metil es reducido a metano y se regenera la coenzima M (Guyot, 1990).

Las bacterias metanogénicas son anaerobias estrictas que exigen además de la ausencia de oxígeno, unas condiciones de reducción del medio inferior a -220 mv para crecer. Tienen como características comunes el producir metano, el tener un rango de sustratos muy limitado, y el tener tiempos de crecimiento amplios (Guyot, 1988).

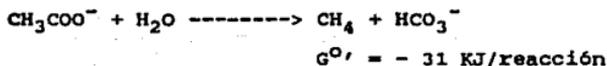
Básicamente, estas bacterias se pueden dividir en dos grandes grupos tróficos (Guyot, 1990):

-Bacterias hidrogenofílicas no acetoclásticas. Obtienen energía de la oxidación del hidrógeno en presencia de dióxido de carbono como aceptor de electrones. La mayoría de las bacterias de este grupo pueden utilizar el formato, no pueden utilizar el acetato como fuente de energía, pero algunas lo usan como fuente de carbono.

Las reacciones que realizan son las siguientes:



-Bacterias metanogénicas acetoclásticas. Producen metano a partir del grupo metil del acetato según la siguiente ecuación:



El acetato es por lo tanto el sustrato metanogénico más importante cuantitativamente en los digestores anaerobios (Zinder, 1990), siendo el origen del 73 % del metano producido (Guyot, 1992).

Las metanógenas acetoclásticas pueden dividirse en dos géneros (Guyot, 1990):

Methanosarcina. (Fig. 3A). Forma largos paquetes hechos de unidades celulares cocoidales y usa sustratos metanogénicos diversos incluyendo acetato, metanol, metilaminas, y algunas veces $\text{H}_2\text{-CO}_2$ (Zinder, 1990; Guyot, 1990; Jetten et al., 1992). Crece sobre acetato como única fuente de energía con un tiempo de duplicación de aproximadamente un día y un rendimiento 2 g peso seco / mol acetato. Su afinidad para el acetato es baja ($K_s = 3.5 \text{ mM}$) (Jetten et al., 1992).

Methanotherix. (Fig. 3B). Filamentos largos que crecen exclusivamente sobre acetato (Zinder, 1990). La tasa de crecimiento (tiempo de duplicación 2-12 días) y el rendimiento (1.4 g peso seco / mol acetato) son bajos. Su

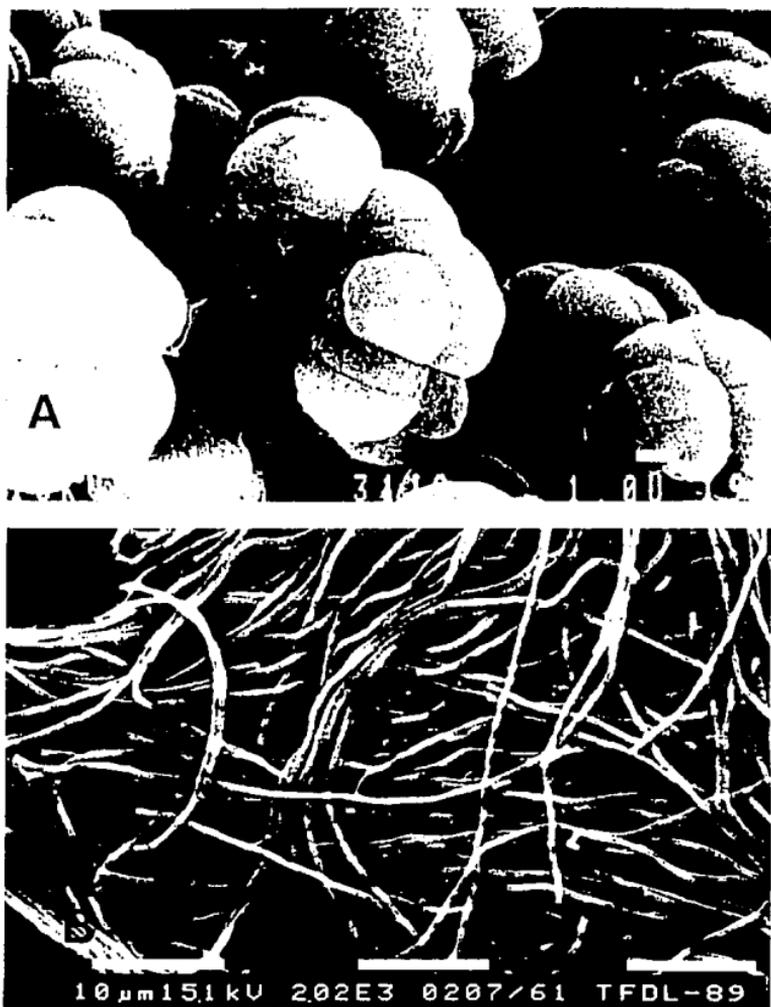


Fig. 3. Electromicrografía de barrido mostrando: *Methanosarcina barkeri* línea Fusaro (A) y *Methanothrix soehngeni* línea Opfikon (B) (Jetten et al., 1992).

afinidad por el acetato es más alta ($k_s = 0.5$ mM) (Jetten et al., 1992).

Excepto por su tasa de crecimiento más rápida y la presencia de vesículas de gas en los cultivos termofílicos de *Methanotherix*, las bacterias termofílicas *Methanosarcina* y *Methanotherix* son semejantes a sus contrapartes mesofílicas (Zinder, 1990).

Además de estos géneros en termofilia se ha descrito una metanógena acetotrófica termofílica denominada el organismo TAM (termofílica metanógena utilizadora de acetato). Su cultivo superficialmente se asemeja a *Methanotherix*, pero hay algunas diferencias significativas.

ORGANISMO TAM. Crece sobre H_2-CO_2 y formato y su tiempo de doblamiento sobre acetato es aproximadamente de tres días. Tiene una capa exterior ondulante y muestra una constricción cerca del plano de división, a diferencia de una pared rígida y transversal como *Methanotherix*. La temperatura para el crecimiento óptimo es cercana a $60^\circ C$ (Zinder, 1990).

Objetivos.

2. OBJETIVOS

- Adaptación de un inóculo mesofílico directamente a condiciones de operación termofílicas (55 °C).
- Determinación de la actividad metanogénica acetoclástica específica en condiciones de reactor en Batch (interrumpido).
- Operación en continuo de un reactor UASB de laboratorio en condiciones termofílicas, alimentado con acetato.

Metodología.

3. METODOLOGIA

Se instaló un reactor UASB de 1.25 L con un inóculo granular mesofílico, alimentado con acetato y mantenido a una temperatura de 55 °C. Se operó el reactor en Batch con recirculación interna y después en flujo continuo sin recirculación.

El inóculo granular fue obtenido de un reactor industrial con una actividad específica de 5.53 mmol/g SSV L, medida a pH = 7, en botellas serológicas y con medio en condiciones estrictamente anaerobias.

El sustrato fue acetato y la concentración se estableció en base a K_m del género *Methanosarcina* ($K_m = 5 \text{ mM}$), debido a que éste se presenta como dominante en observaciones al microscopio.

- 1ª ETAPA. Reactor en Batch. Medio de alimentación acetato, concentración 50 mM.
- 2ª ETAPA. Reactor en continuo. Medio de alimentación acetato. 1ª Fase [10 mM], 2ª Fase [50 mM], 3ª Fase [100 mM].

El seguimiento del reactor se realizó utilizando las técnicas del STANDARD METHODS (APHA, 1990) y el manual de técnicas para el Análisis de Aguas Residuales UAMI-ORSTOM (1992).

3.1 Parámetros considerados

pH. El pH de una solución es el $-\log$ de la concentración de iones hidrógeno.

Referencia: Electrodo estándar de hidrógeno.

Eh. Potencial REDOX de los lodos. Medida de la actividad electrónica en mV.

Referencia: Cole-Parmer Internacional.
Concentración 2 mol/L.
Temperatura 55 °C.

Cálculos: [Lectura obtenida + (-199)] mV

Alcalinidad. La alcalinidad del agua es la capacidad ácido-neutralizante.

Método: Por titulación valorada H_2SO_4 .

Cálculos:

$$\text{Alcalinidad en mg CaCO}_3^- / L = \frac{A \times N \times 50,000}{\text{ml. de muestra}}$$

Donde:

A= ml de H_2SO_4 valorado usado en la titulación.
N= normalidad del ácido.
50,000= coeficiente de convención.

TRH. Tiempo de Retención Hidráulico. Es el tiempo promedio que una unidad diferencial de efluente permanece dentro del reactor.

Cálculos:

$$TRH = \frac{V}{Q}$$

Donde:

V= Volumen de reactor.
Q= Flujo del reactor (ml/d).

DQO. Demanda química de oxígeno. Esta determinación es usada como una medida del contenido de oxígeno equivalente de la materia oxidable de una muestra que es susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte.

Análisis de DQO. utilizando horno de microondas.

Método: Horno de microondas para la digestión anaerobia.

Horno de microondas que opere a 700 W (350 W para la muestra).

Cálculos:

$$\text{mg DQO/L} = \frac{(A - B) \times 8000 \times \text{NF}}{\text{ml de muestra}}$$

Donde:

A= ml de FAS usados en el blanco.
B= ml de FAS usados en la muestra.
NF= Normalidad del FAS.
FAS= Sulfato ferroso amoniacal.

$$\text{N del FAS} = \frac{1.5 \text{ ml de } K_2Cr_2O_7 \times 0.10}{\text{ml de FAS usados en la titulación de la valoración}}$$

SOLIDOS. Es la materia suspendida o disuelta en agua. Sólidos suspendidos totales(SST), sólidos suspendidos fijos (SSF) y sólidos suspendidos volátiles (SSV).

Cálculos:

$$\text{SST} = \frac{(B - A) \times 1000}{\text{vm}}$$

$$\text{SSF} = \frac{(C - B) \times 1000}{\text{vm}}$$

$$\text{SSV} = \text{SSF} - \text{SST}$$

Donde:

- A= Peso del crisol-filtro seco (mg).
- B= Peso del filtro más 1ª muestra incinerada (mg).
- C= Peso del filtro más 2ª muestra incinerada (mg).
- mv= Volumen de la muestra.

METANO. El metano (CH_4) y el dióxido de carbono (CO_2) son los productos finales de la digestión anaerobia, éste análisis permite seguir la actividad de las bacterias metanogénicas.

Determinación de CH_4 por cromatografía de gases.

- Cromatógrafo GOW-MAC 550 de conductividad térmica.
- Columna capilar de superox FFA de 10 m.

Condiciones de operación:

- Presión He 50 psi=45 ml/min.
- Inyector: 170 °C.
- Detector: 190 °C.
- Filamento: 120 °C
- TR CH_4 : 1.20 min.
- Jeringa "samplin" de 1.0 ml.
- Integrador Spectra-Physics 4290.

AGV. Productos intermediarios dentro de los procesos de fermentación.

Determinación de acetato por cromatografía de gases.

- Cromatógrafo HP 5890.
- Columna capilar Superox FA 10m x 0.59 mm, densidad de la película 1.2 μ m, fase AT 1000, ALLTECH ref. No 975110.
- Integrador SHINADZU C-R34.
- Jeringa de 10 μ l HAMILTON ref. 701 No 20300.
- Pipetas Ependorff de 200 μ l y 1000 μ l regulables.

3.2 Reactor UASB:

El reactor fue alimentado con medio sintético, el sustrato utilizado fue acetato, grado reactivo, marca J.T. Baker. Se empleó el medio de Ramm (Shelton et al., 1984), complementado con vitaminas del medio de Balch (Balch et al., 1979).

- Concentración de acetato. Reactor en Batch: 50 mM (Tabla 2).
- Concentración de acetato. Reactor en continuo. 10, 50, 100 mM (Tabla 2).

El medio de alimentación llegaba al reactor a través de una bomba peristáltica y el efluente era colectado en un matraz Erlenmeyer de 2 L.

Tabla 2. MEDIO ALIMENTACION RAMM MODIFICADO. (1 L).

-Solución mineral I	50 ml
-Solución mineral II	50 ml
-Solución de oligoelementos	1 ml
-Solución de vitaminas	10 ml
-Cloruro ferroso ($F_2Cl_2-4H_2O$)	10 ml
-Bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$)	2 g
-Acetato	10, 50, 100 mM.

SOLUCION MINERAL I (g/L).

-Fosfato dibásico de potasio (K_2HPO_4) 7.0

SOLUCION MINERAL II (g/L).

-Fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4) 5.4
 -Cloruro de amonio (NH_4Cl) 10.6
 -Cloruro de calcio ($CaCl_2$) 1.5
 -Cloruro de magnesio ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) 2

SOLUCION DE VITAMINAS (g/L).

-Biotina 0.0020
 -Acido fólico 0.0020
 -Piridoxina 0.0100
 -Tiamina 0.0050
 -Riboflavina 0.0050
 -D.L. ácido pantoténico 0.0050
 -Vitamina B12 0.0001
 -Acido p-amino benzoico 0.0050
 -Acido lipóico 0.0050

SOLUCION DE OLIGOELEMENTOS.

Preparar una solución con 1.5 g de ácido nitrilo triacético en 950 ml de agua destilada, ajustar el pH a 6.5 con una solución de KOH y aforar a un litro.

Agregar (g/L):

-Sulfato de magnesio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 3.00
 -Sulfato manganoso ($MnSO_4 \cdot 2H_2O$) 0.50
 -Cloruro de sodio (NaCl) 1.00
 -Sulfato ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.10
 -Cloruro de cobalto ($CoCl_2$) 0.10
 -Sulfato de zinc ($ZnSO_4$) 0.10
 -Sulfato de cobre ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 0.01
 -Sulfato de aluminio y potasio ($AlK(SO_4)_2$) 0.01
 -Acido bórico (H_3BO_3) 0.01
 -Molibdato óxido de sodio ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) 0.01

SOLUCION DE CLORURO DE NIQUEL.

Cloruro de níquel ($NiCl_2$) 0.005 g/100 ml de agua destilada.

SOLUCION DE CLORURO FERROSO.

Cloruro ferroso ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 0.2 g/1000 ml de agua destilada.

El flujo fue calculado para mantener un TRH de 12 horas.

El reactor se localiza en un cuarto con control de temperatura, además de un baño de agua destilada que mantenía al reactor a 55 °C.

3.3 Análisis del influente:

El medio de alimentación se esterilizó para evitar su contaminación, se ajustó a pH 6.0 y se mantuvo en agitación constante; se tomaron muestras para determinar concentración de acetato y alcalinidad.

3.4 Análisis del Efluente:

Las determinaciones de la alcalinidad, sólidos suspendidos totales, volátiles y fijos y Eh se realizaron cada tercer día mientras que la DQO, acetato, pH y metano se realizaron diariamente.

3.5 Análisis de lodos:

Temperatura y Eh, se realizaron cada tercer día.

3.6 Análisis de metano:

La colecta del biogas se hacía por medio de una botella

serológica de 120 ml en forma invertida, con solución salina saturada para no disolver los gases producidos, la cual se conectaba a la parter superior del reactor por medio de una manguera y la solución salina era desplazada por medio de una aguja. Este muestreo se realizó diariamente, de esta botella se tomaban 10 ml de biogas, los cuales, eran transferidos a un tubo Hungate lleno de agua destilada con una aguja en el tapón para desplazar el líquido y darle espacio al biogas.

Se determinó cuantitativamente por cromatografía de gases con un cromatógrafo GOW-MAC, modelo 550; el volumen de inyección fue de 50 μ L.

Resultados y Discusión.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Etapa de adaptación del inóculo en condiciones termofílicas en un reactor en Batch.

El objetivo de este trabajo fue lograr la adaptación directa del inóculo en el reactor en batch, para analizar la factibilidad de esta operación, su cinética y sus posibles dificultades en vista de preveer su comportamiento. Se realizaron varias alimentaciones consecutivas (fig. 4).

En las gráficas (figs. 5, 6, 7), se denotan perfiles donde se alternan fases de aumento y disminución en la concentración de acetato. El primer batch (fig. 5), se observa que la concentración sube a 83 mM en promedio, los días 1.5, 9, 11, y a 54 mM el día 15, aproximadamente. Estas fases de aumento se intercalan con las de disminución con aspecto de perfil asintótico al eje X, característico de una cinética de consumo.

Con el objeto de disminuir el tiempo de consumo, se procedió a bajar la concentración del acetato a 10 mm. En esta gráfica (fig. 6), se observó también el mismo comportamiento de fases de liberación ($t=0$, $t=4$, días) intercaladas con fases de consumo.

En los tres perfiles siguientes (figs. 7, 8, 9) la concentración se aumentó nuevamente a 50 mM. Se observa una fase de liberación de acetato a 12 h (fig. 7). En los otros dos perfiles se tienen aspectos regulares, lo que indicó una tendencia a la estabilización.

El tiempo total de la cinética durante la adaptación fue de 22 días en la primera fase (fig. 5) y disminuyó a 6, 5.8 y 5 días (fig. 7, 8, 9) en las fases posteriores, considerando esto como la estabilización del inóculo a las nuevas condiciones.

Para las fases de consumo se consideraron dos puntos:

- El consumo por un número bajo de bacterias termofílicas presentes en condiciones mesofílicas.
- Consumo por bacterias mesófilas en nichos expuestos a una menor temperatura dentro de los gránulos, debido a la resistencia de transferencia de calor.

Las fases de liberación de sustrato pueden explicarse por la mortalidad bacteriana, que proporciona materia orgánica que es convertida a acetato por las bacterias fermentativas. Con el tiempo las bacterias presentes resistentes se desarrollan, reemplazan a la población y, por lo tanto, el fenómeno de hidrólisis decrece.

En las primeras etapas (figs. 5 y 6) el fenómeno observado manifiesta dos efectos opuestos (aumento y disminución), debido a esto no se pudo medir la actividad de consumo.

Sobre las dos últimas cinéticas (figs. 8 y 9), presentando un sólo efecto (disminución), se encontraron actividades de reacción similares obteniéndose en ambos casos un $r_{\text{máx}}$ de -0.64 mmoles/L.h.

El problema más importante en esta etapa fue el aumento en el pH del medio hasta un valor de 8, debido a la alcalinidad producida por el acetato en el medio de alimentación que se

encontraba en recirculación.

Las actividades medidas no pueden ser comparables a las de los lodos mesofílicos debido a la diferencia del pH (7 y 8) y a que el reactor no se encontraba en anaerobiosis estricta.

Normalmente las actividades aumentan en condiciones de termofilia, y probablemente en este caso fue lo que se observó, sin embargo, no pueden ser comparadas por la diferencia tan fuerte que se presenta entre un pH de 7 y de 8.

El tiempo total de adaptación del inóculo fue de 35 días.

4.2 Reactor en continuo.

En la segunda etapa los objetivos fueron operar el reactor continuo, alimentado con acetato y analizar los problemas bajo estas condiciones.

Se determinó la primera concentración de acetato ([Ac]) de la alimentación, ajustando la carga volumétrica (Bv) a la velocidad de consumo de acetato r :

$$Bv = -r = \frac{[Ac]}{TRH}$$

donde [Ac] = TRH (-r). Tomando $-r = 0.64 \text{ mmol/L}\cdot\text{h}$ y $TRH = 12 \text{ h}$, se tiene $[Ac] = 0.64 \times 12 = 7.8 \text{ mM}$.

Por lo tanto, se decidió ajustar la concentración de acetato a 10 mM, que corresponde a una Bv de $0.8 \text{ mmol/L}\cdot\text{h}$ que es igual a 51 mg DQO/L·h.

Se inició con una concentración de acetato en la alimentación

de 10 mM durante un período de 44 días. La segunda concentración fue de 50 mM, y por último 100 mM.

4.2.1. DQO y Porcentaje de remoción (E %).

Al principio se observaron irregularidades hasta el día 20 (fig.10) en la DQO de salida, debido al estado inestable del reactor. Este aspecto se denota más en la gráfica de porcentaje de remoción (fig. 11), donde se presentan picos de 64 - 72 % de remoción (días 17 y 24), posteriormente la curva tiende a estabilizarse hasta obtener, después de 38 días, un porcentaje de de remoción de 92 % .

El porcentaje de remoción fue obtenido de la relación entre DQO de entrada y la DQO de salida:

$$\frac{DQO_e}{DQO_s} \times 100 = E \%$$

Cuando se cambió la carga volumétrica de 1.23 kg DQO/m³/d a 6.4 kg DQO/m³/d, se observó un desequilibrio denotado por el aumento de la DQO de salida y por la disminución de la eficiencia de remoción hasta un valor de 70 %. Se manifiesta un nuevo equilibrio rápidamente en un período de menos de 15 días, obteniéndose entonces una remoción de 94-96 %.

El siguiente cambio de carga volumétrica a 12.8 kg/DQO/m³/d, provocó un desequilibrio en la DQO de salida y el porcentaje de de remoción, por lo tanto, bajó hasta 50 - 52 % , y no se estabilizó durante el tiempo de experimentación a esta carga.

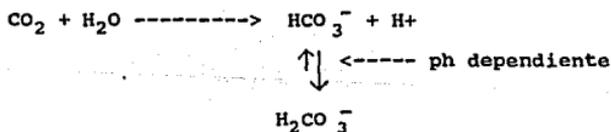
4.2.2. Biogas y alcalinidad.

Biogas.

La producción de biogas en la primera etapa al principio fue baja (1000 ml/d), a los 16 días sube hasta 1500 ml/d, estabilizándose en un promedio 1400 ml/d aproximadamente (fig. 12). Durante esta fase el porcentaje de biogas, después de un tiempo de inestabilidad, se mantiene en un porcentaje aproximado de 30 % (fig. 13).

En la segunda etapa, con el cambio de Bv, el volumen de biogas producido aumenta y se estabiliza a 2300 ml/d (fig. 12). También se presenta una fuerte oscilación con picos hasta de 2700 ml/d. Durante esta etapa el porcentaje de metano subió a 82 % , obteniéndose una estabilización en un porcentaje de 86 % (fig. 13).

El CO_2 y el CH_4 cambian de fase de manera físicamente diferencial debido a que el CO_2 es más soluble, además éste está captado químicamente por agua en el equilibrio químico.



Si bien, la fase líquida puede solubilizar de manera continua este gas.

En la primera etapa, se produjo poco biogas y también se disolvió poco CO_2 probablemente, relacionado con la escasa

alcalinidad producida (fig. 14), entonces el CO_2 se liberó en la fase gaseosa y diluyó al metano. En cambio en la segunda etapa se observó un fuerte aumento de la alcalinidad y del porcentaje de metano (figs. 13-14), lo que es congruente con el hecho de que se solubiliza más CO_2 .

Alcalinidad.

La alcalinidad registrada a la salida (fig. 14) es bastante estable (1200 mg CaCO_3^-) durante la primera fase. En la segunda fase se produjo un aumento a $4000 \text{ mg de CaCO}_3^-$. En el tercer cambio de fase, la alcalinidad de salida subió a $6,600 \text{ mg de CaCO}_3^-$. La variación en cada fase pueda justificarse en base a la hipótesis de la solubilización de CO_2 debido a su participación en el equilibrio químico.

Los valores obtenidos son muy altos debido que en la técnica utilizada interfiere el acetato. Esto puede verse en la alcalinidad de entrada, donde se presenta también un aumento en cada cambio, aún cuando no se tiene alcalinidad.

4.2.3. Producción máxima de biogas esperado.

Es posible calcular la producción de metano máxima en función de la remoción de la DQO, es decir, del sustrato. Esta producción teórica, es máxima debido a que no considera el rendimiento de transformación del sustrato a biomasa y considera entonces que todo el acetato se transforma en CH_4 , ignorando la parte incorporada a la biomasa.

En el caso de la metanogénesis, el rendimiento energético es tan bajo que aproximadamente sólo el 5 % del sustrato puede ser incorporado a la biomasa.

La producción de metano máximo esperado se calcula con la ecuación estequiométrica del acetato, pero se prefirió una técnica más general aplicada también a los casos en que el sustrato está en una mezcla de materia orgánica no conocida. Esta técnica usa el principio de conservación de la energía entre el sustrato y el metano.



El carbono del metano tiene el número de oxidación:

$$x + 4 = 0$$

$$x = -4$$

que es el nivel más reducido del carbono y, por tanto, su nivel de energía máximo.

El carbono del CO_2 está en el nivel de oxidación:

$$x - 2 - 2 = 0$$

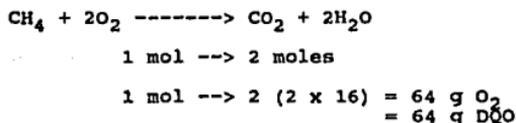
$$x = 4$$

que es el nivel más oxidado, por lo tanto, no cuenta con energía disponible.

La DQO es la medición del poder oxidativo de una molécula, el CO_2 tiene DQO de cero y la DQO del metano es entonces igual a la DQO removida.

4.2.4. Cálculo de la Demanda Química de Oxígeno Teórico.

La DQO teórica del metano se puede calcular según la ecuación siguiente:



Dividiendo la DQO por 64 g se obtiene el número de mol esperado. Usando la ecuación de gases perfectos, justificado por las presiones menores de 1 atm, se puede calcular el volumen de metano producido por las condiciones de presión y temperatura (fig. 15).

Durante el cálculo de CH_4 teórico se tomó en cuenta la solubilización de este gas en la fase líquida, comparando flujo de agua y de biogas.

La ecuación de Henry relaciona la presión parcial del gas en la atmósfera y la fracción molar (X_{CH_4}) en la fase líquida.

$$\begin{aligned} P &= H_{\text{CH}_4} \cdot X_{\text{CH}_4} \\ H_{\text{CH}_4} &= 62650 \text{ a } 328 \text{ }^\circ\text{K} \\ P_p &= P_{\text{atm}} \cdot \% \text{ volumétrico del gas} \\ &= 0.76 \cdot 0.5 = 0.38 \text{ atm} \end{aligned}$$

(50 % en una burbuja naciente de biogas).

$$\text{entonces } X_A = \frac{P_{\text{CH}_4}}{H_{\text{CH}_4}} = 6.065 \times 10^{-6} \text{ mol CH}_4 / \text{mol H}_2\text{O}.$$

Con estos dos parámetros se puede calcular la fracción molar y transformarla en fracción volumétrica.

$$F_v = \frac{C_{CH_4} RT}{P} [L CH_4 / P H_2O]$$

$$F_v = 1939.44 X P_A \text{ a } 55 \text{ }^\circ\text{C y } 0.76 \text{ atm}$$

En este caso el metano se solubiliza:

$$F_v = 0.011764 \text{ L } CH_4 / \text{ L } H_2O$$

por lo tanto, se considera despreciable esta cantidad en comparación con los errores de medición.

Comparando el metano teórico y el producido (fig. 16) se observa que en la primera fase los dos valores son semejantes, mostrando una pequeña diferencia al principio de esta etapa debida a la inestabilidad del proceso.

En el cambio de fase se muestra una diferencia en el metano producido (2000 ml CH_4 /d/L) y el teórico (3,200 ml CH_4 /d/L). Esta variación puede ser adjudicada a la técnica de medición debido a que no puede medir un volumen importante de biogas. La causa de esta limitación se debe a que una alta producción de biogas ocasiona un fuerte aumento en la presión del sistema que no puede descargarse normalmente por la alta viscosidad de la solución que fluye a través de una salida de diámetro reducido.

Consecuentemente el biogas fluye por los lados del colector (escapa del sistema de medición). Se subestima por lo tanto su producción. Se realizaron pruebas para optimizar sistemas de

medición, sin embargo, no fueron aceptables por la necesidad de una presión más alta para manejar un volumen mayor de solución salina.

El biogas no fue medido durante la tercera fase debido a la alta producción de éste y al sistema inadecuado de medición.

4.2.5 Sólidos suspendidos volátiles (SSV).

Este parámetro permite medir la cantidad de sólidos de la entrada y la salida. Es importante porque un efluente cargado de sólidos causa acumulación de éstos en el lecho de lodos.

Por otra parte a la salida del reactor se encuentran sólidos que no fueron degradados ni acumulados y la biomasa no retenida que se escapa del reactor.

En este caso se contó con un efluente en forma soluble, que no presentaba sólidos en la entrada del reactor.

En la figura 17, al principio del funcionamiento en continuo se denotan picos de pérdida de lodos (SSV) ($t = \text{día } 15$, $t = \text{día } 22$), seguido por fases de estabilización con una pérdida de 80 mg/L/d . Al cambio de carga volumétrica se observa una elevación en la pérdida de lodos 300 mg/L/d , se estabiliza ($t = \text{día } 60$) con una pérdida de lodos de 80 mg/L/d aproximadamente.

En el último cambio de carga volumétrica se notó una pérdida importante de lodos sin volver a estabilizarse (400 mg/L/d).

Al operar el reactor en termofilia los gránulos se fragilizaron debido al cambio de temperatura, es decir, se

observaban partículas de diámetro menor. Estos gránulos fueron lavados por el flujo de agua, su coeficiente de sedimentación ya no era importante para equilibrar la velocidad ascendente del fluido. Durante los cambios de carga volumétrica la pérdida de lodos es más difícil de explicar debido a que la velocidad ascendente no ha cambiado ni la temperatura.

Se estimó que los lodos fueron erosionados dada la mayor fragilidad de los gránulos en termofilia (van Lier et al., 1992) y por el flujo más importante de biogas, es decir, es decir por una mayor producción de burbujas.

En el último cambio se muestra un pérdida importante de lodos que pudiera explicarse por el flujo del biogas y tal vez por una mayor fragilización de los gránulos por cambios de pH observados.

Al final del experimento quedaba menos de la mitad del volumen de los lodos inoculados (150 ml aprox.). Se trató de estimar la pérdida de éstos en relación a la cantidad inoculada (36.5 g SSV), tomando en cuenta las cantidades de sólidos suspendidos que se perdieron durante el experimento (fig. 18). Se despreció la cantidad de lodos generada por crecimiento celular debido a que ésta es baja (5 % de rendimiento celular) y a que no se pudo medir. Al final del experimento se contaba con 18.5 g SSV en el reactor, con una inoculación de 36.5 g, se observa una pérdida del 50 % , lo que apoya las observaciones realizadas.

4.2.6. *Parámetros fisicoquímicos.*

Eh (fig. 19).

El metabolismo que se observa en este proceso corresponde al final de una cadena alimenticia, por lo que las condiciones de operación fueron específicas: utilización de un sustrato simple (acetato) y de condiciones completamente anóxicas y reductoras.

La actividad microbiana mantiene las condiciones favorables. Durante la generación de metano se necesitan condiciones muy reductoras. Se consideró que un potencial redox de -350 mv es óptimo para un buen funcionamiento.

En la primera etapa, reactor en continuo, se observó un Eh promedio de -300 mv. Este valor se mantuvo en las dos etapas siguientes con excepción de dos picos donde el potencial redox bajó a -150 mv en los días 50 y 60 (fig. 19). Esto se debió probablemente a dos accidentes ocurridos que permitieron la entrada de oxígeno al sistema.

pH - alcalinidad.

1a. fase. (fig. 20). El pH de los lodos se mantuvo a 7.2 y el pH de entrada a 6.9-7.0, generando un pH promedio de salida de 8.

En el cambio de fase, después de un período de estabilización, el pH de los lodos subió a 8 y, para equilibrar este valor, se bajó el pH de entrada a 6 (día 64), generando un pH de salida de 8.6.

2a. fase. (fig. 20) se observó una baja rápida del pH de los lodos de 8 hasta 6.4 (día 79), el pH de entrada fue de 5.4 (día 65). Para equilibrar este valor, se subió el pH

de entrada a 7.8 (día 66) y se observó una recuperación del pH de los lodos a 7.4 (día 80). Al reponer el pH de entrada a 7.8, el pH de salida bajó de 8.6 a 8.0 durante esta fase.

El pH es un factor importante. Las bacterias metanogénicas presentan un rango óptimo, 6.5 - 7.5, aunque se observó que se pueden aclimatar a un rango de pH de 6.0 a 8.0. Además, estas bacterias tienen influencia sobre el pH del medio debido a la alcalinidad que se produce por su actividad metabólica. Entre el pH de entrada y el de salida, se genera un gradiente de pH en los lodos que produce un medio alcalino. Para controlar este fenómeno y mantener un pH de los lodos de 6.5 - 7.5, se tiene que manejar el medio de entrada más ácido para contrarrestar la alcalinidad producida.

1a. fase. reactor en continuo. El objetivo es logrado ya que se obtuvo un valor promedio de alcalinidad, 1 200 mg de $\text{CaCO}_3^-/\text{d/L}$ (fig. 14). El sistema se mantuvo estable, con un pH de entrada de 6.8, sin riesgo de desequilibrio por el pH neutro del medio de entrada.

2a. fase. Con el cambio de carga volumétrica, la alcalinidad producida pasó de 600 a 4000 mg de $\text{CaCO}_3^-/\text{d/L}$. Se bajó el pH de entrada hasta 5.8 para balancear el pH de los lodos, sin embargo, durante esta fase esto no se logró ($\text{pH}_L = 8$). Cabe señalar que las bacterias se adaptaron a este valor dado que la remoción de DQO fue alta (fig. 10).

Por medio de esta clase de control se llegó a un equilibrio dinámico, el medio de entrada no permite la actividad microbiana debido al pH más bajo, sin embargo, ésta equilibra el exceso de protones a la entrada, permitiendo que el sistema se mantenga cerca de la neutralidad.

El flujo de entrada se baja a $TRH = 10$ h.

La entrada de protones es importante. El pH de lodos tiene tendencia a bajar al igual que la actividad microbiana, esto genera un círculo que conduce al choque ácido, que es lo observado en la tercera fase (fig. 20). Este choque fue de poca influencia, se apagó el reactor para buscar un equilibrio. Posteriormente, en esta misma etapa, se observó un choque ácido de mayor importancia, con un valor de $pH = 5$, que justificó el paro del reactor.

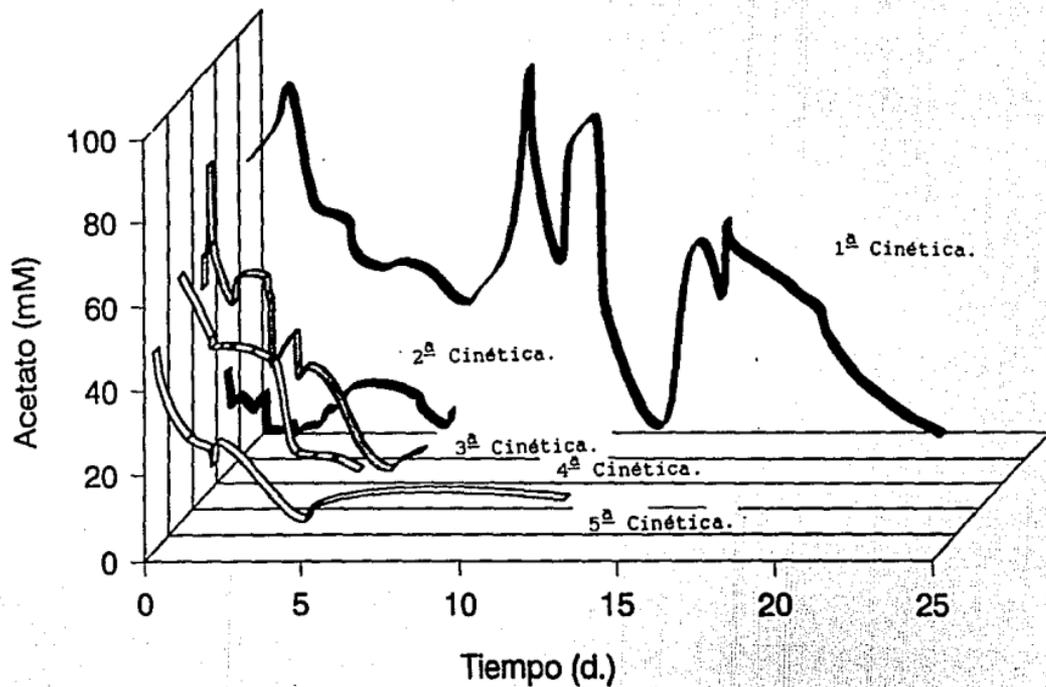


Figura 4. Perfil global de cinéticas de consumo de acetato durante la fase de adaptación. Reactor en Batch. 55 °C.

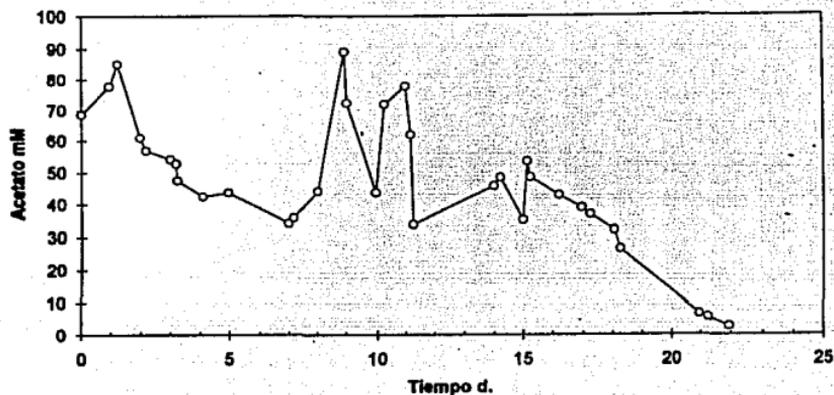


Figura 5. 1^a Cinética de consumo de acetato [50 mM].
Reactor en Batch. 55 °C.

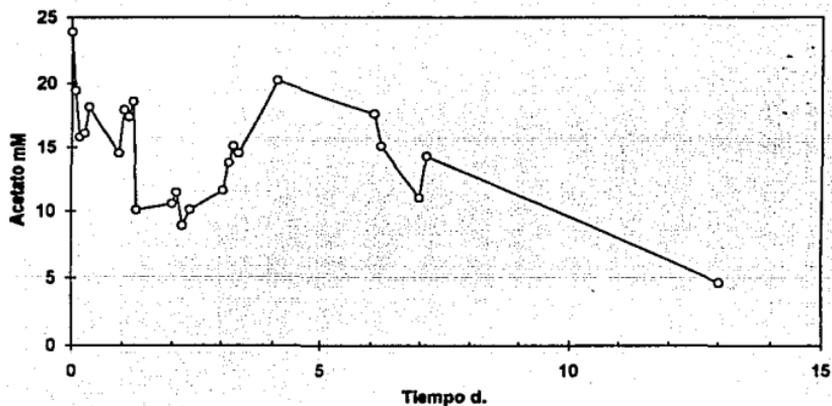


Figura 6. 2^a Cinética de consumo de acetato [10mM].
Reactor en Batch. 55 °C.

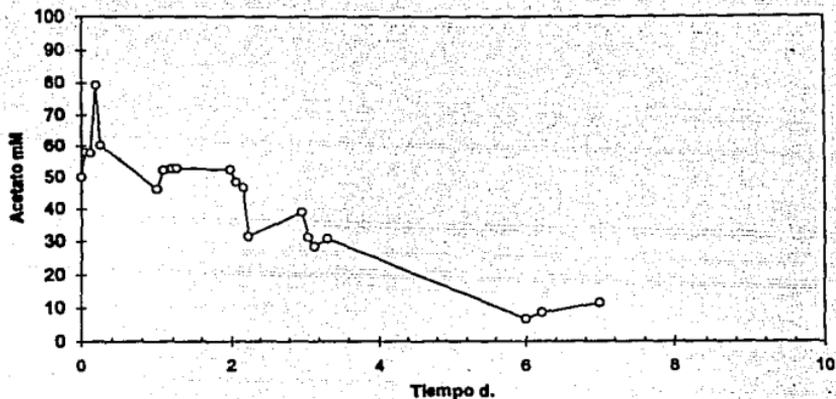


Figura 7. 3^a Cinética de consumo de acetato [50 mM]. Reactor en Batch. 55 °C.

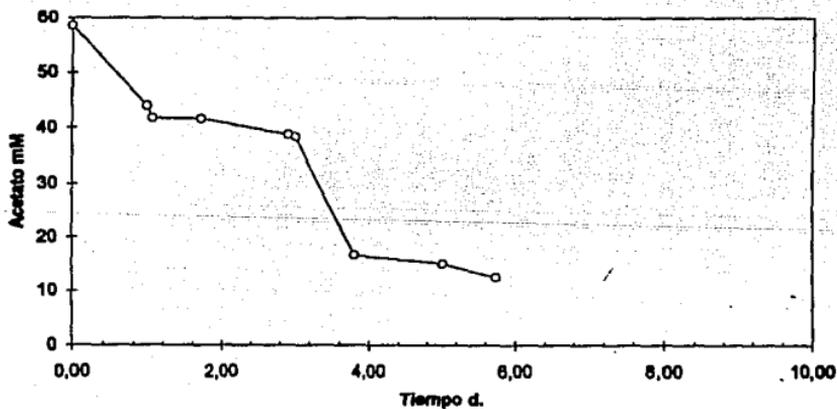


Figura 8. 4^a Cinética de consumo de acetato [50 mM]. Reactor en Batch. 55 °C.

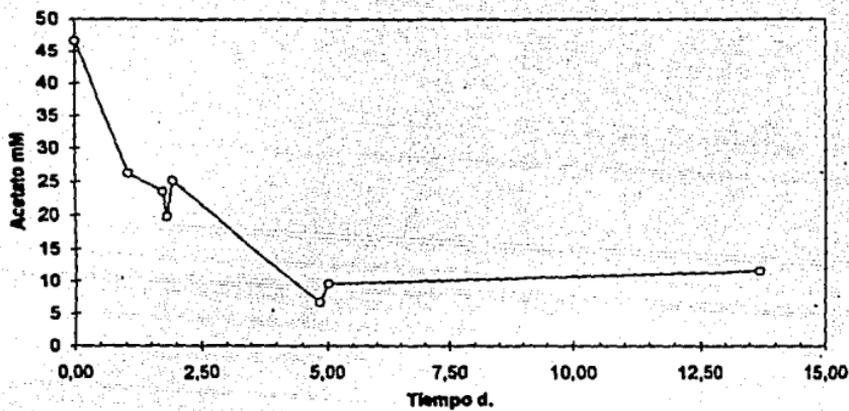


Figura 9. 5^a cinética de consumo de acetato [50 mM].
Reactor en Batch. 55 °C.

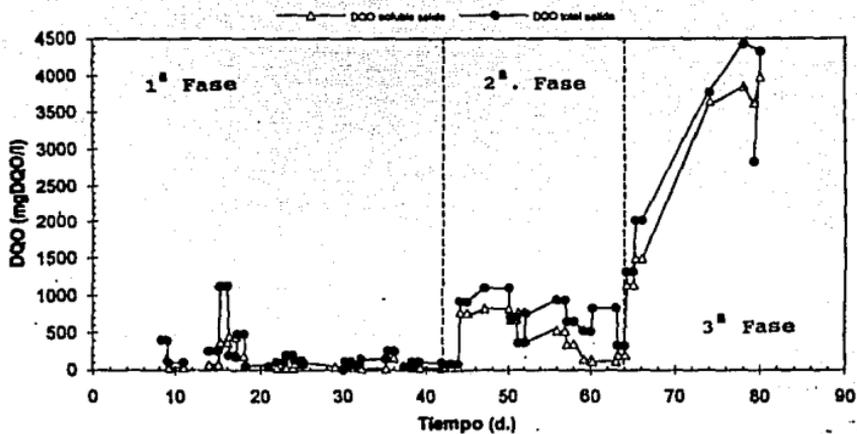


Figura 10. Demanda Química de Oxígeno (DQO).
Reactor en continuo. 55 °C.

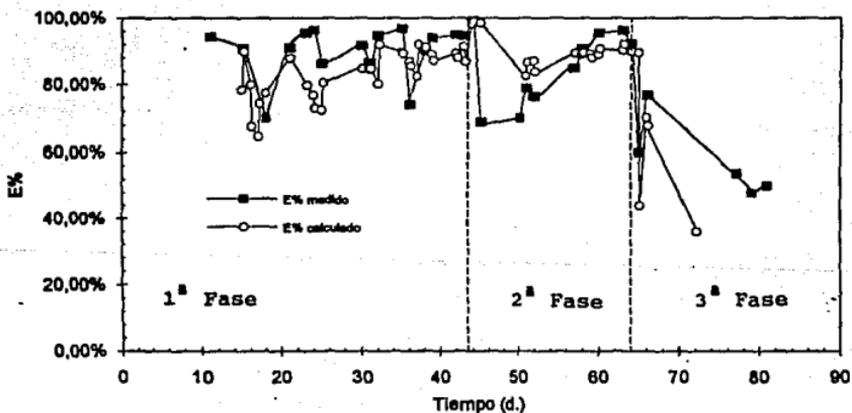


Figura 11. Porcentaje de remoción (E %).
Reactor en continuo. 55 °C.

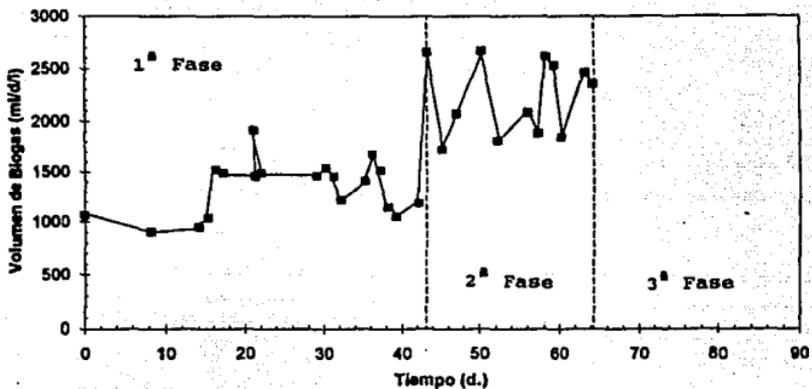


Figura 12. Volumen de biogas producido.
Reactor en continuo. 55 °C.

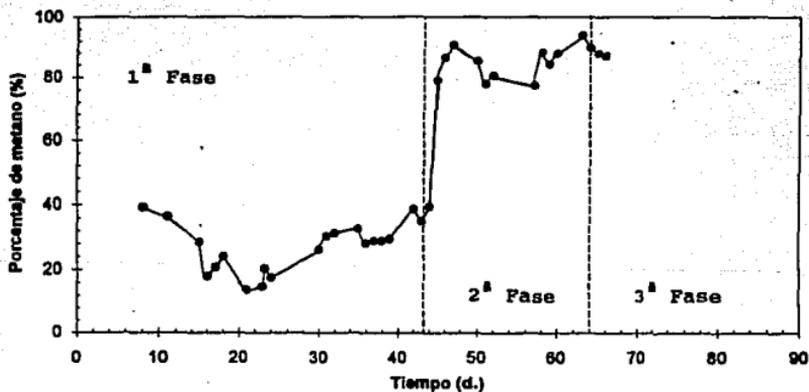


Figura 13. Porcentaje de Metano (% CH₄).
Reactor en continuo. 55 °C.

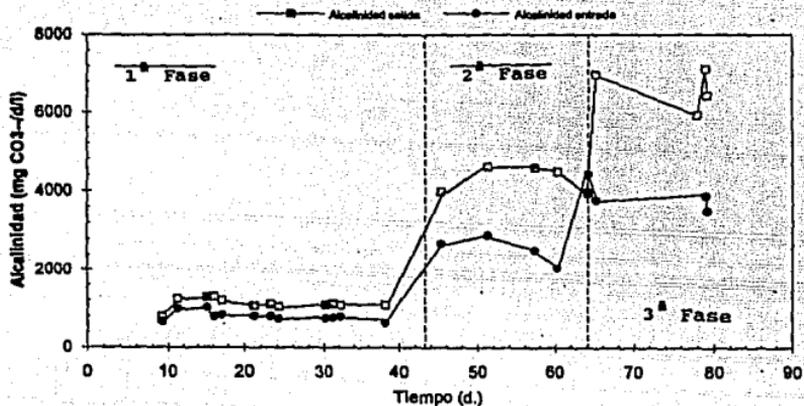


Figura 14. Alcalinidad. Reactor en continuo. 55 °C.

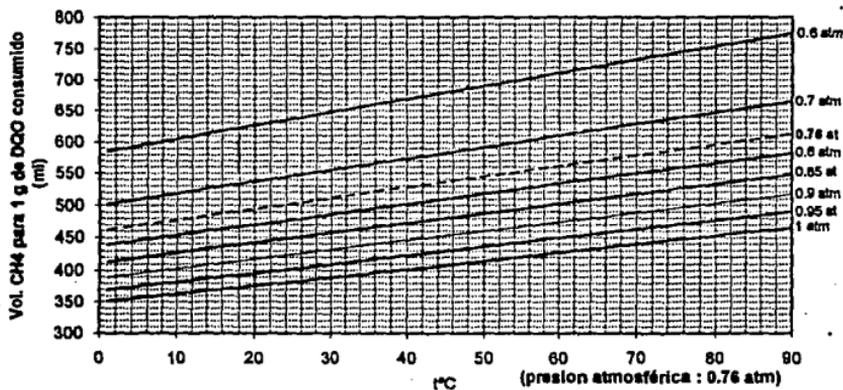


Figura 15. Producción teórica de Metano.

PRODUCCION ESPECIFICA DE METANO

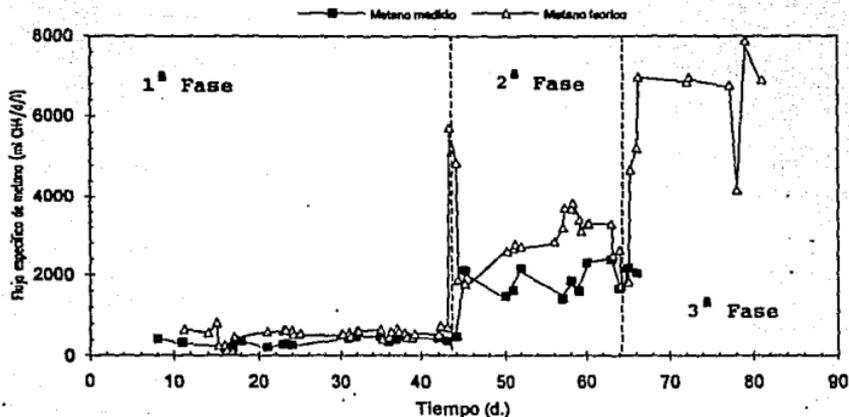


Figura 16. Metano teórico y Metano producido.
Reactor en continuo. 55 °C.

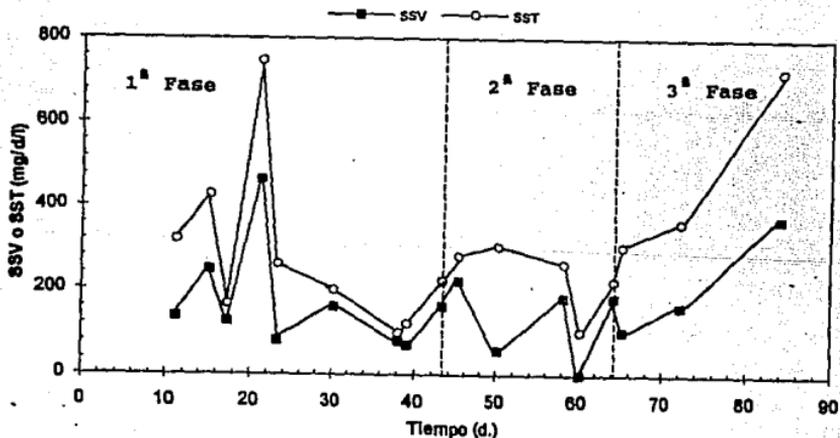


Figura 17. Sólidos Suspendedos Volátiles (SSV).
Reactor en continuo. 55 °C.

PERDIDA ESTIMADA DE BIOMASA DEL REACTOR

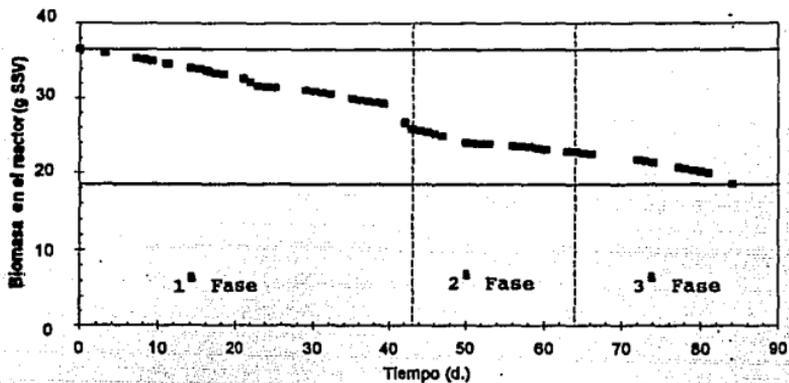


Figura 18. Biomasa. Reactor en continuo. 55 °C.

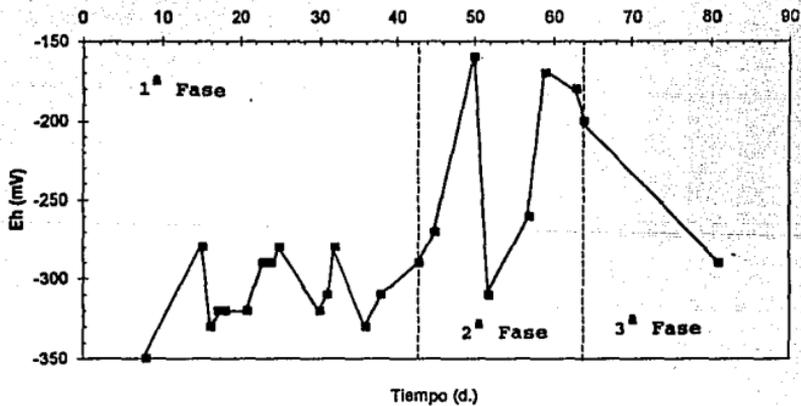


Figura 19. Eh. Reactor en continuo. 55 °C.

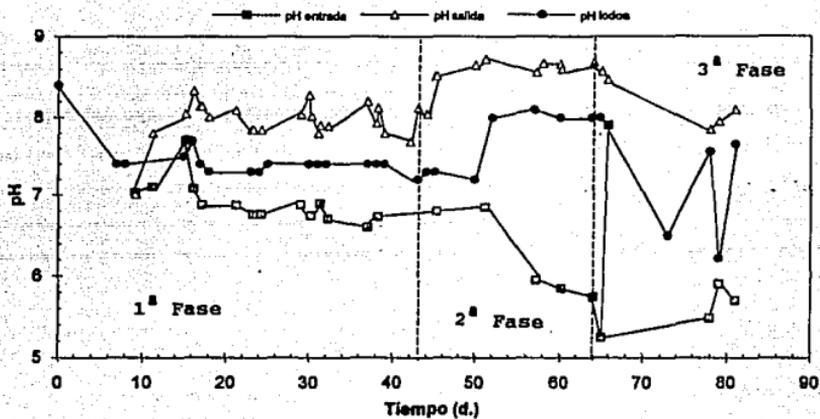


Figura 20. pH. Reactor en continuo. 55 °C.

Conclusiones.

5. CONCLUSIONES

5.1 Reactor en Batch.

Durante la etapa de adaptación de un lodo granular mesofílico a condiciones termofílicas se obtuvieron perfiles irregulares que ponían en evidencia el cambio de las poblaciones mesofílicas dominantes a poblaciones termofílicas.

Otro punto de apoyo fue la diferencia en el aspecto del gránulo. La deestructuración de éste se caracteriza por pérdida de volumen, una coloración más intensa y un aspecto más frágil (van Lier, et al, 1992).

Los perfiles cinéticos obtenidos en esta etapa del trabajo experimental, permitieron realizar la observación de dos fenómenos presentes durante la fase de adaptación del inóculo, uno de consumo y otro de liberación de acetato.

Durante esta etapa no hubo pérdida de lodos debido a la recirculación completa del flujo en el reactor y por la baja producción de biogas que no permite una erosión importante de los gránulos fragilizados por el cambio de temperatura.

Durante este período el problema de mayor importancia fue el control del pH, ya que al estar el reactor en Batch, el volumen del reactor permanecía en recirculación, y la alcalinidad producida debido al metabolismo de las bacterias, tiende a subir el pH de éstos (pH = 8), sin ninguna posibilidad de control de éste. Las actividades medidas no fueron por lo tanto óptimas, ni

las condiciones de adaptación.

En conclusión, esta metodología de adaptación en Batch de los lodos a termofilia presentó la ventaja de permitir la retención completa del inóculo y el seguimiento de las actividades de manera simple. Por otra parte su mayor desventaja es de no permitir un pH estable, lo que provoca perturbaciones y, por lo tanto, errores en la medida de las actividades de los lodos.

Una solución interesante es la adaptación de los lodos en un reactor en continuo que presenta inconvenientes menores en relación al pH.

5.2 Reactor en continuo.

Durante el desarrollo del experimento con el reactor en continuo, los problemas presentes fueron la pérdida de lodos cuando las cargas volumétricas fueron mayores y la inestabilidad del pH.

Con una carga volumétrica baja (1.2 kg DQO/d/m^3), el tratamiento en termofilia no presenta desequilibrios importantes, el sistema permanece estable, además se pueden manejar actividades más importantes que permiten reducir el tiempo de retención hidráulico. Con estas características se puede manejar un menor tamaño del reactor y, por tanto, disminuye el costo de la inversión, considerando estos parámetros de suma importancia a nivel industrial.

Cuando se utilizaron cargas volumétricas mayores (6.4 y $12.8 \text{ kg DQO/d/m}^3$) se presentaron, además de la pérdida de lodos,

inestabilidad en el pH debido al influente con características más alejadas de las condiciones de equilibrio, que ponen al reactor en un estado de equilibrio dinámico inestable que se caracteriza por un riesgo importante de choque ácido.

Consideraciones finales.

6. Consideraciones finales.

El problema de pH que se presentó en este trabajo, posiblemente pueda ser resuelto manejando un controlador de pH, que permita una acción inmediata y automática en los desajustes que se presenten, consiguiendo que cualquier cambio desfavorable presente sea contrarrestado en un tiempo mínimo y poder obtener a la vez la medición constante de este factor.

Con respecto a la medición del biogas producido, el sistema utilizado de botellas serológicas, que no permitió obtener datos de éste a cargas volumétricas altas, se propuso reemplazarlo por la columna utilizada en el reactor en Batch, cambiando las mangueras empleadas por conductores rígidos, que no permitan fugas y se obtengan datos precisos de los volúmenes de biogas producidos.

El tratamiento en termofilia no es rentable para aquellos efluentes a temperatura ambiente, debido al costo que provocaría elevar su temperatura, aún cuando se obtengan ventajas de una mayor homogenización, una menor densidad que limita en parte los caminos preferenciales y los espacios muertos, problemas comunes en los reactores UASB en mesofilia a gran escala.

El efluente que se simuló tratar en este trabajo fue un agua residual con una alta temperatura (55 °C) y a un pH muy bajo por su alto contenido de ácido acético. Se consideró con grandes posibilidades de ser tratado por la alta alcalinidad producida que

contrarrestaría el valor del pH sin un pretratamiento de neutralización costoso y no rentable.

Otros puntos de interés de este tipo de trabajo es el análisis a nivel microbiológico de la producción de inóculo, el equilibrio de los grupos microbiales en el funcionamiento del reactor, un mayor control del sistema y el descubrimiento de nuevas especies implicadas en la funcionamiento de los reactores termofílicos (Zinder, 1990).

El comportamiento como metodología de producción de inóculos termofílicos es estudiada en el laboratorio de Microbiología Ambiental de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

Bibliografía.

7. BIBLIOGRAFIA

APHA/AWWA/APCF. 1990. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 17th edition, Joint Editorial Board.

Balch, W.E., Fox, G.E., Magrum, L.J., Woese, C.R., Wolfe, R.S. 1979. Methanogens: Reevaluation of an Unique Biological Group. *Microbiol Rev.* 43(2):260-296.

Benfield, L.D. y Randall, C.W. 1980. *Biological Process Design for Wastewater Treatment*. Prentice Hall. Nueva Jersey. 526 pp.

Bolle, W. L., van Breugel, J., van Eybergen, G.C., Kossen, N.W.F., Zoetemeyer, R.J. 1986. Modeling the liquid flow in up-flow anaerobic sludge blanket reactors. *Biotechnol. Bioengin.* 28:1615-1620.

Brock, T. D., Smith, D. W., Madigan, M. T. 1987. *Microbiología*. 4a ed. Prentice Hall Hispanoamericana. México. 906 pp.

Calzada, J.F. 1990. Digestión anaerobia en América Latina aspectos generales. ICAITI. Conferencias sobre tratamiento de aguas residuales en América Latina. p. 67-71.

El-Mamouni, R., Rouleau, D., Mayer, R., Guiot, S.r. Samson, R. 1992. Comparison of the novel multiplate anaerobic reactor with the upflow anaerobic sludge blanket reactor. 46 th Purdue Industrial Waste Conference Proceedings. Chelsea, Michigan. USA.

García, J.L. 1991. Ecología de inóculos anaerobios específicos en el tratamiento de aguas residuales. Memorias del II Seminario Internacional sobre Biotecnología en la Agroindustria Cafetalera. Manizales, Colombia.

Geankopolis, C.J. 1982. *Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias*. 1ª ed. CECSA. México. 749 pp.

Guyot, J.P. 1988. Introducción a la microbiología de la digestión anaerobia. Apuntes del curso sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales. *Microbiología y Bioquímica*. Medellín, Colombia. p. 1-87.

Guyot, J.P. 1990. Introducción sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales en América Latina. Conferencias sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales en América Latina. UNAM. p. 83-95.

Guyot, J.P. 1992. Introducción a la Microbiología de los digestores Anaerobios. Bioprocesos Anaerobios para el Tratamiento de Efluentes Industriales. UAM. ORSTOM. IMP. p. 1-17.

Jetten, M. S. M., Stams, A.J.M., Zehnder, A.J.B. 1992. Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanotrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp. *Microbiol. Rev.* 3(4):181-193.

Kelly, R.M. y Deming, J.W. 1988. Extremely thermophilic archaeobacteria: biological and engineering considerations. *Biotechnology Progress.* 4(2):47-62.

Lettinga, G., van Velsen, A.F.M., Hobma, S.W., de Zeeuw, W., Klapwijk, A.K. 1980. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment especially for anaerobic treatment. *Biotechnol. Bioeng.* 22:699-734.

Lettinga, G., Roersma, R., Grin, P. 1983. Anaerobic treatment of raw domestic sewage at ambient temperatures using a granular bed UASB reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 25:1701-1723.

Lettinga, G., Zeeuw, W., Hulshoff Pol, L. W., Wiegant, W. Rinzema, A. 1985. Anaerobic wastewater treatment based on biomass retention with emphasis on the UASB process. *Anaerobic Digestion. 5 th International Symposium. China State Biogas Association.* p. 271-301.

Lettinga, G., Hulshoff Pol, L.W. 1991. Application of modern high rate anaerobic treatment processes for wastewater treatment. *New Developments in Industrial wastewater Treatment.* p. 33-64.

Macario, A.J.L., Visser, F.A., van Lier, J.B., Conway, M.E. 1991. Topography of methanogenic subpopulations in a microbial consortium adapting to thermophilic conditions. *J. of General Microbiology.* 137:2179-2189.

McInerney M.J., Bryant M.p. 1981. Basic principles of bioconversions in anaerobic digestion and methanogenesis. *Biomass conversion process for energy and fuels.* Plenum Publishing Corporation. p. 277-296 .

Marmolejo, R.C. 1984. Estudio de los productos del metabolismo anaerobio durante el tratamiento de las aguas de desecho de la industria nixtamalera. Tesis Profesional. Fac. Química. UNAM. 98 p.

Monroy, H.O., Olguín, L.P. 1992. Manual de Técnicas de Análisis para Aguas Residuales. UAM-ORSTOM. 126 pp.

Monroy, H.O. 1992. Control de la Digestión Anaerobia. Bioprocesos

Anaerobios para el Tratamiento de Aguas Residuales Industriales. UAM. ORSTOM. IMP.

Moreno, R.G. 1990. Microbiología y Bioquímica de la Digestión Anaerobia. Primer Diplomado Internacional de Química Ambiental de Aguas Residuales. Fac. Química- Inst. Ingeniería. p. 1-35.

Noyola, R.A., Briones, M.R., Jiménez, T.C. 1989. Tratamiento Anaerobio de Vinazas a Nivel Planta Piloto con Dos Tipos de Reactores Avanzados. UNAM. CINVESTAV-IPN. UASLP. AZUCAR S.A. de C.V. 146 pp.

Noyola, R. A. 1990. Tratamiento anaerobio de aguas residuales: una experiencia de adaptación de tecnología en México. Conferencia sobre tratamiento anaerobio de aguas residuales en América Latina. UNAM. p. 337-357.

Noyola, R.A. 1992. Reactores Anaerobios de Segunda y Tercera Generación. Bioprocesos para el Tratamiento de Efluentes Industriales. UAM. ORSTOM. IMP. p. 1-35.

Obaya, M.C., Valdés, E., Ramos J., León, O.L. 1991. Lodos anaeróbicos termofílicos del proceso UASB III. Uso del metanol para su adaptación. ICIDCA. Conferencias sobre tratamiento de aguas residuales en América Latina. 25(3):33-38.

Ohtsubo, S., Demizu, K., Kohno, S., Miura, I., Ogawa, T., Fuduka, H. 1992. Comparison of acetate utilization among strains of an aceticlastic methanogen, *Methanotherix soehngenii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(2):703-705.

Oztürk, M. 1991. Conversion of acetate, propionate and butyrate to methane under thermophilic conditions in batch reactors. *Wat. Res.* 25(12):1509-1513.

Sorensen, A.H., Winther-Nielsen, M., Ahring, B. K. 1991. Kinetics of lactate, acetate and propionate in unadapted and lactate-adapted thermophilic, anaerobic sewage sludge: the influence of sludge adaptation for start-up of thermophilic UASB-reactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 34:823-827.

Stronach, S.M., Rudd, T., Lester, J.N. 1986. *Anaerobic Digestion Processes in Industrial Wastewater Treatment*. Springer-Verlag. Germany. 184 pp.

Thauer, R.K., Möller-Zinkhan, D., Spormann, A.M. 1989. Biochemistry of acetate catabolism in anaerobic chemotrophic bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 43:43-67.

Van Lier, J.B., Grolle, K.C.F., Stams, A.J.M., Conway, M.E., Lettinga, G. 1992. Star-up of a thermophilic upflow anaerobic

sludge bed (UASB) reactor with mesophilic granular sludge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 37:130-135.

Visser, F.A., van Lier, J.B., Macario, A.J.L., Conway, M.E. 1991. Diversity and population dynamics of methanogenic bacteria in a granular consortium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57(6):1728-1734.

Wiegant, W.M., Claassen, J.A., Lettinga, G. 1985. Thermophilic anaerobic digestion of high strength wastewater. *Biotechnol. and Bioengin.* 27:1374-1381.

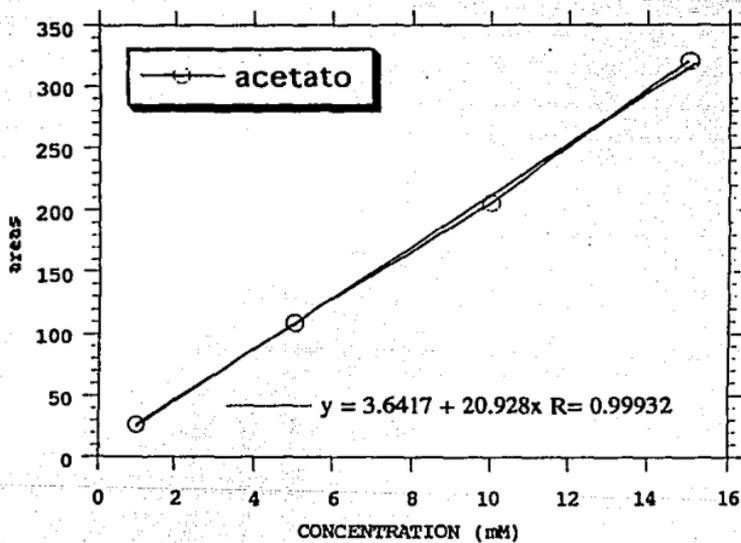
Wiegant, W.M., de Man, A.W.A. 1986. Granulation biomass in thermophilic upflow anaerobic sludge blanket reactors treating acidified wastewaters. *Biotechnol. and Bioengin.* 23:718-727.

Wiegant, W.M., Lettinga, G. 1985. Thermophilic anaerobic digestion of sugar in upflow anaerobic sludge blanket reactors. *Biotechnol. and Bioengin.* 27:1603-1607.

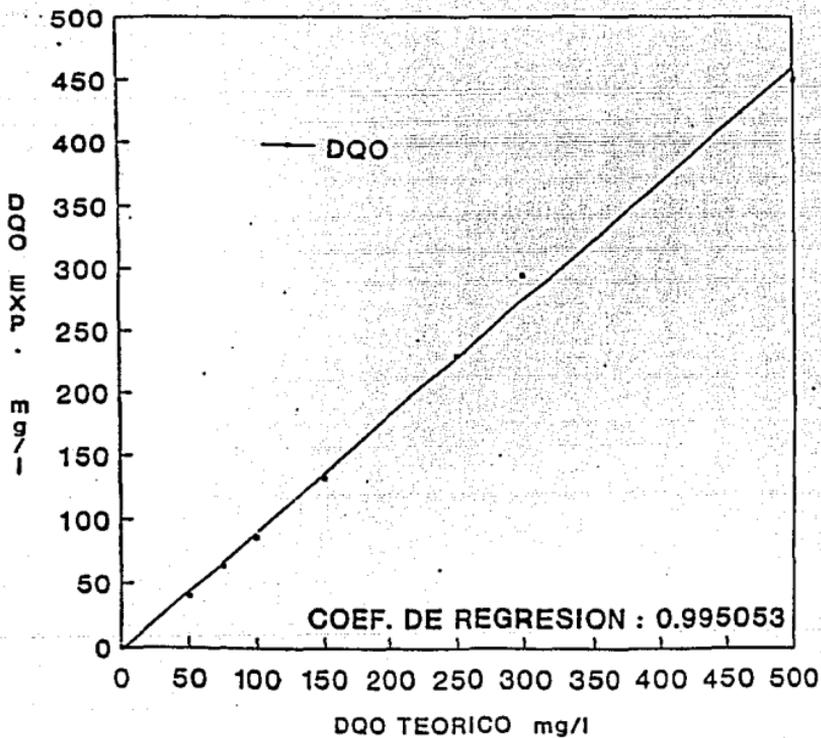
Zeikus, J.G. 1979. Thermophilic bacteria: ecology, physiology and technology. *Enzyme Microb. Technol.* 1:252.

Zinder, S.H. 1990. Conversion of acetic acid to methane by thermophiles. *Microbiol. Rev.* 75:125-138.

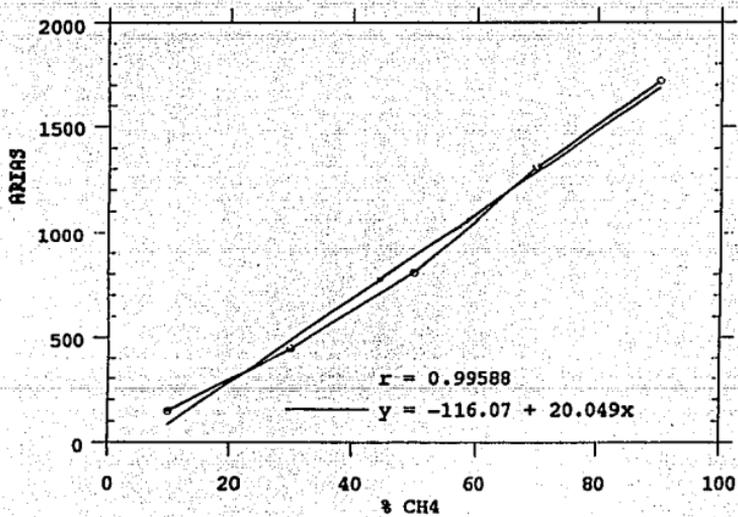
Anexo.



Curva de Calibración de Acetato.



Curva de Calibración de la Demanda
Química de Oxígeno (DQO).



Curva de Calibración de Metano CH₄.