

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA



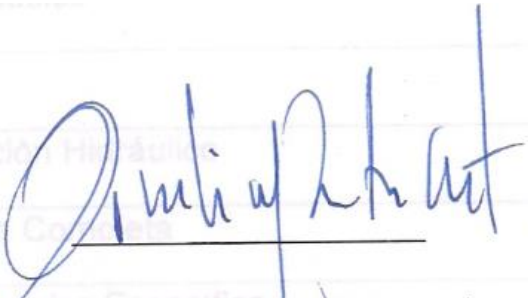
INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA PRODUCCIÓN DEL BIOGÁS

**Trabajo Especial de Grado
presentado ante la ilustre
Universidad Central de
Venezuela, por la Br. Yanny
Carolina Díaz, para optar por el
título de Licenciado en Química**

Caracas, abril, 2016

Yo Profesor Paulino Betancourt, Investigador del Laboratorio o Centro de Investigación de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, certifico que, el presente Trabajo Especial de Grado, titulado: "**INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA PRODUCCIÓN DEL BIOGÁS**". Que presenta el Br. Yanny Carolina Díaz, para aspirar al título de Licenciado en Química, ha sido realizado en el Laboratorio Desarrollo de Procesos de la Escuela de Química de la Universidad Central de Venezuela, bajo mi dirección, durante el año 2.016, y con esta fecha autorizo su presentación.

Caracas, 31 de mayo de 2016



Tutor

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del trabajo Especial de Grado titulado: "**INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA PRODUCCIÓN DEL BIOGÁS**". Presentado por el Br. Yanny Carolina Díaz, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

ALC	Alcalinidad
THR	Tiempo de Retención Hidráulica
RMC	Reactor de Mezcla Continua
AME	Actividad Metanogénica
BM	Bacterias Metanogénicas
T	Temperatura
P	Presión
AG°	Energía Libre de Gibbs


Paulino Betancourt (Director)


Juan Alvarez (Jurado)


Nakary Brito (Jurado)

ABREVIACIONES Y ACRÓNOMOS

DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
DQO	Demanda Química de Oxígeno
pH	Potencial de Hidrógeno
AGV	Ácidos Grasos Volátiles
ALC	Alcalinidad
THR	Tiempo de Retención Hidráulico
RMC	Reactor de Mezcla Completa
AME	Actividad Metanogénica Específica
BM	Bacterias Metanogénicas
T	Temperatura
P	Presión
ΔG°	Energía Libre de Gibbs
OHPA	Organismos Acetogénicos Productores obligados de Hidrógeno
BSR	Bacterias Sulforeductoras
BA	Bacterias Acetogénicas
BM	Bacterias Metanogénicas
N	Nitrógeno
SST	Sólidos Suspendidos Totales
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles
ACS	Grado reactivo analítico

Máx (y/x)	Máxima velocidad de producción de metano
VL	Volumen de lodo
mL/g.d	Unidades de la AME, mL CH ₄ / g SSV. día
°C	Grados Centígrados
V	Volumen
ppm	Partes por millón
MO	Materia orgánica

RESUMEN

La Actividad Metanogénica Específica (AME) permite cuantificar la máxima capacidad de producción de metano por el grupo de microorganismos presente en lodos anaerobios. Siendo usada para el seguimiento de la calidad del lodo en reactores anaerobios, lo cual transforma en una herramienta que evalúa el comportamiento de la biomasa contaminada y determina la carga orgánica máxima que puede aplicarse a un sistema con el fin de examinar la capacidad de tratamiento.

El montaje que se llevó a cabo para realizar los ensayos, se basó en la absorción del CO₂ contenido en el biogás, con una solución de NaOH al 0,1N y fenolftaleína como indicador, con fundamento en caracterizaciones del influente queda sin influencia las trazas que pudieran existir de H₂S, finalmente esto nos asegura una buena estimación que el gas que estamos evaluando sea el CH₄.

Los experimentos permitieron evaluar la influencia de la temperatura a 30, 37 y 40°C en la producción del biogás, resultando, que a medida que se incrementó la temperatura, la eficiencia de remoción de la DQO, aumentó al igual que los resultados de AME. Se realizaron cuatro pruebas, manteniendo las condiciones y se obtuvo en promedio que, a la mayor temperatura, es decir 40°C, se removió el 97,6% de la materia orgánica y una actividad metanogénica de 1,197 mL CH₄ / g_{SSV} · d

Palabras claves: actividad metanogénica, metano, anaerobio, temperatura, biogás

INDICE

I.- Introducción.....	1
II.- Objetivos.....	2
III.- Marco teórico	
Historia de la digestión anaerobia.....	3
Reactores anaerobios.....	8
Digestión anaerobia.....	9
Mecanismos de la digestión anaerobia.....	14
Factores que controlan el proceso de la digestión.....	29
Parámetros indicadores del curso de la digestión.....	40
Actividad metanogénica.....	45
IV.- Metodología.....	53
V.- Resultados y discusión.....	60
VI.- Conclusión.....	73
VII.- Bibliografía.....	74

I.- INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso vital para el desarrollo de las especies en la tierra. Hoy en día, es un problema de carácter mundial, ya que está asociado a la falta de disponibilidad por el incremento en la demanda para el consumo humano y se está transformando en un recurso limitante que debe preservarse, considerando que es un derecho fundamental que debemos proteger para las generaciones futuras.

La descarga de aguas contaminadas por la actividad humana o industrial, sin tratamiento previo o inadecuado, es una de las principales causas de contaminación de los cuerpos de agua superficiales (ríos, embalses, lagos), subterránea y marina, porque impactan en la degradación de los ecosistemas asociados. Esta contaminación, se traduce en el aumento de una cadena de contaminantes que puede provocar el deterioro de la vida acuática en ese medio receptor y adicionalmente en la limitación del recurso para los seres humanos.

En la actualidad existen normativas y leyes ambientales que rigen la descarga de las aguas residuales a los cuerpos receptores, con el objetivo de regular y preservar el recurso hídrico. Para depurar el agua residual, existen diferentes alternativas tecnológicas, entre las cuales se dispone de la digestión anaerobia como opción en el tratamiento de efluentes líquidos.

La eficiencia de la digestión anaerobia es un proceso biológico sensible a los factores ambientales que tienen una importancia vital en el funcionamiento y control del proceso para la depuración de los efluentes, por lo que se hace necesario verificar la influencia de la temperatura en la eficiencia de este tipo de tratamiento, con el objetivo de lograr una mayor degradación de materia orgánica en el agua residual y así mejorar la descontaminación del recurso hídrico.

La determinación de la actividad metanogénica específica (AME) es garante de la eficiencia de los reactores anaerobios, debido a que es la medida directa de la degradación de la materia orgánica en biogás.

El ensayo de AME consiste en evaluar la capacidad de los microorganismos metanogénicos en convertir substrato orgánico en CH_4 y CO_2 . De esta forma, a partir de cantidades conocidas de biomasa (sólidos suspendidos volátiles, SSV), bajo condiciones establecidas, se puede evaluar la producción de CH_4 a lo largo de un periodo de tiempo.

El interés del presente trabajo es determinar el efecto de la temperatura en el comportamiento de los microorganismos metanogénicos, en un reactor anaerobio, operando de modo continuo con recirculación; registrando los resultados obtenidos en el ensayo de AME para determinar la temperatura óptima del sistema.

II.- OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Analizar la influencia de la temperatura en la actividad metanogénica específica (AME) de un lodo anaerobio a través de la producción de biogás.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1** Implementar la metodología del ensayo de la AME
- 2.2.2** Realizar diferentes ensayos de AME variando la temperatura del lodo anaerobio
- 2.2.3** Determinar la relación entre la producción de biogás y la temperatura de cada ensayo
- 2.2.4** Determinar la eficiencia de la degradación de la materia orgánica por comparación respecto a la variación en la temperatura

III.- MARCO TEÓRICO

3.1 Historia de la digestión anaerobia

La primera descripción sobre la producción de metano en la naturaleza fue hecha por Volta en 1.776, quien lo definió como “el gas de los pantanos”. Un siglo después, se demostró la producción de este gas en el intestino grueso de los reos recién ejecutados, así como en el estómago de los rumiantes [Zehnder, 1988]. En 1868, Bechamp, a través de la realización de experimentos con heces de conejo, observó que la producción de metano es debida a la acción de microorganismos. A finales del siglo XIX, Popoff, VanSenus y Omelianski realizaron estudios detallados sobre la producción microbiológica de metano, encontrando que la metanogénesis es un proceso derivado del rompimiento de materiales poliméricos, dependiente de la temperatura [McCarty, 1982]. En la última década del siglo XIX y comienzos del siglo XX, se desarrollaron varios sistemas muy conocidos: el tanque séptico y el tanque Imhoff, en los cuales los sólidos presentes sedimentan para ser degradados anaerobiamente en el fondo del reactor. El diseño del tanque de digestión, en estos reactores, estaba ligado a la cámara de sedimentación.

En la siguiente tabla, se resume en orden cronológico el desarrollo histórico de la digestión anaerobia.

Tabla 1. Resumen histórico de la digestión anaerobia

Año	DESCRIPCIÓN	País
1.876	Tanque séptico	EEUU
1.881	Digestor anaerobio "Pozo automático Mouras"	Francia
1.890	Primera aplicación del filtro anaerobio	Inglaterra
1.892	Reducción del lodo a ser manejado	EEUU
1.895	Tanque séptico "Mouras modificado"	Inglaterra
1.904	Cámaras de hidrólisis	*
1.905	Tanque Imhoff	Alemania
1.914	Cantidad de ciudades implementaron el tanque Imhoff	EEUU

A continuación, se muestran los esquemas de digestión anaerobia clásicos.

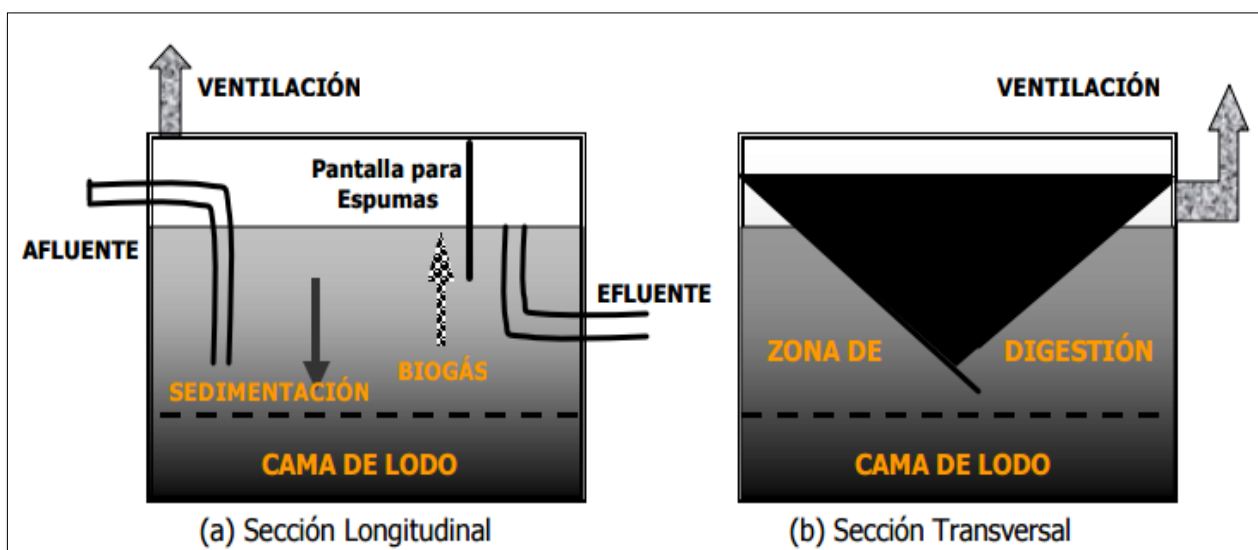


Figura 1. Esquemas de los sistemas clásicos: (a) Tanque séptico; (b) Tanque Imhoff
[Rodríguez 2000]

En desarrollos posteriores, los sólidos acumulados eran bombeados a un digestor con calentamiento, y fue en el año 1927 que se desarrolló y usó el primer aparato de calentamiento de lodos, con resultados altamente eficientes.

El tratamiento primario con digestión anaerobia de los sólidos removidos fue ampliamente aplicado entre las dos guerras mundiales, en muchas ciudades el biogás producido era purificado y comprimido para ser utilizado como combustible de automotores.

Debido a la baja remoción de materia orgánica, así como a los largos periodos de tiempo que requerían los sistemas anaerobios, a partir del año 1945, empieza la utilización masiva de sistemas aerobios, especialmente lodos activos y filtros percoladores. La alta eficiencia de estos sistemas en cuanto a remoción de materia orgánica expresada en términos de DBO (90 a 95%), comparada con la obtenida en los procesos anaerobios (30 a 50%) hacían a estos últimos poco competitivos. En la actualidad, se reconoce que la baja eficiencia de estos sistemas se relaciona con un pobre contacto entre la masa bacteriana presente y el material suspendido y disuelto [Van Haandel, 1994].

A partir de la década de los años 70 fue plenamente reconocida la importancia del contacto entre el lodo y el sustrato, lo cual permitió el desarrollo de nuevas configuraciones de reactores y demostró que estos procesos pueden alcanzar eficiencias de remoción de materia orgánica comparables con las de los procesos aerobios. En términos generales, se registran tres generaciones de reactores anaerobios, las cuales se caracterizan porque en cada generación se reduce el tiempo de retención hidráulico (TRH) y mejora el contacto entre el lodo y el sustrato, lo cual significa menores volúmenes

de reactor, costos más bajos, sistemas más estables y de más fácil operación [Díaz-Báez, 2002; van Haandel, 1994]:

3.1.1 Reactores de primera generación: el tiempo de retención celular es igual al TRH, por lo que se requieren TRH muy altos, existe un contacto inadecuado entre la biomasa y la materia orgánica, tipo: Lagunas Anaerobias, Tanque Séptico, Tanque Imhoff (ver Figura a).

3.1.2 Reactores de segunda generación: se caracterizan por el hecho de que tienen mecanismos para retención de los lodos, independizando el tiempo de retención celular del TRH. Los dos mecanismos más aplicados son a) inmovilización del lodo por adhesión a material sólido como los filtros anaerobios de flujo ascendente y descendente; b) separación líquido-sólido del efluente, con el retorno de los sólidos separados al reactor tipo UASB, el cual usa un sedimentador interno (ver Figura b).

3.1.3 Reactores de tercera generación: para optimizar el contacto entre el sustrato y la biomasa, esta se adhirió con partículas de arena, alúmina o plástico, las cuales se expanden como los Reactores de lecho fluidizado o expandido (ver Figura c).

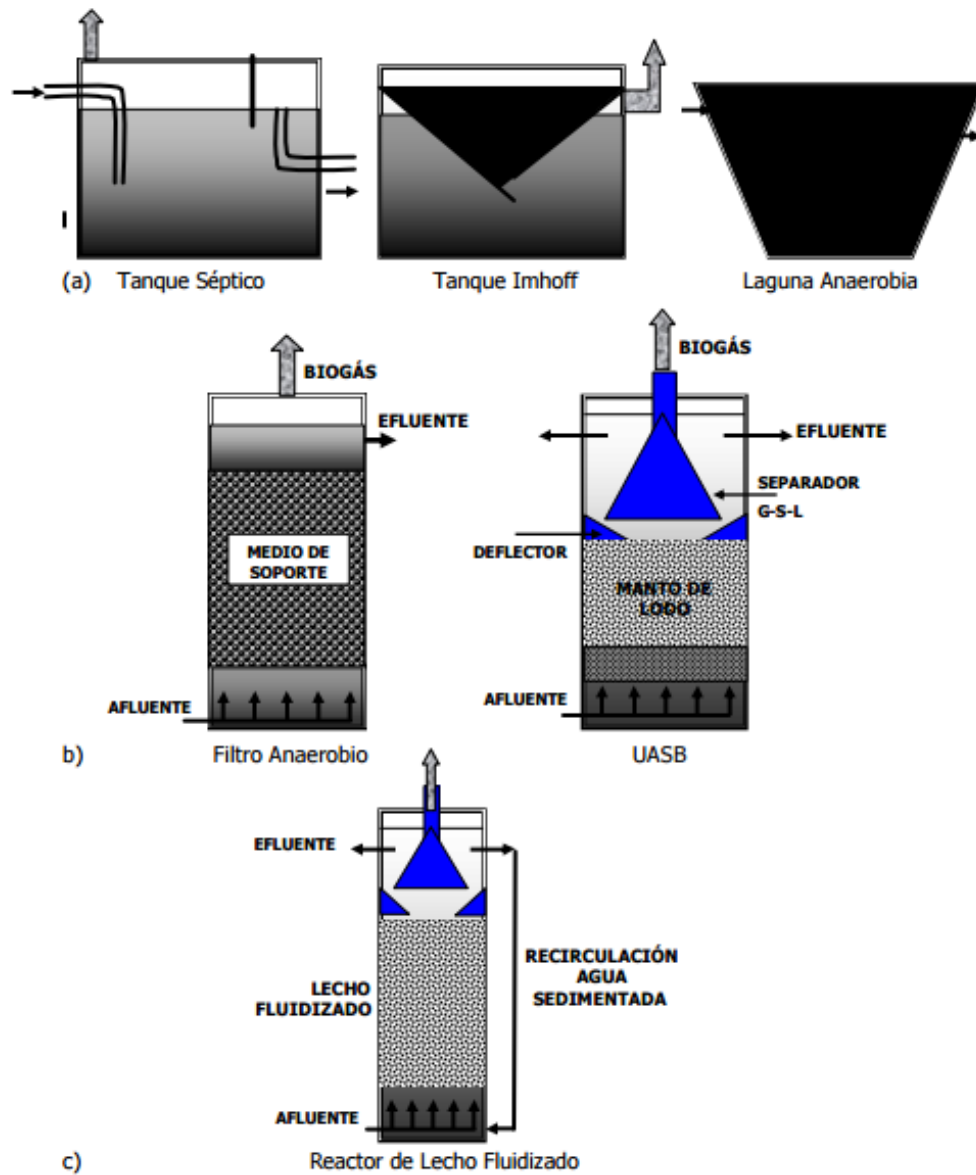


Figura 2. Sistemas anaerobios de primera, segunda y tercera generación [Rodríguez]

3.2 Reactores anaerobios

Los diseños utilizados para digestión anaerobia pueden clasificarse en función de su capacidad para mantener altas concentraciones de microorganismos en el reactor, siguiendo diferentes métodos. El reactor más simple es el de mezcla completa (RMC, CSTR en inglés), y es el más utilizado para residuos.

3.2.1 Reactor de mezcla completa sin recirculación

Consiste en un reactor en el que se mantiene una distribución uniforme de concentraciones, tanto de sustrato como de microorganismos. Esto se consigue mediante un sistema de agitación. Ésta puede ser mecánica (agitador de hélice o palas, de eje vertical u horizontal) o neumática (recirculación de biogás a presión), y nunca violenta. Esta tipología de reactor no ofrece problemas de diseño y es el más utilizado para residuos. Comparativamente a otros reactores, el tiempo de retención necesario es alto, debido a que la concentración de cualquier especie, que se mantiene en el reactor en régimen estacionario, es la misma que la que se pretende en el efluente. Si la velocidad de reacción depende de la concentración, como es el caso de los procesos biológicos, la velocidad será baja, y la forma de compensarla es aumentando el tiempo de reacción.

3.2.2 Reactor de mezcla completa con recirculación

Este sistema tiene el nombre de reactor anaerobio de contacto y sería equivalente al sistema de lodos activos aerobios para el tratamiento de aguas residuales. Se comprueba que regulando la recirculación es posible conseguir tiempos de retención hidráulica más bajos que en un reactor simple de mezcla completa. Esto es a costa de aumentar el tiempo de retención de los microorganismos, gracias a su confinamiento en el sistema mediante la separación en el decantador y recirculación. Debido a la necesaria separación de microorganismos en el decantador, este sistema sólo es aplicable a aguas residuales de alta carga orgánica (aguas residuales de azucareras, cerveceras, etc.), para las que sea posible una separación de fases líquido-sólido, con la fracción sólida consistente básicamente en flóculos biológicos. Antes del decantador se debe disponer de un sistema de desgasificación, sin el cual la decantación se puede ver impedida.

3.3 Digestión Anaerobia

La descomposición anaerobia conduce a la degradación de la materia orgánica y su transformación, en ausencia de oxígeno libre, en compuestos más simples como metano y dióxido de carbono.

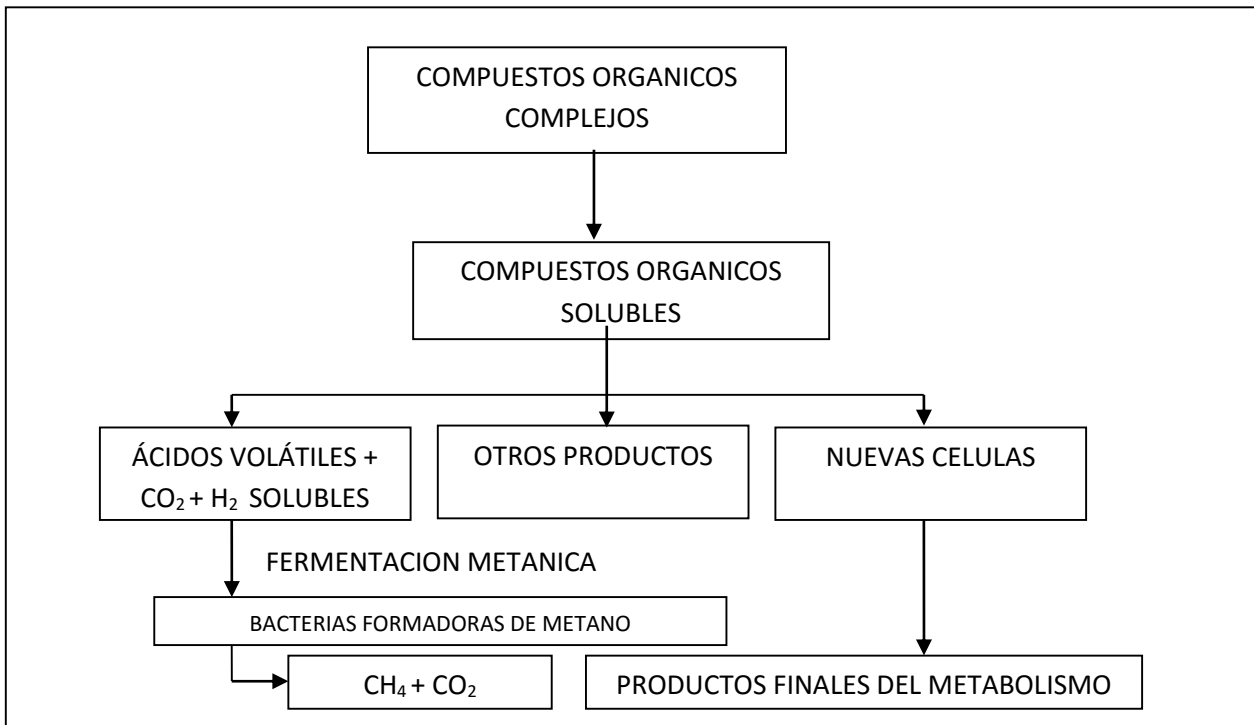


Figura 3. Secuencia de procesos de la digestión anaerobia

Se trata de un proceso complejo que es consecuencia de muchas reacciones diferentes, tal como se esquematiza en la figura 3. La principal aplicación de este tratamiento se halla en la estabilización de lodos con alto contenido de materia orgánica, así como en el tratamiento de residuales de alta carga. Sin embargo, a través de los años se han desarrollado nuevas tecnologías basadas en el propio metabolismo anaerobio que facilitan el tratamiento ya no solo de los lodos, sino que pueden ser tratados exitosamente residuales orgánicos diluidos.

Los microorganismos causantes de la descomposición anaerobia generalmente son clasificados en dos grandes grupos. El primer grupo hidroliza y transforma los compuestos orgánicos en ácidos volátiles, de los cuáles los más comunes son el acético y el propiónico. El segundo grupo convierte los ácidos volátiles formados en CH_4 y CO_2 .

Ambos grupos de microorganismos son necesarios para la descomposición anaerobia. Las bacterias formadoras de ácido no son capaces de producir CH_4 y las formadoras de metano no pueden por sí mismas descomponer la materia orgánica original en compuestos más sencillos.

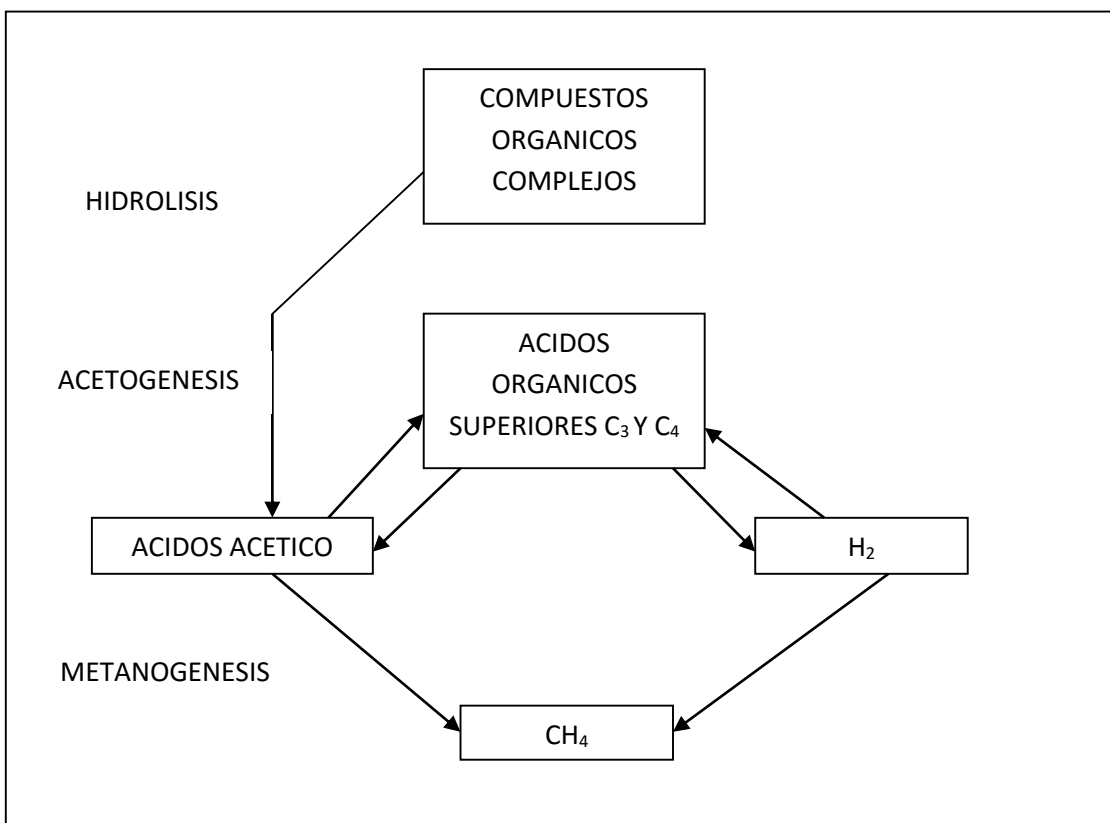


Figura 4. Mecanismo de la digestión anaerobia

Analizando en mayor detalle la descomposición de la materia orgánica, puede plantearse que, mediante la acción hidrolítica, los microorganismos degradan los polímeros como los polisacáridos y proteínas, a monómeros. Posteriormente estos monómeros son convertidos en ácidos volátiles. Finalmente es que se produce la formación de CH_4 y CO_2 .

Los estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora, dividen el proceso de descomposición anaerobia de la materia orgánica en cuatro fases o procesos:

- Hidrólisis
- Acidogénesis
- Acetogénesis
- Metanogénesis

La primera fase es la hidrólisis de partículas y molécula complejas (proteínas de carbono y lípidos) que son hidrolizadas por enzimas extracelulares producidas por los microorganismos acidogénicos o fermentativos. Como resultado se producen compuestos solubles más sencillos (aminoácidos, azúcares y ácidos grasos de cadena larga) que son fermentados por las bacterias acidogénicas dando lugar, principalmente, a ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, hidrógeno, dióxido de carbono y otros productos intermedios. Los ácidos grasos de cadena corta son transformados en ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono, mediante la acción de los microorganismos acetogénicos. Por último, los microorganismos metanogénicos producen CH_4 a partir de acético, H_2 Y CO_2 .

En la figura 5, se muestra esquemáticamente las distintas fases del proceso de digestión anaerobia, los microorganismos que intervienen en cada una de ellas y los productos intermedios generados.

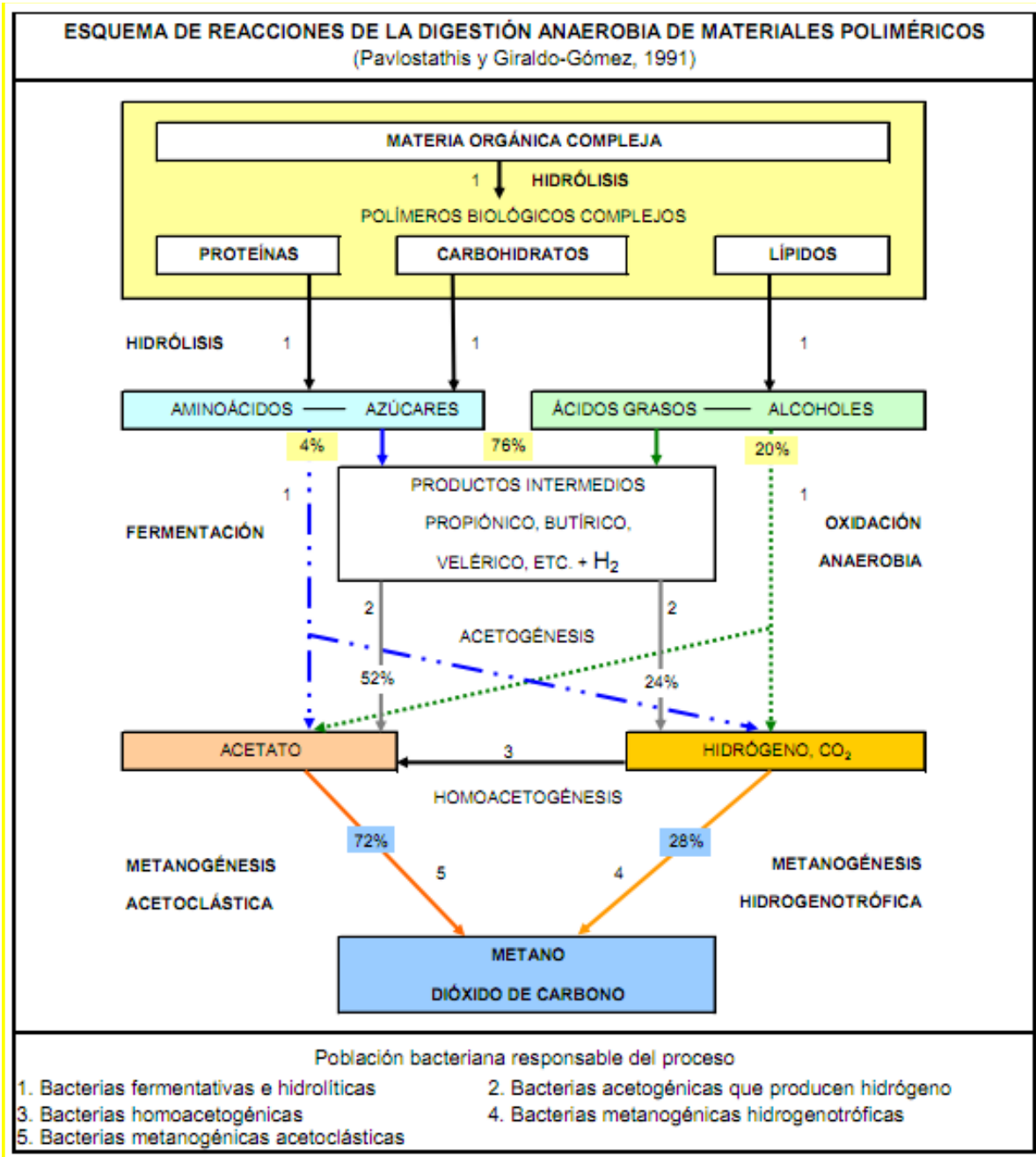


Figura 5. Conjunto de reacciones que producen la digestión anaerobia. [Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991]

3.4 Mecanismos de la digestión anaerobia

3.4.1 Hidrólisis

La hidrólisis de la materia orgánica polimérica a compuestos solubles o monómeros es el paso inicial para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos, ya que los microorganismos únicamente pueden utilizar materia orgánica soluble que pueda atravesar su pared celular. Por tanto, es el proceso de hidrólisis el que proporciona sustratos orgánicos para la digestión anaerobia. Como ya se ha comentado, la hidrólisis de estas moléculas complejas es llevada a cabo por la acción de enzimas extracelulares producidas por los microorganismos hidrolíticos.

La etapa hidrolítica puede ser el proceso limitante de la velocidad global del proceso sobre todo cuando se tratan residuos con alto contenido en sólidos (Pavlosthatis y Giraldo Gómez, 1991). Además, la hidrólisis depende de la temperatura del proceso, del tiempo de retención hidráulico, de la composición del sustrato (porcentaje de lignina, carbohidratos, proteínas y grasas), del tamaño de partículas, del pH, de la concentración de NH_4^+ y de la concentración de los productos de la hidrólisis (Speece, 1983).

Cualquier sustrato se compone de tres tipos básicos de macromoléculas: hidratos de carbono, proteínas y lípidos:

Las *proteínas* constituyen un sustrato muy importante en el proceso de digestión anaerobia ya que además de ser fuente de carbono y energía, los aminoácidos derivados de sus hidrólisis tienen un elevado valor nutricional. Las proteínas son hidrolizadas en péptidos y aminoácidos por la acción de enzimas proteolíticas llamadas proteasas. Parte de estos aminoácidos son utilizados directamente en la síntesis de nuevo material celular y el resto son degradados a ácidos volátiles, dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y sulfuro en posteriores etapas del proceso.

La degradación de los *lípidos* en ambientes anaerobios comienza con la ruptura de las grasas por la acción de enzimas hidrolíticas denominadas lipasas produciendo ácidos grasos de cadena larga y glicerol. La velocidad de degradación de los materiales lignocelulósicos, compuestos principalmente por lignina, celulosa y hemicelulosa, es tan lenta que suele ser la etapa limitante del proceso de hidrólisis y, por tanto, de la degradación anaerobia de determinados sustratos. Esto es debido a que la lignina es muy resistente a la degradación por parte de los microorganismos anaerobios, afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, de la hemicelulosa y de otros hidratos de carbono. Los principales productos de la hidrólisis de la celulosa son celobiasa y glucosa, mientras que la hemicelulosa produce pentosa, hexosa y ácidos urónicos.

3.4.1.1 Bacterias Hidrolíticas – Fermentativas

Las bacterias que llevan a cabo las reacciones de hidrólisis y acidogénesis son anaerobias facultativas y los géneros más frecuentes que participan son los miembros de la familia Enterobacteriaceae, además los géneros Bacillus, Peptostreptococcus, Propionibacterium, Bacteroides, Micrococcus y Clostridium. Las bacterias con actividad proteolítica son en su mayoría especies de los géneros Clostridium, Peptococcus,

Bifidobacterium y Staphylococcus. Bacterias como Anaerovibrio lipolytica con actividad lipolítica han sido aisladas del rumen; igualmente la Butyrovibrio fibrisolvens hidroliza fosfolípidos cuando crece con azúcares fermentables como fuente de carbono.

3.4.2 Acidogénesis

Las moléculas orgánicas solubles son fermentadas por varios organismos fermentativos formando compuestos que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico, H_2) y compuestos orgánicos más reducidos (láctico, etanol, propiónico, butírico principalmente) que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas a substratos que puedan utilizar las metanogénicas (Stams, 1994). Las proporciones entre los productos de la fermentación varían en función del consumo de H_2 por parte de las bacterias que utilizan hidrógeno. Cuando el H_2 es eliminado de forma eficiente, las bacterias fermentativas no producen compuestos reducidos como el etanol, favoreciendo la producción de H_2 y la liberación de energía en forma de ATP (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). La actividad de algunas bacterias fermentativas y acetogénicas depende de la concentración de H_2 , siendo posible sólo a valores muy bajos de presión parcial de H_2 . La eliminación continua de H_2 mediante oxidación por CO_2 (bacterias metanogénicas hidrogenotróficas) estimula la acción de las bacterias fermentativas, al eliminar un producto de la reacción.

3.4.2.1 Fermentación de carbohidratos solubles

La principal ruta metabólica de degradación de glucosa para formar ácidos orgánicos es la de Embden-Meyerhof, que tiene como principal intermediario el piruvato.

La fermentación de azúcares se realiza por diversos tipos de microorganismos, siguiendo diferentes rutas metabólicas, en función del organismo responsable, y obteniendo productos finales diferentes. Los principales microorganismos son los que producen butírico o butanol, básicamente del género *Clostridium*, que convierten la glucosa y algunos aminoácidos en ácido butírico, acético, CO₂ y H₂. La glucosa se convierte en piruvato mediante la ruta Embden-Meyerhof, y el piruvato se desdobla a Acetil-CoA y CO₂ (Madigan *et al.*, 1998). El Acetil-CoA se reduce en los productos de fermentación empleando como transportador de electrones el NADH derivado de las reacciones glucolíticas de la ruta Embden-Meyerhof. Las proporciones de los diversos productos se modifican por la duración y las condiciones de la fermentación, siendo el butírico y el acético los productos mayoritarios si el pH se mantiene alcalino (Madigan *et al.*, 1998).

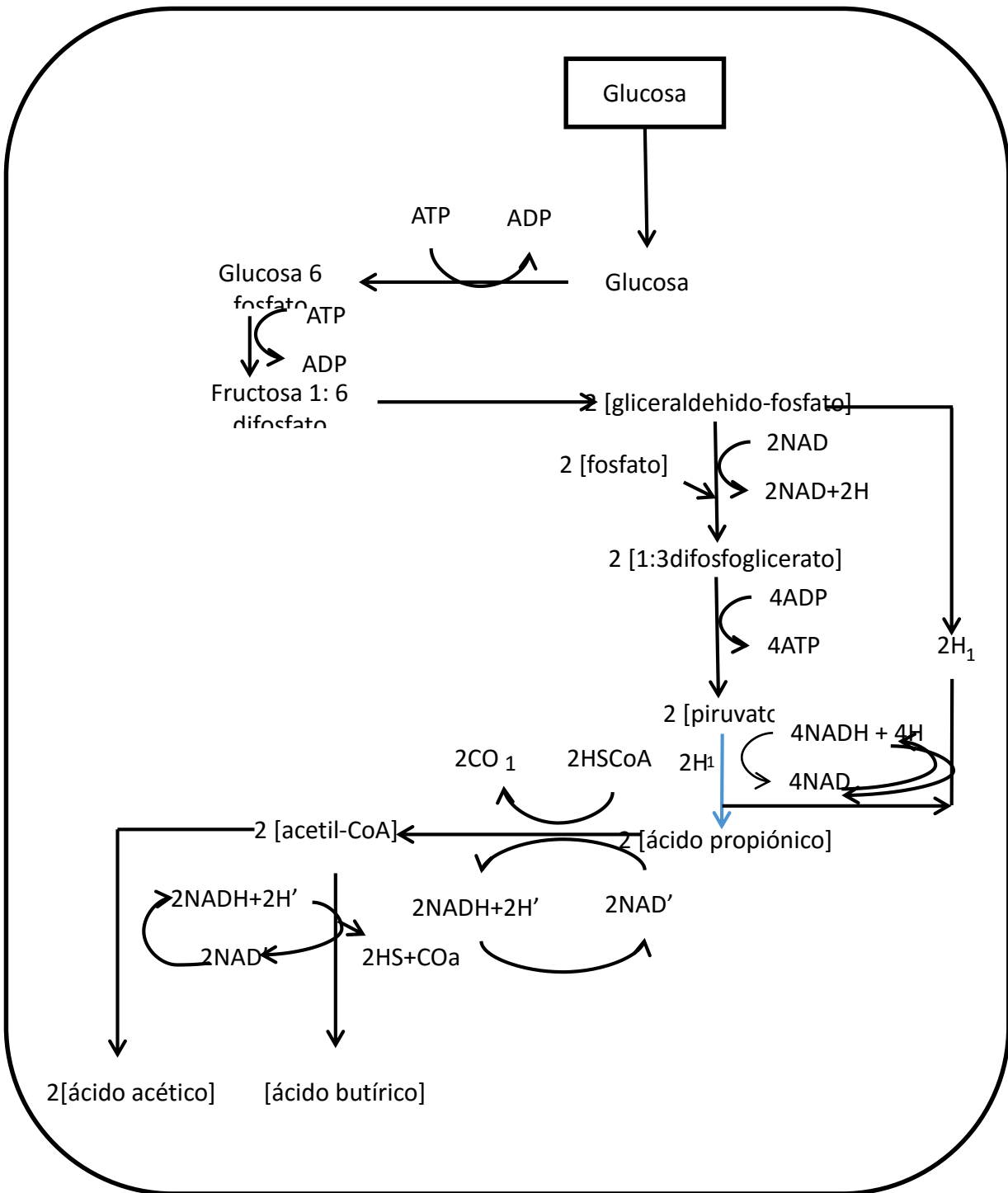


Figura 6. Simplificación de las rutas metabólicas de degradación de la glucosa por las bacterias acidogénicas [Mosey, 1993]

3.4.2.2 Fermentación de aminoácidos

Los principales productos de la fermentación de aminoácidos y de otras moléculas hidrogenadas son ácidos grasos de cadena corta, succínicos, aminovalérico y H₂. La fermentación de aminoácidos se considera un proceso rápido y que, en general, no limita la velocidad de degradación de compuestos proteicos. Las bacterias proteolíticas que mayoritariamente se han identificado, pertenecen al género *Clostridium*, aunque otras especies tales como *Peptococcus* y *Bacteroides* también están presentes. Los productos finales de la oxidación son NH₃, CO₂ y un ácido carboxílico con un átomo de carbono menos que el aminoácido oxidado (n-butírico y ácido isobutírico, isovalérico, caproico, sulfuro de hidrógeno, metilcaptano, cadaverina, putrescina, etc. según el aminoácido del que proceda).

3.4.3 Acetogénesis

Mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H₂ y acético), otros (etanol, ácidos grasos volátiles como vateriato, butirato, propionato, etc. y algunos compuestos aromáticos) deben ser transformados en productos más sencillos, acetato y H₂, a través de las bacterias acetogénicas. Representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini*. Desde el punto de vista termodinámico, estas reacciones no son posibles porque en condiciones estándar (pH=7, T=25 C°, P=1 atm), presentan energías libres de reacción positivas, tal y como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales reacciones acetogénicas

Reacciones acetogénicas	ΔG° (KJ)
Etanol y láctico	
Etanol + H ₂ O → Acetato + H ⁺ + 2H ₂	+9,6
Lactato ¹⁻ + 2H ₂ O → Acetato ¹⁻ + H ⁺ + 2H ₂ + HC ⁻³	4,2
Ácidos Grasos	
Acetato ¹⁻ + 4H ₂ O → H ⁺ + 4H ₂ + 2HCO ₃ ⁻	+104,6
Propionato ¹⁻ + 3H ₂ O → Acetato ¹⁻ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + 3H ₂	+76,1
Butirato ¹⁻ + 2H ₂ O → 2Acetato ¹⁻ + H ⁺ + 2H ₂	+48,1
Valerato ¹⁻ + 3H ₂ O → 3Acetato ¹⁻ + 2H ⁺ + 4H ₂	+96,2
Aminoácidos	
Alanina + 3H ₂ O → Acetato ¹⁻ + HCO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺ + H ⁺ + 2H ₂	+7,5
Aspartato ¹⁻ + 4H ₂ O → Acetato ¹⁻ + 2HCO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺ + H ⁺ + 2H ₂	-14,0
Leucina + 3H ₂ O → Isovalerato ⁻¹ + HCO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺ + H ⁺ + 2H ₂	+4,2
Glutamato ¹⁻ + 4H ₂ O → Propionato ¹⁻ + 2HCO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺ + H ⁺ + 2H ₂	-5,8
Glutamato ¹⁻ + 7H ₂ O → Acetato ¹⁻ + 3HCO ₃ ⁻ + NH ₄ ⁺ + 3H ⁺ + 5H ₂	+70,3

Sin embargo, a presiones parciales de H_2 bajas (del orden de 10,4 – 10,5 atm), estas reacciones pasan a ser termodinámicamente favorables y la variación de energía libre es suficiente para permitir la síntesis de ATP y el crecimiento bacteriano. Por tanto, el principal inhibidor de la acetogénesis, cuya acumulación provoca la rápida acumulación de sustratos, es la acumulación de hidrógeno molecular. Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos. Este tipo de bacterias son capaces de crecer heterotróficamente en presencia de azúcares o compuestos monocarbonados (como la mezcla H_2/CO_2) produciendo como único producto acetato. Al contrario que las bacterias acetogénicas, éstas no producen hidrógeno como resultado de su metabolismo, sino que lo consumen como sustrato. En el presente trabajo, puesto que se busca maximizar la producción de metano, son estas las bacterias de las cuales se pretende optimizar el crecimiento.

3.4.3.1 Bacterias Acetogénicas

Para que tenga lugar una eficiente metanogénesis, los productos de fermentación como el propionato y el butirato deben ser oxidados a acetato, CO_2 y H_2 , esta oxidación es llevada a cabo por un grupo denominado “organismos acetógenos productores obligados de hidrógeno (OHPA)”, mediante un proceso conocido como acetogénesis. Aunque la mayoría de este tipo de reacciones consume energía, en ambientes anaerobios donde la energía disponible es baja, el acoplamiento de la actividad de las bacterias OHPA con las bacterias consumidoras de H_2 (metanógenos hidrogenofilicos) permite un balance energético favorable. Este último grupo, consume el hidrogeno generado por las OHPA manteniendo una presión parcial de H_2 a un nivel adecuado para que termodinámicamente pueda darse la conversión de los ácidos grasos volátiles (AGV) a acetato e hidrógeno. Esta asociación se conoce como “relación sintrófica” o “transferencia interespecífica de hidrógeno”. Solamente un limitado número de especies del grupo OHPA han sido aisladas; probablemente existan más, pero aún no son conocidas.

Dentro de las especies aisladas se pueden mencionar:

- *Syntrophomonas sapovorans*
- *Syntrophobacter wolinii*
- *Syntromonas wolfei*
- *Syntrophospara bryantii*
- *Syntrophus buswellii*

Dentro del grupo de acetógenos existe un grupo de bacterias conocidas como “bacterias homoacetogénicas” las cuales son anaerobias obligadas y utilizan el CO₂, como aceptor final de electrones, produciendo acetato como producto único de la fermentación anaerobia. Aunque este grupo no es un grupo taxonómico definido, en el se incluyen una variedad de bacterias Gram (+) y Gram (-) formadoras de esporas como: *Clostridium aceticum*, *Clostridium formicoaceticum* y *Acetobacterium woodii* (Díaz-Báez, 2002).

3.4.4 Metanogénesis

Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores. Las bacterias metanogénicas sintetizan el metano a partir de substratos como: acetato, H₂, CO₂. Los organismos metanogénicos se clasifican dentro del dominio Archaea, y, morfológicamente, pueden ser bacilos cortos y largos, cocos de varias ordenaciones celulares, células en forma de placas y metanógenos filamentosos, existiendo tanto Gram positivos como Gram negativos. Se pueden establecer dos

grandes grupos de microorganismos, en función del substrato principal, dividiéndose en los hidrogenofílicos, que consumen hidrógeno, y los acetoclásticos, que consumen acetato. La mayoría de los organismos metanogénicos son capaces de utilizar el H₂ como aceptor de electrones, mientras que sólo dos géneros son capaces de utilizar el acetato. A pesar de ello, en ciertos ambientes anaerobios, éste es el principal precursor del metano, considerándose que alrededor del 70% del metano producido en los reactores anaerobios se forma a partir de acetato.

Tabla 3. Principales reacciones metanogénicas y otras consumidoras de hidrógeno
[Stams, 1994]

<u>Reacciones Hidrogenotróficas</u>	<u>ΔG°' (KJ)</u>
$4H_2 + H^+ + 2HCO_3^- \rightarrow \text{Acetato} + 4H_2O$	-104.6
$4H_2 + 4S^0 \rightarrow 4HS^- + 4H^+$	-112
$4H_2 + 2HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-135.6
$4H_2 + 4SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$	-151.9
$4H_2 + 4\text{fumarato} \rightarrow 4\text{succinato}$	-344.6
$4H_2 + NO_3^- + 2H^+ \rightarrow NH_4^+ + 3H_2O$	-599.6
<u>Interconversión formato-hidrógeno</u>	
$H_2 + HCO_3^- \rightarrow \text{formato} + H_2O$	-1.3
<u>Metanogénesis acetoclástica</u>	
$\text{Acetato} + H_2O \rightarrow HCO_3^- + CH_4$	-31.0
<u>Metanogénesis a partir de otros substratos</u>	
<i>Fórmico</i> $4HCOOH \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$	
<i>Metanol</i> $4CH_4OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$	

<i>Trinsetil-amina</i> $4(\text{CH}_3)_3\text{N} + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 9\text{CH}_4 + 3\text{CO}_2 + 4\text{NH}_3$	
<i>Dinsetil-amina</i> $2(\text{CH}_3)_2\text{NH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{NH}_3$	
<i>Monometil-amina</i> $4(\text{CH}_3)\text{NH}_2 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 4\text{NH}_3$	

3.4.4.1 Bacterias Metanogénicas

Las bacterias metanogénicas pertenecen al grupo actualmente conocido como Archaeaea, cuyos miembros presentan características diferentes a las encontradas en Bacteria. Estas características están relacionadas fundamentalmente con la composición química de algunas estructuras celulares. Las bacterias metanogénicas son anaerobias estrictas y producen metano como principal producto del metabolismo energético. A pesar de los requerimientos estrictos de anaerobiosis obligada y el metabolismo especializado de este grupo, estas bacterias se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. La actividad metanogénica es mucho mayor en ecosistemas de aguas dulces y terrestres, la menor actividad detectada en océanos, se debe a la alta concentración de sulfatos, condición que favorece la sulfato reducción en sedimentos marinos [Zinder, 1998].

Con base en el tipo de sustrato utilizado, las bacterias metanogénicas se subdividen en tres grupos:

- **Grupo 1:** utiliza como fuente de energía H_2 formato y ciertos alcoholes, el CO_2 es el aceptor final de electrones el cual es reducido a metano.

- **Grupo 2:** utiliza una amplia variedad de compuestos que tienen el grupo metilo. Algunas de las moléculas son oxidadas a CO_2 , el cual actúa con aceptor final de electrones y se reduce directamente a metano.
- **Grupo 3:** aunque la mayor parte del metano que se genera en la naturaleza proviene del rompimiento del acetato, la habilidad de catabolizar este sustrato está limitada a los géneros: Methanosarcina y Methanosaeta (Methanotrix). Es frecuente encontrar en reactores anaerobios, una competencia por el acetato entre estos dos géneros, sin embargo, las bajas concentraciones de acetato que usualmente predominan al interior de los reactores favorece el crecimiento de las Methanosaeta [Díaz-Báez, 2002].

3.4.5 Sulfato reducción

El sulfato reducción es el proceso durante el cual el sulfato se reduce a sulfuro de hidrógeno, mediante la participación de las bacterias sulfato reductoras (BSR) (ver Figura 7).

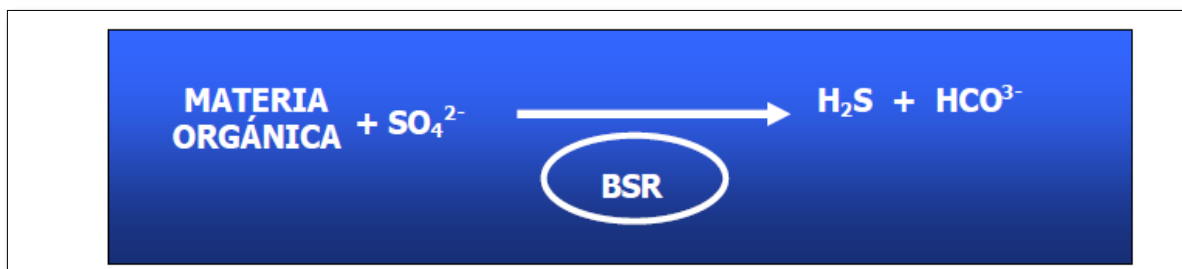


Figura 7. Reducción biológica del Sulfato [Rodríguez, 2000]

Durante la degradación anaerobia de la materia orgánica, puede ocurrir que las BSR utilicen el sulfato como aceptor de electrones, aunque pueden utilizar también compuestos como el tiosulfato, el tetracionato y el azufre elemental. Los donadores de electrones más utilizados por las BSR son H_2 , lactato, piruvato entre otros. Las BSR son anaerobios estrictos, ampliamente distribuidas en ambientes acuáticos y terrestres, cumplen un importante papel en las etapas finales de la degradación de la materia orgánica, especialmente en la remoción de los sulfatos presentes en el influente. Pueden crecer en presencia o ausencia de sulfatos, utilizando vías metabólicas diferentes; una fermentativa y la otra oxidativa.

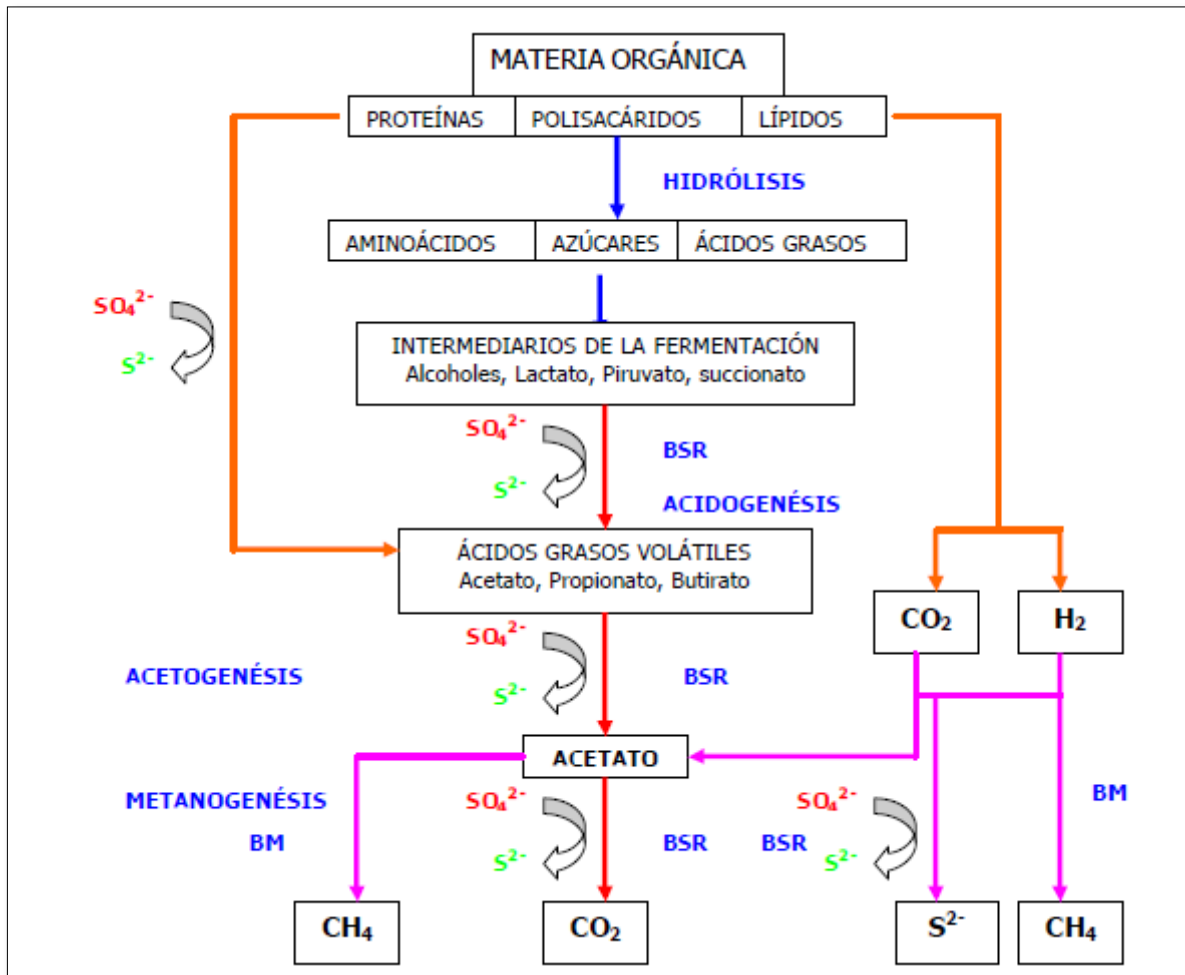


Figura 8. Sulforeducción en la degradación de la materia orgánica [Gibson, 1990]

En presencia de sulfatos las BSR compiten con las bacterias metanogénicas (BM) por sustratos comunes como: formato e hidrógeno, con las bacterias acetogénicas (BA) por componentes como propionato y butirato. Esto no significa que la metanogénesis y la sulfato reducción sean excluyentes, pues pueden ocurrir simultáneamente cuando el metano se genera a partir del metanol y/o aminas metiladas, sustratos por los cuales las BSR tienen poca afinidad. Los reactores anaerobios operan a valores umbrales para el consumo de hidrógeno por la población metanogénica. Sin Embargo, el valor umbral de

las BSR es más bajo, por lo que, en presencia de sulfato, el hidrógeno es consumido principalmente por las BSR. Esta población tiene ventajas cinéticas frente a las BM que favorecen su proliferación al interior de los reactores. En reactores anaerobios con alta concentración de sulfato, las BRS también compiten con las BA por sustratos como propionato y butirato, por lo que la relación sintrófica entre las BM y BA para la oxidación de estos compuestos es superada por las BSR. En ausencia de sulfato, las BSR pueden constituir el 15% del total de la biomasa presente en el reactor anaerobio. Bajo estas condiciones fermentan sustratos como: piruvato, lactato, etanol, fructuosa, propanol y acetato entre otros, y crecen como organismos acetogénicos [Díaz-Báez, 2002].

En general, durante la degradación anaerobia de la materia orgánica, la sulfato reducción puede interferir con la metanogénesis, generando problemas como [Elferink, 1994]:

- Competencia entre las BSR y las BM, por sustratos comunes y la consecuente disminución en la producción de metano
- Inhibición de varios grupos bacterianos por la presencia de H_2S
- Toxicidad generada por el H_2S , malos olores y corrosión

A pesar de los problemas que ocasiona el sulfato reducción al interior de los reactores anaerobios, este proceso puede presentar algunas ventajas (Elferink, 1994):

- ✓ Contribuye a mantener un bajo potencial de óxido-reducción en el sistema
- ✓ Constituye un método biotecnológico para la remoción de sulfato
- ✓ Los complejos Metal-S²⁻ tienen baja solubilidad, propiedad que puede ser utilizada para la precipitación de metales pesados como Co, Ni, Pb, y Zn

3.5 Factores que controlan el proceso de digestión

Los factores que controlan los procesos de digestión pueden clasificarse en dos grandes grupos: básicos y ambientales.

3.5.1 Factores Básicos

Dentro de los factores básicos que intervienen en el control de los procesos anaerobios se destacan:

- Bacterias
- Sustrato
- Tiempo de retención

3.5.1.1 Bacterias

Las formadoras de metano son las bacterias clave en la digestión anaerobia. Crecen más lentamente y son más sensibles a los cambios ambientales que las formadoras de ácido. La fermentación metánica es la etapa limitante de la digestión. Las formadoras de metano son bacterias estrictamente anaerobias y, por tanto, subsisten en completa ausencia de oxígeno molecular. Estas bacterias son poco abundantes en un medio dado, como consecuencia de que la mayor fracción de la energía que se libera en los procesos de oxidación anaerobia queda asociada al CH_4 que se forma, por lo que resta menos energía para ser utilizada en el crecimiento.

3.5.1.2 Sustrato

El sustrato para las bacterias está constituido por los compuestos orgánicos a ser estabilizados. Los compuestos orgánicos que se someten a digestión anaerobia comúnmente son de estructura muy compleja, que como ya fue mencionado, son transformados a través de sucesivas etapas hasta la obtención de los productos finales, constituidos fundamentalmente por CH_4 , CO_2 y otros compuestos estables y de bajo contenido energético. El menor crecimiento de las bacterias anaerobias comparadas con el de las aerobias para igual cantidad de sustrato consumido causa menor requerimiento de nutrientes. Los sistemas anaerobios producen aproximadamente 20 % menos lodo que los aerobios para el mismo sustrato, y los requerimientos de nutrientes decrecen en la misma proporción. Se han reportado relaciones DQO:N tan altas como 700:5.

3.5.1.3 Tiempo de retención

En el análisis del tiempo como factor que interviene en el control de los procesos anaerobios, hay que considerar tanto la edad del lodo como el tiempo de retención hidráulico. La edad del lodo tiene mucha aplicación en el diseño y control de los reactores completamente mezclados, pero en película fija o reactores en los que la biomasa no es homogénea no tiene uso. Esto se debe a la dificultad práctica de medir la concentración de sólidos suspendidos volátiles (SSV) dentro del reactor. El tiempo de retención hidráulico para la estabilización anaerobia depende de la temperatura y la edad del lodo. Actualmente se conoce que los digestores pueden operar con tiempos de retención de hasta de un día o menos en la medida que la edad del lodo sea mayor que un cierto valor crítico. Esta edad del lodo crítica es el tiempo por debajo del cual la digestión se inhibe como resultado del lavado de las bacterias, cuyo crecimiento es lento.

3.5.2 Factores ambientales

Los factores ambientales para el control de la digestión anaerobia, al igual que los básicos, han de ser tomados en cuenta además para el diseño. Entre los más importantes se destacan:

- Temperatura
- pH
- Sustancias tóxicas

3.5.2.1 Temperatura

El crecimiento de las bacterias metanogénicas es lento en comparación con la mayoría de los otros microorganismos. El tiempo requerido por estas bacterias para regenerar es función de la temperatura. A 35 °C algunas especies requieren cuatro días para duplicar su número, mientras que otras necesitan diez días o más. Una disminución de la temperatura implica un mayor tiempo de regeneración. Intervalos de temperatura de interés pueden ser los correspondientes con óptimo entre 28 y 33 °C, con óptimo entre 50 y 60 °C). Considerando la producción de gas como indicador de la degradación de los compuestos orgánicos, podría decirse que el intervalo termófilo es superior. De hecho, pueden obtenerse resultados similares con tiempos de retención hidráulico de 7 a 14 días en el intervalo termófilo, a los que se obtienen en el mesófilo con retenciones de 30 días. No obstante, la ventaja de trabajar en el intervalo mesófilo en los países tropicales radica en el hecho que no es necesario el uso del calentamiento para mantener la temperatura dentro de los valores del intervalo. Harris y Dague, 1968, han reportado la posibilidad de incrementos notables de la carga de los filtros anaerobios a 56 °C con resultados de eficiencia de remoción similares a los alcanzados a 32 °C con la mitad de la carga.

Existen tres rangos de temperatura en los que pueden trabajar los microorganismos anaerobios: psicrófilico (por debajo de 25°C), mesófilico (entre 25 y 45°C) y termófilico (entre 45 y 65°C), siendo la velocidad máxima específica de crecimiento (μ_{max}) mayor conforme aumenta el rango de temperaturas. Dentro de cada rango de temperatura, existe un intervalo para el cual dicho parámetro se hace máximo, determinando así la temperatura de trabajo óptima en cada uno de los rangos posibles de operación.

Hasta el momento, el rango psicrófilico ha sido poco estudiado y, en general, se plantea como poco viable debido al gran tamaño del reactor necesario. Sin embargo, presenta menores problemas de estabilidad que en los otros rangos de operación.

El régimen mesofílico de operación es el más utilizado a pesar de que en la actualidad se está utilizando cada vez más el rango termofílico para conseguir una mayor velocidad del proceso. Sin embargo, el régimen termofílico suele presentar mayores problemas de inhibición del proceso por la mayor toxicidad de determinados compuestos a elevadas temperaturas, como el nitrógeno amoniacal o los ácidos grasos de cadena larga.

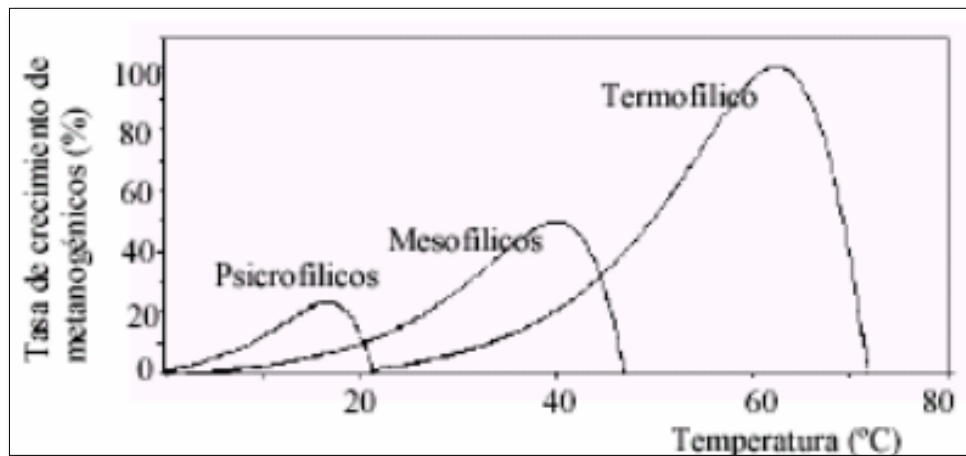


Figura 9. Influencia de la temperatura en la tasa de crecimiento de los organismos metanogénicos [Ortiz, 2011]

La temperatura del proceso actúa también sobre aspectos físico-químicos del mismo. La solubilidad de los gases generados desciende al aumentar la temperatura, favoreciéndose la transferencia líquido-gas. Esto supone un efecto positivo para el caso

de gases tales como NH_3 , H_2 y H_2S , dada su toxicidad sobre el crecimiento de los microorganismos anaerobios. Una posible desventaja de este fenómeno es que el descenso de la solubilidad del CO_2 provocaría un aumento del pH, lo que generaría, en fangos de elevada concentración de amonio, posibles situaciones de inhibición por NH_3 . Por otra parte, la solubilidad de la mayoría de las sales aumenta con la temperatura de manera que la materia orgánica es más accesible para los microorganismos aumentando así la velocidad del proceso. Por último, la viscosidad de sólidos y semisólidos disminuye al aumentar la temperatura lo que implica menores necesidades de agitación.

3.5.2.2 Potencial de Hidrógeno

Las bacterias metanogénicas ejercen adecuadamente su función en un intervalo de pH comprendido entre 6,6 y 7,6, con un óptimo cercano al pH 7. Cuando la velocidad de la producción de los ácidos volátiles es mayor que la de su transformación en CH_4 , el proceso puede desequilibrarse, resultando en una disminución del pH, disminución de la producción de gas y aumento de las fracciones de CO_2 en el gas producido. El control del pH es por tanto esencial para garantizar una buena operación de los procesos anaerobios.

El pH durante la primera etapa puede ser ácido y bajar aún más, algunos estudios han empleado alguna base para neutralizar el pH [San y Onay, 2001; Warith, 2002] y así asegurar que los microorganismos metanogénicos se mantengan activos [Vlyssides y Karlis 2004]. Los microorganismos metanogénicos son considerados los más sensibles a la toxicidad de intermediarios que los demás presentes en la degradación anaerobia.

3.5.2.3 Sustancias tóxicas

Aunque se reconoce una relación funcional entre algunos de los problemas de operación de la digestión anaerobia y la presencia de sustancias tóxicas, no está clara la incidencia en las transformaciones bioquímicas que tienen estos compuestos tóxicos, especialmente el nitrógeno amoniacal y los ácidos volátiles a altas concentraciones. La toxicidad de los ácidos volátiles se debe no tanto a su concentración como al efecto del pH, ya que se ha demostrado que la toxicidad es originada por la fracción no ionizada de ellos. Kroeker, ha concluido que una concentración de ácidos volátiles no ionizados, en el intervalo comprendido entre 30 y 60 mg/L (como ácido acético) es tóxica e inhibe los procesos anaerobios. En la figura 10 se muestra que, aunque la concentración de ácidos volátiles sea elevada, si el pH se mantiene relativamente alto, la concentración no ionizada de ácidos volátiles es pequeña y la digestión puede ocurrir sin dificultad. Por tanto, aunque altas concentraciones de por si no son dañinas. Sin embargo, sus combinaciones con bajos valores de pH pueden producir situaciones indeseables.

Hay sales inorgánicas que a bajas concentraciones favorecen la digestión, pero a valores por encima de un cierto límite pueden inhibir el proceso. Entre estos pueden citarse el Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , y Mg^{2+} . En la tabla 4, se ofrecen intervalos de concentraciones a las cuales estos cationes pueden ser inhibitorios. Otros cationes como el zinc, cobre y níquel son tóxicos aún a bajas concentraciones. El amoniaco es tóxico a concentraciones superiores a 3.000 mg/L e inhibitorio a 1.500 mg/L. La toxicidad de amoniaco está relacionada con el pH, ya que este compuesto es más nocivo en su forma molecular que como catión amonio.

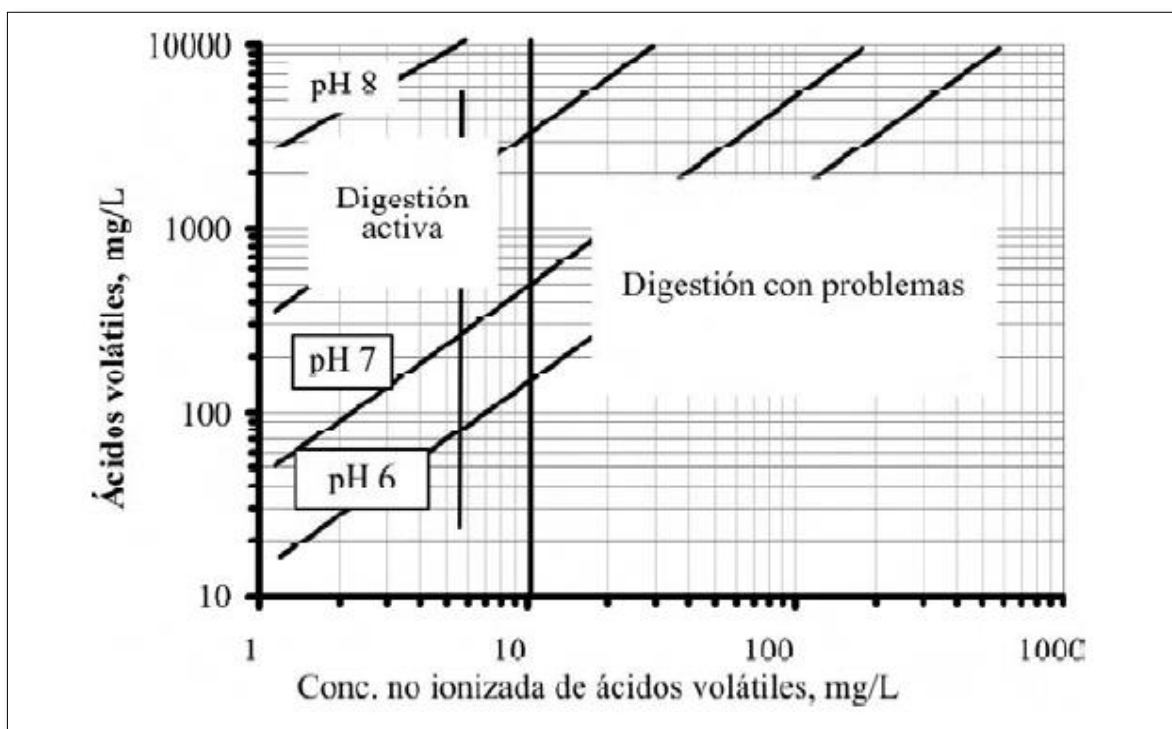


Figura 10. Relación entre la forma molecular y disociada de los ácidos volátiles y su incidencia en la digestión [Ortiz, 2011]

Tabla 4. Concentraciones inhibitorias de distintos cationes

CATIÓN	Concentración mg/L	
	Moderadamente inhibitorio	Fuertemente inhibitorio
Na ⁺	1.500 - 3.000	3.000
K ⁺	3.500 - 5.500	8.000
Ca ²⁺	2.500 - 4.500	12.000
Mg ²⁺	1.000 - 1.500	3.000

3.5.2.3.1 Inhibidores

El proceso de digestión anaerobia es inhibido por la presencia de tóxicos en el sistema. Estas sustancias pueden ser subproductos de la actividad metabólica de los microorganismos anaerobios o pueden formar parte del influente. Experimentalmente se ha comprobado que la magnitud del efecto tóxico de una sustancia puede ser reducida significativamente por aclimatación de la población de microorganismos al tóxico. Por otra parte, muchas de estas sustancias a bajas concentraciones pueden ser estimuladoras del proceso.

3.5.2.3.2 Nitrógeno amoniacal

Durante el proceso anaerobio, el nitrógeno orgánico es hidrolizado dando lugar a formas amoniacales. Aunque el nitrógeno amoniacal es un nutriente importante para el crecimiento bacteriano, una concentración excesiva puede limitar su crecimiento. El nitrógeno amoniacal es la suma del ion amonio (NH_4^+) y del amoniaco (NH_3). Ambas especies se encuentran en equilibrio químico, y la concentración relativa de cada una depende del pH, tal y como indica la ecuación de equilibrio:



De las dos especies, la que parece inhibir el proceso es el amoniaco libre ya que se ha comprobado experimentalmente que el efecto inhibitorio por amonio aumenta a pH alcalinos. Además del pH, la cantidad de amoniaco libre depende de la concentración del sustrato, de la relación C/N, de la capacidad del medio y de la temperatura de digestión. Obviamente, aquellos residuos que contengan mayores proporciones de proteínas u

otros compuestos nitrogenados son los que presentan más problemas de inhibición por amonio.

3.5.2.3.3 Ácidos grasos volátiles (AGV)

La concentración de AGV, productos intermedios mayoritarios del proceso anaerobio, es uno de los parámetros que más eficazmente pueden indicar la evolución del proceso. De hecho, este parámetro es uno de los más utilizados en los sistemas de control debido a su rápida respuesta ante variaciones del sistema. Un ejemplo de ello, es la acumulación de ácidos grasos volátiles que tiene lugar en el sistema cuando la velocidad de degradación de estos, por parte de las bacterias responsables, disminuye por alguna causa adversa. Por tanto, un aumento en la concentración de ácidos volátiles en el sistema, siempre significa una desestabilización del proceso y, en consecuencia, una disminución de la producción de biogás.

3.5.2.3.4 Cationes y metales pesados

Los cationes de metales alcalinos y alcalino-térreos tienen un efecto estimulador de la actividad de las bacterias a bajas concentraciones. A partir de un nivel de concentración, pueden proporcionar toxicidad provocando una disminución de la velocidad de crecimiento. La toxicidad de los cationes aumenta con el peso molecular, por lo que los metales pesados son los que provocan toxicidad a menor concentración. El orden de toxicidad de los metales pesados es Ni > Cu > Cr (IV) > Cr (III) > Pb > Zn. Los niveles de inhibición varían mucho en función de varios factores. Si la introducción del catión en el reactor se produce de forma gradual, los microorganismos pueden

aclimatarse y el efecto toxico es menor. La presencia de sulfuros también disminuye la inhibición debido a la precipitación de estos con los metales pesados, pudiendo llegar a tolerarse elevadas concentraciones de metales pesados en estos casos. Cuando se presentan combinaciones de estos cationes, el efecto que se produce es más complejo. Algunos actúan antagónicamente, reduciendo la toxicidad, y otros actúan sinérgicamente aumentándola. En el caso de aguas residuales industriales las elevadas concentraciones de metales suelen ser la causa de la ineficacia del proceso anaerobio.

3.5.2.3.5 Sulfatos y sulfuros

La presencia de elevadas concentraciones de sulfato en el sustrato puede producir la inhibición del proceso anaerobio, especialmente de la metanogénesis. En presencia de sulfatos, las bacterias metanogénicas compiten con las sulfato-reductoras por los mismos sustratos (acetato e hidrogeno), mostrando estas últimas ventajas termodinámicas y cinéticas sobre las primeras. El resultado de esta competición determinara la proporción de sulfhídrico y metano en el biogás producido. El sulfuro es también un inhibidor para muchos grupos bacterianos. En general, los metanogénicos son más sensibles que los acidogénicos y acetogénicos, comenzando a ser toxica una concentración de 50 mg/L si los microorganismos metanogénicos no están aclimatados a los sulfuros. Parece que la forma tóxica es la no ionizada, por lo que la inhibición se favorece a pH bajos y a bajas temperaturas. Por tanto, la inhibición tiene dos etapas, la primera debida a la competición por el sustrato entre los microorganismos metanogénicos y sulfato-reductores y la segunda es una inhibición directa del crecimiento metanogénica por la presencia de sulfuros solubles.

3.5.2.3.6 Otros inhibidores

Debido a que la etapa de fermentación metánica tiene etapas realizadas por microorganismos estrictamente anaerobios, es obvio que el oxígeno es un toxico más del proceso. Parece que concentraciones del orden de $1\mu\text{g/L}$ son inhibitoras. También podemos señalar como inhibidores del proceso: determinadas sustancias orgánicas como ácidos grasos de cadena larga y alcoholes, en elevadas concentraciones, y la presencia de desinfectantes y antibióticos.

3.6 Parámetros indicadores del curso de la digestión

Entre los diferentes parámetros que son de utilidad práctica para indicar si un digestor está operando o no en buenas condiciones, y aun para predecir futuras complicaciones en la operación, pueden citarse:

- La producción de gases
- El contenido de ácidos volátiles y pH
- La alcalinidad del medio

3.6.1 Producción de gases

El grado de estabilización de los compuestos orgánicos está directamente relacionado con la producción de gases y su composición. Así, por ejemplo, la producción de gases

puede disminuir abruptamente si el tiempo de retención cae por debajo de un determinado valor. Esto está íntimamente vinculado con la velocidad de crecimiento de las bacterias formadoras de metano, que como ya se ha reiterado, es menor que el de las formadoras de ácido.

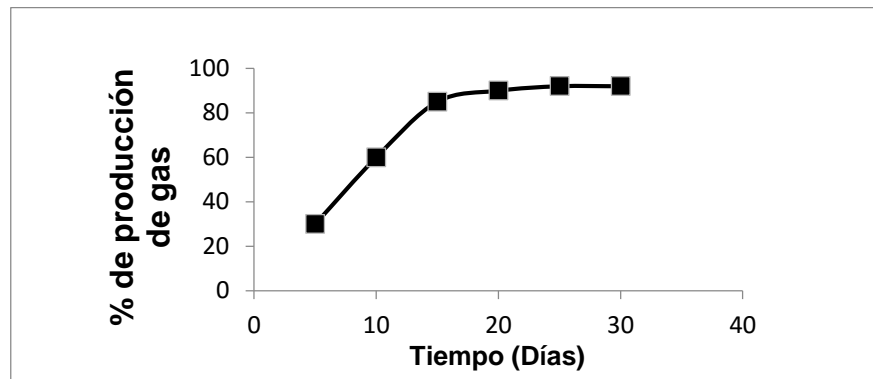


Figura 11. Influencia del tiempo de retención en la producción de biogás.

En condiciones de operación normal la producción de gases, a 101,3 kPa y 0 °C, está en el intervalo comprendido entre 0,2 y 0,7 m³ por cada kg de DQO removido ó 1 m³ por cada kg de sólido volátil estabilizado. En la tabla 5, se muestran algunos rendimientos teóricos de gas y su producción por kg de sólidos volátiles para sustancias que frecuentemente se encuentran presentes en muchos residuales. Por otro lado, la composición de los gases producidos tampoco es constante. En un digestor anaerobio que funcione en óptimas condiciones, los gases producidos están constituidos en 75 a 85 % por CH₄ y el resto fundamentalmente por CO₂. Un digestor operando en condiciones desfavorables puede mantener durante un tiempo constante el volumen de gas producido y estar variando la fracción relativa de CH₄ y CO₂.

Tabla 5. Rendimientos teóricos de biogás en función de los constituyentes del residual.

Compuesto	% CH ₄ en el gas	m ³ / (Kg SV digerido)
Carbohidratos	50	0,89
Proteínas	70	1,30
Grasas	84	0,60

En la figura 12, donde se representa la variación de la relación de la composición de los gases con el pH del medio, puede apreciarse cuánto llega a cambiar esa composición ante condiciones desfavorables de operación. En este caso, del pH.

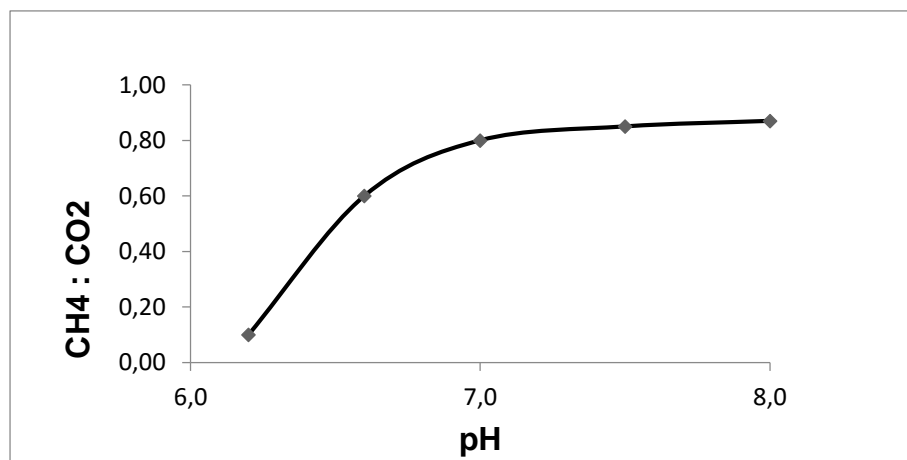


Figura 12. Variación de la composición de los gases con el pH

3.6.2 Ácidos volátiles, pH y alcalinidad

Estas tres características de un digester están muy relacionadas entre sí. La alcalinidad desempeña un papel importante en los procesos anaerobios, compensando no solo la producción de los ácidos volátiles, sino también la de CO_2 . La alcalinidad natural de estos procesos es debida al bicarbonato, y da lugar a un sistema tampón de pH comprendido entre 6,8 y 7,2. En la figura 13, se aprecia que en los límites de trabajo normal de un tratamiento anaerobio se requiere disponer de una alcalinidad de aproximadamente 1.500 mg/L cuando el gas tiene en su composición 30 % de CO_2 . Cuando la alcalinidad necesaria no existe en el medio, debe ser adicionada.

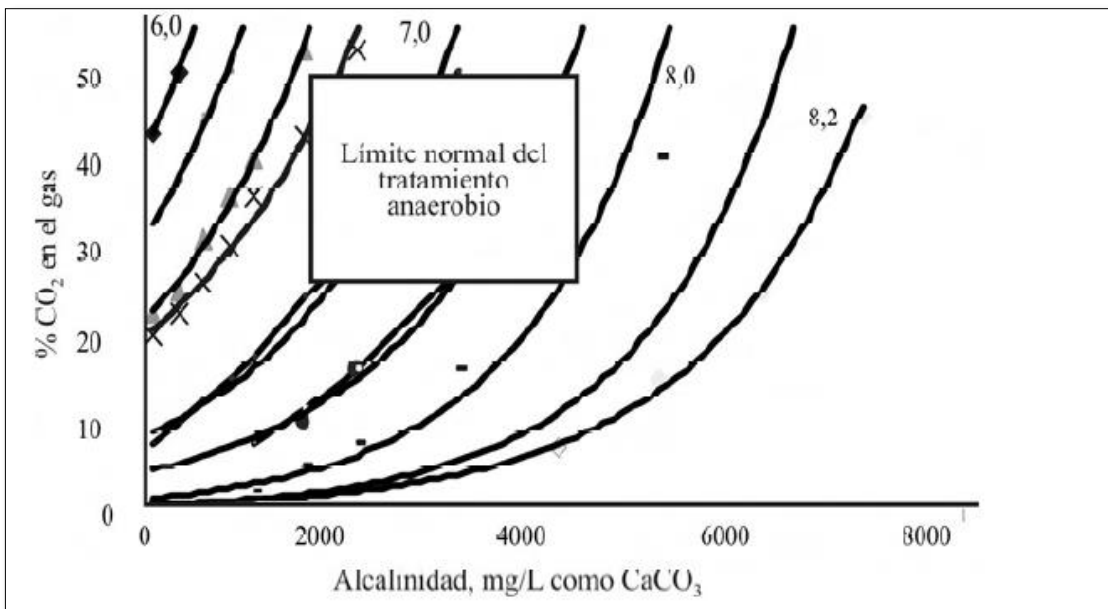


Figura 13. Alcalinidad del medio y composición de los gases en función del pH [Yáñez, 1987]

Aunque la alcalinidad es esencial para una digestión balanceada, su valor en sí mismo no es un indicador adecuado que permita predecir posibles dificultades actuales o futuras del proceso. Esto se debe a que en la medida en que la alcalinidad al bicarbonato es consumida y destruida, se forma alcalinidad vinculada a los ácidos volátiles. Las determinaciones de alcalinidad y ácidos volátiles pueden utilizarse simultáneamente como indicadores de la condición de la digestión.

La relación entre la alcalinidad total, la debida al bicarbonato y la concentración de ácidos volátiles es:

$$AT = AB + 0,71 AV \quad (1)$$

Donde:

AT: Alcalinidad total, mg/L como CaCO₃.

AB: Alcalinidad debida al HCO₃⁻ mg/L como CaCO₃.

AV: Concentración de ácidos volátiles, como (CH₃ COOH).

Es deseable que la capacidad tampón del proceso de digestión sea alta. Esto se traduce en que la relación ácidos volátiles / alcalinidad sea baja (entre 0,0 y 0,1). Valores de esta relación cercana a 0,5; es una señal de la existencia de problemas en el proceso. El pH del digestor comienza a descender rápidamente si esa relación llega a valores tan altos como 0,8.

3.6.3 Producción de metano

Para un sistema anaerobio, la DQO (Demanda Química de Oxígeno) puede considerarse un parámetro conservativo, es decir, la suma de las DQO de entrada debe ser igual a la suma de las DQO de salida:

$$DQO_{\text{influyente}} = DQO_{\text{efluente}} + DQO_{\text{biogás}}$$

Si se considera un biogás formado exclusivamente por CH_4 y CO_2 , y teniendo en cuenta que la DQO del CO_2 es nula, la DQO eliminada en el residuo se correspondería con la DQO obtenida en forma de metano, lo cual significa 2,857 kg DQO por m^3 CH_4 , ó 0,35 m^3 de CH_4 por kg de DQO eliminada, a $P=1$ at y $T=^\circ\text{C}$, ó 0,38 m^3 de CH_4 a $P=1$ at y 25°C . Atendiendo a la potencia calorífica del metano, estos valores corresponderían aproximadamente a 3,5 $\text{kW}\cdot\text{h}/\text{kg}$ DQO eliminada, en unidades de energía primaria. Esto confiere a los sistemas anaerobios una clara ventaja frente a los sistemas aerobios de tratamiento de residuos orgánicos y aguas residuales, para los cuales el consumo de energía para transferir oxígeno se encuentra alrededor de 1 $\text{kW}\cdot\text{h}/\text{kg}$ O_2 consumido. Variaciones sobre los valores anteriores pueden ser debidos a posibles acumulaciones en el reactor, a la producción de otros gases (H_2 , H_2S), o a que la DQO medida no sea tan solo debida al carbono oxidable.

3.7 Actividad Metanogénica

Permite cuantificar la máxima capacidad de producción de metano por el grupo de microorganismos presente en lodos anaerobios. La AME, además de ser usada para el

monitoreo de la calidad del lodo en reactores anaerobios, es una herramienta que evalúa el comportamiento de la biomasa contaminada y determina la carga orgánica máxima que puede aplicarse a un sistema, con el fin de examinar la degradabilidad de los sustratos y la posibilidad de selección de inóculos. Para cuantificar la producción de metano, existen métodos sofisticados como la medición manométrica, cromatográfica o tan simples como el uso de mediciones volumétricas. El primero demanda equipos con especificaciones técnicas especiales y el segundo necesita de un montaje sencillo, sin mayores requerimientos. Teniendo en cuenta la facilidad de implementar mediciones de AME por el método volumétrico, se enfatizará en este tipo de medición por su potencialidad de aplicación en nuestro medio [Torres, 2010]. El ensayo de Actividad Metanogénica Específica (AME) evalúa la actividad bacteriana metanogénica en un proceso de digestión anaerobia. De modo que un ensayo AME será capaz de medir la máxima producción de metano en un período de tiempo y condiciones determinadas. La evaluación de los microorganismos metanogénicos para convertir sustrato orgánico en metano y CO₂ está definida por calidad del lodo en los reactores anaerobios.

Si partimos de cantidades conocidas de biomasa (SSV), y a determinadas condiciones (pH, temperatura, conductividad, alcalinidad, entre otros), se podrá evaluar la producción de CH₄ (con mecanismos cromatográficos, manométricos o volumétricos). A su vez la AME permite [Aquino et al. 2007]:

- Evaluar el comportamiento de la biomasa presente, en términos de remoción de DQO de la fase líquida.
- Determinar la carga orgánica máxima que puede ser aplicada en un reactor, definiendo la capacidad del tratamiento.

- Determinar la toxicidad del sustrato y la selección del inóculo

La actividad metanogénica específica (AME) es un parámetro expresado como $\text{gDQO/g}_{\text{SSV}}$, calculada a partir de la velocidad máxima de producción de metano ($\text{mLCH}_4/\text{día}$) y de un factor de conversión (f_1) que representa el valor de la DQO de una unidad de volumen de metano. Este factor depende de la temperatura y humedad del gas [Field *et al*, citado por Chia-Fang Hsieh 2009].

Los ensayos de AME no se encuentran estandarizados, variando de un autor a otro, pudiendo hacerse en sistemas continuos y discontinuos. A su vez esto limita la replicación y/o comparación con otros resultados obtenidos, así como de la difusión de la metodología. El diseño responde a criterios tales como:

- Origen de los lodos a evaluar
- Concentración del inóculo
- Tiempo de incubación
- Agitación del contenido del digestor
- Bacterias implicadas: facultativas, estrictas, entre otros [Ortiz, 2011].

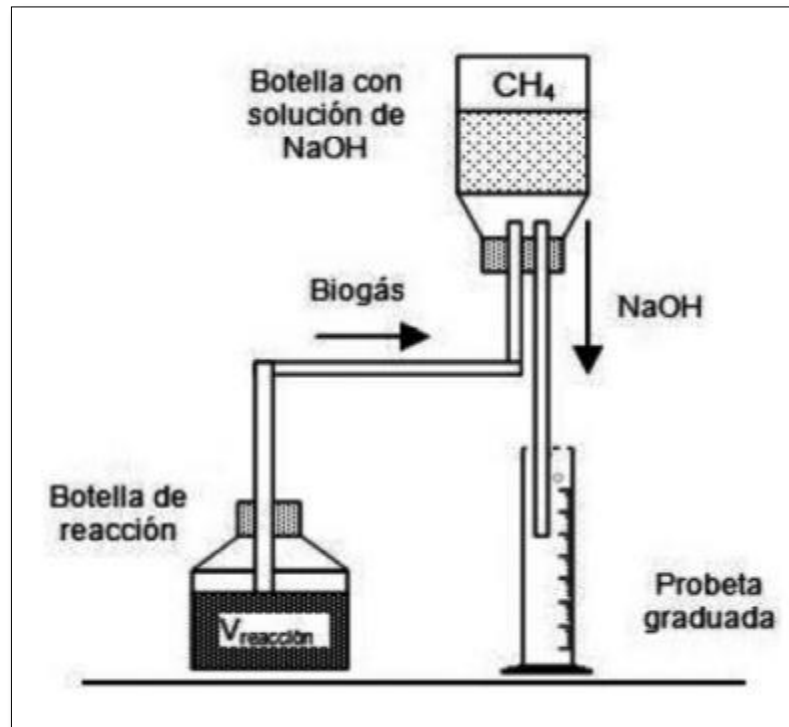


Figura 14. Esquema gráfico del Ensayo de Actividad Metanogénica Específica [Torres L. *et al*, 2010]

3.7.1 Montajes

3.7.1.1 Biogás total

Descripción:

Conexión directa de la fiola con el lodo hacia el cilindro para contabilizar el volumen de gas

Biogás medido: $CH_4 + CO_2 + H_2S$

Ventajas:

- ✓ Permite conocer la producción total del biogás
- ✓ Montaje sin reactivos

Desventajas:

- ✓ Imposibilita conocer el volumen de metano que se genera

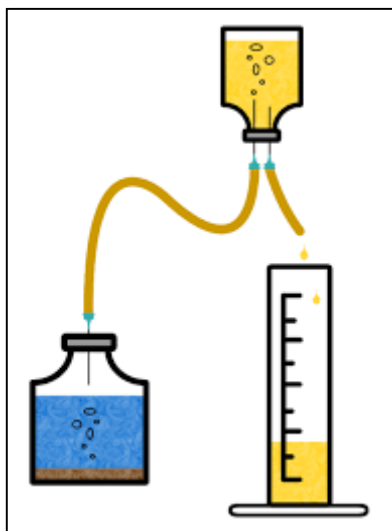


Figura 15. Montaje para medir biogás total [Parada, 2002]

3.7.1.2 Metano más ácido sulfhídrico

Descripción:

Conexión de la fiola con el lodo hacia solución de NaOH (para retirar el CO₂) y luego al cilindro para contabilizar el volumen de gas

Biogás medido: CH₄ + H₂S

Ventaja:

- ✓ Permite conocer la producción del CH₄ ya que se retira el CO₂ y las concentraciones del H₂S representan un % insignificante

Desventaja:

- ✓ Montaje con reactivos (NaOH + Fenolftaleína)

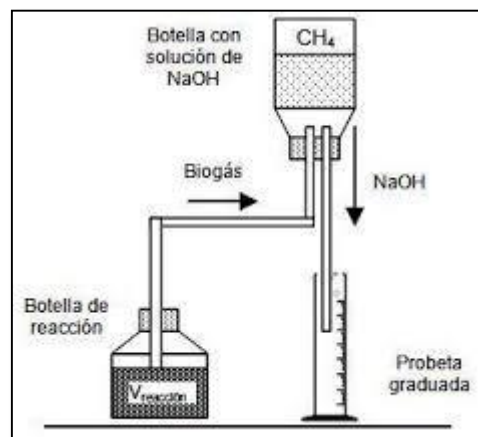


Figura 16. Montaje para medir metano más ácido sulfhídrico [Field, 1987]

3.7.1.3 Metano

Descripción:

Conexión de la fiola con el lodo hacia columna de lentejas de NaOH (para retirar el H₂S), luego el gas pasa a una solución de NaOH (para retirar el CO₂) y por último al cilindro para contabilizar el volumen de gas metano

Biogás medido: CH₄

Ventaja:

- ✓ Permite conocer la producción de CH₄

Desventajas:

- ✓ Montaje con reactivos
- ✓ Montaje con columna de NaOH (granular)

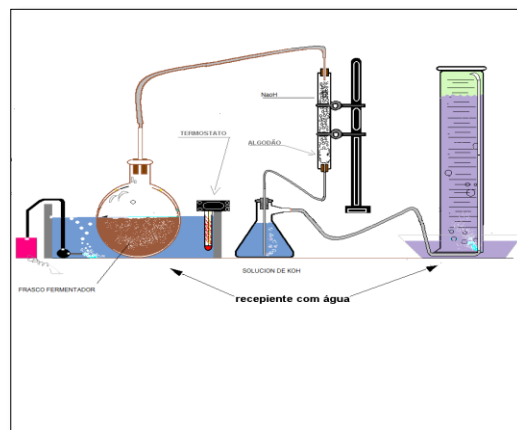


Figura 17. Montaje para medir metano [ICR Global, 1999]

IV.- METODOLOGÍA

En relación a la cuantificación del gas metano para determinar la actividad metanogénica del lodo anaerobio, nos encontramos que existen diferentes montajes que permiten registrar el volumen de producción del biogás, a continuación, se describirá el montaje que se realizará para la evaluación de la AME:

4.1 Montaje

4.1.1 Metano más ácido sulfhídrico

Descripción:

Conexión de la fiola con el lodo hacia solución de NaOH (para retirar el CO₂) y luego al cilindro para contabilizar el volumen de gas

Biogás medido: CH₄ + H₂S

Ventaja:

- ✓ Permite conocer la producción del CH₄ ya que se retira el CO₂ y las concentraciones del H₂S representan un % insignificante

Desventaja:

- ✓ Montaje con reactivos (NaOH + Fenolftaleína)

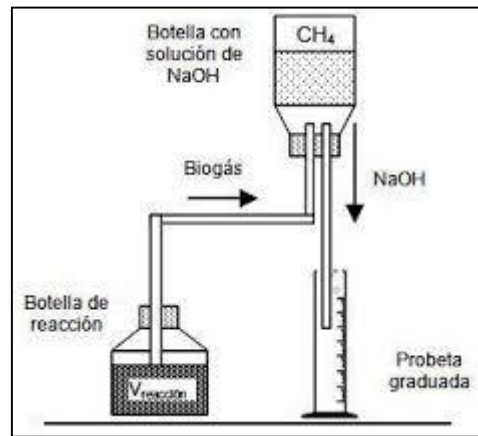


Figura 16. Montaje para medir metano más ácido sulfhídrico [Field, 1987]

Dentro del orden de comparación, los montajes posibles para realizar la cuantificación del gas metano, el cual será determinante para determinar la actividad metanogénica, se comprende que el montaje experimental viable será el descrito en el ítem 3.7.1.2, el cual nos permitirá conocer la producción del metano, excluyendo al dióxido de carbono también generado, con un montaje posible de realizar en las condiciones actuales. Además, se estima que las concentraciones de ácido sulfhídrico son insignificantes.

4.2 Análisis para la determinación de AME

En la determinación de la actividad metanogénica, se requiere de análisis al lodo, en función a conocer su concentración, el cual se describirán a continuación, además para conocer la eficiencia en degradación de la materia orgánica en biogás, se hará análisis al influente.

4.2.1 Sólidos suspendidos volátiles

Se describirá a continuación el procedimiento para obtener la concentración de sólidos suspendidos volátiles del lodo anaerobio que se va a evaluar.

1. Hacer la instalación del sistema de filtración a vacío
2. Pesar la membrana con el vidrio reloj (P1)
3. Abrir la toma muestra y purgar por 40s aproximadamente
4. Purgar el recipiente donde tomarán la muestra al menos 3 veces
5. Filtrar 10mL de muestra
6. Llevar el filtro al horno durante dos (2) horas a 105C°
7. Llevar al desecador durante 10min
8. Llevar a peso constante
9. Pesar la membrana con el vidrio reloj (P2)
10. Llevar la muestra a la mufla durante dos (2) horas
11. Llevar al desecador durante 10min
12. Llevar a peso constante
13. Pesar la membrana con el vidrio reloj (P3)

$$SSV = \frac{(p_2 - p_3)g * \left(\frac{1000mg}{1g}\right)}{V(mL) * \left(\frac{1L}{1000mL}\right)} \quad (2)$$

4.2.1 Demanda Química de Oxígeno

En función a evaluar la degradación de la materia orgánica transformada en biogás, se debe conocer la demanda química de oxígeno del influente, que será de alimento para los microorganismos anaerobios, a través de esta prueba al iniciar y finalizar el ensayo se analizará la eficiencia del lodo anaerobio para degradar la materia orgánica.

- a) Encender el termoreactor. Precalentar a 150 °C
- b) Retirar las tapas de los tubos de reactivo de digestión de DQO. (Cerciorarse de utilizar los tubos para el rango adecuado)
- c) Verter en cada tubo de reactivo una cantidad de muestra determinada, en el cuadro siguiente se muestra el volumen correspondiente a cada tubo de reactivo

Vial	Volumen de Muestra
(0–150 mg/L DQO)	2,0 mL
(0–1500 mg/L DQO)	2,0 mL

(0–15.000 mg/L DQO)	0,2 mL
----------------------------	--------

NOTA: Cada rango de vial requiere su blanco correspondiente, para ello se vierte la misma cantidad de muestra, pero de agua destilada.

- d) Sujetar los tubos por la tapa. Voltarlo varias veces para mezclar la muestra con la solución de reactivo
- e) Colocar los tubos en el reactor precalentado y cerrar la tapa protectora
- f) Calentar los tubos durante dos (2) horas para concluir la digestión de la muestra
- g) Finalizado el tiempo de digestión, colocar los tubos en un estante y enfriar a temperatura ambiente
- h) Seleccionar el análisis de rango respectivo de acuerdo al siguiente cuadro:

Vial	Programa
(0–150 mg/L DQO)	431 DQO RUBA
(0–1500 mg/L DQO)	430 DQO RB
(0–15,000 mg/L DQO)	435 DQO RA

NOTA. Colocar el protector de luz en el compartimiento n. ° 2 de la cubeta.

- i) Limpiar el exterior de los tubos, primero con una toalla húmeda y luego con una seca.
- j) Colocar el blanco en el soporte portacubetas de 16-mm. Seleccionar en la pantalla: Cero. La pantalla indicará: 0,0 mg/L DQO
- k) Colocar el tubo de la muestra en el soporte portacubetas de 16-mm.
- l) Seleccionar en la pantalla: **Medición** Los resultados se expresan en mg/L DQO.

NOTA: Si se utilizan tubos de reactivo de digestión de DQO de alto rango (0–15,000 mg/L DQO), multiplicar el resultado por 10.

4.2.2 Actividad Metanogénica

La finalidad de este trabajo es determinar la actividad metanogénica de un lodo anaerobio a diferentes temperaturas, de tal forma, conocer la temperatura óptima donde operará mejor el reactor al cual pertenece mencionado lodo. Se describirá a continuación los pasos para determinar la AME.

- a) Realizar el montaje descrito en el apartado 4.1.2
- b) Recolectar un mínimo 2.000mL de lodo anaeróbico a ser analizado
- c) Homogenizar la muestra del lodo y realizar análisis de sólidos suspendidos volátiles (SSV en mg/L)
- d) Cuantificar el volumen útil del frasco fermentador (VI)

$$VI = \frac{SST (g)}{Conc. (\frac{g}{L})} \quad (3)$$

- e) Introducir el lodo anaerobio (VL) en el fermentador (Cuidados: Homogenizar bien la muestra de lodo y evitar aireación). Lavar la probeta con el restante de agua que será utilizada (agua de acueducto) arrastrando todo el lodo para el fermentador

- f) La cantidad de lodo a ser probado deberá ser determinada como una función de su actividad estimada y el DQO total (como ácido acético) añadido al principio de la prueba (la carga de DQO)
- g) En caso necesario ajustar el pH en un rango entre 6,8 a 7,2 adicionando HCl o NaOH según sea el caso
- h) Cerrar bien el frasco fermentador con el tapón atravesado por el tubo de salida de gas y homogenizar el contenido con la manguera doblada
- i) Colocar el fermentador en el baño con la temperatura previamente ajustada
- j) Preparar solución de fenolftaleína, pesando 0,1 gramos y disolviendo en 100mL de etanol
- k) Colocar la solución de fenolftaleína en el frasco de Mariotte
- l) Acompañar la producción de gas acumulado a lo largo del tiempo hasta que el volumen de gas metano acumulado sea constante. La duración prevista es de 4 a 5 días
- m) Frecuencia de medición: cada veinticuatro (24) horas
- n) Agitar el contenido del fermentador durante 30 segundos
- o) Leer el volumen de metano acumulado en la probeta y registrarlo en la tabla. No es necesario agregar o sustraer los valores leídos basta solamente con registrarlos

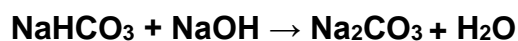
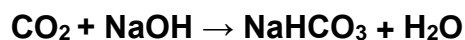
Al realizar la actividad metanogénica, se controlará un parámetro fundamental para este estudio, la temperatura. En función a este punto, se realizará por triplicado las pruebas evaluando a tres temperaturas diferentes, 30, 37 y 40°C, con el fin de conocer a cuál de estas la producción de gas metano es mayor, ya que nos da buen indicador de la degradación de la materia orgánica.

V.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para realizar el estudio de la actividad metanogénica, se deben realizar análisis al lodo en evaluación y al influente que será de alimento. A continuación, se muestra organizado en tablas, los resultados obtenidos para la concentración de sólidos suspendidos volátiles, la demanda química de oxígeno del influente y finalmente la actividad metanogénica a 30, 37 y 40°C, con su respectiva interpretación.

5.1 Montaje para actividad metanogénica

El montaje descrito en el apartado 4.1.2, el cual contabiliza los gases, CH₄ más H₂S, fue el escogido para realizar el análisis de AME, debido a que es práctico de ejecutar, se contaba con los materiales y reactivos. La consideración más importante es que en caracterizaciones del influente se demostró que las concentraciones de SO₄²⁻ y S²⁻ son menores a 0,05ppm, siendo esto insignificante al momento de generarse H₂S como parte en el biogás, por lo cual en el ensayo contabilizamos prácticamente CH₄. El cambio de color (rosado a incoloro) en la fenolftaleína en la solución de NaOH al 0,1N, al pasarle la corriente de biogás, donde reacciona el CO₂, nos confirmó que ciertamente la solución pasaba de pH >10 (rosado) a pH <8,4 (incoloro), confirmándose las reacciones y con esto la absorción del CO₂:



En particular este montaje, es ideal para realizar el análisis que planteamos.

Al absorber el CO₂ con la solución de NaOH al 0,1N, con indicador fenolftaleína y con la consideración que el H₂S toma una parte insignificante, finalmente se contabilizó la cantidad de metano capaz de generar el lodo anaerobio bajo las diferentes temperaturas evaluadas.

5.2 Sólidos suspendidos volátiles

Tabla 6. Resultados de los Sólidos Suspendidos Volátiles

SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES					
Crisol	Peso #1	Peso #2	Peso #3	SST (ppm)	SSV (ppm)
A	1,401	1,669	1,485	134.000	92.000
B	1,383	1,683	1,515	150.000	84.000
C	1,402	1,672	1,503	135.000	84.500
Promedio					86.833

La concentración sólidos suspendidos volátiles nos indica la cantidad de materia biodegradable que es capaz de degradar la materia orgánica, es la fracción que se volatilizó a 550°C y representa un parámetro fundamental en el cálculo de la actividad metanogénica, ya que esta materia en forma de microorganismos son el caso en estudio. Para tomar la muestra se tomó en consideración la purga de la tubería y se tomó de la altura más importante del reactor. Se realizó por triplicado el análisis al mismo lodo y para valores gruesos como los manejados en esta situación los resultados obtenidos son precisos.

5.3 Demanda química de oxígeno

A continuación, nos proponemos exponer los resultados obtenidos de la DQO en la medida que se ensayaba la AME a las tres temperaturas propuestas.

Tabla 7. Resultados de la DQO a 30°C

T AME	DQO Inicial	DQO final	Eficiencia	DS
°C	<i>ppm</i>	<i>ppm</i>	%	%
30	18.600	1.100	94,1	0,4
30	18.600	1.050	94,4	0,4
30	18.600	1.120	94,0	0,4
30	18.600	1.230	93,4	0,4
Promedio			94,0	0,4

En el primer ensayo manteniendo la temperatura a 30°C, la eficiencia promedio fue de $(94,0 \pm 0,4)$ %

Estos primeros resultados a 30°C, tal como esperábamos, fueron los que arrojaron la menor eficiencia en degradación de la MO, comparando con las otras temperaturas analizadas, y esto es debido a las condiciones ambientales para los microorganismos.

A continuación, los resultados a la temperatura evaluada (37°C).

Tabla 8. Resultados de la DQO a 37°C

T AME	DQO Inicial	DQO final	Eficiencia	DS
°C	<i>ppm</i>	<i>ppm</i>	%	%
37	17.960	890	95,0	0,2
37	17.960	850	95,3	0,2
37	17.960	790	95,6	0,2
37	17.960	810	95,5	0,2
Promedio			95,4	0,2

En el segundo ensayo manteniendo la temperatura a 37°C, la eficiencia promedio fue de $(95,4 \pm 0,2) \%$

En comparación con la temperatura anterior evaluada, encontramos que hubo un aumento de la eficiencia en 1,4 % el cual nos otorga evidencia que la condición ambiental, precedida por la temperatura, empieza a influir en la degradación de la materia orgánica.

Tabla 9. Resultados de la DQO a 40°C

T AME	DQO Inicial	DQO final	Eficiencia	DS
°C	ppm	ppm	%	%
40	15.260	350	97,7	0,3
40	15.260	420	97,2	0,3
40	15.260	380	97,5	0,3
40	15.260	310	98,0	0,3
		Promedio	97,6	0,3

En el último ensayo manteniendo la temperatura a 40°C, la eficiencia promedio fue de $(97,6 \pm 0,3) \%$

Se observó incremento en el 3,6% con respecto a la temperatura inicial, esto es producto de la mejora de condiciones ambientales para el desarrollo de la microbiología.

La velocidad de reacción de los procesos biológicos depende de la velocidad de crecimiento de los microorganismos involucrados que, a su vez, dependen de la temperatura y es evidente a través de la remoción de la demanda química de oxígeno (DQO) [Varnero, M. 2011].

En resumen, la demanda química de oxígeno, se evaluó a través del porcentaje de eficiencia para que fuera comparable, y se observó que a medida que la temperatura donde se desarrolló la prueba de AME aumentaba, la eficiencia de remoción de materia orgánica siguió la tendencia. Este comportamiento es el adecuado ya que en la medida que aumenta la temperatura, el tipo de microorganismo que se desarrolla son las termófilas, según el rango y estas son las que mejor transforman la MO en CH₄, debido a su velocidad de crecimiento.

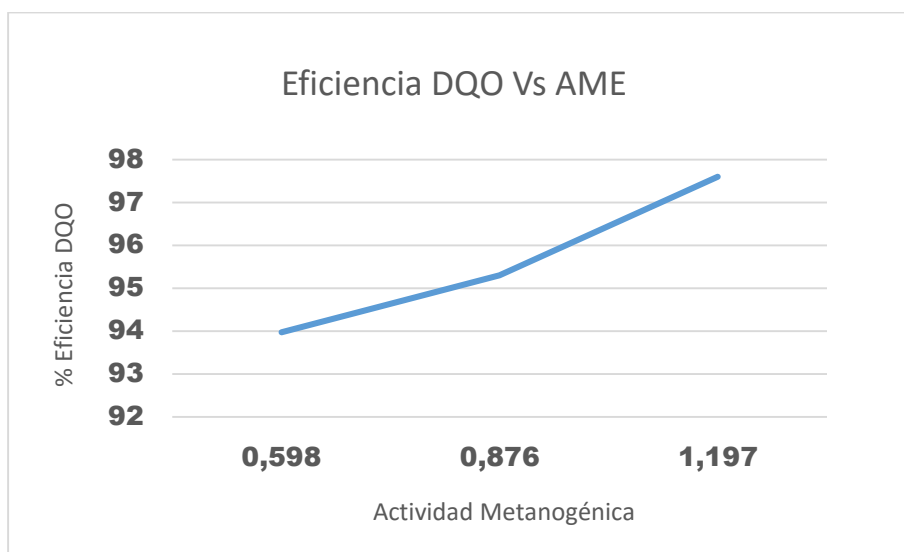


Figura 18. Eficiencia de la DQO en función a la AME (mL CH₄ / g SSV · d)

5.4 Actividad metanogénica

La actividad metanogénica, se evaluó a tres (3) temperaturas diferentes, 30, 37 y 40° C para verificar la temperatura donde la biomasa analizada generaba mayor cantidad de biogás. En base a los resultados obtenidos, se logró identificar claramente, que a medida que la temperatura del ensayo iba aumentando, la AME ascendía y paralelamente aumentaba la eficiencia de la DQO.

5.4.1 Evaluación a 30°C

Tabla 10. Resultados de la DQO a 30°C. Primera prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	30	86.833	18.600	1.100	94,1	160	0,599
2						180	
3						200	
4						210	
5						212	

Tabla 11. Resultados de la DQO a 30°C. Segunda prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	30	86.833	18.600	1.050	94,4	167	0,539
2						185	
3						205	
4						210	
5						210	

Tabla 12. Resultados de la DQO a 30°C. Tercera prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	30	86.833	18.600	1.120	94,0	164	0,629
2						185	
3						210	
4						212	
5						215	

Tabla 13. Resultados de la DQO a 30°C. Cuarta prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	30	86.833	18.600	1.230	93,4	159	0,629
2						180	
3						200	
4						210	
5						210	
						21	

Con respecto a los primeros resultados obtenidos en la AME en promedio fue de 0,598 mLCH₄/g_{SSV}. d. A esta temperatura, el promedio de la actividad metanogénica es el menor obtenido de los tres (3) ensayos, siendo el comportamiento esperado, ya que a menor temperatura la velocidad de crecimiento es menor y esta a su vez proporcional a la producción del biogás. Los resultados por comparación, sostienen este comportamiento de la biomasa, frente a las diferentes temperaturas en estudio.

La prueba se repitió inicialmente por fugas entre las conexiones, siendo esta la única novedad. Luego de corregida esta situación, el seguimiento y la repetitividad de los resultados nos confirmaron que el ensayo era confiable.

5.4.2 Evaluación a 37°C

Tabla 14. Resultados de la DQO a 37°C. Primera prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	37	86.833	17.960	890	95,0	180	0,898
2						210	
3						235	
4						270	
5						280	

Tabla 15. Resultados de la DQO a 37°C. Segunda prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	37	86.833	17.960	850	95,3	187	0,838
2						215	
3						245	
4						265	
5						280	

Tabla 16. Resultados de la DQO a 37°C. Tercera prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	37	86.833	17.960	790	95,6	175	0,898
2						205	
3						247	
4						265	
5						270	

Tabla 17. Resultados de la DQO a 37°C. Cuarta prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	37	86.833	17.960	810	95,5	211	0,868
2						240	
3						250	
4						270	
5						290	

Los siguientes resultados obtenidos en la AME evaluada a 37°C en promedio fue de 0,876 mLCH₄/g_{SSV}. d. La diferencia con respecto al promedio de la AME a 30°C es de 0,278 mLCH₄/g_{SSV}. d, el cual se traduce a que incrementó la producción del biogás por motivo de variar la temperatura. A medida que aumenta la temperatura, aumenta la velocidad de crecimiento de los microorganismos y se acelera el proceso de digestión, dando lugar a mayores producciones de biogás [Varnero, M. 2011].

5.4.3 Evaluación a 40°C

Tabla 18. Resultados de la DQO a 40°C. Primera prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	40	86.833	15.260	350	97,7	180	1,258
2						202	
3						244	
4						260	
5						265	

Tabla 19. Resultados de la DQO a 40°C. Segunda prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	40	86.833	15.260	420	97,2	170	1,048
2						215	
3						250	
4						270	
5						280	

Tabla 20. Resultados de la DQO a 40°C. Tercera prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	40	86.833	15.260	380	97,5	220	1,198
2						245	
3						285	
4						290	
5						300	

Tabla 21. Resultados de la DQO a 40°C. Cuarta prueba

DÍA	TEMPERATURA	SSV	DQO inicial	DQO final	Eficiencia	Biogás	AME
Vlodo:10mL	°C	ppm	ppm	ppm	%	mL	mL/g.d
1	40	86.833	15.260	310	98,0	200	1,288
2						222	
3						265	
4						280	
5						293	

Los resultados obtenidos en la AME evaluada a 40°C en promedio fue de 1,197 mLCH₄/g_{SSV}. d. La diferencia con respecto al promedio de la AME a 30°C es de 0,599 mLCH₄/g_{SSV}. d.

T (°C)	% Eficiencia	AME mL/g.d
30	94,0	0,598
37	95,3	0,876
40	97,6	1,197

Tabla 22. Resultados promedio de AME, % eficiencia DQO a diferentes °C

Existen tres rangos de temperatura en los que pueden trabajar los microorganismos anaeróbicos, psicrófilos (por debajo de 25°C), mesófilos (entre 25 y 45°C) y termófilos (entre 45 y 65°C), siendo la velocidad máxima específica de crecimiento (μ_{max}) mayor, conforme aumenta el rango de temperatura. Dentro de cada rango de temperatura, existe un intervalo para el cual dicho parámetro se hace máximo, determinando así la temperatura de trabajo óptima en cada uno de los rangos posibles de operación [Varnero, M. 2011].

Hasta el momento, el rango psicrófilico ha sido poco estudiado y, en general, se plantea como poco viable debido al gran tamaño del reactor necesario. Sin embargo, presenta menores problemas de estabilidad que en los otros rangos de temperatura de operación. El régimen mesofílico de operación es el más utilizado, a pesar de que en la actualidad se está implementando cada vez más el rango termofílico, para conseguir una mayor velocidad del proceso, lo que implica, a la vez, un aumento en la eliminación de organismos patógenos. Sin embargo, el régimen termofílico suele ser más inestable a cualquier cambio de las condiciones de operación y presenta además mayores

problemas de inhibición del proceso por la mayor toxicidad de determinados compuestos a elevadas temperaturas, como el nitrógeno amoniacal o los ácidos grasos de cadena larga. [Varnero, M. 2011].

Por otra parte, la solubilidad de la mayoría de las sales aumenta con la temperatura de manera que la materia orgánica es más accesible para los microorganismos aumentando así la velocidad del proceso. Sin embargo, si se trata de compuestos tóxicos, al aumentar su solubilidad con la temperatura serán potencialmente más tóxicos, lo que puede explicar parcialmente la mayor inhibición de determinados compuestos orgánicos en el rango termófilo, como los ácidos grasos (AG) de cadena larga. [Varnero, M. 2011].

Cada microorganismo tiene una temperatura de crecimiento adecuada. Si consideramos la variación de la velocidad de crecimiento (μ) en función de la temperatura de cultivo, podemos observar una temperatura mínima por debajo de la cual no hay crecimiento ($dX/dt = 0$); a temperaturas mayores se produce un incremento lineal de la velocidad de crecimiento con la temperatura de cultivo hasta que se alcanza la *temperatura óptima* a la que μ es máxima. Por encima de esta temperatura óptima, la velocidad de crecimiento decae bruscamente ($\mu \rightarrow 0$) y se produce la muerte celular.

El incremento de μ con la temperatura se debe al incremento generalizado de la velocidad de las reacciones enzimáticas con la temperatura. Se denomina *coeficiente de temperatura* a la relación entre el incremento de la velocidad de reacción y el de temperatura. En términos generales, la velocidad de las reacciones bioquímicas suele aumentar entre 1,5 y 2,5 veces al aumentar 10°C la temperatura a la que tienen lugar.

Es importante tener en cuenta que, a temperaturas muy bajas, el metabolismo celular es muy bajo y las células paran de crecer; aunque no tienen por qué comenzar a morir. Sin embargo, cuando la temperatura es superior a la óptima, se produce la muerte celular rápidamente.

Finalmente, en la evaluación a 30°C, primera temperatura evaluada en el ensayo, se registró repetitividad en los resultados. Visualmente, se observó que el flujo del biogás era menor al de las temperaturas más elevadas, y los resultados lo sostienen, siendo esta en la que se reportó menor cantidad de biogás, reportado en forma de CH₄. Al comparar el desarrollo de los microorganismos a esta temperatura, se comprueba que a pesar que las tres temperaturas evaluadas desarrollan el tipo de anaerobios llamados mesofílicos el cual trabajan entre 25 y 45°C, se evidenció que a medida que aumenta la temperatura son capaces de producir mayor cantidad de gas CH₄.

A continuación, se grafica la cantidad de CH₄ recolectada en función a las temperaturas evaluadas:

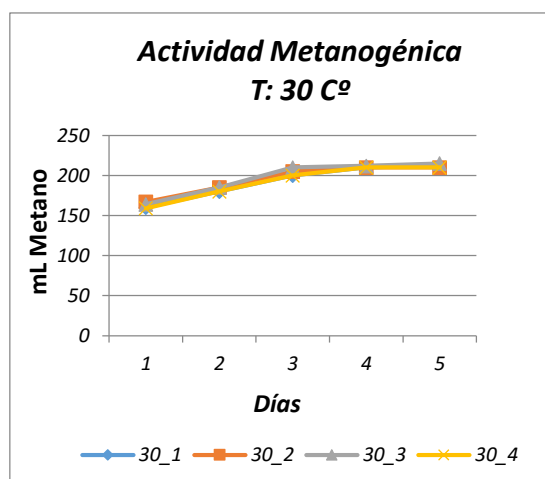


Figura 19. Cantidad en mL de CH₄ a 30°C en temperatura

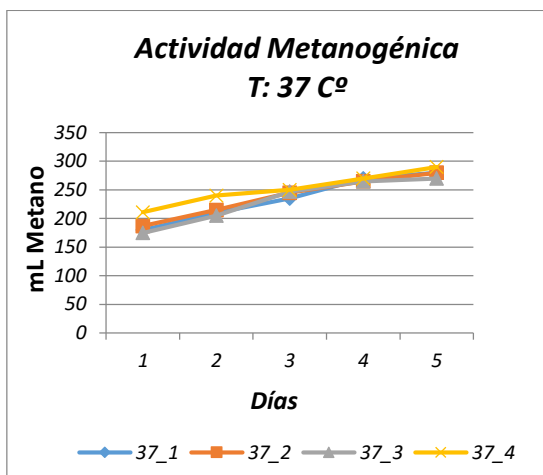


Figura 20. Cantidad en mL de CH₄ a 37°C en temperatura

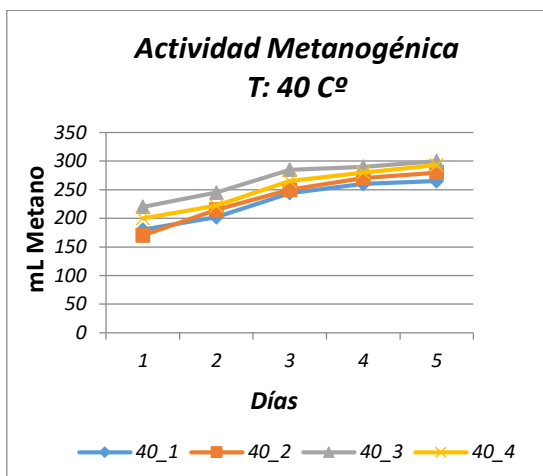


Figura 21. Cantidad en mL de CH₄ a 40°C en temperatura

En esta gráfica se hace evidente que a medida que se aumentó la temperatura, los mL de CH₄ recolectados era mayor, para la misma concentración y volumen de lodo anaerobio, tal como era lo esperado. Además, la precisión de los ensayos.

En definitiva, los ensayos de AME desarrollados a medida que aumentaron la temperatura, el lodo anaerobio era capaz de generar mayor cantidad de biogás en forma de metano, debido a que los microorganismos a pesar que siguen en la clasificación mesofílica, se acercan a las termofílicas con el incremento de la temperatura, teoría demostrada en estas pruebas.

V.- CONCLUSIÓN

Considerando los resultados obtenidos durante la investigación de la influencia de la temperatura en la actividad metanogénica de un lodo anaerobio, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Se llevaron a cabo ensayos de actividad metanogénica a diferentes temperaturas en el rango mesofílico y se evidenció que a medida que aumenta la temperatura, entre 30, 37 y 40°C, ésta última fue la condición donde se logró recolectar mayor cantidad de gas metano.
- La degradación de la materia orgánica analizada en porcentaje, se vio incrementada proporcionalmente en el aumento de la temperatura y a su vez de la AME.

VI.- BIBLIOGRAFÍA

1. Besel, S.A. Biomasa. Digestores Anaerobios. IDEA. Octubre 2007. p: 13-14
2. Dague, R.R. "Application od Digestion Theory to Digester Control". 1968
3. Díaz-Báez, M.; Espitia, S. y Molina, F. Digestión Anaerobia una Aproximación a la Tecnología. UNIBIBLIOS. Bogotá, Colombia 2002
4. Gibson, G. "Physiological and ecology of the sulfate-reducing bacteria". A review. Journal Applied Bacteriology. 1990
5. Metcalf y Eddy, Inc. Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. 3ª Edició. McGraw-Hill, New York, USA. 1995
6. Microbial Ecology. Oxford University Press. New York.
7. Mosey, F. Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose. Water Science Technology. 1993
8. Ortiz, V. Puesta a punto de una metodología para la determinación de la actividad metanogénica específica (ame) de un fango anaerobio mediante el sistema

- oxitop®. Influencia de las principales variables experimentales. Trabajo Especial de Grado. Septiembre 2011
9. Pavlostathis, S.G., and E. Giraldo-Gomez. Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. Crit. Rev. Environ. 1991
 10. Rodriguez, Y. Tratamiento anaerobio de aguas residuales. Universidad del Valle. Cali-Colombia. 2000
 11. San, I. and Onay, T.T. (2001) Impact of Various Leachate Recirculation Regimes on Municipal Solid Waste Degradation, Journal of Hazardous Materials.
 12. Van Haandel, A. y Lettinga G. Tratamiento Anaeróbico de Esgotos. Editora EPGRAF. Campina Grande, Brasil. 1994
 13. Stams, A.J.M. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. Antonie van Leeuwenhoek. 1994
 14. Zinder, S. Chapter 5. Methanogens. En: Burlage, R.S. et al, Techniques. 1998
 15. Parada, M. Manual de Operaciones Planta de Tratamiento de Aguas Residuales, Coca Cola FEMSA, Planta Antímano. 2012

16. Global, ICR. Manual de Operaciones Planta de Tratamiento de Aguas Residuales, Coca Cola FEMSA, Planta Valencia. 2011
17. Varemo, M. Manual de Biogás. Gobierno de Chile. 2011. p:36-38