



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**  
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA  
DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES  
ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA

---

**Evaluación y modelado de la cinética de depuración anaerobia  
de vinazas de la industria alcohólica**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA

M en C. Jorge Del Real Olvera

Director: Dr. Francisco Prieto García

Pachuca de Soto, Hidalgo

Agosto del 2007

---

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio 34 de la Facultad de Ingeniería Química y Ambiental de la Universidad Veracruzana zona Xalapa.

Parte de los resultados finales de este trabajo fueron publicados en las siguientes revistas especializadas:

1. **Título:** Modelado Matemático de un Fermentador Anaerobio Tipo Tanque Agitado en el Tratamiento de Vertidos Residuales.

**Autores:** Jorge Del Real, Francisco Prieto, Eva María Santos, Alma Delia Román y Alberto José Gordillo.

**Revista:** Journal of the Mexican Chemical Society (Special Issue) Vol. 50 (2006) No.2, pp.181.

**ISSN:** 1870 - 249X      **ISNN en línea:** 1665 - 9686

2. **Título:** Empleo y Manipulación de la Fermentación del Fluido Ruminal en el Tratamiento de Vertidos Residuales de Vinazas.

**Autores:** Jorge Del Real, Francisco Prieto, Eva María Santos, Alma Delia Román y Alberto José Gordillo. Revista:

**Revista** de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Vol. 89, (2006) No 12, pp. 55-61.

**ISSN:** 0328-2937

3. **Título:** Biocinética y Modelado Dinámico de la Degradación Anaerobia de Vinazas de Jugo de Caña.

**Autores:** Jorge Del Real, Francisco Prieto, Eva María Santos, Alma Delia Román y Alberto José Gordillo. Revista:

**Revista** de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Vol. 90, (2007) No 1.

**ISSN:** 0328-2937

---

4. **Titulo:** Factibility of treat wineryard wastewater through anaerobio biodigestion with a from cow's waste.

**Autores:** Jorge Del Real, Francisco Prieto, Eva María Santos, Alma Delia Román y Alberto José Gordillo.

**Revista:** Revista Técnica de Ingeniería, Universidad de Zulia Vol. 30, (2007) No.2pp. 128-135.

**ISSN:** 04248 – 3729

---

Resultados parciales de este proyecto se presentaron en los siguientes foros científicos:

- Dentro del XXV Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, en Puerto Vallara, Jal. del 4 al 7 de mayo del 2004.
- Dentro del IX Congreso Nacional de Ciencias Ambientales y III Congreso Internacional de Ciencias Ambientales, en Huatulco, Oax. del 12 al 14 de mayo del 2004.
- Dentro del X Congreso Nacional de Ciencias Ambientales y VI Congreso Internacional de Ciencias Ambientales, en Chetumal, Quintana Roo del 8 al 10 de junio del 2005.
- Dentro del XXVII Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, en Ixtapa, Gro. del 2 al 5 de mayo del 2006.
- Dentro del LX Congreso Nacional de la Sociedad Química de México, en México D.F. del 24 al 28 de Septiembre del 2006.
- Dentro del XI Congreso Nacional de Ciencias Ambientales y VII Congreso Internacional de Ciencias Ambientales, en Chihuahua, Chih. del 6 al 8 de Junio del 2007.

---

## AGRADECIMIENTOS

† A Dios por darme una hermosa familia y por brindarme la oportunidad de realizar aquí, uno de mis más grandes sueños en la vida.

† A la familia Sánchez Viveros, pero sobretodo al Ing. Lucio Enrique por ofrecerme su amistad y confianza para poder realizar este trabajo en la empresa "La Aurora" que tan acertadamente dirige.

† Al CEVIM de la Universidad Veracruzana por todo el apoyo y respaldo que me brindaron; pero en especial al Dr. Roberto Bravo Garzón y Dr. Raúl Cortez ya que sin sus consejos, este trabajo no podría haberse realizado.

† A los tesistas Isabel Cristina, Sara, Jorge, Bianca y Guillermo por ayudarme de manera desinteresada en la realización de este proyecto. Y a todos mis alumnos por impulsarme de una u otra forma a seguir adelante.

---

## DEDICTORIAS

† A mi hijo Kevin Eduardo por enseñarme a sonreír en los momentos más difíciles de mi Vida.

† A Gaby por estar siempre a mi lado brindándome su amor y comprensión.

† A mis Padres y Hermanos por enseñarme que con dedicación y esfuerzo todos los sueños son posibles.

† A mi Comité Tutorial por su valiosa guía en la elaboración de este trabajo; pero en especial a los Doctores Alberto Gordillo y Francisco Prieto por brindarme su enorme apoyo, pero sobretodo su amistad.

---

"La *Leyenda Personal* es aquello que siempre deseaste hacer. Todos, al comienzo de la juventud saben cual es su leyenda. Ahí, todo es posible y no tienen miedo de soñar y desear todo aquello que les gustaría hacer en su vida. Seas quien seas y hagas lo que hagas; cuando desees con firmeza alguna cosa, es porque el deseo nació en el alma del Universo."

"Así cuando quieres alguna cosa, todo el Universo conspira para que tu deseo se realice."

PAULO COELHO

---

# Índice general

Índice de tablas	.....	IV
Índice de figuras	.....	V
Lista de símbolos y abreviaturas	.....	VII
Resumen	.....	IX

## Capítulo I

### *Justificación y objetivos*

---

1.1 Justificación	.....	2
1.2 Objetivo general	.....	6
1.3 Objetivos particulares	.....	7

## Capítulo II

### *Revisión bibliográfica*

---

2.0	Métodos para la degradación anaerobia	
2.1	Procesos de degradación anaerobia	..... 9
2.2	Microbiología de la digestión anaerobia	..... 11
2.3	Bioquímica de la degradación anaerobia	..... 14
2.3.1	Bioquímica de la hidrólisis-acidogénesis	..... 15
2.3.2	Bioquímica de la metanogénesis	..... 18
2.4	Factores que influyen el desempeño digestivo	..... 23
2.4.1	Digestión anaerobia mesofílica	..... 23
2.4.1.1	Ventajas y desventajas del sistema mesófilo	..... 27



---

2.4.2	Efecto del pH sobre la digestión anaeróbica	.....	28
2.4.3	Efecto de la concentración de biomasa	.....	33
2.4.4	Influencia de la naturaleza del vertido	.....	36
2.4.5	Influencia del mezclado en los biorreactores	.....	38
2.5	Sistemas con inmovilización de biomasa	.....	39
2.5.1	Desarrollo de la biopelícula microbiana	.....	41
2.5.2	Soportes utilizados en la inmovilización microbiana	.....	48
2.5.3	Modelado de la difusión-reacción en la película	.....	49
3.0	Modelado del proceso de digestión anaerobia		
3.1	Modelado de los sistemas microbianos	.....	51
3.2	Modelado de los sistemas anaerobios	.....	53
3.3	Evolución histórica	.....	55
3.4	Simulación de un reactor tipo tanque agitado	.....	61
3.4.1	Formulación del modelo conceptual	.....	62
3.4.2	Consideraciones y simplificaciones al modelo	.....	64
3.4.3	Formulación del modelo matemático	.....	65

### **Capítulo III**

#### *Metodología experimental*

---

4.0	Materiales y métodos		
4.1	Metodología y plan de trabajo	.....	70
4.2	Cultivo primario y equipo de inoculación	.....	71
4.3	Determinación de la degradación de la alimentación	.....	73
4.4	Descripción del equipo experimental	.....	74
4.5	Caracterización de la alimentación	.....	76
4.6	Técnicas analíticas utilizadas	.....	78
4.6.1	Seguimiento de los parámetros de degradación	.....	78
4.6.2	Modificación en las condiciones de operación	.....	78
4.6.3	Técnicas de caracterización de diversos soportes	.....	82

---

## **Capítulo IV**

### *Resultados y discusiones*

---

5.0	Análisis de resultados y discusiones		
5.1	Introducción	....	85
5.2	Arranque del equipo de inoculación	....	86
5.3	Determinación de la biodegradabilidad de la alimentación	....	90
5.4	Influencia de la naturaleza y concentración del vertido	....	94
5.5	Influencia del pH del medio sobre la biodegradación	....	99
5.6	Efecto de la temperatura sobre la eficacia depurativa	....	106
5.7	Importancia de la agitación en el funcionamiento operativo	....	110
5.8	Dependencia de la concentración de biomasa en la digestión	....	113
5.9	Ensayos sobre la colonización de los soportes catalíticos	....	116
5.10	Modelado del funcionamiento de los biorreactores	....	122
	Conclusiones		127
	Bibliografía		130

---

# Índice de tablas

<i>Tabla 2.1</i>	Descripción de las distintas reacciones metanogénicas	22
<i>Tabla 2.2</i>	Reacciones implicadas en la degradación anaeróbica de materia	23
<i>Tabla 2.3</i>	Velocidad media de crecimiento bacteriano en la metanogénesis	27
<i>Tabla 2.4</i>	Factores que afectan el desarrollo de la biopelícula	46
<i>Tabla 3.1</i>	Definición de parámetros adimensionales	67
<i>Tabla 4.1</i>	Características físicas de los soportes microbianos	83
<i>Tabla 5.1</i>	Características promedio del fluido ruminal vacuno	87
<i>Tabla 5.2</i>	Volumen de biogás generado con el tiempo por el fluido ruminal	88
<i>Tabla 5.3</i>	Concentración y tiempos de retención de los gases analizados	89
<i>Tabla 5.4</i>	Características principales de las vinazas	90
<i>Tabla 5.5</i>	Evaluación de los parámetros del proceso de biodegradación	91
<i>Tabla 5.6</i>	Volumen de biogás con diferentes vinazas y concentraciones	95
<i>Tabla 5.7</i>	Volumen de biogás a diferentes tiempos de alimentación	96
<i>Tabla 5.8</i>	Generación de biogás a diferente pH y 5% en vol. de vinazas	99
<i>Tabla 5.9</i>	Generación de biogás a diferente pH y 10% en vol. de vinazas	102
<i>Tabla 5.10</i>	Volumen de biogás con diferentes temperaturas de operación	107
<i>Tabla 5.11</i>	Volumen de biogás generado con diferente velocidad de agitación	110
<i>Tabla 5.12</i>	Volumen de biogás con diferentes concentraciones de biomasa	113
<i>Tabla 5.13</i>	Volumen de biogás al introducir diferentes soportes	117

---

# Índice de figuras

<i>Figura 1.1</i>	Cantidad nacional de vinazas generada	3
<i>Figura 2.1</i>	Esquema general de los procesos anaerobios	14
<i>Figura 2.2</i>	Análisis filogenético y taxonómico del fluido ruminal	21
<i>Figura 2.3</i>	Etapas implicadas en la degradación anaerobia de glucosa	22
<i>Figura 2.4</i>	Esquema del crecimiento microbiano con la temperatura	25
<i>Figura 2.5</i>	Representación del factor de inhibición	33
<i>Figura 2.6</i>	Tiempo necesario para cada etapa	35
<i>Figura 2.7</i>	Diagrama conceptual de un sistema de biopelícula	41
<i>Figura 2.8</i>	Distribución relativa de biomasa activa e inactiva	43
<i>Figura 2.9</i>	Etapas del proceso de formación y desarrolla de la biopelícula	44
<i>Figura 3.1</i>	Esquema del reactor continuo de tanque agitado trifásico	62
<i>Figura 3.2</i>	Esquema del mecanismo de reacción heterogénea	63
<i>Figura 3.3</i>	Perfil de concentración en un reactor de suspensión	64
<i>Figura 4.1</i>	Diagrama del estómago de la vaca	71
<i>Figura 4.2</i>	Esquema experimental para los ensayos de biodegradabilidad	73
<i>Figura 4.3</i>	Diagrama del equipo experimental	75
<i>Figura 5.1</i>	Microscopía electrónica de los organismos del fluido ruminal.	86
<i>Figura 5.2</i>	Volumen de biogás generado con el tiempo por el fluido ruminal	89
<i>Figura 5.3</i>	Cambio de DQO en el tiempo'	92
<i>Figura 5.4</i>	Producción de gas en el tiempo	92
<i>Figura 5.5</i>	Orden cinético de la reacción	93
<i>Figura 5.6</i>	Relación entre la DQO y el gas	93
<i>Figura 5.7</i>	Comparación de los datos experimentales con la literatura	93
<i>Figura 5.8</i>	Generación de biogás a diferentes concentraciones y sustratos	95
<i>Figura 5.9</i>	Biogás generado a diferentes tiempos de alimentación	97

---

<i>Figura 5.10</i>	Biogás acumulado a diferentes tiempos de alimentación	98
<i>Figura 5.11</i>	Evolución del gas con la variación en el pH al 5% de alimentación	100
<i>Figura 5.12</i>	Acumulación de biogás al variar el pH a 5% de alimentación	102
<i>Figura 5.13</i>	Evolución del biogás al variar el pH con 10% de alimentación	104
<i>Figura 5.14</i>	Acumulación de biogás al variar el pH al 10% de alimentación	105
<i>Figura 5.15</i>	Comparación de los resultados experimentales con la teoría	106
<i>Figura 5.16</i>	Biogás generado a diferentes temperaturas de operación	108
<i>Figura 5.17</i>	Acumulación de biogás al cambiar la temperatura de operación	109
<i>Figura 5.18</i>	Biogás generado con diferentes velocidades de agitación	111
<i>Figura 5.19</i>	Acumulación de biogás al cambiar la agitación	112
<i>Figura 5.20</i>	Generación de biogás a diferentes concentraciones de biomasa	114
<i>Figura 5.21</i>	Acumulación de biogás a diferentes concentraciones de biomasa	116
<i>Figura 5.22</i>	Comportamiento biocinético con diferentes soportes microbianos	118
<i>Figura 5.23</i>	Acumulación de biogás con diferentes soportes microbianos	120
<i>Figura 5.24</i>	Representación de los soportes con biopelícula adherida	121
<i>Figura 5.25</i>	Comportamiento cinético de la generación de biogás	122
<i>Figura 5.26</i>	Perfil de concentración de materia en la Intrapartícula	123
<i>Figura 5.27</i>	Perfil del factor de efectividad contra el radio de la partícula	124
<i>Figura 5.28</i>	Cambio de la concentración del biogás con el tiempo	125
<i>Figura 5.29</i>	Cambo adimensional de la DQO con el tiempo	126

# *Lista de símbolos y abreviaturas*

<b>Símbolo</b>	<b>Nombre</b>	<b>Unidades</b>
<b>A</b>	Factor de frecuencia	$h^{-1}$
<b>B<sub>i</sub></b>	Número de Biot	Adimensional
<b>&lt;C<sub>Ai</sub>&gt;</b>	Concentración promedio en la partícula	mol/lit
<b>C<sub>f</sub></b>	Concentración de salida del reactor	mol/lit
<b>C<sub>g</sub></b>	Concentración en la fase gaseosa	mol/lit
<b>C<sub>i</sub></b>	Concentración del compuesto i	mol/lit
<b>C<sub>n</sub></b>	Concentración de entrada del sustrato	mol/lit
<b>C<sub>p</sub></b>	Concentración superficial de la partícula	mol/lit
<b>D<sub>efc</sub></b>	Difusividad efectiva	$m^2/s$
<b>E</b>	Concentración de enzima	mol/lit
<b>ES</b>	Concentración del complejo enzima-sustrato	mol/lit
<b>K<sub>i</sub></b>	Constante de velocidad de reacción	$h^{-1}$
<b>k<sub>m</sub></b>	Constante de Michaelis	Adimensional
<b>P</b>	Concentración de producto	mol/lit
<b>p<sub>i</sub></b>	Presión parcial del elemento i	atm
<b>pK<sub>i</sub> , pK<sub>h</sub></b>	Potencial de hidrógeno al 50% de crecimiento microbiano	Adimensional
<b>Q</b>	Flujo volumétrico	$m^3/s$
<b>R</b>	Constante universal de los gases ideales	Cal/mol °K
<b>R<sub>i</sub></b>	Coordenada radial	m
<b>r<sub>p</sub></b>	Radio de partícula	m
<b>R<sub>t</sub></b>	Radio total de partícula	m
<b>S</b>	Concentración de sustrato	mol/lit
<b>T</b>	Temperatura	°K
<b>t</b>	Tiempo	s
<b>u</b>	Energía de activación	Kcal/mol
<b>U<sub>g</sub></b>	Concentración del biogás	mol/lit
<b>U<sub>L</sub></b>	Concentración del líquido	mol/lit
<b>U<sub>p</sub></b>	Concentración de partícula	mol/lit
<b>V</b>	Volumen de reactor	$m^3$

---

### Letras griegas

$\alpha$	Coeficiente experimental	Adimensional
$\varepsilon_{\beta}$	Fracción porosa de la partícula	Adimensional
$\phi$	Modulo de Thiele	Adimensional
$\eta$	Factor de efectividad	Adimensional
$\mu$	Velocidad de crecimiento microbiano	$h^{-1}$
$\tau$	Tiempo adimensional	Adimensional
$\Psi_p, \Psi_{in}, \Psi_s$	Transformación adimensional en el sólido, líquido y gas	Adimensional
$\Psi_{pH}$	Función de inhibición	Adimensional
$\zeta$	Coordenada radial en la fase sólido	Adimensional
$\xi$	Coordenada radial en la fase gas	Adimensional

### Abreviaturas

<b>AGV</b>	Ácidos grasos volátiles
<b>AME</b>	Actividad metanogénica elevada
<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno
<b>EDAR</b>	Estación depuradora de aguas residuales
<b>LDF</b>	Fuerza impulsora lineal
<b>RCTA</b>	Reactor continuo de tanque agitado
<b>SNVS</b>	Sólidos no volátiles en suspensión
<b>ST</b>	Sólidos totales
<b>STS</b>	Sólidos totales suspendidos
<b>SVS</b>	Sólidos volátiles suspendidos
<b>SVT</b>	Sólidos volátiles totales
<b>TRH</b>	Tiempos de retención hidráulicos
<b>TRS</b>	Tiempos de retención de sólidos
<b>UABS</b>	Reactor anaeróbico de flujo ascendente

---

## **RESUMEN**

En este estudio, se empleó un consorcio microbiano proveniente del fluido ruminal vacuno para evaluar y modelar la cinética de depuración anaerobia de vinazas de la industria alcohólica, mediante la degradación de su materia orgánica expresada como DQO y la generación de biogás. Los resultados mostraron una alta capacidad depurativa del sustrato, disminuyendo en más de la mitad el contenido orgánico inicial; además, para mejorar la eficiencia del proceso, se modificaron las condiciones de operación como: la temperatura, agitación, pH y las características del vertido; encontrando sus valores óptimos para cada variable. Por otro lado, al incluir una matriz sólida en el sistema se favoreció notablemente la cinética bioquímica, siendo necesaria una menor cantidad de biomasa activa para realizar el proceso digestivo. Finalmente, se desarrolló y simuló un modelo matemático en base a los datos obtenidos; así, los resultados teóricos y experimentales sustentan convenientemente el empleo del consorcio con propósitos ambientales.

## **ABSTRACT**

In this study, a microbial consortium from bovine rumen fluid was used to evaluate and model the anaerobic degradation kinetics of distillery vinasses by means of the degradation of its organic matter expressed as COD and biogas generation. The results demonstrate a high capacity of degradation of substrate, diminishing the initial organic content by more than one half; also, to improve the efficiency of the process, operating conditions like: the temperature, agitation, pH and the characteristics of the industrial discharge were modified; finding their optimum values for each variable. On the other hand, when solid supports were included in the system, the biochemical kinetics were notably favored, reducing the amount of active biomass needed to carry out the digestive process. Finally, a mathematical model based on the obtained data was developed and simulated, so the theoretical and experimental results supported the use of this microbial consortium for environmental purposes.





---

*Capítulo I*

*Justificación y objetivos*

---

---

## 1.1 Justificación

La opinión pública mundial se ha sensibilizado de las graves consecuencias que se podrían ocasionar si se continúa con la misma dinámica de industrialización, y ha manifestado su enorme deseo de un mayor grado de desarrollo pero de manera sustentable.

Estas demandas de la sociedad, exigen un mayor esfuerzo a la Comunidad Científica para que proponga nuevos procesos que mitiguen o minimicen los efectos ambientales que son provocados por muchas de las actividades industriales.

Cabe resaltar que uno de los más importantes motores de la economía en el Sureste de México es la agricultura, y por ende las compañías del sector agroindustrial son relevantes. Este tipo de industrias, al igual que ocurre en la mayoría de los casos, deben contar con sistemas específicos de tratamiento de sus residuos, ya que la disposición de los mismos en los diferentes compartimentos medio-ambientales, provocan grandes y graves problemas de contaminación (Campos *et al.*, 1995).

Uno de los residuos contaminantes de mayor significación ambiental en este sector productivo, son los vertidos con alta carga orgánica frecuentemente denominados "vinazas". Dichas sustancias son originadas al destilar los azúcares fermentados contenidos en diversos materiales, los cuales permiten la degradación alcohólica de los mismos con la finalidad de obtener alcohol etílico de procedencia natural. En este caso, las características de las vinazas dependen de la materia prima empleada y del proceso de elaboración utilizado. En general, todos los tipos de vinazas constituyen una seria amenaza para el ambiente ya que la concentración de materia

orgánica que poseen (expresada como Demanda Química de Oxígeno, DQO) van desde 20,000 mg/l y llegan a alcanzar valores de hasta 200,000 mg/l. Otro aspecto importante a destacar sobre este residuo, es el enorme volumen de producción a escala nacional de vinazas generadas anualmente (Beltrán *et al.*, 1999).

Así, cabe distinguir entre las vinazas procedentes de diferentes fuentes, teniendo por ejemplo las de la industria vitivinícola (vinazas de vino), del vodka y del tequila por mencionar solo algunas. Sin embargo, las más comunes en esta zona geográfica del país son las vinazas de melaza generadas en los ingenios azucareros y en la destilación del jugo de caña para producir ron.

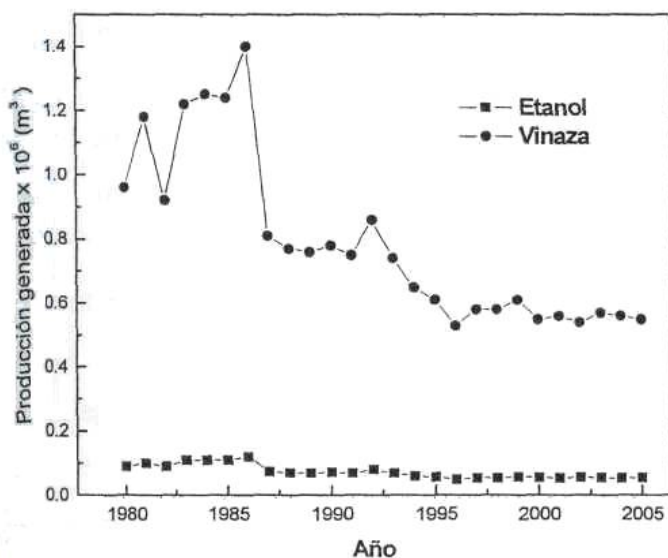


Figura 1.1 Cantidad nacional de vinazas generadas

Del total de ingenios operando en nuestro país 11 de ellos elaboran alcohol para subsistir a sus crisis económicas recurrentes, teniendo 5 de éstos sistemas en el estado de Veracruz. La cantidad total de alcohol produciendo en el 2003 en la entidad, representó el 41.5% de la producción total nacional. No obstante, por cada litro de etanol elaborado se generan en promedio 12 litros de vinaza (SAGARPA, 2007).

La figura 1.1, muestra el comportamiento que ha tenido la producción de vinazas y alcohol a través de los años a nivel nacional.

Los tratamientos depurativos idóneos para los vertidos de naturaleza orgánica como es el caso de las vinazas de melaza, son de índole microbiológico ya que los tratamientos fisicoquímicos o bien conducen a niveles de depuración excesivamente bajos para su descarga a los medios naturales o son extremadamente costosos para los efluentes con tan elevada carga contaminante. En tales casos, se prefieren los

---

tratamientos anaerobios en lugar de los aerobios por múltiples factores, entre los que cabe destacar los siguientes:

- a) Disminución en los costos de operación, ya que no es necesario oxigenar el medio. Además, como una consecuencia del metabolismo específico de estos microorganismos se produce biogás con alto contenido en metano (aprox. 70%), el cual puede ser utilizado con fines energéticos dentro de la misma planta.
- b) Disminución en los costos de inmovilización, ya que las concentraciones elevadas de materia orgánica en el vertido, disminuyen más aun la transferencia de oxígeno al medio líquido necesario para los procesos aerobios, lo cual implicaría para estos últimos tiempos de retención hidráulicos muy elevados.

Por otro lado, trabajar en el rango mesofílico (35 °C) de temperatura es avalado por varias razones: por una parte, estudios comparativos han demostrado una mayor estabilidad en el proceso de digestión en estas condiciones, además los costos de operación son sensiblemente más bajos que los generados al trabajar en el rango termofílico (55 °C). Finalmente, la escasez de trabajos de aplicación en el tratamiento de depuración de vertidos empleando un consorcio microbiano proveniente de una fuente animal, como lo es el fluido ruminal vacuno hace necesario, al menos caracterizar su funcionamiento en dichos sistemas.

En este trabajo se pretende demostrar la factibilidad de emplear un consorcio microbiano de procedencia animal como lo es el fluido ruminal vacuno, en el tratamiento de vertidos residuales con alta carga orgánica provenientes de una industria alcoholera del ron, en condiciones anaerobias y el rango mesofílico de temperatura.

Para esto, en el capítulo 2 se hace una revisión de los fundamentos y principios básicos disponibles para la degradación anaerobia de vertidos mediante una breve descripción de los procesos bioquímicos que ocurren al momento de realizarse la

---

digestión. Se detallan los mecanismos de adhesión microbiana cuando en el medio se introduce un sólido como soporte microbiológico.

Posteriormente, partiendo de un balance de materia se obtienen y evalúan las ecuaciones matemáticas adimensionales y en estado dinámico que describen el fenómeno digestivo anaerobio para células libres de un sistema químico de difusión-reacción en un sólido esférico, que es como se asume está compuesto el sistema digestivo aquí analizado.

En el capítulo 3, se presentan los métodos y las técnicas experimentales empleadas para evaluar el desarrollo de la fermentación de la materia orgánica apegado a la normatividad ambiental vigente.

Finalmente en el capítulo 4, se hace el análisis y la discusión de los resultados obtenidos experimental y teóricamente del proceso bioquímico realizado bajo diferentes condiciones de operación. Obteniendo con esto las características óptimas en las que se propone se deben realizar los procesos digestivos para que funcionen eficientemente.

---

## **1.2 *Objetivo general***

Analizar y describir el comportamiento cinético del consorcio microbiano presente en el fluido ruminal vacuno, cuando es empleado en el tratamiento de vinazas en condiciones anaerobias metanogénicas y mesófilas; estudiando en primera instancia la factibilidad de su empleo, así como la influencia de las principales variables de operación sobre la eficiencia depurativa; con lo que se pueda llegar a proponer un modelo matemático que permita predecir el comportamiento digestivo en un amplio rango de condiciones de operación.

---

## **1.3 *Objetivos particulares***

Para cumplir con lo anterior se plantea realizar lo siguiente:

- Depurar y adaptar el consorcio microbiano seleccionado a las condiciones del proceso digestivo.
- Establecer la factibilidad y el rendimiento de emplear el consorcio microbiano metanogénico en la depuración de vinazas de ron.
- Analizar la influencia de las variables de procesos tales como: pH, temperatura, concentración de biomasa, características del vertido, así como la velocidad de agitación, sobre el comportamiento biocinético del sistema.
- Comprobar la influencia de 5 soportes microbianos sobre el proceso de adhesión e inmovilización microbiana.
- Evaluar el comportamiento cinético del consorcio microbiano cuando se añaden matrices sólidas al proceso digestivo.
- Modelar y simular las ecuaciones matemáticas capaces de describir el comportamiento cinético del digestor, mediante la representación de un reactor biológico anaerobio tipo tanque agitado en estado cuasi-estacionario.

---

***Capítulo II***  
***Revisión bibliográfica***

---



---

## ***2.0 Métodos de degradación anaerobia***

### ***2.1 Procesos de degradación anaerobia***

El progresivo deterioro del medio ambiente debido fundamentalmente al desarrollo industrial y a la masificación de la población en los núcleos urbanos, ha generado una conciencia social (tanto a nivel de opinión pública como institucional) relativa a la necesidad de conservar el medio natural. En este sentido, parece consensuada la necesidad de depurar los desechos generados tanto por la actividad industrial como por las poblaciones urbanas. El problema generado por la contaminación del medio hídrico es tan apremiante que para su resolución es necesario considerar todas las alternativas posibles.

Uno de los procesos que ha despertado mayor interés en las últimas décadas es la digestión anaerobia de la materia orgánica; dicho proceso fue inicialmente empleado para estabilizar todos los desechos generados por las comunidades urbanas. Originalmente, los tiempos de retención hidráulicos (TRH) en estos procesos eran de 60 días o más, descubriéndose posteriormente que la descomposición se aceleraba mezclando y calentar el digestor aproximadamente a 35° C para homogenizar el sistema. Obteniéndose con esto, TRH de 15 a 20 días lo cual los convirtió en sistemas extremadamente populares y ampliamente utilizados para las degradaciones, particularmente en el tratamiento de aguas residuales municipales (McCarty, 1982).

Los avances tecnológicos y las altas velocidades de digestión alcanzadas han hecho al proceso muy atractivo para ser empleado también en el tratamiento de vertidos industriales. Ocasionalmente con esto, la aplicación de grandes desarrollos y el uso de una amplia variedad de innovaciones para el sistema.

---

Algunas de las ventajas que presentan estos procesos son: menor costo de operación, ya que no es necesario el aporte oxígeno; además de la generación de energía como una consecuencia natural del proceso microbiológico. Así, actualmente puede considerarse a la digestión anaerobia como una tecnología desarrollada que presenta ventajas significativas respecto a otras alternativas en numerosas aplicaciones como es el caso de la industria agroalimenticia (McCarty, 1982)

La depuración anaerobia de vertidos se fundamenta en la oxidación biológica de la materia orgánica contenida en el efluente, mediante el empleo de microorganismos específicos en ausencia de oxígeno y nitrógeno molecular. Como consecuencia de este proceso la materia se transforma en productos finales estables e inertes, al mismo tiempo que se genera biogás como subproducto (fundamentalmente compuesto por  $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ ) de considerable potencial energético (Aivasidis *et al.*, 2005)

Y aun cuando los procesos químicos, bioquímicos y biológicos de la degradación son complejos, se puede afirmar que están fundamentados en tres pasos esenciales:

- 1) La hidrólisis de la materia orgánica soluble de los sustratos.
- 2) La fermentación de este material soluble para producir ácido acético, dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e hidrógeno ( $\text{H}_2$ ).
- 3) La conversión del ácido acético,  $\text{H}_2$  y parte del  $\text{CO}_2$  en metano ( $\text{CH}_4$ ).

Se ha reportado (Grady *et al.*, 1999), que la mayor parte de la producción de metano se realiza a expensas de la disminución en la carga orgánica (expresada como demanda química de oxígeno, DQO), proporcionándole al vertido los mecanismos necesarios para la estabilización de la materia biodegradable. De modo que, solo una mínima parte de la disminución en la DQO se realiza sin la generación de  $\text{CH}_4$  siendo ésta atribuida a la obtención y evolución del  $\text{H}_2$ .

Con esto, se puede afirmar que la transformación anaerobia puede ser evaluada directamente a partir de la generación de metano o mediante la disminución en la DQO. Así, Grady y colaboradores (1999) reportan que un kilogramo de metano es equivalente a 4 kilogramos de DQO disminuido, lo cual equivale a que (en

---

condiciones estándar de presión y temperatura) se generarán 0.35 m<sup>3</sup> de CH<sub>4</sub> por cada kilogramo de DQO convertido. Por otro lado, estiman que el CO<sub>2</sub> contenido en el biogás está en el rango del 30-50%, el cual varía dependiendo la naturaleza del sustrato.

Lema y colaboradores (1991) proponen que los problemas que más afectan al diseñar un digestor anaerobio son:

- La baja velocidad de crecimiento microbiano durante la fermentación metanogénica.
- La poca actividad biológica mostrada por el sistema, especialmente al final del proceso.
- Los bajos coeficientes de saturación química, lo cual permite una extraordinaria afinidad de los microorganismos por el sustrato
- Alta influencia de los procesos de transferencia de masa tanto interna como externa.
- La presencia de inhibidores incluidos en los vertidos o derivados del mismo proceso.
- La necesidad de mantener los parámetros físico-químicos en un rango limitado, el cual favorezca al máximo la actividad microbiana.
- La necesidad de diseñar y operar digestores que puedan resistir las fluctuaciones mostradas por los vertidos tanto en su flujo como en su composición.

## **2.2 Microbiología de la digestión anaerobia**

La conversión anaerobia de complejos orgánicos en dióxido de carbono y metano requiere de la actividad coordinada de diferentes grupos tróficos de poblaciones bacterianas. Tradicionalmente la degradación anaerobia ha sido considerada como un proceso que acepta la existencia de tres grandes grupos bacterianos: Las bacterias formadoras de ácidos (o acidogénicas), las formadoras de acetatos (o acetogénicas) y finalmente las formadoras de metano (o metanogénicas) (McCarty *et* Rittmann, 2001).

Según este esquema, las bacterias acidogénicas son las encargadas de hidrolizar y fermentar los compuestos orgánicos complejos presentes en el residuo, en elementos más simples (ácidos orgánicos, aldehidos, alcoholes, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>) mediante reacciones de oxido-reducción. La producción de ácidos en esta fase generarían un descenso del pH del medio (hasta valores de 5.5 aproximadamente) si no existiesen otros microorganismos capaces de eliminar los mencionados ácidos.

---

En una etapa intermedia las bacterias acetogénicas, transforman los ácidos formados en la etapa anterior en componentes más pequeños que en la fermentación acidogénica y estos son oxidados anaeróbicamente a ácido acético, dióxido de carbono e hidrógeno que sirven de sustrato para las siguientes bacterias (Grady *et al.*, 1999).

En un proceso equilibrado, las bacterias metanogénicas consumen los productos orgánicos finales de la etapa anterior a la misma velocidad a la que se generan, produciendo dióxido de carbono, metano, nitrógeno, hidrógeno y otros gases según la naturaleza del vertido. La acción coordinada de los grupos bacterianos provoca que el pH del medio se estabilice en valores ligeramente alcalinos, en el rango de 7.4 a 8.5 dependiendo de la temperatura de trabajo (Hobson *et Stewart*, 1997).

Un conocimiento más profundo de las bacterias metanogénicas restringe los sustratos hábiles para éstas, únicamente a ácido acético, hidrógeno y dióxido de carbono lo que implica la existencia de un nuevo grupo de bacterias que actúan como intermediarias entre las acidogénicas y las metanogénicas (McCarty, 1982). Este grupo de bacterias se denomina bacterias acetogénicas "*productoras de hidrógeno*" y convierten los productos de la hidrólisis y la fermentación en acetato, hidrógeno, dióxido de carbono principalmente.

Angelidaki y colaboradores (2003) reportan que el hidrógeno y el ácido acético inhiben el metabolismo de las bacterias acetogénicas, siendo necesario una continua eliminación de estos compuestos del medio a través de la metanogénesis. Posteriormente se ha identificado a un cuarto grupo de bacterias: las homoacetogénicas, éstas fermentan un amplio espectro de sustratos hasta acetato. No obstante, el papel de este grupo de bacterias en la fermentación global es aún motivo de discusión (McCarty *et Rittmann*, 2001).

Estudios ultraestructurales, bioquímicos y de biología molecular hicieron posible identificar que las bacterias del tipo procariótico ubicadas en los dominios *Bacteria* y *Archaea* son las principales comunidades microbianas que existen en este tipo de operaciones. Así, si se quiere describir el funcionamiento de un sistema anaerobio se

---

debe establecer la compleja interacción entre este tipo de organismos ya que son la pieza fundamental para el desarrollo de la población metanogénica. Una representación más detallada del proceso anaerobio de degradación de la materia orgánica permite considerar cuatro etapas sucesivas (Carrillo, 2003).

Hidrólisis (o licuefacción). En esta primera etapa los polímeros orgánicos son fragmentados en pequeñas subunidades que pueden ser fácilmente transportadas hasta el interior celular. Aquí por ejemplo, las proteínas son degradadas a aminoácidos y los polisacáridos a monosacáridos.

Fermentación acidogénica (o acidogénesis). Esta implica la fermentación de las pequeñas subunidades producidas en la hidrólisis, a través de una serie de reacciones consecutivas, generándose una gran variedad de compuestos orgánicos simples. Los productos de esta etapa son principalmente ácidos grasos volátiles (AGV), CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>; así como pequeñas cantidades de ácido láctico y etanol. Este proceso constituye la base energética de la población no metanogénicas.

Fermentación acetogénica (o acetogénesis). En esta fase los componentes más pequeños de la acidogénesis son oxidados bajo condiciones anaerobias, a ácido acético, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> que sirven de sustrato para las bacterias metanogénicas.

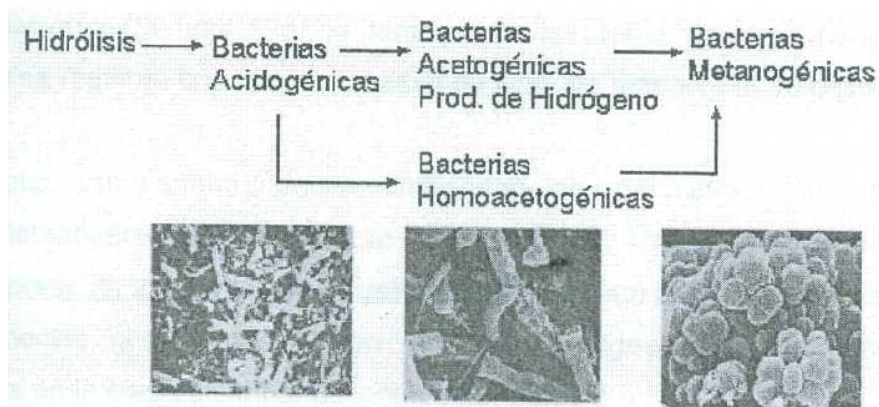
Fermentación metanogénica (o metanogénesis). Esta es la etapa final del tratamiento e implica dos tipos principales de reacción. Por una parte, aquella en donde el CO<sub>2</sub> y el H<sub>2</sub> se combinan para producir metano y agua. Mientras que por la otra, las que convierten al acetato directamente en CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>.

Los factores fisicoquímicos y las condiciones de proceso, tales como pH, temperatura, tiempo de retención hidráulico (TRH) y de biomasa (TRS), así como la naturaleza y composición del sustrato; determinan el habitat adecuado para uno u otro tipo de organismo. Los cambios en las condiciones físicas o biológicas del medio implican cambios metabólicos y de adaptación de las distintas especies, alterando o modificando la actividad natural de las poblaciones implicadas.

Así durante la fase de puesta en marcha del proceso anaerobio, las distintas familias microbianas evolucionan hasta que la biocenosis se estabiliza y todos los grupos alcanzan sus proporciones finales, siendo la composición del sustrato la que determina

---

el grado de desarrollo de las distintas micropoblaciones en el interior del sistema (Aoi, 2002; Pérez, 1995). En la figura 2.1, se muestra un esquema general de los procesos anaerobios además de la vista al microscopio de algunas bacterias presentes frecuentemente en estos sistemas.



**Figura 2.1** Esquema general de los procesos anaerobios.

### **2.3 Bioquímica de la degradación anaerobia**

En general atendiendo al sustrato utilizado, los microorganismos se pueden clasificar en autótrofos y heterótrofos. Los heterótrofos utilizan la materia orgánica como fuente de energía y de carbono para la síntesis de nuevos microorganismos, mientras que los autótrofos oxidan compuestos inorgánicos para la obtención de energía utilizando el  $\text{CO}_2$  como fuente carbonada (Gavrilescu *et* Macoveanu, 2000). En este sentido, las bacterias implicadas en el proceso anaerobio son de naturaleza heterótrofa, excepto las bacterias metanogénicas "que utilizan hidrógeno".

El metabolismo microbiano es un entrecruzamiento de dos actividades íntimamente interconectadas pero divergentes: los procesos anabólicos, relacionados con la construcción del material celular y los procesos catabólicos, en los que se libera la energía necesaria para el anabolismo y el mantenimiento de las funciones vitales del microorganismo. El acoplamiento de los procesos catabólicos y anabólicos es la base de toda la bioquímica microbiana (Krause *et* Russell, 1996).

La degradación microbiana de la materia orgánica depende del metabolismo implicado en cada caso. En los procesos aerobios, la oxidación global de los

---

compuestos carbonados para producir agua y dióxido de carbono es una reacción altamente exotérmica; de este modo, un organismo aerobio requiere pequeñas cantidades de sustrato para mantener cierto nivel de crecimiento. A diferencia del metabolismo aerobio, la degradación del sustrato vía anaerobia libera una cantidad de energía relativamente baja. Por lo tanto, para mantener un determinado nivel de anabolismo se requiere una mayor cantidad de sustrato respecto al proceso aerobio.

El metabolismo anaerobio está condicionado en gran medida, por la población de bacterias metanogénicas. Estas utilizan un número muy limitado de sustratos (acetato, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>), presentando tiempos de duplicación (2-12 días) muy superiores a la mayoría de las especies que cohabitan con ellas en el digestor y generalmente, están involucradas en la etapa limitante del proceso anaerobio.

### **2.3.1 Bioquímica de la hidrólisis-acidogénesis**

La primera etapa en la degradación de un compuesto polimérico insoluble es la hidrólisis inicial del mismo (Hofman-Bang et al., 2003). Gran parte de la información que se posee acerca de esta fase hidrolítica procede del estudio del rumen (Hobson et Stewart, 1997). Actualmente, se conoce el proceso de hidrólisis de ciertos polímeros presentes en la degradación anaerobia de biomasa vegetal: homopolisacáridos (celulosa y almidón), heteropolisacáridos (hemicelulosas), pectinas, ligninas y proteínas.

Se ha comprobado, que los productos de degradación de tales polímeros dependen de la naturaleza del inóculo, según se trabaje con cepas puras de microorganismos hidrolíticos o por el contrario, se utilicen cultivos mixtos como ocurre en muchas plantas de tratamiento de aguas (Carrillo, 2003). Esta diferencia deriva de la fuerte interacción existente entre las diversas especies implicadas. Las bacterias proteolíticas más frecuentes en los digestores anaerobios son del género *Clostridium spp.* (Sánchez et al., 2000). Las enzimas proteolíticas que son estables en rangos de pH de 5-11, son muy específicas en su ataque aunque algunas pueden hidrolizar además carbohidratos.

---

En resumen, la etapa hidrolítica es decisiva en la degradación de vertidos con alto contenido en sustratos poliméricos pudiendo llegar a ser la etapa controlante de la reacción. Esta etapa es catalizada principalmente por enzimas extracelulares formadas por las bacterias acidogénicas, ejemplo de éstas son: la celulasa, amilasa y proteasas. No obstante, por su enorme variedad actualmente se posee escasa información sobre los microorganismos y enzimas que actúan en el seno de los reactores anaerobios.

Los productos procedentes de la hidrólisis de grandes macromoléculas orgánicas son metabolizados en el interior celular siguiendo diferentes rutas según su naturaleza. Las reacciones de hidrólisis son fuertemente exergónicas y su velocidad viene limitada en gran parte, por el grado de trituración o el tamaño de las partículas de las sustancias a hidrolizar (McCarty *et* Rittmann, 2001).

Así, se pueden distinguir dos grandes tipos de metabolismos: acidogénicos y acetogénicos:

**A. Metabolismos acidogénicos.** La acidogénesis se produce a partir de los compuestos procedentes de las reacciones de hidrólisis previas, obteniéndose por diferentes vías productos aptos para la acidogénesis, tales como ácidos orgánicos (acetato, propionato, butirato, lactato, etc. ) y alcoholes, además de otros subproductos importantes para etapas posteriores (amoníaco, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, etc.). Así, los hidratos de carbono, los lípidos y las proteínas pueden conducir a la formación de AGV por distintas rutas metabólicas. El conjunto de los productos formados y sus proporciones son función de las sustancias presentes en el sustrato alimentado y de las bacterias presentes en el cultivo.

**B.- Metabolismo acetogénico.** Los productos finales de la flora acidogénica (butirato, propionato, etc.), junto con el H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> se transforman en acetato a partir de dos rutas diferentes:

- l) Por deshidrogenación acetogénica, como producto de la fermentación de ácidos (ácidos grasos volátiles o lactato) y alcoholes.



- 
- II) Por hidrogenación acetogénica, en la que las bacterias homoacetogénicas sintetizan acetato a partir de hidrógeno y dióxido de carbono.

Estas familias bacterianas convierten la materia orgánica soluble, procedente de la hidrólisis, en sustratos aptos para la metanogénesis. Los productos de la fase hidrolítica son muy variados, incluyendo compuestos como acetato, ácidos grasos, péptidos y oligosacáridos.

Ahring (2003), distingue dos tipos de bacterias en los procesos anaerobios: las bacterias acetogénicas reductoras obligadas de protones y las bacterias fermentativas acidogénicas. Ambas producen sustratos metanogénicos ( $H_2$ ,  $CO_2$  y acetato). La diferencia estriba en que las bacterias fermentativas crecen independientemente de que el hidrógeno producido en su metabolismo sea oxidado o eliminado del medio, ya que cuando no se produce esta eliminación, los electrones que normalmente se canalizarían hacia la producción de  $H_2$ , se consumen por otras vías.

Las bacterias fermentativas metabolizan un gran número de carbohidratos para producir principalmente AGV, cuando la presión del  $H_2$  es elevada y  $H_2-CO_2$  si la presión de hidrógeno es pequeña. Los electrones generados durante esta fermentación pueden ser transferidos a nucleótidos de piridina y finalmente dispuestos en la ruta de reducción de protones para formar  $H_2$ . Algunas reacciones fermentativas se producen sólo a bajas presiones de  $H_2$  en estas condiciones, el producto mayoritario es acetato. Cuando la eliminación de  $H_2$  es menos eficiente, éste bloquea la eliminación de electrones vía reducción de protones y las bacterias fermentativas deben asumir dichos electrones por otras vías, con el consiguiente aumento de productos reducidos de oxidación tales como propionato y butirato (Pérez *et al.*, 1997).

Las bacterias acetogénicas "*protón-reductoras obligadas*" forman acetato y únicamente crecen a muy bajas concentraciones de  $H_2$ . Un tercer grupo de bacterias denominadas homoacetogénicas, catalizan las retroreacciones tales como la producción de acetato a partir de  $H_2$  y  $CO_2$ . Estas retroreacciones pueden darse conjuntamente con sus correspondientes inversas en microambientes diferentes dentro de un mismo reactor, siempre que la concentración de  $H_2$  sea la adecuada.

---

### 2.3.2 Bioquímica de la metanogénesis

La metanogénesis es el último paso del proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica. En esta etapa, la mayor parte de la energía química contenida en el sustrato es convertida en metano por actuación de las bacterias metanogénicas. Este grupo bacteriano requiere condiciones medioambientales muy estrictas para su desarrollo y de elementos tales como: vitaminas, trazas minerales no usuales (como Ni y Co), AGV, cofactores específicos, etc. (McCarty *et* Rittmann, 2001).

Existe una compleja relación entre las bacterias metanogénicas y las no metanogénicas. Por oxidación del H<sub>2</sub>, las bacterias metanogénicas mantienen la concentración de este compuesto en un nivel lo suficientemente bajo como para que crezcan y se desarrollen las bacterias no metanogénicas, que en otras condiciones no podrían coexistir. Así, las bacterias metanógenas consumen H<sub>2</sub>, además actúan como sumidero de electrones para las especies sensibles a este compuesto. Esta interacción entre productores de H<sub>2</sub> y especies oxidantes del mismo, posibilita los mecanismos necesarios para que aquellos sustratos no metabolizables por los cultivos de bacterias anteriores, siendo asimilados por cultivos mixtos en ambientes anaerobios. Por consiguiente, la bioconversión es más completa ya que las bacterias metanogénicas pueden acceder a sus sustratos partiendo de sustancias complejas tales como proteínas y carbohidratos entre algunos otros.

Los diferentes cultivos puros que constituyen la familia metanogénica han sido identificados mediante diferentes métodos desde la década de los 60's del siglo XX (McCarty *et* Rittmann, 2001). Estos cultivos han sido aislados en gran variedad de habitat, tales como en sedimentos marinos y de agua dulce, en el tracto digestivo y heces tanto de humanos como animales.

Los principales factores y cofactores implicados en el proceso de fermentación anaerobia son:

- A.- Coenzima M (CoM), investigado y aislado por primera vez por Wolfe (Rodrigues *et al.*, 2004). Es el primer factor designado como exclusivo de las bacterias metanogénicas y responde a la estructura molecular HS-SCH<sub>2</sub>-

---

CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>". Actúa como portador terminal del grupo metil en la formación de CH<sub>4</sub>. La reacción final es catalizada por la metilreductasa metil-CoM.

B- El F<sub>420</sub> es un compuesto fluorescente de bajo peso molecular y está presente en todas las familias metanogénicas, actuando como primer portador electrónico para emparejar a la enzima hidrogenasa al metabolismo de H<sub>2</sub> durante la formación de CH<sub>4</sub>.

C- Los F<sub>342</sub> y F<sub>430</sub> son factores cromofóricos con función poco conocida. El F<sub>430</sub> es un tetrapirrol de níquel.

No obstante, según el tipo de sustrato utilizado se distinguen dos subcategorías de estos organismos (LaParra *et al.*, 2000):

- **Metilotróficos:** capaces de usar acetato., metanoJ.v, Qír.a¹LcximríJiftsía°L'?7íü¿laflí3ft..
- **No metilotróficos:** que usan H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> y en ocasiones formiato.

Algunas especies metanógenas son autótrofas y otras requieren la presencia de factores complejos tales como metales traza (Ni, Se, W, Fe<sup>3+</sup>), o factores orgánicos como: CoM, vitaminas y aminoácidos del tipo leucina e isoleucina, entre otros.

La importancia de las bacterias metanogénicas acetoclásticas (que utilizan acetato) determina cuales son los requerimientos anabólicos del sistema. El acetato es inicialmente dividido a partir de una reacción desconocida que implica rearrreglo de protones. Termodinámicamente, esta reacción conlleva una pequeña liberación de energía que da lugar a la controversia sobre su capacidad para servir como única fuente energética en el crecimiento bacteriano. Sin embargo, se ha demostrado que determinados cultivos pueden existir en un medio constituido únicamente por acetato.

Dentro del género metanogénico las bacterias más conocidos son: *Methanosarcina* y *Methanotrix*. En el género *Methanosarcinas* se distinguen diferentes especies, como la *M. termóphila* (oxidan H<sub>2</sub>); *M. barkery* (pueden oxidar H<sub>2</sub>) y la *M. mazei* (metaboliza H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> antes que acetato). Dentro del género

---

*Methanotrixes* se identifica a la especie *soehntgenii*, que crece únicamente en acetato.

Los requerimientos nutricionales de los microorganismos metanogénicos son muy variados. Algunos de ellos son autótrofos, mientras que otros necesitan factores de crecimiento muy complejos o trazas de minerales muy concretos (Ni, Co y Mo en el caso de la *Methanobacterium thermoautotrophicum*). No obstante, la presencia de trazas metálicas como cofactores, siempre favorece el crecimiento de cultivos mixtos.

A finales de la década de los sesenta se definió una nueva categoría taxonómica: las *Arqueobacterias*. Estas representan un nuevo conjunto de microorganismos que constituyen una tercera línea filogenética diferente a la de eucariotas y las del resto de las procariotas (o eubacterias). La peculiaridad de las arqueobacterias frente a las otras, deriva en que sus membranas celulares contienen lípidos de naturaleza isoprenoide con enlaces del tipo éter en lugar de éster; careciendo de mureína en las paredes celulares (Pérez, 1995). No obstante, su taxonomía sigue siendo actualmente, materia de discusión y revisión.

Una descripción completa de las diferentes familias metanogénicas se muestra en la figura 2.2. Ahí se observan los resultados obtenidos de un análisis filogenético y taxonómico realizado por Whitford y colaboradores en el 2001, a varias muestras de fluido ruminal empleando una serie de secuencias genéticas (16S rRNA).

Debido a la compleja naturaleza microbiana de los procesos anaerobios, no se puede llegar a una conclusión definitiva de la población microbiana existente en estos sistemas. Así se han reportado (McHugh *et al.*, 2004), cambios drásticos en las características de la ecología microbiana, ya que depende entre otros factores de las condiciones de operación, composición de la alimentación y diseño del fermentador. Dichos cambios llegan a ser tan graves que es necesario rediseñar el digestor o al menos modificar sus condiciones iniciales de operación (Russell *et Rychlik*, 2001).

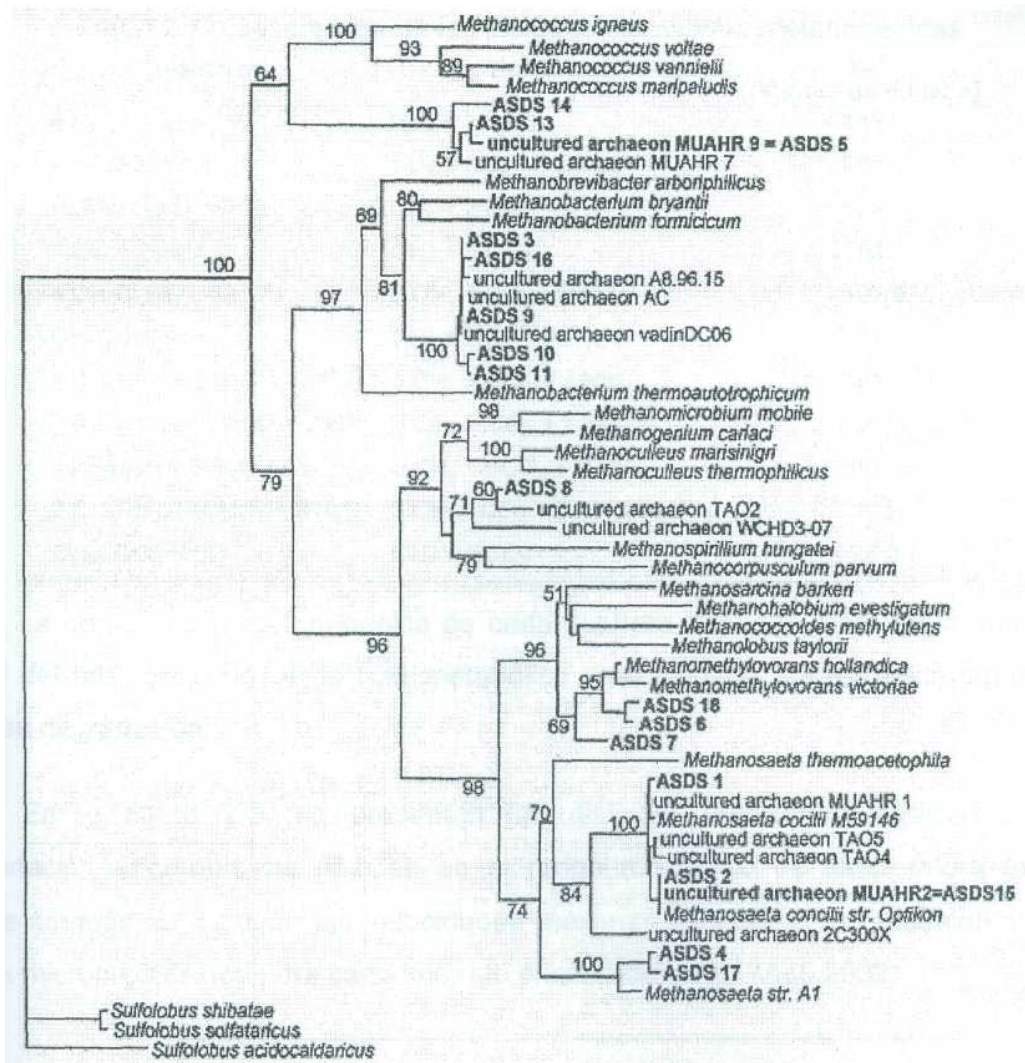


Figura 2.2. Análisis filogenético y taxonómico del fluido ruminal (Whitford *et al.*, 2001)

Las distintas reacciones implicadas en la metanogénesis fueron estudiadas ampliamente por Cairo y reportadas por Pérez y colaboradores (1997). En la tabla 2.1. se esquematizan las diversas reacciones verificadas en los reactores metanogénicos acompañadas de sus cantidades energéticas necesarias para la transformación irreversible espontánea, expresada mediante la energía libre de Gibbs asociado a cada mol de CH<sub>4</sub> producido.

Reactivos	Productos	$\Delta G^\circ$ (KJ/mol de metano)
4 H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub> + 2H <sub>2</sub> O	- 139.2
4 HCOO <sup>-</sup> + 2 H <sup>+</sup>	CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	- 126.8
HCOO <sup>-</sup> + 3 H <sub>2</sub> + H <sup>+</sup>	CH <sub>4</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	- 134.3
4 CO + 2 H <sub>2</sub> O	CH <sub>4</sub> + 3 CO <sub>2</sub>	- 185.1
4 CH <sub>3</sub> COH	3 CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	- 102.5
CH <sub>3</sub> COH + H <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub> + H <sub>2</sub> O	- 121.1
4 CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> + 2 H <sub>2</sub> O + 4 H <sup>+</sup>	3 CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 4 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- 101.6
2 (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH + 2 H <sub>2</sub> O + 2 H <sup>+</sup>	3 CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- 86.3
4 (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N + 6 H <sub>2</sub> O + 4 H <sup>+</sup>	9 CH <sub>4</sub> + 3 CO <sub>2</sub> + 4 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	- 80.2
2 CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	3 CH <sub>4</sub> + CO <sub>2</sub> + 2 CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	- 70.0
CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> + H <sub>2</sub> O	CH <sub>4</sub> + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	- 28.2

La degradación metanogénica de cada sustrato depende tanto de la naturaleza inicial del mismo, como de la ruta metabólica seleccionada por los microorganismos para su degradación.

En la figura 2.3, se presentan las distintas reacciones implicadas en la degradación anaerobia de glucosa en el rango mesofílico de temperatura (35 °C), donde además se incluyen las velocidades máximas específicas de crecimiento ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ), de los microorganismos para cada sustrato expresado en h<sup>-1</sup> (Aoi, 2002).

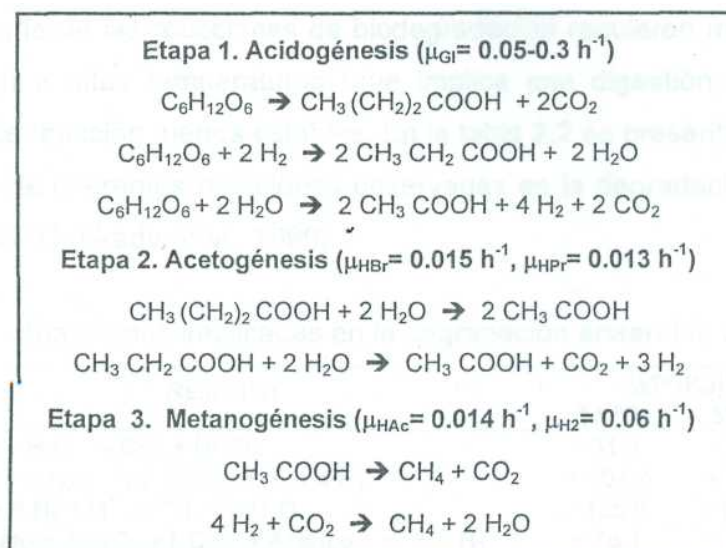


Figura 2.3 Etapas implicadas en la degradación anaerobia de la glucosa

## 2.4 Factores que influyen el desempeño digestivo

Se ha comentado ya que las condiciones ambientales y las características del sustrato, determinan el funcionamiento y las propiedades de la colonia microbiana. Así, se ha comprobado que los parámetros ambientales como la temperatura, pH, la agitación y la introducción de un soporte microbiano afectan drásticamente la cinética del proceso. Además, la naturaleza y concentración del vertido alimentado, desencadenan diversos efectos que pueden llegar a ser muy significativos para el habitat microbiano. Por lo anterior, a continuación se analizan algunos parámetros.

### 2.4.1 Digestión anaerobia mesofílica

Tradicionalmente los microorganismos se han clasificado en grandes grupos, dependiendo de su temperatura óptima de crecimiento:

Clasificación	Temp. Óptima
Psicrófilas	Menor a 20 °C
Mesófilas	20-40 °C
Termófilas	Mayor a 45 °C

Se ha comprobado (Grady *et al.*, 1999) que la temperatura ejerce una fuerte influencia sobre la actividad biológica, ya que afecta tanto a su capacidad catalítica como a la difusión del sustrato hacia las células. De esta manera, los aspectos termodinámicos de la conversión de compuestos químicos dependen de la temperatura; y aunque la mayoría de las reacciones de biodegradación requieren menores energías de transformación a altas temperaturas (que implica una digestión más rápida), se tienen sistemas de reacción menos estables. En la tabla 2.2 se presenta un resumen de los comparativos de diferentes reacciones observadas en la degradación de la materia orgánica a 35 y 55 °C (Grady *et al.*, 1999).

Tabla 2.2 Reacciones implicadas en la degradación anaerobia de materia

Reacción	$\Delta G^{\circ}$ (KJ)	
	35 °C	55 °C
Acetato + H <sub>2</sub> O → CH <sub>4</sub> + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	- 31.0	- 34.7
Acetato + 4 H <sub>2</sub> O → 2 HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + H <sup>+</sup> + 4 H <sub>2</sub>	+ 104.2	+ 89.8
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 4 H <sub>2</sub> + H <sup>+</sup> → CH <sub>4</sub> + 3 H <sub>2</sub> O	- 135.6	- 122.5
Propionato + 3 H <sub>2</sub> O → HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + Acetato + H <sup>+</sup> + 3 H <sub>2</sub>	+ 76.1	+ 62.3
Butirato + 2 H <sub>2</sub> O → 2 Acetato + H <sup>+</sup> + 2 H <sub>2</sub>	+ 48.1	+ 37.9

---

Aunque las micropoblaciones anaerobias pueden crecer en un amplio rango de temperaturas, la mayor parte de los estudios de aplicaciones prácticas se han realizado en condiciones ambientales (20-25 °C), mesófilas (35 °C) o termófilas (55 °C). Dentro de cada rango, la velocidad de crecimiento aumenta con la temperatura hasta alcanzar un máximo, y a partir del cual empieza a disminuir. Por lo tanto, ésta es una de las variables ambientales primordiales ya que dicta los límites de viabilidad del proceso, pues afecta a todos los microorganismos de manera diferente llegando incluso a perjudicar la integridad celular de la población microbiana.

Así, dentro del rango aceptable de operación los incrementos de temperatura generan dos efectos importantes en los organismos (Peterson *et al.*, 2006); por un lado, se favorece la reacción catalítica ( $k_{cat}$ ) como lo propuso por primera vez Arrhenius en 1889 al cuantificar el efecto de la temperatura sobre la capacidad enzimática en la hidrólisis del azúcar (Thomas *et Scopes*, 1998), mediante la siguiente ecuación:

$$k_{cat} = Ae^{-u/RT} \quad (2.1)$$

Aquí  $A$  es una constante del sistema que toma en cuenta la frecuencia y orientación de las colisiones moleculares y  $u$  es la energía mínima necesaria para llevar a cabo la transformación (la cual es llamada energía de activación) (kcal/mol); ambos parámetros se obtiene comúnmente al graficar  $\ln k_{cat}$  contra  $1/T$  y despejándola de la pendiente.  $R$  es la constante de los gases (1.987 cal/mol °K) y  $T$  es la temperatura absoluta (°K). Los valores normalmente observados en la energía de activación para los sistemas biológicos se encuentran en el rango de 4 a 20 kcal/mol, medidas a 25 °C, y un aumento de 10 °C, favorece su actividad de 1.2 a 3.0 veces. Por otro lado, Henze y Harremóes, resumieron varios resultados experimentales (Bergamasco *et al.*, 2000) y proponen que para la metanogénesis,  $u$  adquiere un valor promedio aproximado de 66.7 kJ/mol en un rango de temperaturas de 10 a 30 °C.

Por otro lado, de la misma forma en que la temperatura favorece la acción catalítica, cuando se sobrepasa dicho valor óptimo se propicia la desnaturalización irreversible de la biomasa. Esta variación es frecuentemente representada mediante la constante de Michaelis ( $k_m$ ) y a menudo se asume como la responsable de la



disminución en la velocidad de reacción. El mecanismo de reacción enzimático supuesto para obtener dicha constante fue propuesto originalmente por Michaelis y Menten en 1913 (Sundaram *et Wankat*, 1998) e involucra la siguiente ecuación cinética:



Donde (E) es la concentración de enzima libre, (S) la cantidad de sustrato y (ES) es conocido como el complejo enzima-sustrato; mientras que (P) es la concentración de producto generado en la biorreacción. El esquema anterior da como resultado que la constante de Michaelis sea definida como:

$$k_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (2.3)$$

En este caso  $k_{-1}$  y  $k_1$  son las constantes de reacción directa e inversa respectivamente hacia el complejo (ES) y  $k_2$  es la constante directa hacia (P). LaPara y colaboradores (2000) reportan que, para el tratamiento de aguas residuales municipales en un rango de temperatura de 25 a 45 °C, el crecimiento microbiano aumento 40% su valor, pero declino a menos de la mitad al incrementar a 65 °C. Lo anterior lo atribuye en la primera parte, al cambio en la energía de activación del sistema y la segunda a la reducción en la actividad metabólica debida a la muerte térmica del consorcio.

Un esquema general que representa como afecta la temperatura al crecimiento microbiano ( $\mu$ ), se muestra a continuación.

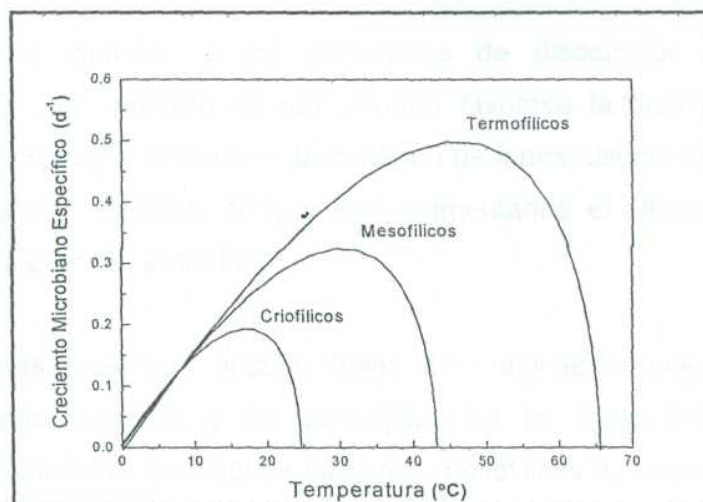


Figura 2.4 Esquema del crecimiento microbiano con la temperatura.

---

Las curvas que describen el desarrollo microbiano son asimétricas con respecto al valor óptimo de temperatura, un incremento por encima de dicho valor provoca una disminución de la velocidad de crecimiento microbiano mayor que una disminución equivalente de la temperatura respecto del óptimo. La causa de este fenómeno es que la energía de activación de los procesos metabólicos es apreciablemente menor que la de los procesos de muerte térmica de los organismos.

Por otra parte, las propiedades fisicoquímicas y cinéticas del medio de reacción también están relacionadas directamente con la temperatura, siendo las más importantes (Grady *et al.*, 1999):

- A.- La viscosidad del medio líquido disminuye al aumentar la temperatura. Por tanto, altas temperaturas favorecen la sedimentación de las partículas lo cual puede incrementar los problemas de colmatación.
- B.- La solubilidad de los gases disminuye al aumentar la temperatura. Esto implica una menor concentración de CH<sub>4</sub> en el medio, pero también de H<sub>2</sub>, amoníaco y sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S), lo cual ejerce un efecto negativo (y a veces tóxico) sobre el proceso, ya que el hidrógeno juega un papel crucial en la metanogénesis por ser el elemento que controla a los diversos productos.
- C.- El equilibrio químico y las constantes de disociación dependen de la temperatura. Un aumento de temperatura favorece la disolución de elevadas cantidades de sales. Asimismo, la cantidad de iones disociados pueden cambiar a ácidos grasos volátiles, NH<sub>3</sub>, y H<sub>2</sub>S, aumentando el efecto tóxico de ciertos compuestos como el amoníaco.

Las bacterias mesófilas poseen tasas de crecimiento intermedias entre las bacterias del rango termófilo y las psicrófilas. En la Tabla 2.3 se recogen las velocidades de crecimiento de algunas bacterias mesofilicas de reconocida importancia en la formación de acetato y en la metanogénesis a 35 y 55 °C.

**Tabla 2.3** Velocidad media de crecimiento bacteriano en la metanogénesis.

Reacción	Velocidad de crecimiento $\mu_{max}$ (h <sup>-1</sup> )	
	30/35 °C	55 °C
H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> → CH <sub>4</sub>	0.19	0.33
Acetato → CH <sub>4</sub> ( <i>Metanosarcina</i> )	0.023	0.060
( <i>Methanotrix</i> )	0.010	0.028
Propionato → Acetato	0.008	0.030
Butirato → Acetato	0.013	0.109

#### **2.4.1.1 Ventajas y desventajas del tratamiento mesófilo**

En general, las principales ventajas que ofrece el tratamiento anaerobio mesofílico se pueden resumir en los siguientes puntos:

- A.- Velocidad de crecimiento bacteriano. Aun cuando la velocidad de crecimiento de los microorganismos a 55 °C es dos o tres veces superior a la de organismos a 35 °C, las fluctuantes condiciones de operación ocasionan digestores inestables y de poco control. Asimismo, la cantidad de biomasa generada a temperaturas elevadas es varias veces superior a la del rango mesofílico.
- B.- Requerimientos energéticos. Debido a que la temperatura óptima de las bacterias termofílicas es elevada y las criofílicas es baja, los requerimientos energéticos para las bacterias mesofílicas no requieren grandes inversiones en esta variable ya que se pueden alcanzar las condiciones fácilmente.
- C.- Baja generación de biomasa. Dado que la velocidad de crecimiento bacteriano no es muy elevado en las condiciones mesofílicas, el fango generado en estos procesos es bajo. Además, dicho fango puede presentar capacidad fertilizante.
- D.- A medida que se aumenta la temperatura disminuye la viscosidad de los líquidos, lo que favorece el grado de mezcla, pero también la sedimentación de las partículas formadas. Dicho fenómeno es reportado escasamente en los biorreactores mesofílicos.

---

Las principales desventajas asociadas a estos procesos son las siguientes:

- A.- Elevado número de organismos. Este factor genera que las condiciones óptimas del proceso sean cambiantes a través del tiempo ya que cada familia requiere de condiciones diferentes, esto demanda un control estricto del proceso.
- B.- Potenciación de la toxicidad de compuestos. Elementos tales como el amonio y la concentración de AGV llegan a inhibir el proceso biológico cuando estos exceden las concentraciones de tolerancia. Este problema puede ser eliminado mediante un correcto diseño del reactor.

Actualmente, no hay acuerdo establecido sobre si un aumento de la temperatura de operación (con el consiguiente incremento de la actividad biológica), compensa el mayor costo que supone alcanzar y mantener esas condiciones. Es preciso realizar un estudio económico de cada caso particular; es por esto que la mayoría de las instalaciones a nivel industrial operan en el rango mesofílico, siendo el rango de temperatura más rentable. En este sentido, el tratamiento mesofílico parece estar especialmente indicado para residuos que se descargan con alta carga orgánica, como ocurre con los procedentes de algunas industrias del sector alimenticio y en especial en la fabricación de alcohol (LaPara *et al.*, 2000; Peterson *et al.*, 2006).

#### **2.4.2 Efecto del pH sobre la digestión anaeróbica**

Como en todo procedimiento bioquímico, el pH tiene un impacto significativo en el desempeño de los digestores anaerobios, con una disminución en la actividad biológica cuando las condiciones se alejan de un rango óptimo; así mientras más alejado está el proceso de dicho rango, menor es la actividad microbiana. En este caso, su efecto es particularmente importante debido a que la población metanogénica es el grupo más sensible dentro de una comunidad microbiana. Sánchez y colaboradores (2000) reportan que un rango de entre 6.8 y 7.4 generalmente proporciona las condiciones óptimas para el hábitat metanogénico.

---

La acidez o basicidad del medio (medido como pH) influye en la selección de los microorganismos preponderantes en el ecosistema anaerobio, ya que cada grupo trófico presenta un grado de sensibilidad distinto frente a este parámetro. Así, en el rango mesófilo, los niveles de actividad óptimos se encuentran entre 7.2-7.4 para las bacterias hidrolíticas; próximo a 6 para las acidogénicas; entre 6.0-6.2 para las homoacetogénicas y 6.5-7.5 para las bacterias metanogénicas hidrogenófilas o acetoclásticas. Cuando el pH es inferior a 6.5 disminuye significativamente la actividad de las bacterias acetoclásticas hasta que por debajo de 5.5 cesa completamente. En estas condiciones, el pH puede seguir disminuyendo debido a que se mantiene la actividad aunque limitada, de los restantes grupos. Por debajo de 4.5 se detiene por completo la actividad de los organismos implicados en el proceso (Atkinson, 1995).

El deterioro de los procesos anaerobios a valores de pH menores 6.5 y mayores de 8.2 han sido demostrados experimentalmente (Pérez *et al.*, 2006). Las variaciones de pH en el sistema se pueden considerar más como el reflejo de un desequilibrio que como la causa del mismo. Dado que el pH del medio está muy relacionado con la presencia de ácidos grasos volátiles y por distorsión de alguna condición ambiental, las bacterias metanogénicas se inhiben temporalmente, aunque la flora acidogénica (menos sensible) sigue produciendo ácidos, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> con la consiguiente disminución del pH y un mayor perjuicio a la flora metanogénica. Este fenómeno es denominado como la "acidificación" del reactor y habitualmente es de difícil recuperación sin intervención.

Por otro lado, el pH también afecta la actividad de las bacterias acidogénicas, solo que su repercusión es menos intensa ya que influye primordialmente a sus productos de reacción. De tal forma, al disminuir el valor del pH se favorece notablemente la generación de AGV de alto peso molecular, particularmente los ácidos propiónico y butírico a expensas del ácido acético.

La sensibilidad de la colonia metanogénica, acoplada al hecho de que los AGV son productos intermediarios en la estabilización de la materia, generan respuestas inestables en los procesos digestivos. Dichas inestabilidades pueden ser atribuidas a la elevada carga orgánica del vertido que dan como resultado grandes cantidades

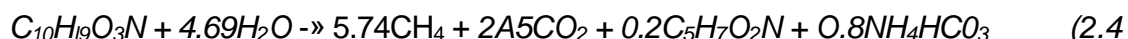
---

de AGV sintetizados por las bacterias acidogénicas. Si la velocidad de producción de los AGV excede la capacidad de las bacterias metanogénicas para transformarlos en ácido acético y H<sub>2</sub>, éstos se acumularán en el reactor originando la disminución en el pH.

Si tal situación no es corregida inmediatamente, se producirá una caída estrepitosa del pH, los AGV se irán acumulando paulatinamente y la actividad de las bacterias metanogénicas cesará casi por completo. En estas condiciones se dice que el proceso anaerobio se "agrió" o se "atasco" (Grady *et al.*, 1999).

Para resolver este problema se recurre a la modificación en las condiciones de operación para intentar eliminar los factores que causan el desbalance entre las bacterias acidogénicas y las metanogénicas. Una primera opción sería disminuir el caudal del vertido, para tratar de disminuir la generación de AGV hasta el límite donde los organismos metanogénicos tengan la capacidad de transformarlos, procurando que el valor del pH regrese a la neutralidad. Así, una vez recuperado el sistema se puede volver a los niveles normales en los caudales. Sin embargo, en casos extremos se recurre a la adición de químicos al medio para remediar la descompensación iónica.

Cuando el sistema digestivo trabaja dentro de los rangos aceptables de pH, este parámetro es controlado esencialmente por los bicarbonatos presentes en el reactor. Dichos elementos son producidos por la destrucción de los compuestos nitrados en la materia orgánica y por la reacción del CO<sub>2</sub> (generado en la fermentación), con el nitrógeno amoniacal. La ecuación estequiométrica de esta primera reacción se representa como (Grady *et al.*, 1999):



Atkinson (1995) propone que la materia orgánica en solución (representada como C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>N), se transforma biológica y continuamente en metano, dióxido de carbono, biomasa y bicarbonato de amonio, el cual es el elemento que controla finalmente el pH. Como se puede observar en la ecuación, la

---

cantidad de bicarbonato producido tiene una relación lineal con la cantidad de nitrógeno presente en el sustrato.

Para que el CO<sub>2</sub> generado anteriormente se transforme a bicarbonato se necesita una base fuerte. En la reacción, el amonio se emplea como base fuerte a través de la cual los cationes se asocian para mantener la neutralidad del sistema. La concentración de bicarbonato en solución esta relacionada al contenido de CO<sub>2</sub> generado en el bioreactor mediante la siguiente expresión:

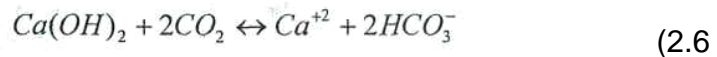
$$C_{HCO} = 6.3 \times 10^{-4} \left( \frac{P_{CO_2}}{10^{-pH}} \right) \quad (2.5)$$

Aquí la concentración de bicarbonato ( $C_{HCO}$ ) se expresa en mg/L de CaCO<sub>3</sub> y mediante la presión parcial del CO<sub>2</sub> (PCO<sub>2</sub>) en atmósferas. Un valor típico en la concentración de bicarbonato para los procesos anaerobios está en el rango de 1,000 a 5,000 mg/L de CaCO<sub>3</sub>, con una presión parcial de CO<sub>2</sub> entre 25-45% la atmosférica.

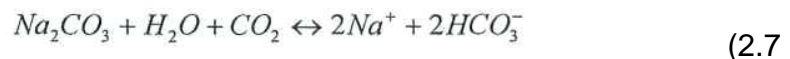
Si las condiciones en el reactor son tan adversas que aun con los cambios en las condiciones de operación (como la disminución del caudal), los AGV continúan acumulándose y manteniendo valores bajos en el pH; se recomienda la adición de un químico apropiado, teniendo cuidado de seleccionarlo adecuadamente debido a las complejas interacciones bioquímica que se realizan y a la posible inclusión de agentes tóxicos. Los compuestos comúnmente empleados en este caso son: el bicarbonato o carbonato de sodio y los hidróxidos de sodio, potasio o calcio.

La mayoría de las ocasiones se elige como primera alternativa la adición del bicarbonato de sodio, ya que su impacto en el ajuste del pH es más prolongado que otros compuestos, además de que su potencial de toxicidad para el sistema biológico es bajo por la inclusión directa de iones de bicarbonato, dando como resultado un incremento en el pH sin afectar el contenido del CO<sub>2</sub> del biogás.

El ajuste del potencial de hidrógeno con la adición de hidróxido calcio, se realiza gracias a que los iones hidróxido reaccionan con el dióxido de carbono para formar bicarbonato de acuerdo con la siguiente reacción:



Como se puede observar, esta reacción va acompañada por una disminución en de la cantidad de CO<sub>2</sub> del biogás lo que favorece el movimiento del pH hacia la neutralidad. Desafortunadamente, su impacto es temporal ya que la actividad microbiológica del consorcio restaurará la cantidad de gas consumido mediante esta reacción, lo que origina una nueva disminución en el pH. Finalmente, para evitar este fenómeno, se prefieren emplear iones de carbonato mediante la reacción:



En este caso se emplea solo una molécula de CO<sub>2</sub> para formar el bicarbonato requerido por la mezcla reactiva, con lo cual se evita que la población microbiológica se desvíe por esta ruta metabólica.

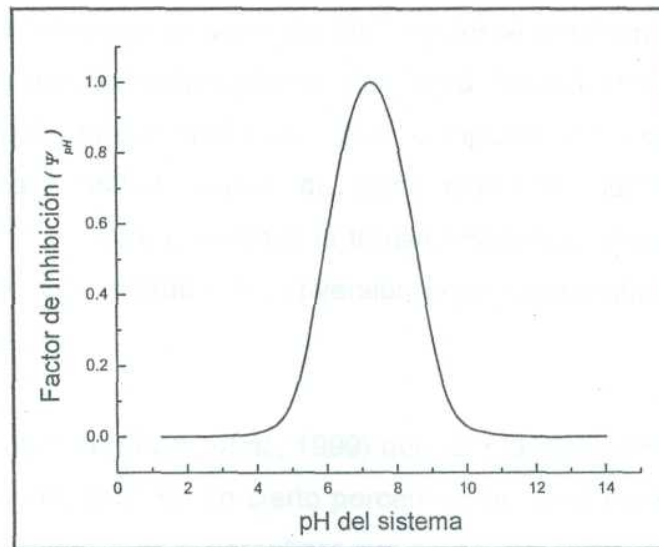
Angelidaki y colaboradores (1993) proponen que, la influencia del pH sobre el sistema metanogénico puede ser estimada matemáticamente como una función de inhibición ( $f^i$ ) del desarrollo biológico cuando su valor se aleja del óptimo. Este factor, es determinado entre otras cosas por la concentración de las especies iónicas vigentes en el medio, así como por el tipo de bacterias predominantes cuando el sistema es complejo. En la figura 2.5, se puede observar la curva de inhibición  $f^i$  contra pH.

Resulta claro suponer que los distintos grupos bacterianos presentes en la digestión anaerobia tienen también diferente pH óptimo de crecimiento, el cual cambia a través del tiempo de reacción de la misma manera a como lo hacen las distintas especies microbianas. Según este esquema, la ecuación matemática que define a la función de inhibición por pH es expresada como:

$$\Psi_{pH} = \frac{1 + 2 * 10^{0.5(pK_i - pK_h)}}{1 + 10^{(pH - pK_h)} + 10^{(pK_i - pH)}} \quad (2.8)$$

Aquí  $pK_i$  y  $pK_h$  son los valores del pH para los cuales la velocidad específica de crecimiento microbiano ( $\mu$ ) se reduce al 50% de su valor, sin ningún tipo de inhibición. Si el valor de ( $\Psi_{pH}$ ) es igual a uno, el pH es el óptimo. Los valores reportados por los autores para las variables  $pK_i$  y  $pK_h$  cuando se trabaja con el grupo metanogénico, son 6.0 y 8.5 respectivamente en el rango termofílico de temperatura; con esto se estima que el valor óptimo bajo estas condiciones es aproximadamente de 7.25.





**Figura 2.5** Representación del factor de inhibición.

#### **2.4.3 Efecto de la concentración de biomasa**

Un factor muy importante cuando se diseña un digestor de flujo continuo, es el tiempo que permanecen los microorganismos en el reactor, independientemente del caudal del vertido residual que circula por el sistema, posibilitando con esto una mayor velocidad de carga orgánica (Atkinson, 1995).

Dicha variable es definida como el tiempo de retención de sólidos (TRS) y exhibe un efecto dominante sobre la capacidad y desempeño del reactor. Como ejemplo se tiene que, este parámetro influye al tipo de ecología que crece en el sistema así como su actividad, determinando por lo tanto la calidad de la fermentación. Además, debido a los múltiples afectos asociados con TRS varios parámetros deben ser considerados al momento de proponer un valor adecuado.

Aun cuando esta variable es fundamental para el control del sistema, actualmente solo se conocen valores aproximados para muchas aplicaciones prácticas. Estos óptimos de TRS son elegidos en base a la experiencia, ya es muy difícil su evaluación. En este sentido antes de asignar un valor apropiado, se debe enfatizar que dicho valor debe exceder un rango mínimo para que los organismos responsables de la transformación deseada aparezcan, ya que de lo contrario la colonia será incapaz de crecer en el medio, afectando asimismo el desempeño del digestor.

---

En esencia, si se elige un valor de TRS menor al necesario para que exista el crecimiento de la población metanogénica, ésta será "lavada" o "arrastrada" fuera del sistema más rápido de lo que tarda en crecer completamente, por lo que nunca se llegará a tener una cantidad estable de dicho consorcio dentro del fermentador. Lógicamente si el TRS rebasa el mínimo, la transformación química se lleva a cabo sin problema alguno; aunque el grado de conversión dependerá tanto del TRS como de la configuración del reactor.

La literatura reporta (Grady *et al.*, 1999) que, por lo general se proponen tiempos superiores al mínimo de TRS en un cierto porcentaje (a dicho parámetro se le conoce como "factor de seguridad"), para garantizar que no ocurra el lavado de la población de interés. Tal factor, toma en cuenta el tiempo necesario para que el organismo con más baja velocidad de crecimiento actúe y lo incrementa en un 50% (o más en algunos casos); esto garantiza que se está trabajando con la colonia microbiana programada.

Uno de los beneficios inmediatos que se obtienen al incrementar el tiempo de retención, es que se favorece notablemente la hidrólisis y la estabilización de casi toda la materia orgánica presente en el vertido residual; sin embargo, tradicionalmente la parte económica de las empresas es la termina por establecer el valor adecuado para este parámetro, con base en la generación de vertidos que se tienen.

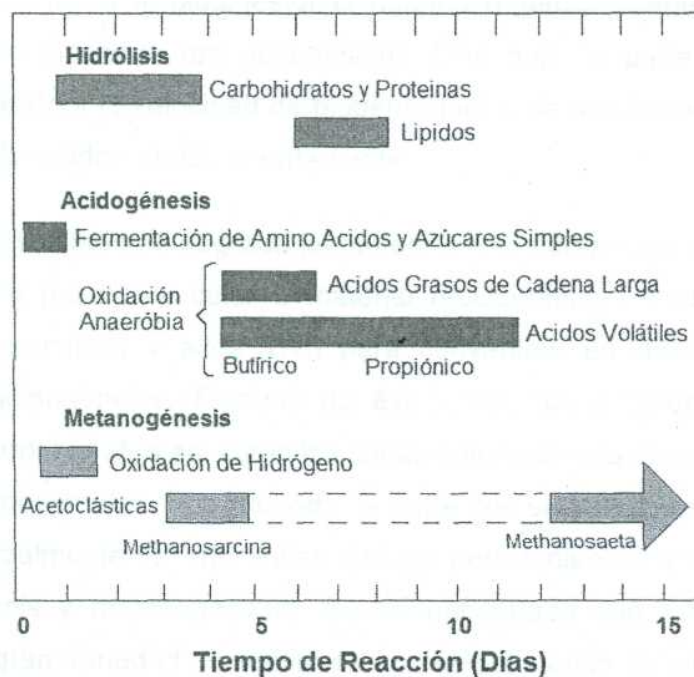
En los sistemas anaerobios, se estima que la hidrólisis de los carbohidratos y las proteínas para producir azúcares simples y aminoácidos son reacciones relativamente rápidas ya que se realizan aproximadamente en 3 días. En contraste, la hidrólisis de los lípidos para formar ácidos grasos de cadena larga y otros productos de reacción, son cinéticas mucho más lentas ya que por lo general no ocurren en menos de 6 días.

La fermentación de aminoácidos y azúcares simples, también ocurre rápidamente y por lo general no es el paso controlante en estos sistemas. Por el contrario, la oxidación de los ácidos grasos que forman ácido acético e hidrógeno es mucho más lenta. En particular, la oxidación del ácido propionico es muy lenta en comparación con muchas otras oxidaciones anaerobias.

En esencia varias poblaciones metanogénicas son capaces de crecer en el sistema, dependiendo el TRS propuesto para el proceso. Así, la población "que oxida el hidrógeno" crece rápidamente, teniendo una comunidad completamente desarrollada generalmente a valores de TRS no mayores de 1.5 días (Atkinson, 1995).

Por el contrario, la comunidad acetoclástica crece más lentamente llegando incluso a tener diferencias significativas entre la velocidad de crecimiento de los dos principales microorganismos clasificados dentro de este tipo. Por un lado *Methanosarcina spp.*, se desarrolla relativamente rápido, ya que se puede tener una colonia completamente disponible a valores que no exceden los 5 días. No obstante, el genero *methanosaeta* tiene una velocidad de crecimiento lenta, ya que no se presenta en el sistema a menos que se tengan TRS mayores de 12 días.

El tiempo de reacción necesario para la aparición de cada uno de los grupos bacterianos y el consumo de los diversos sustratos a una temperatura de 35 °C se muestran en la figura 2.6, dichos valores se modificarán si se modifica la temperatura.



**Figura 2.6** Tiempo necesario para cada etapa (Atkinson, 1995)

---

#### **2.4.4 Influencia de la naturaleza del vertido**

Es aconsejable tomar en cuenta la naturaleza y la concentración del vertido residual a ser tratado, ya que tienen un fuerte impacto sobre el desempeño del proceso anaerobio. En este sentido, se recomienda verificar la cantidad de materia orgánica soluble y en suspensión que contiene el vertido, ya que algunos sistemas trabajan mejor cuando el efluente contiene principalmente la carga orgánica en suspensión; mientras que otros son ideales cuando la parte orgánica es soluble (Ayman *et al.*, 2004). Así por ejemplo, se tiene que los digestores de primera generación y los sistemas de fermentación de sólidos fueron diseñados específicamente para manejar la materia orgánica en suspensión.

De manera general, cualquier vertido contaminante está conformado por dos partes principales: materia orgánica e inorgánica. Para eliminar la polución en el primer caso se emplean generalmente métodos de degradación bioquímicos, por ser más económicos y eficientes para las características del material. Por otro lado, para los contaminantes inorgánicos se aplican frecuentemente métodos de transformación químicos, fisicoquímicos o una combinación de ambos. Según este esquema, al momento de introducirse al biodigestor la materia orgánica puede estar presente de manera soluble o insoluble (en suspensión). Más aun, la parte soluble se puede subdividir de acuerdo a la velocidad de biodegradación de sus elementos, ya que estos pueden ser transformados rápida o lentamente.

El material soluble que degrada lentamente, está compuesto primordialmente por moléculas de alto peso molecular o material recalcitrante, los cuales requieren de metabolismos específicos y altos TRS para convertirse en AGV que sirven como sustrato en la acidogénesis. Ejemplo de éstos, son los polímeros tales como las proteínas y los carbohidratos así como los complejos orgánicos encontrados en muchos de los efluentes industriales. Por otro lado, la parte que se transforma rápidamente está compuesta esencialmente por moléculas de bajo peso molecular y sirve como sustrato en la acetogénesis y metanogénesis. Se ha encontrado que, un amplio rango de procesos y una gran variedad de reactores son útiles cuando se intentan remediar los vertidos que contienen principalmente material soluble de rápida transformación.

---

Cuando se trabaja con materia orgánica en suspensión se modifica el desempeño global del sistema anaerobio, ya que es frecuente que se formen gránulos al interior del digestor por la aglomeración de algunos materiales. Estudios realizados (Wentzel, *et al*, 1994) han tratado de caracterizar los factores que interfieren en el desarrollo de la granulación del material, pero aun no se ha llegado a un acuerdo definitivo. Sin embargo, se sugiere que al degradarse algunas proteínas se favorece la generación de una matriz polimérica que impulsa el desarrollo de dichos elementos.

Otros autores especulan sobre el papel que juegan los filamentos de ciertas bacterias (como *methanosaeta*) en determinadas estructuras granulares. No obstante, mientras se continúe con las investigaciones en esta área resulta complicado definir con precisión las condiciones que facilitan la formación de estas estructuras. A pesar de esto, la experiencia ha demostrado (Lettinga *et al*, 1992) que ambos procesos aparecen cuando reaccionan los vertidos residuales que contienen principalmente carbohidratos; aunque su aparición se ve retardada cuando el efluente contiene mayormente AGV o proteínas. Finalmente, la formación de gránulos se ve impulsada cuando el vertido contiene una gran cantidad de sólidos suspendidos o cuando la materia orgánica es degradada lentamente.

Grady y colaboradores (1999) analizan lo reportado por Gossett y Belser quienes dicen que, la fracción biodegradable de algunos contaminantes en sistemas de lodos activados, tiene el mismo comportamiento bajo condiciones aerobias y anaerobias. Asimismo, proponen que este sistema es capaz de degradar a la materia orgánica con una cinética de primer orden, con una constante de velocidad de reacción de  $0.022 \text{ días}^{-1}$  a  $35 \text{ °C}$  en condiciones anaerobias.

Otros estudios demuestran que los filtros anaerobios y los reactores de contacto pueden tolerar altas concentraciones de materia orgánica en suspensión, ya que son capaces de mantenerla en proceso una mayor cantidad de tiempo, permitiendo con esto que las reacciones lentas se realicen. Por otro lado, los lechos fluidizados o expandidos son arreglos que no permiten que la materia en suspensión permanezca mucho tiempo en el digestor, por lo que pasa a través del sistema con poca hidrólisis y estabilización. Esto implica mayor eficiencia al tratar desechos con materia soluble.

---

#### **2.4.5 Influencia del mezclado en los biorreactores**

Es bien sabido que el mezclado de la fase fluida es una parte integral en el diseño de los reactores ya que mientras más efectivo sea mejores conversiones se logran; además estabiliza las condiciones ambientales y homogeniza los parámetros de operación (como la temperatura y la concentración). En este sentido, las transformaciones anaerobias no escapan a la influencia que dicho parámetro tiene sobre la digestión, ya que la agitación promueve el contacto íntimo entre los microorganismos y el sustrato, minimizando la resistencia a la transferencia de masa. Sin embargo, algunas poblaciones microbianas son sensibles a las fuerzas tangenciales originadas por el mezclado, ya que si la agitación es vigorosa, puede llegar a dañar su estructura celular y actividad biológica.

Investigadores como Papoutsakis y Cherry reportan el daño causado por la agitación en exceso para varios sistemas biológicos; mientras que Croughan analiza la respuesta del crecimiento bacteriano con dos niveles de mezclado (Menisher *et al.*, 2000). Ambos casos confirman que la actividad del consorcio decayó drásticamente hasta en 50%, al incrementar este parámetro. Por otro lado, Rodrigues y colaboradores (2004) sugieren un valor óptimo en la agitación de 50 rpm, cuando se emplean fermentados anaerobios tipo batch, afirmando que por abajo de este grado de mezclado, la agitación es insuficiente y por arriba del mismo, se provoca una disminución en la conversión originada por la dispersión y el desgaste de los floculos.

Por lo anterior, se han empleado numerosas técnicas para tratar de disminuir el esfuerzo ejercido sobre las células. Dichas técnicas, incluyen la adición de agentes químicos (como tenso activos y material polimérico) para fortalecer e incrementar el tamaño de los floculos microbiales con el fin de proteger su integridad ante los cambios de operación, particularmente en los flujos turbulentos, la manipulación de la velocidad y tipo de agitador, además de la presencia de baffles (Kioukia *et al.*, 1996).

Hoy en día se disponen de varios métodos alternativos para llevar a cabo la homogenización del sistema (McMahon *et al.*, 2001). Así, el mezclado puede realizarse de manera mecánica y mediante la recirculación de gases o líquidos, tal y

---

como se emplea en sistemas por lotes o en lechos de flujo ascendente, respectivamente. Los requerimientos energéticos de los impulsores mecánicos están en función de su velocidad, diámetro y diseño; además de las propiedades del fluido y el tipo de reactor.

Un aspecto importante que debe tomarse en cuenta, es que algunos materiales orgánicos al ser mezclados propician la generación de espuma, la cual permanece flotando en el medio y originando que el volumen efectivo del fermentador se reduzca impidiendo además la salida natural del biogás en los procesos anaerobios.

No obstante aun a pesar de estos factores, resulta interesante comprobar que la cantidad de energía requerida por los impulsores de los digestores anaerobios es habitualmente inferior a la requerida por los sistemas aerobios; como es el caso de los procesos de lodos activados o las lagunas de aireación. Se estima que la energía demandada para el mezclado en un digestor anaerobio, está en el rango de 5 a 8 kW /1000 m<sup>3</sup>; aunque se han encontrado desempeños exitosos al emplear valores inferiores a 1 kW/1000 m<sup>3</sup> (Rodrigues *et al.*, 2004).

## **2.5 Sistemas con inmovilización de biomasa**

Como ya se ha comentado, la digestión anaerobia es uno de los sistemas más utilizado en el tratamiento de vertidos industriales. No obstante, para alcanzar una eficiente transformación de la materia orgánica se requieren de altas concentraciones de materia activa en el medio. En este sentido, la inmovilización de microorganismos sobre soportes inertes ha sido la alternativa más exitosa (Jiang *et Ohtaguchi*, 2006). Este hecho ha impulsado el desarrollo de los tratamientos denominados "de alta velocidad", que emplean sistemas de inmovilización de la flora microbiana, previniendo pérdidas de ésta por lavado (Hofman-Bang *et al.*, 2003).

Comparados con los sistemas convencionales de biomasa suspendida y debido a su capacidad de retención de materia, estos digestores están favorecidos en términos de la reducción de volumen, incremento en la actividad microbiana y la estabilidad de operación. Sin embargo, por razones obvias esta tecnología sólo es válida para el tratamiento de aguas con bajas concentraciones de material granular. Así, las aguas

---

residuales procedentes de actividades agroindustriales son los sustratos idóneos para este tipo de procesos (Pérez *et al.*, 2005).

Las mejores tecnologías diseñadas bajo el principio de inmovilización de biomasa son: filtros anaerobios, reactores de lecho expandido y lecho fluidizado, además de los sistemas UASB (Hofman-Bang *et al.*, 2003; Angelidaki *et al.*, 2003).

En estos sistemas el período de puesta en marcha es crítico para el correcto funcionamiento del proceso. Dicho período depende, en gran medida de la velocidad de inmovilización de los microorganismos al soporte y está determinado por la naturaleza del residuo a tratar, así como por la naturaleza del propio soporte (Rice *et al.*, 2003).

El éxito del diseño, puesta en marcha y operación de estos sistemas, requiere del conocimiento de los mecanismos de adsorción y fijación de los organismos al sólido. Asimismo, antes de unificar los procedimientos de diseño y operación es necesario establecer los efectos ocasionados por las tensiones generadas entre el fluido y las bacterias. Los estudios desarrollados en este campo son numerosos, fundamentalmente sobre el comportamiento de los sistemas en estado estacionario (Jefferson, 2004). En cambio, los estudios relativos a la evaluación cuantitativa de los procesos iniciales de adsorción y adhesión de la biocapa son limitados (Rice *et al.*, 2003). Sin embargo, tales conocimientos son de gran utilidad para seleccionar los criterios de operación de los sistemas.

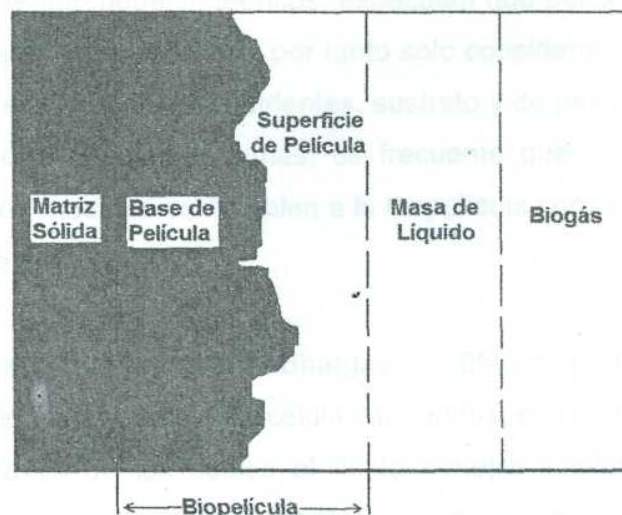
De igual forma, la comprensión del mecanismo inicial de adsorción en estos sistemas podría reducir su tendencia a la desestabilización, facilitando así una rápida regeneración de la masa celular en el reactor y lo que es más importante, reducir el riesgo de desmantelamiento total del mismo. De este modo, la elevada complejidad de todas estas interacciones, conlleva el que aún no se hayan presentado los mecanismos completos del proceso de colonización.



### 2.5.1 Desarrollo de la biopelícula microbiana.

Hace aproximadamente 40 años, el Dr. R. J. Gibbons publica el primer reporte científico y de relevancia clínica, sobre lo que actualmente se conoce como "*Biocapa Bacteriana*" (Rice *et al.*, 2003). Dicho documento describe como una comunidad microbiológica deja su estado original de libertad en un medio de cultivo, para adherirse a un sólido y formar una película. Esto fue el resultado de estudiar la influencia de un polisacárido en la aglomeración de la bacteria *Streptococcus mutans* para formar la placa dentobacteriana. La importancia científica de este fenómeno provocó un tremendo interés, a tal grado que actualmente se han incrementado de manera notable el número de investigaciones al respecto; y aun cuando se ha logrado explicar algunos posibles mecanismos de adhesión, existen muchas dudas al respecto (Jefferson, 2004).

Numerosos estudios han corroborado, que la película bacteriana formada en los sistemas biológicos es muy compleja, tanto física como microbiológicamente (Grady *et al.*, 1999). De hecho, su estructura es tan compleja que hasta ahora ha sido prácticamente imposible explorar todos los aspectos relacionados con su formación y desarrollo. No obstante lo anterior, un diagrama conceptual frecuentemente reportado cuando se analizan estos sistemas se muestra en la figura 2.7.



**Figura 2.7** Diagrama conceptual de un sistema de biopelícula

La matriz sólida a la cual está adherida la película microbiana, es generalmente impermeable al sustrato y puede ser de material natural como rocas (empleadas en los

---

filtros biológicos), o sintética como los empaques plásticos modernos. Más aun, la cantidad de formas geométricas empleadas con este fin, van desde anillos corrugados (en las torres empacadas), hasta pequeñas partículas amorfas (en lechos fluidizados).

Como se muestra en la figura 2.7, la biocapa puede ser dividida en dos zonas: la base y la superficie de la película. Ambas partes contienen un ensamble complejo de microorganismos y otras partículas, unidas primordialmente por fuerzas electroestáticas y polímero extracelular. Dicho polímero (que es excretado por los mismos organismos), es de la misma clase que el involucrado en la biofloculación (Vogelaar *et al.*, 2005).

La base de la película biológica, está formada por la acumulación estructurada de biomasa y tiene sus límites bien definidos. Históricamente, se asume que el transporte de materia en esta sección es primordialmente controlado por el movimiento molecular (difusión). Mientras que, la superficie de la película es una zona de transición entre la base y la masa de líquido, en donde la transferencia es dominada por la convección del sustrato. Por último, el espesor de ambas fases es controlado fundamentalmente por la hidrodinámica del sistema y la naturaleza microbiana.

La mayoría de los modelos teóricos, especulan que por su espesor la superficie de la película puede ser despreciada y por tanto solo consideran la base; desarrollando el concepto de que el transporte de nutrientes, sustrato y demás material se realiza solo mediante el transporte difusivo. Además, es frecuente que (sin tomar en cuenta el proceso biológico) los modelos contemplen a la biopelícula como formada por un mismo tipo de células (Rice *et al.*, 2003).

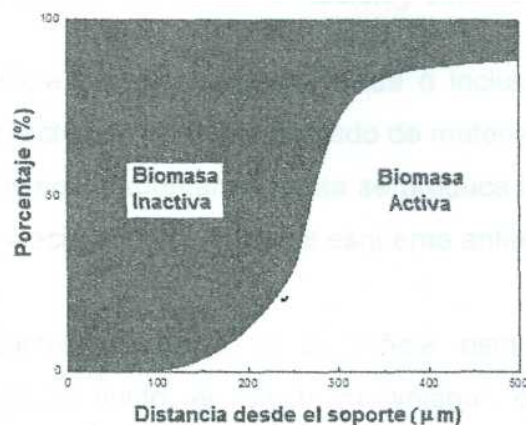
Teorías más recientes (Fouad *et Bhargava*, 2005), consideran a la biocapa como un conjunto aleatorio y no uniforme de células adheridas, con espacios vacíos verticales y horizontales a través de los cuales el fluido penetra y difunde. Asumen que los espacios verticales actúan como canales; mientras que los horizontales son considerados como poros. Debido a lo anterior, sugieren que la transferencia en la biopelícula se da tanto por convección como por difusión; teniendo por lo tanto que la difusión se realiza en todas direcciones y no solo desde el seno del fluido a la biocapa.

---

Finalmente, muchos factores tales como: la textura del sustrato, la naturaleza del flujo y la geometría del biorreactor influyen directamente en la heterogeneidad de la biopelícula desarrollada.

Asumiendo que todas las poblaciones microbianas de un consorcio tienen la misma capacidad de adhesión, su distribución final en la biocapa será controlada por la competición del espacio disponible y los nutrientes presentes. En este sentido, se intuye que las bacterias de la superficie crecen más rápidamente que las del interior; sin embargo, las bacterias internas (que ocupan mayor espacio) con su crecimiento originan que las bacterias de la superficie se alejen cada vez más del sólido.

Es así que, el espesor final de la biopelícula es regulado por un balance entre la migración de las bacterias internas hacia el exterior y por las fuerzas tangenciales producto del movimiento del fluido. Se estima que al incrementarse dicho espesor, una parte de la biomasa se inactiva como consecuencia de la deficiencia de sustrato. Un esquema propuesto por Wanner sobre la distribución de la actividad de los organismos se observa en la siguiente figura (Grady *et al.*, 1999).



**Figura 2.8** Distribución relativa de biomasa activa e inactiva

La biocapa se puede desarrollar sobre cualquier superficie expuesta al crecimiento de los organismos. La biofilm puede considerarse como el resultado final de varios procesos físicos, químicos y biológicos, que incluyen diversas etapas. Xavier y colaboradores (2005), sugiere los siguientes pasos y un diagrama esquemático (fig 2.9).

1. Transporte y adsorción de moléculas orgánicas sobre la superficie
2. Movimiento microbiano de las células hacia la superficie
3. Adhesión superficial de microorganismos y formación de una monocapa celular (debido a la secreción de polímeros extracelulares)
4. Desarrollo y acumulación de la biopelícula como consecuencia de la actividad microbiana y del crecimiento de la flora
5. Desprendimiento del biocapa debido a las tensiones hidráulicas del fluido.

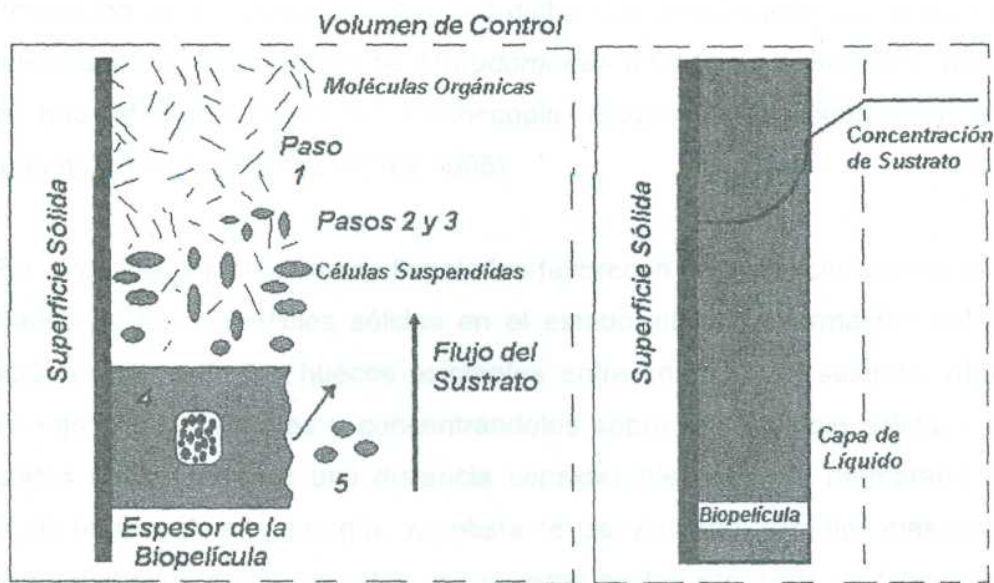


Figura 2.9 Etapas del proceso de formación y desarrolla de la biopelícula

Cuando la superficie de una partícula sólida o incluso las paredes del propio reactor se ponen en contacto con un fluido cargado de material orgánico en suspensión, nutrientes y microorganismos, espontáneamente se produce la adsorción inicial de una monocapa orgánica. Es decir, el paso 1 y 2 del esquema anterior (Dueck, 2005).

El transporte bacteriano hacia la superficie está regulado por aspectos relacionados con el flujo de fluido: el "efecto browniano", que junto con las fuerzas gravitacionales y dinámicas pueden tener implicaciones importantes en donde el flujo de fluido es nulo o pequeño. Como consecuencia de lo anterior, las condiciones de flujo (agitación, turbulencias), y la difusión molecular (junto con la convección y auto-propulsión) son las fuerzas dominantes en el mencionado transporte.

---

Para los pasos 3 y 4, se ha comentado que la formación de la biocapa es está relacionada con la presencia de material extracelular polimérico de naturaleza fibrosa y altamente hidratado que forma una sustancia base a la que se adhiere la biofilm. Dentro de esta matriz y junto con polisacáridos y azúcares se incluyen otras macromoléculas tales como glicoproteínas, proteínas y ácidos nucleicos. Así, se observa que tras la etapa de adsorción superficial es necesario un período de incubación de varias horas para la formación de la biocapa propiamente dicha. Corpe detectó la acumulación de un ácido polisacárido en la adhesión de *Pseudomonas atlántica* a superficies materiales, mientras que Marshall mediante microscopía electrónica descubren las citadas estructuras poliméricas fibrosas (Pérez 1995).

Por otro lado, los organismos flagelados favorecen la presencia de células en las proximidades de las superficies sólidas en el estado inicial de formación del biofilm. Éstos actúan rellenando los huecos existentes entre células y el sustrato, atrayendo químicamente a los nutrientes y concentrándolos sobre la superficie sólida. Los lipo-polisacáridos se extienden a una distancia considerable desde la membrana celular, ocupando la barrera de alta energía; no obstante, se requieren estudios más profundos antes de confirmar el papel de estos compuestos en los procesos de fijación celular. Los citados polímeros extracelulares participan, además en otras funciones tales como (Vogelaara *et al.*, 2005):

- Forzando entramados y otras fuerzas adhesivas
- Protegiendo estructuras celulares frente a cambios bruscos en la naturaleza de la alimentación
- Favoreciendo la adsorción de sustratos
- Retirando materiales tóxicos del medio por adsorción en los mismos
- Almacenando la energía del potencial de membrana de la célula
- Favoreciendo la transferencia intercelular de material genético

Huysman y colaboradores (1999) demostraron, que ninguno de los diferentes polímeros que forman la monocapa favorece la velocidad inicial de acumulación de la biofilm ni reducen el tiempo de puesta en marcha; así, en los rellenos porosos la población metanogénica queda retenida sobre la superficie más por fuerzas

---

mecánicas que por interacciones de naturaleza electrostática (Rice *et al.*, 2003).

Las características físicas, químicas y biológicas de la biocapa dependen de las condiciones medioambientales que prevalecen en las proximidades de la matriz sólida; mientras que los microorganismos adheridos son previamente seleccionados por combinación de tales propiedades en la superficie del mismo. Los factores como la temperatura, pH, concentración del sustrato y nivel de nutrientes afectan decisivamente al proceso, estos fueron resumidos por Tyagi en 1990, tal y como se observa en la siguiente tabla (Pérez *et al.*, 1997).

**Tabla 2.4** Factores que afectan el desarrollo de la biopelícula.

Características de la superficie sólida	Características de los microorganismos	Condiciones de operación
Naturaleza del sólido	Especie	Concentración de protones, pH
Composición química	Superficie química	Fuerza iónica
Concentración	Concentración	Hidrodinámica
Tamaño y geometría	Edad celular y condiciones	Especies competitivas
Área superficial	Tamaño y forma	Tiempo de contacto
Rugosidad y porosidad		Temperatura

No obstante lo anterior, los datos disponibles en la bibliografía sobre esta etapa no permiten establecer relaciones cuantitativas de estos parámetros. LaMotta, publica que la síntesis de polímeros ocurre normalmente a temperaturas por debajo de la óptima para el crecimiento celular (Jefferson, 2004). Igualmente, la interacción entre los microorganismos y la superficie del sólido, así como el crecimiento de la flora y la producción de polisacáridos dependen deLpH, encontrando condiciones óptimas en valores cercanos a la neutralidad. Por otro lado, la temperatura no ejerce una influencia significativa en el transporte de las células hacia la superficie adsorbente. La saturación inicial de la superficie por el sustrato y nutrientes parece favorecer la velocidad y extensión de la adsorción, probablemente debido a la alteración de las propiedades superficiales del soporte adsorbente (Rice *et ai*, 2003).

---

Otras propiedades químicas tales como la composición del influente (fuentes de energía y carbono disponibles), la velocidad de desarrollo de la biocapa y las posibles interacciones celulares con el medio, son factores a tener en cuenta en la evolución del proceso de colonización del soporte.

Así, altas concentraciones de sustancias nutrientes en las proximidades de la interfase sólido-líquido favorecen la actividad microbiana que se desarrolla en la misma. La adición de metales traza tales como Ni, Co, y Mo favorece el crecimiento y tamaño de la biopelícula metanogénica (Jefferson, 2004).

Altas velocidades de carga orgánica así como elevadas concentraciones de sólidos volátiles en suspensión (SVS) favorecen la velocidad inicial de acumulación de microorganismos en la superficie sólida. La velocidad y extensión de tal acumulación aumenta en función del flujo del fluido dentro del reactor dado que la transferencia de sustrato favorece la formación del mismo. No obstante, velocidades demasiado altas (causa importante de fenómenos de desprendimiento de biomasa) mantienen el espesor de la biocapa en valores mínimos según se ha reportado (Rice *et al.*, 2003).

A medida que la biofilm evoluciona se van generando gradientes internos de masa que alteran las propiedades inherentes de la misma. Así, el aumento de espesor en la concentración de biomasa y las turbulencias ocasionadas por el flujo del medio, modifican los parámetros termodinámicos del proceso.

Por otro lado, los procesos de desprendimiento del biocapa se han relacionado tanto con factores derivados de la hidrodinámica del fluido (fuerzas tangenciales o de cizalla) como con factores relacionados con la naturaleza química del soporte.

En esencia, la formación de la biopelícula es un proceso que depende de las características del inóculo, de la composición del sustrato, de la fisiología de las bacterias y de las características hidrodinámicas del reactor, así como de las características propias del soporte. Si se opera el sistema en condiciones óptimas de crecimiento celular se está asegurada una rápida formación de la biofilm.

---

### **2.5.2. Soportes utilizados en la inmovilización microbiana.**

Dada la pequeña velocidad de reproducción en los microorganismos anaerobios, la investigación de estos sistemas ha evolucionado hacia el desarrollo de diversas tecnologías que consiguen la inmovilización de la flora en el seno de los biorreactores. Las técnicas más destacadas, incluyen el empleo de soportes de diferente naturaleza con el fin de evitar pérdidas de biomasa con la descarga del efluente y con ello, una posible reducción de la eficacia y velocidad del proceso.

Los resultados obtenidos en investigaciones sobre microbiología y bioquímica de los procesos anaerobios ponen de manifiesto una clara influencia de las características del soporte utilizado en la inmovilización sobre el proceso en sí. La importancia de la naturaleza de los distintos materiales ha sido claramente demostrada por diversos autores (Lens *et al.*, 2003; Hofman-Bang *et al.*, 2003).

Asimismo, se ha puesto de manifiesto la influencia de diferentes soportes sobre las velocidades de asimilación de distintos ácidos volátiles, la producción y composición del biogás y las proporciones en que se desarrollan los distintos tipos de microorganismos en el conjunto de la biomasa anaerobia (Pérez *et al.*, 2006; Gavrilescu *et al.*, 2000). Las propiedades físicas del biofilm tales como conductividad térmica y difusividad pueden estar influenciadas, por la naturaleza de la matriz: piedras, arcillas, materiales cerámicos, piezas ó matrices plásticas y perlas de vidrio, que son los rellenos comúnmente utilizados para este fin.

Breitenbucher y colaboradores (1990), proponen que las principales características microbiológicas y físicas que 'debe cumplir un soporte para asegurar un funcionamiento óptimo son (Pérez *et al.*, 2006):

A.- Características microbiológicas: El grado de absorción específica de cada especie bacteriana sobre el material soporte difiere aún manteniendo medios ambientales idénticos. Los factores que afectan esta adhesión son la carga y el carácter hidrofóbico de la superficie celular, la existencia de polímeros puente, el estado de nutrición de las células y el valor de pH del medio nutriente.



---

**B.- Características físicas:** La superficie debe favorecer altas velocidades de colonización, presentar una elevada área superficial hábil para la adhesión bacteriana, alta rugosidad superficial, adecuada distribución del tamaño de poros (macro y microporos), elevada porosidad (que favorece la capacidad de almacenaje de biomasa), presencia de poros abiertos e intercomunicados (para evitar limitaciones por difusión), estabilidad química y biológica (para prevenir reacciones adversas entre el soporte y los microorganismos) y superficie susceptible de ser modificada químicamente. Además de uniformidad geométrica y elevada resistencia mecánica.

### ***2.5.3. Modelado de la difusión-reacción en la película.***

Una vez determinando como se transporta la materia y la energía hacia la biopelícula, el siguiente paso es combinar los fenómenos de transporte con la cinética de reacción, para establecer *la relación entre la concentración del sustrato en la masa del efluente y su velocidad de transformación en la biocapa.*

Debido a que las mediciones experimentales de cualquier proceso en la biocatálisis heterogénea, se realizan en el seno del fluido y no en la película microbiana (que es donde se realiza la transformación), resulta importante contar con algún mecanismo que establezca la relación entre los factores extra e intracelulares y la velocidad de remoción del contaminante. Dicho procedimiento debe ser capaz de interpretar los cambios generados por el consorcio microbiano, a partir de las mediciones hechas en la masa del fluido.

Actualmente, son tres las técnicas habitualmente empleadas para solucionar el problema anterior y son: 1) La técnica directa, 2) la técnica del factor de efectividad y 3) la técnica pseudoanalítica. En la técnica directa, las ecuaciones diferenciales que describen el proceso de difusión-reacción dentro de la biopelícula, son combinadas con las ecuaciones de diseño del reactor para ser resueltas mediante algún método numérico (Oliveira, 1999). Esta es comúnmente empleada para resolver sistemas que involucran múltiples poblaciones microbianas en la degradación de sustratos complejos.

Por otro lado, la técnica del factor de efectividad propone que la velocidad de reacción en cualquier parte del biocatalizador es definida como si se tratase de un sistema homogéneo (en términos de la concentración y temperatura del sustrato), solo que debe ser multiplicada por un factor cuando se emplean partículas catalíticas. A dicho factor se le conoce como "Factor de Efectividad" ( $\eta$ ). En esencia, este parámetro corrige las desviaciones generadas por los problemas difusivos en la transferencia de masa y calor (Hoyos *et al.*, 2004) hacia el interior del sólido catalítico. Al combinar las ecuaciones resultantes de este proceso con las del diseño del reactor, se puede llegar a estimar el desempeño global del sistema digestivo.

Lo antes mencionado, se hace para tener una idea sobre la importancia relativa que tienen tanto los fenómenos difusivos y como los cinéticos en el interior de la biopelícula. Así, para las condiciones de estado estable se puede definir como:

$$\eta = \frac{\text{Cantidad actual de sustrato que reacciona en el sólido}}{\text{Cantidad que debería reaccionar si la partícula estuviera a las condiciones del efluente}} \quad (2.9)$$

La cual también puede ser expresada en términos de velocidad molar de sustrato que cruza la superficie externa de la partícula catalítica para reaccionar en su interior.

$$\eta = \frac{\left[ \begin{array}{l} \text{Velocidad molar del} \\ \text{componente "i" a} \\ \text{través de la superficie} \\ \text{externa de la partícula} \end{array} \right] \times \left[ \begin{array}{l} \text{Área superficial} \\ \text{externa del} \\ \text{catalizador} \end{array} \right]}{\left[ \begin{array}{l} \text{Rapidez de formación} \\ \text{del producto "i" en la} \\ \text{superficie externa en} \\ \text{condiciones del fluido} \\ \text{(Temp. y conc.)} \end{array} \right] \times \left[ \begin{array}{l} \text{Volumen de la} \\ \text{partícula} \\ \text{catalítica} \end{array} \right]} \quad (2.10)$$

La técnica pseudoanalítica utiliza fundamentalmente los mismos conceptos que el factor de efectividad, ya que ambas manejan una relación matemática entre la concentración del sustrato en la masa del líquido y la velocidad de reacción. Sin embargo, en este caso las ecuaciones resultantes del transporte de materia y reacción química, son resueltas numéricamente y su resultado es empleado para desarrollar ecuaciones generales que posteriormente puedan ser empleadas en procesos semejantes de digestión; resolviéndolas de manera analítica (Hong *et al.*, 2000).

---

## **3.0 Modelado del proceso de digestión anaerobia**

### **3.1 Modelado de los sistemas microbianos**

Aun cuando los reactores biológicos son el corazón del proceso en un importante número de plantas químicas y estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR), estos son usualmente tratados como "cajas negras", ya que se desconoce cual es el funcionamiento exacto del equipo. Por lo anterior, muchos simuladores comerciales carecen de modelos rigurosos que describan con cierta confiabilidad los fenómenos que ocurren dentro de estos sistemas. Esto implica que, gran parte de los avances tecnológicos actuales estén orientados al desarrollo de sus propios modelos de reactor.

Puesto que la naturaleza de los sistemas microbianos es extremadamente compleja, los modelos teóricos que intentan describirla son muy complicados. Aunque por fortuna, en muchas ocasiones los modelos simplificados aportan un buen grado de certidumbre cuando se intenta describir el desempeño de muchas operaciones bioquímicas. Las simplificaciones habitualmente empleadas son (Levenspiel, 1999):

- a) Suponer que todos los organismos dentro del reactor son de la misma especie.
- b) Al consocio microbiano se le maneja como biomasa, sin importar sus diferentes ciclos de vida; y
- c) Se cree que todos los microorganismos están distribuidos homogéneamente en todo el recipiente.

Como se sabe, la digestión anaerobia es un proceso biológico natural en el que una comunidad entrelazada de bacterias coopera para llevar a cabo una fermentación

---

estable y autorregulada, que convierte a la materia orgánica residual presente en los vertidos en una mezcla gaseosa y una porción de biomasa.

Habitualmente, el efluente a tratar provee del carbono y la energía necesaria para que los procesos biológicos puedan efectuarse; dichos vertidos se obtienen de las más diversas fuentes (domiciliarios, de la actividad ganadera, de la industria papelera y alimenticia, etc.) con las consiguientes diferencias en composición. Así, la naturaleza del residuo dicta que etapas son las que controlan el proceso total y determinan los puntos de regulación más importantes (Scenna *etal.*, 2002).

Algunos vertidos residuales se presentan bajo la forma de sólidos suspendidos; mientras que otros lo hacen en estado de solución. Sin embargo, a pesar de las variadas formas en que se puede presentar el efluente es posible abordar esta problemática bajo ciertas hipótesis generales. De manera usual, el sustrato puede ser definido como cualquier sustancia de composición representativa parametrizada, conforme a su naturaleza y origen; que puede degradarse de manera biológica según las cuatro etapas del proceso de digestión anaeróbica (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis, metanogénesis) (Butt, 2000).

El desarrollo de un modelo matemático para un reactor que involucre el proceso de degradación anaerobia, debe considerar por lo menos los siguientes puntos: el aspecto biológico (estado fisiológico del consorcio), los fenómenos de transferencia entre las fases (gas, líquido y sólido; además si hay microorganismos soportados), el equilibrio iónico de las especies y por último, la geometría del sistema.

Como se sabe, la degradación anaerobia del material orgánico se lleva a cabo por un entrecruzamiento de micropoblaciones activas. Así por ejemplo, en el proceso de degradación de la glucosa están involucrados los cuatro grupos bacterianos. Aquí, los organismos acidogénicos presentan un crecimiento muy rápido, ya que utilizan la glucosa para producir una mezcla de ácido acético, propiónico y butírico. Aunque, la reacción preferida por las bacterias es la que conduce a ácido acético (Carrillo, 2003).

---

Las otras reacciones son en esencia, la respuesta microbiológica a la acumulación de hidrógeno durante las perturbaciones originadas en el sistema por la fase anterior. De acuerdo con esto, se tiene que las bacterias acetogénicas convierten al ácido propiónico y butírico en ácido acético. Tienen una velocidad de crecimiento relativamente lento y las reacciones que producen son muy difíciles energéticamente, pudiéndose interrumpir fácilmente por la acumulación de hidrógeno en el medio.

Dentro de las bacterias metanogénicas, las denominadas acetoclásticas convierten al ácido acético en  $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$ . Se desarrollan muy lentamente e influyen apreciablemente en el pH del sistema, debido a su capacidad de eliminar el ácido acético y formar  $\text{CO}_2$ . Se estima que éstas son las responsables de la mayoría del metano producido.

Si el modelo teórico propuesto pretende representar la evolución más completa de degradación anaerobia, es necesario incluir en las hipótesis, la formación de biomasa y las principales reacciones que se involucran en el proceso. Para resolver lo anterior, la estequiometría química ha sido estudiada por varios autores y entre los más destacados se pueden citar a Hofman-Bang y colaboradores (2003); y Butt (2000), quienes se basaron en la fórmula empírica para la biomasa ( $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$ ). Ambos sugieren la posibilidad de representar la composición de cualquier material orgánico a degradar mediante una fórmula general paramétrica. Dichos parámetros pueden obtenerse fácilmente del análisis de laboratorio.

### **3.2 Modelado de sistemas anaerobios**

Una parte importante de la simulación de cualquier sistema físico es su descripción matemática mediante un modelo. Los puntos más importantes a tener en cuenta en este proceso (Tarifa, 2000) son:

- **El modelo matemático es sólo una aproximación a la realidad física.** No es necesario que todas las características del sistema real estén incorporadas en el modelo. La complejidad del mismo es determinada por los objetivos planteados para su desarrollo. El mejor modelo es aquel que sólo tiene la complejidad mínima para satisfacer las expectativas.

- **El modelado es un proceso continuo.** Se debe modelar sólo los fenómenos principales y luego se agregan los restantes (sólo si es necesario)
- **El modelado es un arte.** Lamentablemente, no existe una receta para encarar el desarrollo de un nuevo modelo. Cada sistema a estudiar exige un esfuerzo creativo particular, teniendo la ventaja de adquirir conocimientos más profundos cada vez que se requiere resolver un problema.
- **El modelo debe ser realista y robusto.** Las predicciones del modelo deben estar de acuerdo con las observaciones experimentales realizadas sobre el sistema y no debe ser demasiado sensible a los cambios en parámetros o variables de entrada.

Aun cuando, la mayoría de modelos matemáticos en ingeniería se formulan mediante la aplicación de las leyes de conservación de masa, energía y cantidad de movimiento, en un volumen de control; se ha comprobado (González, 2003) que los biorreactores, están bien descritos cuando sólo se aplica el balance de materia. Asimismo, dicho volumen de control, puede ser el sistema entero (lo que da origen a *un balance global o macroscópico*); o también, un volumen diferencial (lo que da lugar a un balance diferencial o microscópico).

La manera habitualmente utilizada para formular el principio de conservación de materia, es a través de un balance en un volumen de control mediante la ecuación:

$$\left( \begin{array}{c} \text{Velocidad de} \\ \text{Acumulación} \\ \text{de Masa} \end{array} \right) = \left( \begin{array}{c} \text{Velocidad de} \\ \text{Masa que se} \\ \text{Alimenta} \end{array} \right) - \left( \begin{array}{c} \text{Velocidad de} \\ \text{Masa que Sale} \end{array} \right) - \left( \begin{array}{c} \text{Velocidad de Masa} \\ \text{que Reacciona} \end{array} \right) \quad (3.1)$$

No obstante, el balance anterior también puede ser aplicado a cada uno de los componentes presentes en el vertido residual.

De acuerdo con la variación del digestor en el tiempo, los modelos pueden ser estacionarios (cuando la acumulación es cero), o dinámicos (con la acumulación diferente de cero). Por otro lado, un balance es integral, cuando se analiza al digestor en dos instante determinados; por ejemplo, al tiempo " $t$ " y al " $t + \Delta t$ " (Bequette, 1998).

---

Aquí, el periodo " $\Delta t$ " es arbitrario y no necesariamente pequeño. Este tipo de balance conviene cuando sólo interesa el estado final del digestor, sin importar como evolucionó durante el mismo.

Finalmente, cuando en el fermentador existen varias fases (como es común), es posible plantear los balances de materia en global o a cada uno de sus componentes, en todas las fases. Todo esto origina ecuaciones matemáticas independientes, en un múltiplo igual a la cantidad de fases presentes.

### 3.3 *Evolución histórica*

Aun cuando, la complejidad del proceso de degradación anaeróbica hace difícil desarrollar un modelo único que refleje la "realidad biológica" completa del sistema; el modelado matemático de los fenómenos digestivos se establece como una herramienta útil en el diseño, evaluación y control de dichos sistemas.

Así, debido a que la experimentación en los fermentadores es algo difícil y tedioso por los largos tiempos de retención empleados en estos procesos, no se disponen de grandes cantidades de datos de laboratorio; lo cual origina que los estudios de modelado y simulación se transforman en algo necesario y complementario de los anteriores.

Aun cuando, la mayoría de los modelos teóricos se fundamentan en las leyes de conservación de masa, energía y cantidad de movimiento; una estrategia general del modelado en esta área, involucra la siguiente secuencia de pasos (González, 2003):

- 1.- Modelar el proceso de degradación anaerobia del sustrato, los fenómenos de transporte y los cinético-difusivos;
- 2.- Integrar los resultados anteriores a un bioreactor ideal (discontinuo, tanque agitado o flujo pistón);
- 3.- Considerar las desviaciones del patrón de flujo, geometría e hidrodinámica del sistema para poder modelar los distintos tipos de reactores reales (como lecho fijo, lecho fluidizado, etc).

---

Los primeros modelos que se desarrollaron sobre este tema (Andrews, 1969, 1971) contemplaban solamente la velocidad de degradación del ácido acético para describir la velocidad total de digestión, ya que asumían que la degradación del ácido acético era la etapa controlante de la reacción.

El desarrollo de modelos matemáticos que describen el procesamiento anaerobio con consorcios de procedencia animal, comenzó en los primeros años de la década de los 70's debido a la necesidad ecológica de tratar los residuos de rastros en países de Europa Central. Entre los primeros trabajos realizados se encuentran los de Hill y Barth (1977), que incluyen modelos para la digestión de residuos de cerdos. En estos modelos se incorporan las etapas de hidrólisis y acidogénesis para estimar el efecto de la sobrecarga orgánica en la velocidad de metanización.

Boekhorst y colaboradores (1981), afirman que los digestores anaerobios que utilizan residuos animales raramente operan en un verdadero estado estacionario, ya que generalmente presentan estados cuasi-estacionarios. Por tanto, el modelado dinámico es el que posee la capacidad de predecir la respuesta en dicho estado, permitiendo la optimización del proceso y un mejor diseño digestivo.

Angelidaki y colaboradores (1993), presentan un modelo matemático para la degradación anaerobia de material orgánico complejo (estiércol) al igual que Hill (1982), pero con ciertas mejoras. En el primero, se incluye una etapa de hidrólisis enzimática además de las otras fases biológicas, involucrando también doce compuestos químicos con sus respectivas transformaciones, en donde el amoníaco disuelto y el ácido acético son los principales factores reguladores del modelo.

Se sabe que para el diseño de los digestores se requiere conocer la velocidad de reacción intrínseca (es decir en la superficie catalítica). Sin embargo, la concentración y la temperatura necesarias para calcular dicho parámetro, se miden experimentalmente a la salida del reactor, lo cual no corresponde con las condiciones existentes en donde se está llevando a cabo la transformación, ya que se ven afectadas principalmente por la hidrodinámica del sistema y la transferencia de masa. Lo anterior, obliga a tener



---

metodologías que ayuden a inferir las características cinéticas en la superficie catalítica.

En la actualidad, se sabe que de manera experimental los reactores químicos de tanque agitado son probablemente los sistemas más usados para la determinación de las constantes de velocidad de reacción. Sin embargo, para obtener la información cinética, se requiere planear adecuadamente el diseño de los experimentos, los cuales deben incluir las resistencias a la transferencia de masa y calor, tanto en el fluido como en los sólidos catalíticos (Marroquín *et al.*, 2002).

Los experimentos dinámicos, se usan para la evaluación de parámetros tales como las constantes de velocidad de reacción y de equilibrio; además de los coeficientes de transporte. Asimismo, permiten elucidar mecanismos de reacción mediante el análisis de respuesta de los reactores a cambios en la alimentación.

Un procedimiento típico a este respecto, consiste en introducir una perturbación en la composición de la corriente de entrada y monitorear la respuesta en la salida (se conoce como la técnica de estímulo-respuesta) (Levenspiel, 1999). En este tipo de experimentos, la interpretación de los datos cinéticos puede ser incorrecta si las resistencias a la transferencia de masa no son consideradas; por lo tanto, es necesario usar modelos que incluyan los efectos más importantes, para decidir cuales resistencias pueden ser despreciadas. El tratamiento de este problema se ha realizado considerando soluciones matemáticas aproximadas, de tal forma que se pueden mencionar en primera instancia, aquellas técnicas en las que no se consideraban las resistencias externas al transporte de masa.

En esta línea se encuentra el trabajo realizado por Towler y Rice (1974), quienes analizaron un sistema bifásico en un reactor continuo de tanque agitado (RCTA). En su modelo consideran un sistema dinámico e isotérmico, con resistencias a la transferencia de masa interna pero no consideran la externa, ya que asumen que la mezcla reactiva se encuentra perfectamente agitada. Las expresiones resultantes del proceso, son útiles para la determinación de la difusividad efectiva y las constantes de velocidad de reacción, a partir de la medición de concentración en la salida del

---

reactor.

Estos autores presentan gráficas de concentración contra tiempo, en las cuales aparece un mínimo para ciertas combinaciones de parámetros adimensionales que describen el sistema. En base a este comportamiento, sugieren que el mínimo puede ser usado para determinar los parámetros cinéticos. Sin embargo, no proporcionan las condiciones necesarias bajo las cuales puede obtenerse dicho punto. No obstante, Do y Rice (1982) presentan un estudio realizado a un sistema en el que se encuentran partículas catalíticas inmersas en un RCTA, donde proponen que la reacción es de primer orden y consideran las resistencias a la transferencia de masa. Así, basados en la técnica de estímulo, determinan las condiciones precisas a las cuales se presenta el mínimo reportado, concluyendo que una de las situaciones para que esto ocurra, es que el TRS en el tanque debe ser mucho menor al tiempo de difusión del sustrato en la partícula es decir:

$$\frac{V}{Q} \ll \frac{r_p^2}{D_{efec}} \quad (3.2)$$

Aquí (**V**) es el volumen del reactor ( $m^3$ ); (**Q**) es el flujo volumétrico ( $m^3/s$ ); ( $r_p$ ) es el radio de la partícula catalítica (m) y ( $D_{efec}$ ) es la difusividad efectiva ( $m^2/s$ ).

Debido a que tanto el volumen, como el flujo pueden manipularse de manera experimental, estos se pueden ajustar de tal forma que se cumpla la relación expresada anteriormente. Así una vez determinando el tiempo al cual ocurre el mínimo, se pueden obtener las constantes de velocidad de reacción.

Posteriormente, Datta y Rinker (1983) reportan soluciones dinámicas que modelan en un RCTA isotérmico en donde ocurre una reacción química de primer orden irreversible, el cual incluye difusión tanto en la partícula como en el líquido estancado. Las soluciones son obtenidas en forma general, es decir no se especifica la forma de la partícula, aunque el modelo si incluye los efectos de las resistencias a la transferencia de masa externa (interfase sólido-fluido) e interna (en la intrapartícula).

Un nuevo modelo es presentado por Szukiewics en el 2000, donde propone un método aproximado basado en la fórmula de la "Fuerza Impulsora Lineal" o LDF (por sus siglas en inglés, *Linear Driving Forcé*), para un proceso de difusión-reacción. Dicha aproximación consiste en reemplazar la ecuación diferencial parcial del balance de masa en la partícula, por una ecuación diferencial ordinaria. Con esto, la solución se simplifica y en muchos casos los resultados obtenidos son una muy buena aproximación un modelo más riguroso.

Por ejemplo, si se desea simular un digestor en estado transitorio en donde la reacción es de primer orden, se tiene que la ecuación que gobierna el transporte del sustrato en la partícula catalítica esférica estaría expresada como:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( D_{efec} r^2 \frac{\partial C_A}{\partial r} \right) - k_A C_A \quad (3.3)$$

donde ( $C_A$ ) es la concentración de sustrato, ( $t$ ) es el tiempo, ( $k_A$ ) es la constante de velocidad de reacción, y ( $r$ ) es la coordenada radial.

La técnica de la fórmula LDF consiste en reemplazar la ecuación anterior por la siguiente ecuación adimensional:

$$\frac{\partial C_{av}}{\partial \tau} = \alpha (C_s - C_{av}) - \Phi^2 C_{av} \quad (3.4)$$

Aquí ( $\alpha$ ) es un coeficiente por determinar experimentalmente (un análisis realizado por el autor, lo considera como independiente del tiempo). Mientras que ( $C_{AV}$ ) y ( $C_s$ ) son las concentraciones promedio en el fluido y superficial respectivamente. Por último, ( $\tau$ ) es el tiempo adimensional y ( $\phi$ ) es el módulo de Thiele. Dicho módulo, es un parámetro adimensional que refleja la relación entre la cinética de reacción y la difusión, el cual fue originalmente propuesto por E. W. Thiele en 1939 para representar la disminución en la concentración del reactivo cuando éste se mueve, desde la superficie hacia el interior de la partícula catalítica (Levenspiel, 1999). Por definición, se tiene que para una partícula de radio ( $R$ ), con cinética de primer orden se puede expresar como:

$$\Phi = \frac{\text{Fenómenos Cinéticos}}{\text{Fenómenos Difusivos}} = \frac{R}{2} \sqrt{\frac{k}{D_{efec}}} \quad (3.5)$$

---

Por otro lado, después de efectuar un estudio a dos tipos diferentes de concentraciones superficiales, Szukiewics (2000) encontró la siguiente restricción:

$$\tau \geq \frac{5}{3\alpha + \Phi^2} \quad (3.6)$$

Concluyendo que cuando ésta se cumple, la solución aproximada que arroja su modelo simplificado, da casi los mismos resultados que la solución exacta con un modelo más complejo.

Por otro lado, Marroquín y colaboradores (2002) proponen un modelo para un RCTA en el cual se encuentran partículas catalíticas suspendidas en un fluido perfectamente mezclado. Suponen un proceso isotérmico, en el que se lleva a cabo una reacción de primer orden y donde además se consideran las resistencias a la transferencia de masa (internas y externas). Por otro lado, el fenómeno de difusión-reacción es modelado en términos de ecuaciones diferenciales las cuales incluyen el promedio volumétrico como lo propone Whitaker (1999).

De igual forma, Szukiewics (2002) continúa trabajando en métodos aproximados para los problemas de difusión-reacción en estado transitorio mediante la aplicación de la fórmula LDF con cualquier tipo de expresión cinética. Proponiendo que cuando las cinéticas no son lineales, es necesario linealizarlas mediante series de Taylor, tal como lo sugiere la literatura (Marroquín *et al.*, 1999). El método obtenido, presenta buena relación con la solución exacta para valores bajos del módulo de Thiele.

Un desarrollo paralelo es propuesto por Chaudhari y Ramachandran (1980), quienes presentan el análisis de un sistema trifásico en el cual ocurre una reacción de orden cero, y donde se consideran las resistencias a la transferencia de masa. Su modelo es isotérmico y al igual que en la mayoría de los estudios reportados, se maneja sólo en estado estacionario; aunque ofrece la ventaja de tomar en cuenta la variación de la concentración del sustrato con respecto al espacio.

Dicho trabajo, muestra que para este tipo de sistemas existe una concentración crítica de sustrato abajo de la cual los efectos difusivos son de considerable importancia, ya que se presenta una zona sin reacción dentro de la partícula catalítica,

---

debido a que la concentración del reactivo es igual a cero en algún punto dentro de ella. Entre las expresiones analíticas que presentan, se encuentra la ecuación para calcular el factor de efectividad (como ya se discutió, este parámetro estima la eficiencia o eficacia de la partícula catalítica en el proceso) el cual es calculado con la ecuación:

$$\eta = 1 - \left(\frac{r}{R}\right)^3 \quad (3.7)$$

Siendo en este caso, ( $\eta$ ) es el Factor de efectividad, ( $r$ ) es la variable radial de la partícula y ( $R$ ) es el radio total de la partícula.

Otro de los modelos interesantes que intenta resolver el problema de la difusión-reacción, es el propuesto por Chang y colaboradores (2004). Proponen que el sistema es isotérmico y en estado estacionario en el que se realiza una cinética del tipo de Michaelis-Menten, y donde se incluyen los efectos de la resistencia externa e interna a la transferencia de masa.

A pesar de las diversas soluciones aproximadas que se han desarrollado, el problema sigue siendo de gran interés debido a que dichas soluciones propuestas están restringidas a casos particulares. El interés fundamental para el desarrollo del presente modelo matemático, se justifica por la falta de modelos generales que permitan describir el comportamiento de las reacciones digestivas anaerobias en el tratamiento de vertidos residuales.

### **3.4 Simulación de un reactor tipo tanque agitado**

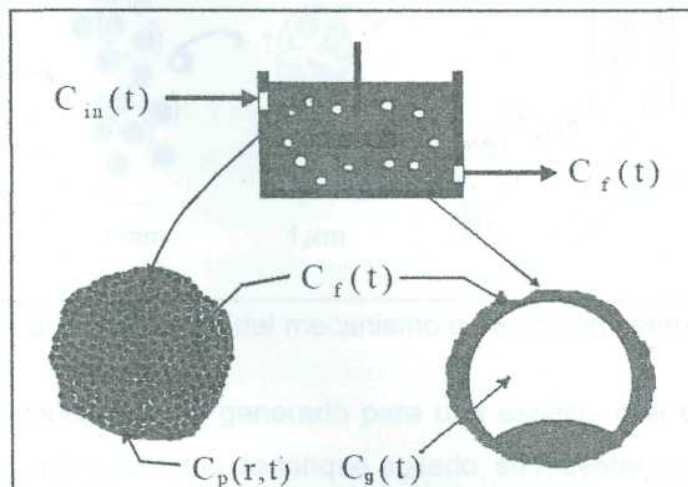
Aun cuando, en el sistema de ecuaciones aquí propuesto se deberían incluir los balances de masa y energía correspondientes; en los digestores anaerobios se desprecian los efectos térmicos ya que la conductividad de los líquidos es relativamente alta, incrementa el coeficiente de transferencia externo. Esto, aunado a la baja generación o consumo de calor en las reacciones biológicas, se puede afirmar que se mantienen condiciones isotérmicas. Las diferencias externas e internas de temperatura pueden despreciarse (Levenspiel, 1999).

---

Las ecuaciones diferenciales que constituyen el sistema matemático del modelo, son los balances de masa para cada fase (sólido, líquido y gas) y se expresan para el reactivo limitante y biogás generado. En estas ecuaciones, deben estar incluidas las expresiones cinéticas, las relaciones físico-químicas y las ecuaciones que describen el comportamiento del reactor.

### 3.4.1 Formulación del modelo conceptual

Suponiendo que la digestión química se realiza en un reactor isotérmico, trifásico y continuo, tipo tanque agitado donde al consorcio microbiano se le asume como biomasa libre (representado como catalizadores porosos) y suspendidos por la acción del fluido perfectamente mezclado, tal como se muestra en la figura 3.1. Aquí, el sustrato es alimentado en la fase líquida y transportado hasta los poros, donde reacciona de acuerdo al modelo cinético de Michaelis-Menten, teniendo como uno de los principales productos es el biogás que abandona el sistema.



**Figura 3.1** Esquema del reactor continuo de tanque agitado trifásico.

En este esquema,  $(C_{in})$  y  $(C_f)$  son las concentraciones de entrada y salida del sustrato en el efluente; mientras que  $(C_g)$  es la concentración de biogás. Como se puede observar, todas ellas cambian con respecto al tiempo. Sin embargo,  $(C_p)$  que es la concentración en la partícula catalítica depende no solo del tiempo, sino también de la posición dentro del sólido.

Así, para que cualquier especie química alimentada en el sustrato pueda reaccionar sobre la superficie activa del catalizador, debe seguir los siguientes pasos:

- 1) Transporte del reactivo A desde el seno del líquido a la superficie catalítica
- 2) Transporte difusivo en la intrapartícula a través de los poros catalíticos
- 3) Adsorción del reactivo A en los sitios activos del catalizador
- 4) Reacción superficial heterogénea de A para la conversión en productos
- 5) Desorción de los productos de los sitios activos
- 6) Difusión del producto a través de los poros
- 7) Transporte del producto de la superficie catalítica al seno del líquido

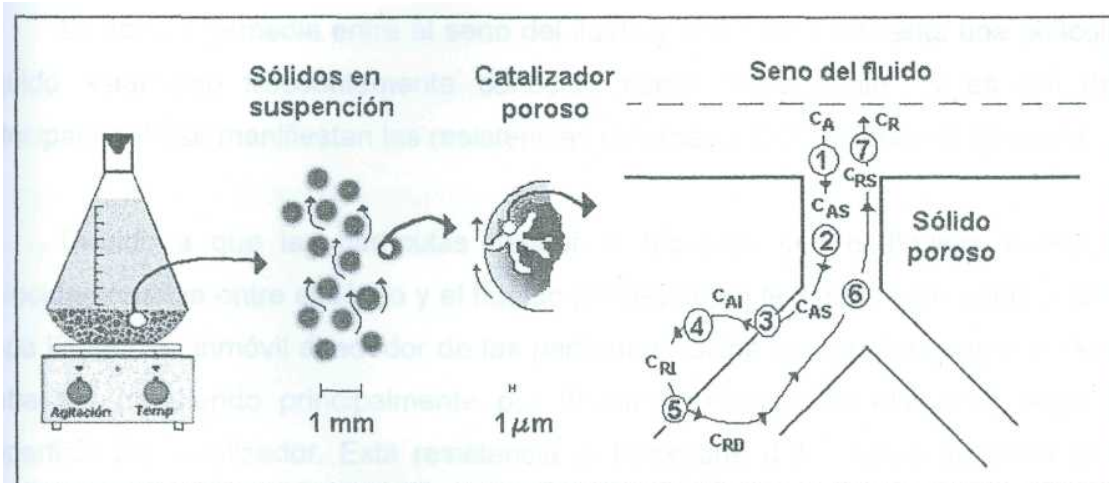
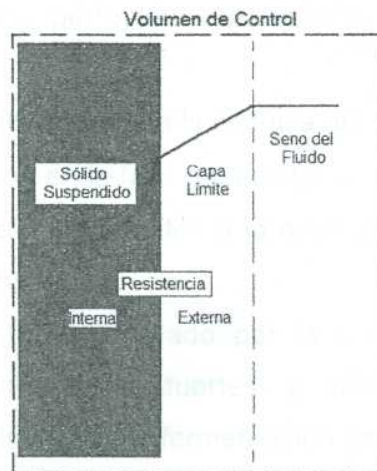


Figura 3.2 Esquema del mecanismo de reacción heterogénea.

El perfil de concentración generado para una especie que exhibe una reacción irreversible en un reactor continuo de tanque agitado, se muestra en la figura 3.3.



**Figura 3.3** Perfil de concentración en un reactor de suspensión.

La zona intermedia entre el seno del fluido y el sólido representa una película de líquido estancado frecuentemente conocido como "capa límite", y es ahí donde principalmente se manifiestan las resistencias externas a la transferencia de masa.

Debido a que las partículas tienden a moverse con el líquido, existe poca velocidad relativa entre el sólido y el líquido presentes en la suspensión, originando una capa límite casi inmóvil alrededor de las partículas. Dicha capa provoca que el reactivo deba ser transferido principalmente por difusión a través de ella para llegar a la superficie del catalizador. Esta resistencia al transporte del reactivo resultará en una diferencia de concentraciones, entre el seno del fluido y la superficie catalítica la cual puede retardar significativamente la velocidad global de reacción.

### **3.4.2 Consideraciones y simplificaciones al modelo**

En base a lo anterior, se establecen las siguientes suposiciones a las cuales está sujeto el modelo (Scenna *et al.*, 2002):

- La biomasa está constituida por organismos de un mismo tipo. Es decir, las cuatro especies biológicas activas que representa la población mixta del digestor es tomada como única. Además, no hay diferencia entre sus diversas edades fisiológicas.
- La forma geométrica del sólido catalítico es esférica y de tamaño homogéneo.



- La mezcla reactiva está perfectamente agitada, con temperatura y volumen constante.
- La velocidad de reacción obedece a la cinética del tipo Michaelis-Menten.
- No existe reacción alguna en la fase gaseosa y su presión es constante.
- No se consideran los efectos debidos a la desactivación (muerte) ni generación (crecimiento) de la biomasa.
- El pH del proceso está determinado por la composición de la alimentación (ácidos orgánicos, inorgánicos -fuertes y débiles-, álcalis), por los AGV producidos y otros productos de la fermentación como CO<sub>2</sub>.

### 2.4.3 Formulación del modelo matemático.

Debido a que el fluido está perfectamente mezclado, es razonable considerar que el transporte de masa en las partículas ocurre solo en la dirección radial. El proceso de difusión-reacción puede ser modelado en términos de ecuaciones de transporte promedio de materia como lo propone Whitaker (1999). Así, las ecuaciones de balance en estado cuasiestacionario para cualquier componente en cada una de las fases puede escribirse como:

Para la fase líquida por:

$$\frac{\partial \langle C_{A_i} \rangle^l}{\partial t} = \frac{Q_l}{V_l} (C_{A_i}|_{in} - \langle C_{A_i} \rangle^l) + \frac{k_l^{ls} A_{ls}}{V_l} (C_{A_i}|_s - \langle C_{A_i} \rangle^l) + \frac{k_l^{lg} A_{lg}}{V_l} (C_{A_i}|_g - \langle C_{A_i} \rangle^l) \quad (3.8)$$

La fase gas por

$$\varepsilon_\beta \frac{\partial C_{A_g}}{\partial t} = \frac{\varepsilon_\beta D_{efec}}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial C_{A_g}}{\partial r} \right) \quad (3.9)$$

Mientras que la fase sólida está descrita por:

$$\varepsilon_\beta \frac{\partial C_{A_s}}{\partial t} = \frac{\varepsilon_\beta D_{efec}}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial C_{A_s}}{\partial r} \right) - k_s \alpha_v C_{A_s}$$

Aquí  $\varepsilon_\beta$  es la fracción porosa de las partículas; es decir, el espacio no cubierto por la fase sólida ni gaseosa, mientras que  $D_{efec}$  es la difusividad efectiva y  $\langle C_{A_i} \rangle$  es la concentración intrínseca promedio en las partículas definida por Whitaker (1999).

---

Para evitar los problemas numéricos en la solución del modelo, conviene que los valores de todas las variables tengan magnitudes comparables. Es por este motivo que frecuentemente se prefiere trabajar con variables normalizadas. Uno de los métodos habitualmente empleados en el diseño de reactores es la "*adimensionalización*".

Este método se basa en que, a la mayoría de las variables se les puede determinar o estimar un valor máximo absoluto, el cual obtendrán durante la evolución del estudio. Así, si las variables originales se dividen por sus correspondientes valores máximos, se logran las variables normalizadas cuyos valores estarán permanentemente dentro del rango  $[0,1]$  (Ingham *et al.*, 1995).

Una importante excepción es el tiempo, ya que para esta variable no existe una cota superior. No obstante, si bien no es posible determinar un valor máximo para esta variable, si es posible fijar un valor característico para cada sistema, por ejemplo: tiempo de residencia, tiempo de retención hidráulico o tiempo de retención de sólidos.

De esta manera, todas las variables (excepto el tiempo), pueden ser normalizadas con la consiguiente ventaja numérica. Además, al normalizar las variables el modelo se hace independiente de cualquier sistema de unidades. Como resultado de estos cambios, los parámetros del modelo pueden agruparse de manera conveniente en las ecuaciones, para formar parámetros adimensionales o números adimensionales.

La cantidad de nuevos parámetros matemáticos es por lo general, menor a la cantidad de parámetros originales, lo que da como resultado un modelo adimensional más simple que el original. Además, al simplificarse el modelo también se simplifican los experimentos necesarios para determinar los parámetros en el laboratorio, dando como resultado directo que los estudios a realizarse en la simulación sean menores.

De acuerdo con lo anterior, los parámetros adimensionales propuestos para transformar los balances del modelo matemático y llegar a la solución del problema más rápidamente, se definen como:

**Tabla 3.1** Definición de parámetros adimensionales

Parámetro \ Fase	Sólido	Líquido	Gas
Concentración	$U_p = \frac{C_{A_s}}{C_{A_s}^* / \varepsilon_s}$	$U_L = \frac{\langle C_{A_i} \rangle^l}{C_{A_i}^*}$	$U_g = \frac{C_{A_g}}{C_{A_g}^*}$
Transporte	$\Psi_p = \frac{k_l^{ls} A_{ls}}{V_l} \left( \frac{r_0^2}{\varepsilon_\beta D_{ef}} \right)$	$\Psi_{in} = \frac{1}{\tau_l} \left( \frac{r_0^2}{\varepsilon_\beta D_{ef}} \right)$	$\Psi_g = \frac{k_l^{lg} A_{lg}}{V_l} \left( \frac{r_0^2}{\varepsilon_\beta D_{ef}} \right)$
Números Adimensionales*	$\Phi^2 = k_s \alpha_s \left( \frac{r_0^2}{\varepsilon_\beta D_{ef}} \right)$	$Bi = \frac{k_l^{ls} r_0}{D_{ef}}$	$Bi_g = \frac{k_l^{lg} r_0}{D_{ef}}$
Variables	$\zeta = \frac{r}{r_p}$	$\tau = \frac{t D_{ef}}{r_0^2}$	$\tau_l = \frac{V_l}{Q_l}$

\* Aquí: ( $\Phi$ ) es el módulo de Thiele y ( $Bi$ ) es el Número de Biot

El empleo de los parámetros anteriores da como resultado las siguientes transformaciones a las ecuaciones matemáticas:

Para la fase líquida:

$$\frac{dU_L}{d\tau} = \Psi_{in} (U_{in} - U_L) + \Psi_p (U_p|_{\zeta=1} - U_L) + \Psi_g (U_g|_{\zeta=1} - U_L) \quad (3.11)$$

La fase gaseosa se presenta por:

$$\frac{1}{\zeta^2} \frac{d}{d\zeta} \left( \zeta^2 \frac{dU_g}{d\zeta} \right) = 0 \quad (3.12)$$

Mientras que para la fase sólida se obtuvo que:

$$\frac{1}{\xi^2} \frac{d}{d\xi} \left( \xi^2 \frac{dU_p}{d\xi} \right) = -\Phi^2 U_p \quad (3.13)$$

Con las siguientes condiciones de frontera adimensionales:

$$\zeta = 1, \quad \frac{dU_g}{d\zeta} = Bi_g (U_L - U_g|_{\zeta=1}) \quad \xi = 1, \quad \frac{dU_p}{d\xi} = Bi (U_L - U_p|_{\xi=1})$$

En  $0 \leq \zeta \leq 1$   $U_g$  está definida

En  $0 \leq \xi \leq 1$   $U_p$  está definida

Una vez acopladas las correspondientes condiciones a la frontera y resolviendo el sistema, se obtienen el siguiente conjunto de ecuaciones:

---

En la fase gaseosa:

$$U_g = U_L \quad (3.14)$$

En la fase líquida:

$$U_L = \Psi_{in} e^{-ar} \frac{1}{a} (e^{ar} - 1) + \frac{\Psi_g U_g}{a} [1 - e^{-ar}] \quad (3.15)$$

En la fase sólida:

$$U_p = \frac{Bi}{(\Phi \coth(\Phi) + Bi - 1)} \left( \Psi_{in} e^{-ar} \frac{1}{a} (e^{ar} - 1) + \frac{\Psi_g U_g}{a} [1 - e^{-ar}] \right) \frac{\sinh(\Phi \xi)}{\xi \sinh(\Phi)} \quad (3.16)$$

Es necesario tener en cuenta que, la solución anterior considera que la reacción únicamente ocurre en la fase sólida; además, aun cuando asume que la concentración total de biogás es constante al final del proceso, su rapidez de generación está en relación directa con el consumo de carga orgánica como lo demuestran las ecuaciones 3.14 y 3.15. Lo anterior, concuerda con lo propuesto por Grady y colaboradores reportado en 1999.

---

## ***Capítulo III***

# ***Metodología experimental***

---

---

## **4.0 Materiales y métodos**

### **4.1 Metodología y plan de trabajo**

Para estudiar la factibilidad de aplicación del fluido ruminal como consorcio microbiano en la depuración de vinazas y para entender como su eficiencia cinética es influenciada por las condiciones ambientales, se empleó en este estudio un digestor anaerobio en el rango mesófilo de temperatura de manera discontinua bajo diferentes condiciones de operación.

Así, para abordar los objetivos planteados en este proyecto, se propone la siguiente secuencia experimental:

- Obtener y mantener la fuente de inoculación seleccionada.
- Puesta a punto de los equipos experimentales utilizados, así como las técnicas de análisis específicas para cuantificar las variables del proceso de degradación anaerobia.
- Seleccionar e implantar los parámetros iniciales de operación, así como los diversos rangos de variación.
- Obtener las condiciones óptimas para la cinética de biodegradación, mediante el análisis de la disminución en la DQO, la generación de biogás y la cantidad de sólidos en el sistema de acuerdo a como lo marca la normatividad vigente.
- Determinar los parámetros cinéticos del proceso de degradación para simular el progreso de la reacción con un modelo matemático desarrollado para tal fin.

A continuación se desglosan cada una de las distintas etapas programadas, mediante la descripción de los diversos equipos y técnicas analíticas empleadas.

## 4.2 Cultivo primario y equipo de inoculación

El cultivo primario de bacterias es una de las variables más importantes para conseguir un apropiado nivel de degradación. Por ello, el primer aspecto dentro del programa experimental, es la selección de una fuente de biomasa anaerobia de características adecuadas y estables, capaz de mantener un alto nivel de actividad en diversas condiciones ambientales y de alimentación.

Habitualmente los procesos industriales que carecen de un inóculo nativo para tratar sus vertidos, lo obtienen alternativamente de una fuente natural o de un proceso industrial en funcionamiento; el cual mediante la inoculación y aclimatación de la población microbiana se adapta al procedimiento en cuestión. Así, debido a que en la industria alcohólica se carece de una colonia microbiana capaz de degradar sus desechos, se propone en este proyecto utilizar un consorcio proveniente del primer estómago de la vaca; es decir, el existente en el fluido ruminal (figura 4.1).

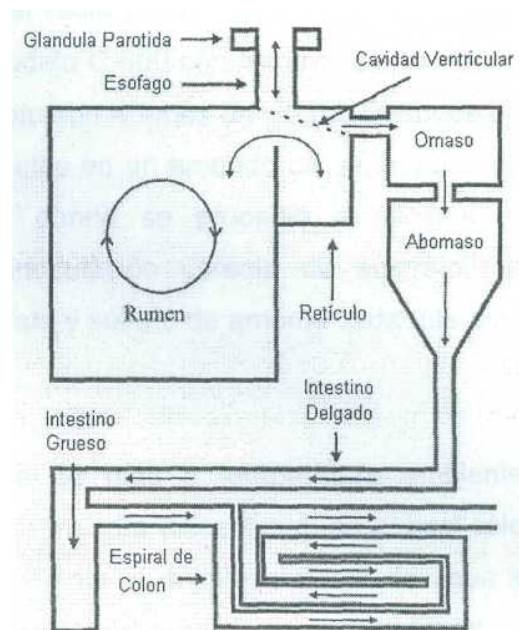


Figura 4.1 Diagrama del estómago de la vaca

La calidad y cantidad del inóculo son factores importantes que definen la duración del periodo de arranque y desempeño del digestor, ya que es ahí donde la biomasa activa crece y adquiere las propiedades necesarias para la remoción de la materia orgánica. Este tiempo será corto, si los organismos empleados tienen actividad metanogénica elevada (AME) (Aivasidis *et al.*, 2005).

Debido a que la ecología microbiana del inóculo seleccionado contiene una fracción de bacterias aerobias y otro tipo de organismos, se propuso analizar la degradación natural del fluido ruminal (sin sustrato), para lograr identificar las diversas etapas de actuación de los cuatro grupos tróficos.

---

Para la inoculación inicial de la colonia microbiana, se colocaron en un matraz Erlenmeyer de vidrio marca Kimax con capacidad de dos litros, 500 ml de agua destilada y 750 ml de fluido ruminal como biomasa activa; el sistema fue herméticamente sellado con un tapón de hule sólido del número 3 que contenía incrustados dos tubos de vidrio para el intercambio de masa. La colonia microbiana fue colectada en el matadero municipal y previamente al bioensayo fue filtrada a través de membranas acuosas marca Millipore de 0.22  $\mu\text{m}$  al vacío y centrifugada por 10 minutos a 2,000 rpm en un centrifugador marca SolBat modelo C-600 con velocidad máxima de 3500 rpm y un radio total de 160 cm donde se ubicaron 4 tubos de 50 ml. Después de centrifugar, se dejó reposar la mezcla por 30 minutos en un embudo de separación de marca Kimax con capacidad de 500 ml, en donde se procedió a eliminar el sobrenadante. Debido a que el sistema de inoculación carecía de sustrato, se añadieron como nutrientes 5 gramos de urea, fosfato y sulfuro de amonio cada dos días para mantener la actividad biológica.

El digestor se operó por un periodo de 63 días a temperatura ambiente (aproximada a  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ ) y agitación de 75 rpm de manera discontinua, en el cual sólo se cuantificó el volumen de biogás generado mediante el desplazamiento de agua a través de una probeta invertida marca Pyrex de 750 ml con subdivisiones cada 50 ml.

Una vez identificado el tiempo necesario para la aparición de la colonia metanogénica, se procedió a la aclimatación de los microorganismos al sustrato. Para esto, se inoculó nuevamente el sistema de crecimiento anterior y se alimentó a los organismos con diversas concentraciones de vinazas. El proceso se inició con sustrato neutralizado mediante la adición de diversas cantidades de  $\text{CaCO}_3$  y concentración del 20% en volumen de vinazas diluidas con agua destilada e incrementado su concentración en proporciones iguales (es decir 20%) cada 4 días, con lo cual se alcanzaron las propiedades originales de carga orgánica en el vertido contaminante al mismo tiempo que le toma a la metanogénesis aparecer.

A partir de este momento se adoptó un régimen de alimentación semicontinuo para el consorcio, con una sola toma cada tres días de 50 ml de vinazas sin neutralizar

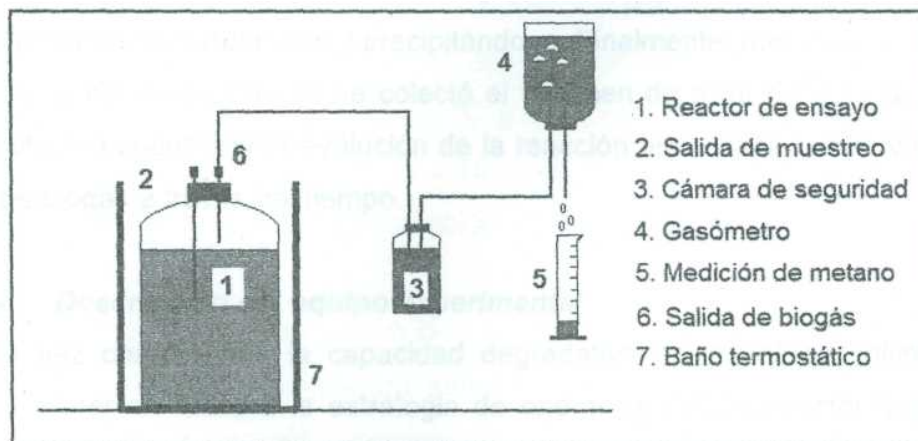


y a temperatura ambiente. Su operación suministró de flora activa y con características aproximadamente constantes a los posteriores ensayos; por lo cual este sistema se mantuvo funcionando estable y permanentemente durante el desarrollo del proyecto.

#### 4.3 **Determinación de la degradación de la alimentación**

El objetivo principal de realizar ensayos de biodegradabilidad, radica en que se desea estimar la fracción de DQO que puede ser eliminada y la que permanecerá en el efluente como materia no biodegradable durante el proceso anaerobio. Los valores obtenidos para este parámetro, pueden indicar la necesidad de disponer de sistemas complementarios de tratamiento en los efluentes del proceso metanogénico.

Con el fin de caracterizar la biodegradabilidad de la alimentación utilizada en el desarrollo del presente trabajo experimental, se montó un sistema por lotes de fluido ruminal-vinaza en un digester agitado mecánicamente y una temperatura de  $30 \pm 2^\circ \text{C}$ , de acuerdo a como se muestra en la figura 4.2:



**Figura 4.2** Esquema experimental para los ensayos de biodegradabilidad.

El reactor de ensayo, consistió de un recipiente de vidrio marca Kimax de dos litros de capacidad (1.5 litros de volumen útil), con subdivisión a intervalos de 100 ml, herméticamente sellado con un tapón de caucho del número 5, el cual tenía incrustadas dos jeringas estériles de plástico marca Plastipak de 25 ml de capacidad con agujas de grosor 0.60 mm, una para alimentar el sustrato y otra para extraer el biogás generado. El sistema anterior se mantuvo sumergido en un baño de agua con capacidad de 4

---

litros para mantener la temperatura aproximadamente constante mediante un termostato marca ThermoLab modelo G13 con control de temperatura hidráulico y un rango ajustable de 10 a 65° C.

La cámara de seguridad consistió de un recipiente de vidrio de 0.5 litros de volumen marca Pyrex cerrado mediante un tapón de rosca con dos jeringas incrustadas de las mismas características que las anteriores y la cual conectaba al reactor de ensayo con el gasómetro. Su función principal fue la de evitar que la disolución alcalina contenida en el gasómetro se transfiriera al digestor por alguna situación adversa (como cambios repentinos de presión o temperatura) que provocarían graves perturbaciones en el bioensayo.

El gasómetro estaba constituido por un vial invertido de plástico, con un volumen de 500 ml el cual estaba relleno de una dilución alcalina de 25 g/L de KOH. A medida que entraba el biogás en el vial, se desplaza un volumen de líquido alcalino igual a la cantidad de CH<sub>4</sub> producido. Mientras, el CO<sub>2</sub> que acompaña al metano quedó disuelto en el medio formando carbonatos y precipitándose. Finalmente, mediante el uso de una probeta marca Kimax de 500 ml se colectó el volumen de solución desplazada por el CH<sub>4</sub>, permitiendo cuantificar la evolución de la reacción bioquímica con la variación del volumen de biogás a través del tiempo.

#### ***4.4 Descripción del equipo experimental***

Una vez comprobada la capacidad degradativa de la colonia microbiana, se procedió a poner en marcha la estrategia de operación del biorreactor bajo diversas condiciones de operación y de alimentación. Para esto, se diseñó el equipo experimental mostrado en la figura 4.3.

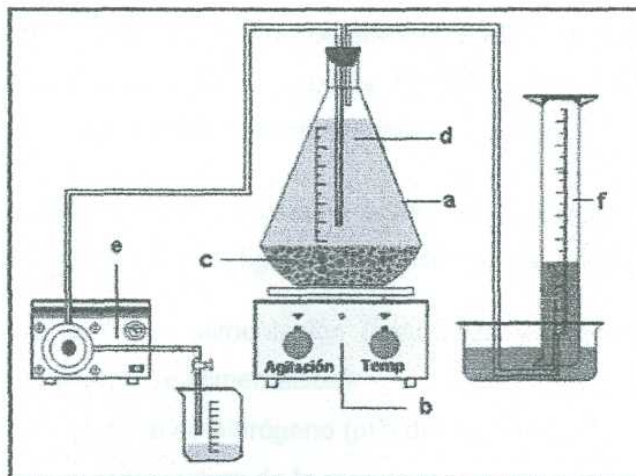


Figura 4,3 Diagrama del equipo experimental (a) matraz (h) parrilla de agitación (c) fluido ruminal (d) vinazas (e) bomba (f) medidor de biogás

La oxidación anaerobia metanogénica, se llevo acabo en un digester de vidrio de 4 litros marca Pyrex herméticamente sellado mediante un tapón de hule sólido en forma cónica del número 5 marca Siuri modelo SSURL01097 y medidas aproximadas de 25 x 22 x 25 mm, perforado por dos tubos de vidrio de 15 mm de diámetro externo para el intercambio de masa. El sistema fue agitado mecánicamente y operado por Sotes inicialmente a una temperatura de  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  y 50 rpm mediante una parilla magnética marca LabTec modelo SP- 46925 de 18x18cm y con rango de temperatura 25 a  $540^\circ \text{C}$ , con modificación de velocidad de agitación de 10 a 1000 rpm.

Para iniciar el proceso digestivo con células ubres, se colocaron en el digester 2.5 litros de vinazas al 20% en volumen, incrementando su concentración hasta llegar a las características de operación, mediante la aumentación ai biorreactor empleando para esto, una bomba peristáltica marca Wheaton modelo 375010-A con dispensador automático y opción de inversión-aspiración de fluidos en pequeñas proporciones; desde soluciones acuosas a medianamente concentradas, además de velocidad variable que varían de 4 hasta 36 ml/s dependiendo el tipo de tubería.

También se añadieron al sistema 500 ml de inóculo metanogénico adaptado. El proceso digestivo fue seguido analizando muestras de 250 ml de mezcla reactiva, la cual fue filtrada al vacío para evitar la fuga de biomasa con papel filtro marca LabTec

---

modelo 1005 de 9 cm de diámetro total y con abertura de 2.5  $\mu$ m para la clarificación de la turbiedad de la suspensión. Dichas tomas fueron reemplazadas por cantidades similares de vinazas con las características originales del vertido.

Como se puede observar, el sistema brindó la flexibilidad de operación bajo diferentes condiciones. Aquí se investigaron los siguientes parámetros:

- Características de la alimentación (naturaleza y concentración del vertido además del tiempo de alimentación)
- Cambio del potencial de hidrógeno (pH) del sistema
- Variación de la temperatura de la mezcla reactiva
- Modificación en la velocidad de agitación del digestor
- Cambios en la concentración de biomasa libre
- Introducción de soportes catalíticos para la adhesión microbiana

#### **4.5 Caracterización de la alimentación**

Los efluentes de las destilerías de alcohol (denominados genéricamente vinazas), representan un serio problema de índole ambiental debido al elevado volumen de vertidos evacuados, además del enorme poder contaminante de los mismos. En el estado de *Veracruz*, que es uno de los principales productores de *caña* y *por ende* de alcohol, el problema es aun más grave ya que grandes cantidades de los subproductos del proceso de elaboración de azúcar son destinados para éste fin.

Las distintas características de las vinazas dependen fundamentalmente de la materia prima empleada y del sistema de destilación utilizado. Algunos autores señalan que si bien las características de las diferentes vinazas son variadas, la aplicación de pre-tratamientos simples a las mismas (clarificación, coagulación, etc.) conducen a la obtención de efluentes con propiedades semejantes (Pérez, 1995). Tales efluentes contienen por si mismos, todos los nutrientes esenciales y las proporciones adecuadas para poder ser tratados mediante la depuración anaerobia.

---

En todos los ensayos aquí realizados se utilizaron como alimentación las vinazas procedentes de la destilación del jugo de caña (excepto en el análisis de los diferentes vertidos), la cual contenía una elevada cantidad de material orgánico. Dichas vinazas suponen un medio complejo, de composición no completamente conocida y que aporta todos los micro y macronutrientes necesarios para el desarrollo de la flora anaerobia. Así, las diversas concentraciones y tipos de alimentación seleccionados en todo el conjunto de ensayos son "nutritivamente" completas.

Las vinazas empleadas fueron recolectadas en la planta destiladora "La Aurora" ubicada en el municipio de Actopan, en el estado de Veracruz, ubicada a 35 km de Xalapa, que fue donde se hizo la experimentación. La empresa utiliza generalmente jugo natural de caña para producir el alcohol; sin embargo, por producirse la caña de manera estacional a veces se emplea jugo cristalizado.

El vertido empelado se caracterizó de la misma manera como lo proponen Beltrán y colaboradores (1999) para los parámetros como la densidad, viscosidad y nitrógeno. Y aun cuando el fluido contaminante fue analizado el mismo día en que se recolectó para evitar cambios estructurales, se pudo verificar en el análisis que las propiedades físicas y químicas del sustrato cambian de acuerdo a como lo hacen los insumos empleados. Por esto, se planeó la caracterización de siete muestras de vinazas para obtener así valores parametrizados del efluente.

La densidad de las vinazas se determinó empleando el método picnométrico, para lo cual se empleó un picnómetro para líquidos de forma cónica marca Brand modelo 434-28 de 50 ml de capacidad y termómetro ajustado con escala en vidrio opal y un campo de medición de 10 a 250° C. Para la cuantificación de este parámetro, se lavó, secó y pesó todo el material utilizado antes de cada medición, posteriormente se llenó con vinazas el picnómetro hasta el aforo y se pesó en una balanza analítica marca Denver modelo AA 160 que maneja una precisión de  $\pm 0.0001$  gramos obteniéndose con este proceso un valor promediado de todas las muestras.

---

La viscosidad fue determinada mediante un viscosímetro de caída de bola tipo Hoepler de la marca Haake modelo B/BH dotado de un sistema de calentamiento de vidrio el cual tiene una sensibilidad y reproducibilidad del 0.2%. Para la cuantificación de este parámetro se empleó el principio de viscosimetría rotacional, el cual mide la viscosidad captando el par de torsión obtenido al realizar la caída de una bola metálica en un espacio conocido y a velocidad constante en la muestra del fluido, con esto y las curvas de referencia que proporciona el fabricante es sencillo estimar dicho parámetro.

Para los demás parámetros analizados en este proyecto se emplearon las técnicas analíticas propuestas por la normatividad vigente tal y como se describe a continuación.

#### **4.6 Técnicas analíticas utilizadas**

Las técnicas analíticas utilizadas en el desarrollo experimental de este proyecto, se pueden dividir en tres grandes bloques:

- 1) Seguimiento de los parámetros del proceso de degradación.
- 2) Modificación en las condiciones de operación.
- 3) Técnicas de caracterización de los diversos soportes.

##### **4.6.1 Seguimiento de los parámetros de degradación**

Las muestras analizadas para el seguimiento de los ensayos de degradación anaerobia se pueden agrupar en dos grandes partes:

- 1) Alimentación y efluentes.
- 2) Biogás.

Los parámetros determinados sobre las alimentaciones y efluentes fueron:

- pH
- Demanda química de oxígeno (DQO) en gr de O<sub>2</sub>/lt
- Sólidos totales en suspensión (STS) en gr/lt
- Sólidos volátiles en suspensión (SVS) en gr/lt

---

Mientras que las variables cuantificadas sobre el biogás fueron:

- Volumen de biogás generado en el proceso (ml)
- Composición del biogás (porcentaje en volumen %)

La determinación potenciométrica del pH, se realizó en todas las alimentaciones, previamente a su entrada al digestor y en los efluentes inmediatamente después de las tomas de muestra programadas. Para medir el pH se utilizó un pH-metro modelo MicropH 2001 marca Crison de alta resolución portátil. Dicho equipo posee un sistema de calibración automático el cual se ajustó a las soluciones tampón de pH 9.26; 7.02; 4.00 y 2.00. La evaluación de este parámetro se efectuó siguiendo lo establecido en la norma oficial mexicana NMX-AA-008-SCFI-2000 propuesta por la SEMARNAT.

Por otro lado, la literatura reporta que la disminución en la demanda química de oxígeno (DQO) es una medida directa de la degradación de la materia orgánica en todo sistema anaerobio (Grady *et al.*, 1999). Por esto, para los sistemas digestivos resulta de vital importancia cuantificar constantemente su valor. En este proyecto, la evaluación de este parámetro se realizó mediante la digestión de la muestra a reflujo cerrado con dicromato de potasio de acuerdo a como lo marca la norma oficial mexicana NMX-AA-030-SCFI-2001 editada por la SEMARNAT.

Los sólidos en suspensión determinados en todos los experimentos se pueden clasificar en tres categorías: sólidos totales en suspensión (STS); sólidos volátiles en suspensión (SVS) y finalmente los sólidos no volátiles en suspensión (SNVS). Los cuales requieren de técnicas analíticas ligeramente diferentes para su cuantificación.

Los STS se determinaron sobre las muestras extraídas del proceso. La determinación se llevó a cabo mediante la filtración al vacío de las muestras, empleando membrana marca Per-Filter modelo 609 de filtración lenta. Una vez concluido el proceso de filtración, se llevaron a sequedad en una mufla marca LabTec modelo F-6020C con un rango de temperatura de 50 a 1200° C con uniformidad de  $\pm 2.2^\circ$  C y una estabilidad de  $\pm 0.2^\circ$  C. Las muestras se colocaron 110° C durante 24 horas hasta tener un peso seco constante, determinándose posteriormente el contenido

---

de sólidos por gravimetría en una balanza analítica marca Denver modelo AA 160 que maneja una precisión de  $\pm 0.0001$  g. Los resultados se expresan en gramos de sólidos en suspensión por litro de muestra evaporada (g/l).

Los SVS, se determinaron también por gravimetría a partir de la membrana desecada del proceso anterior. Dicha membrana se calcinó en un horno marca Lab-Line modelo 3471, con dos termostatos hidráulicos independientes para control de temperatura, la lectura se realizó a través de un termómetro de mercurio que se instaló en la superficie. La temperatura de calcinación fue de  $550^{\circ}$  C hasta obtener un peso constante (aproximadamente 2 horas). Los resultados se expresaron en gramos de sólidos volátiles por cada litro de muestra filtrada (g/l). En todas las determinaciones se siguió lo sugerido por la norma oficial NMX-AA-034 expedida por la SEMARNAT.

Para la cuantificación de la composición del biogás se tomaron muestras aleatorias de 100 ml del producto mediante ampollas al vacío conectadas al gasómetro y llevadas a un cromatógrafo de gases. En todas las muestras analizadas se determinaron los porcentajes de hidrógeno, nitrógeno, dióxido de carbono y metano.

El cromatógrafo utilizado fue de marca Konik 2000, serie C y el integrador Merck Hitachi, modelo 2500. En cada determinación se inyectaba una muestra correspondiente a 1 ml. Antes de cada evaluación se hacían pasar entre 50-60 ml de muestra para la limpieza del sistema. La calibración del equipo se realizó mediante un gas patrón de composición conocida de  $H_2$ ,  $N_2$ ,  $CO_2$ , y  $CH_4$ . El oxígeno se calibró a partir de muestras de aire.

La determinación del volumen de biogás generado por el sistema, se realizó mediante el empleo de una probeta invertida marca Kimax de 1000 ml llena de agua que funcionó como gasómetro, en la cual se asume que el volumen desplazado del líquido fue igual al volumen de biogás formado por la reacción biológica a condiciones normales de presión y temperatura.



---

#### **4.6.2 Modificación en las condiciones de operación**

Debido a las diferencias mostradas en los resultados físico-químicos obtenidos para las diversas muestras de vinazas, se propuso como una primera manipulación en las condiciones de operación, analizar los cambios biocinéticos generados cuando se emplean dos tipos diferentes de vinazas; por un lado las que se obtienen al destilar el jugo natural caña y por el otro las desechadas al destilar el jugo cristalizado.

Las corridas se hicieron alimentando los digestores con tres concentraciones de vertido, procurando no inactivar a la colonia microbiana, estas fueron a 5, 10 y 15% en volumen durante un periodo de 20 días. Además, se propuso alimentar a los digestores cada 24, 48 y 72 horas respectivamente. Esto con la finalidad de analizar la actividad microbiana del consorcio ante las diferentes perturbaciones en las características de la alimentación, comprobando así la capacidad buffer que puede lograr el medio.

Los tres valores propuestos en los ensayos para el cambio en el pH con los que se alimentó el digestor fueron de: 3.6; 5.5 y 7.0. Se maneja que uno de los valores fuera 3.6 ya que coincide exactamente con el valor más bajo encontrado para esta variable en el muestreo al coleccionar el vertido.

Para analizar el impacto que tiene la temperatura sobre la actividad microbiana del consorcio manejado y evitar así la desnaturalización térmica del consorcio, en este proyecto se manejaron tres temperaturas diferentes. Así, debido a que el crecimiento de la biomasa resultó ser favorable a 25° C se propone manejar en los bioensayos las siguientes temperaturas experimentales a 30, 35 y 40° C. Esto con la finalidad de analizar el efecto que dicha variable tiene sobre la cinética química del proceso.

Las investigaciones hechas por Papoutsakis y Cherry reportan el daño causado a los flóculos microbianos por la agitación en exceso para varios sistemas biológicos; y en los manuscritos ofrecidos por Croughan se analiza la respuesta del crecimiento bacteriano con dos niveles de mezclado. Ambas investigaciones coinciden en afirmar que la actividad biológica decayó drásticamente al incrementar la agitación (Menisher *et al.*, 2000).

---

Por otro lado, gracias a las investigaciones hechas por Rodrigues y colaboradores (2004), donde se sugiere un valor óptimo en la agitación de 50 rpm, cuando se emplean reactores anaerobios tipo batch. En este proyecto se propone analizar varias velocidades de mezclado, estas fueron a 0, 65 y 200 rpm. Todas estas agitaciones se realizaron con el mismo tipo de agitadores magnético el cual tenía forma hexagonal de 2.5 cm de largo y 0.5 cm de diámetro con un peso aproximado de 10 gramos marca Colé Palmer modelo C10, para evitar cualquier influencia por cambio de forma o tamaño de propulsor.

Finalmente, se propone analizar 5 diferentes concentraciones de inóculo libre para comprobar con esto la capacidad del consorcio a la falta de sustrato. Las concentraciones propuestas en volumen de biomasa fueron: 10, 30, 50, 70 y 90%. En este caso todos los porcentajes programados se ajustaron a 1 litro en volumen total de mezcla de reacción.

#### ***4.6.3 Técnicas de caracterización de diversos soportes***

Debido a que en numerosas ocasiones se ha demostrado experimentalmente que un digestor con soporte microbiano es más eficiente que uno que trabaja con células libres; en este proyecto se planteó la necesidad de manejar diversos tipos de sólidos como matriz para la adhesión microbiana (Ahring, 2003). Aquí se emplearon cinco diferentes tipos de soportes para llevar a cabo la colonización microbiana, los cuales fueron: a) carbón activado vegetal, b) zeolitas natural (antracita), c) albúmina, d) perlas de vidrio y e) catalizador inactivo de estaño; todos los materiales fueron de la marca Nalco, excepto los catalizadores de estaño que fueron donados por PEMEX de su planta de Salina Cruz Oax.

Las características físicas de los diversos sólidos empleados como soportes fueron proporcionadas por el fabricante y son resumidas en la tabla 4.1. Ahí se puede observar la enorme diferencia que existió en parámetros como la porosidad, esfericidad y tamaño de partícula.

**Tabla 4.1** Características físicas de los soportes microbianos

Variable	Soporte	Carbón activado	Zeolitas	Albúmina	Perlas de vidrio	Catalizar de estaño
Diámetro de partícula (mm)		2.5	2.5	4.0	1.5	3.3
Densidad (gr/cm <sup>3</sup> )		793	987	876	1,832	1,265
Área superficial (m <sup>2</sup> /gr)		0.40	0.45	0.28	0.15	0.45
Volumen de Poros (%)		55-60	60-73	40-48	20-25	55-65
Esfericidad (%)		57	54	68	90	45

En todos los casos anteriores, los sólidos se añadieron al sistema después de haber sido lavados con una mezcla de jabón y cloro (70% y 30% respectivamente) para asegurar que no existiera ninguna clase de organismo previamente adherido a las superficies sólidas; posteriormente fueron secados en una mufla marca LabTec modelo F-6020C con un rango de temperatura de 50 a 1200° C con uniformidad de  $\pm 2.2^\circ$  C y una estabilidad de  $\pm 0.2^\circ$  C, por un tiempo de 30 minutos a una temperatura de 150° C. En estas circunstancias todos los sólidos mostraron peso seco constante y características físicas uniformes en tamaño y forma. La cantidad de material introducido de matriz sólida en cada digestor fue de 200 gramos por cada litro de mezcla reactiva.

---

## ***Capítulo IV***

### ***Resultados y discusiones***

---

---

# **5.0. Análisis de resultados y discusiones**

## **5.1 Introducción**

Para disminuir los graves problemas de contaminación en los cuerpos acuíferos, se han establecido diversas estrategias en las cuales se hace uso principalmente de sistemas biotecnológicos, con la única finalidad de alcanzar la meta de cumplir con las normas ecológicas vigentes en lo que a efluentes líquidos se refiere.

Estudios anteriores en el campo de la depuración biológica han demostrado que los procesos utilizados en la bioremediación de vinazas de jugo de caña, pueden ser utilizados igualmente en el tratamiento de los restantes tipos de vinazas, sin más que incorporar algún tipo de tratamiento físico-químico simple (Pérez, 1995).

Desde 1986 se planteó en México un proyecto de investigación multidisciplinario y multi-institucional que contempló el tratamiento de los efluentes líquidos de un ingenio azucarero, empleando como contaminante líquido las aguas residuales generadas en las torres de destilación de alcohol. Los sistemas usados fueron tanto anaerobios como aerobios (Campos *et al.*, 1995).

Durante varios años se ha buscado solucionar el problema de las vinazas, tratando de eliminar o atenuar sus efectos contaminantes sobre las aguas de los ríos. Para ello se han utilizado tratamientos químicos basados en la conversión de las sales solubles y las sustancias orgánicas en sales insolubles de calcio para separarlas por precipitación, obteniéndose hasta una remoción del 50% de la DBO.

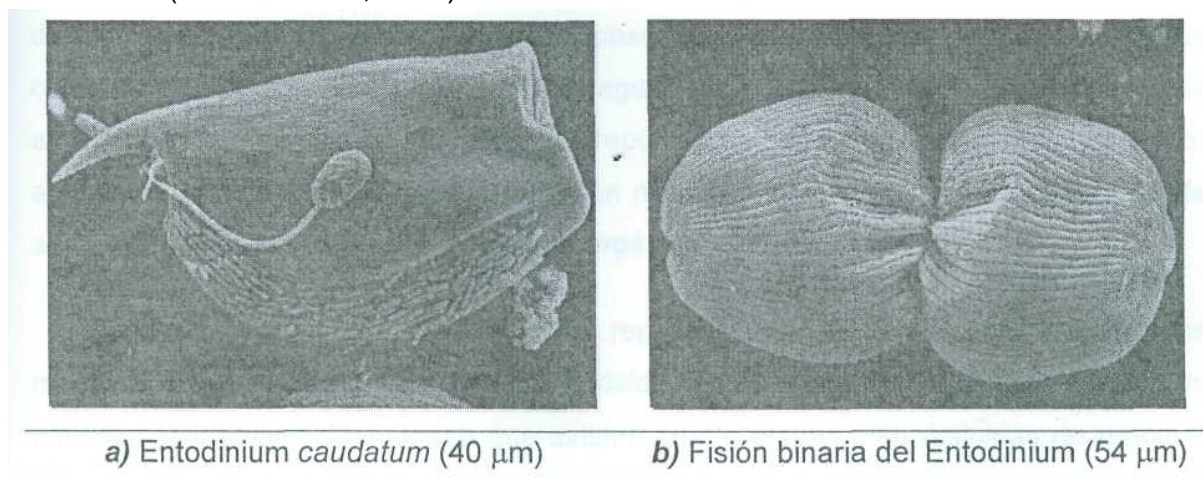
Como una alternativa a la problemática anterior, en este proyecto se propone emplear un consorcio microbiano de procedencia animal, como el que existe en el fluido ruminal vacuno con la finalidad de atenuar el impacto ambiental que se genera al verter a los mantos acuíferos las vinazas producidas por las industrias alcoholeras.

## 5.2 Arranque del equipo de inoculación

Se sabe que las bacterias constituyen más de la mitad de la biomasa en el rumen y son responsables de la actividad metabólica. Los hongos representan hasta el 8% de la biomasa intraruminal y se ubican en la ingesta de lento movimiento, evitando su rápido lavado, contribuyendo a la digestión de forrajes en los animales (Atkinson, 1995).

Los protozoos son los organismos en mayor cantidad dentro del rumen, su proporción en la biomasa por lo general está entre 20 - 40%, pero su contribución es menor en los sistemas de fermentación por sus altos tiempos de retención y la menor actividad metabólica. Por otro lado, las bacterias presentes en estos sistemas son predominantemente anaerobias estrictas, aunque también coexisten con anaerobias facultativas que se encuentran adheridas a las paredes del rumen y que son importantes por su capacidad de fermentar la celulosa.

Muchas de las bacterias del rumen son altamente especializadas, ya que poseen numerosos requerimientos nutricionales que les deben ser aportados por el sistema. Otras por el contrario, emplean pocas fuentes de energía y otro grupo son más inconstantes en el requerimiento de energía. Así, cuando dos o más microorganismos combinan sus capacidades metabólicas para degradar una sustancia que no puede ser catabolizada en forma individual, se llega al concepto de sintrofía. La figura 5.1, muestra a uno de los protozoarios frecuentemente reportado en la literatura microbiana anaerobia (Whitford *et al.*, 2001).



**Figura 5.1** Microscopía electrónica de los organismos del fluido ruminal

Aun cuando es muy complejo describir por completo las diversas especies presentes en el fluido ruminal porque son millones; mediante la microscopía electrónica se pueden visualizar algunos de los organismos de mayor tamaño. En la figura 5.1.a, se puede ver a *Entodinium caudatum* que es un microbio recurrentemente encontrado en el estómago de las vacas y otros rumiantes. Se asume que las criaturas que se observan a un costado del protozooario son esporas fúngicas, y que los pequeños cilindros de la parte inferior son bacterias. En 5.1 .b, se muestra la "fisión binaria", que es el mecanismo de reproducción empleado por estos organismos para subsistir.

En el rumen existen grupos sintróficos relacionados para la degradación de las fibras, las cuales incluyen a los celulolíticos, hemicelulolíticos y los microorganismos que los suceden, como las bacterias metanogénicas. En la tabla 5.1, se puede observar como los análisis realizados al inculo aquí empleado muestran en promedio características semejantes a las reportadas en la literatura cuando se emplea detrito (estiércol) de vaca (Pérez *et al.*, 2006):

*Tabla 5.1* Características promedio del fluido ruminal vacuno

Fluido Ruminal	Sólidos Totales (ST) (g/kg)	Sólidos Volátiles Totales (SVT) (g/kg)	Relación SVT/ST	AME (gDQO/gSVT*d)
Experimental	150.3	119.4	0.794	-----
Reportado	155.6	117.1	0.752	0.15-0.01

Si se considera que la relación SVT/ST es una medida indirecta de la presencia de biomasa activa en el proceso; este consorcio presenta la potencialidad necesaria como para emplearlo en el tratamiento de aguas (Von Sperling, 1997). Los índices de la actividad metanogénica elevada (AME) reportados, permiten asumir un nivel buffer adecuado; lo cual sugiere que la población microbiana tiene una buena capacidad de adaptación a los sustratos con alta carga orgánica.

Gavala y colaboradores (2003), reportan que existen varios mecanismos mediante los cuales se puede describir la oxidación de la materia orgánica mediante un consorcio microbiano. Mencionan que existen cuatro etapas bien definidas de reacción de acuerdo con los microorganismos presentes en el sistema, dándole a la etapa

metanogénesis la mayor relevancia por ser la más prolongada en el tiempo y donde ocurren los cambios más notables de transformación. La tabla 5.2, muestra la evolución temporal de la generación de biogás en el sistema. Esta misma evolución se presenta gráficamente en la figura 5.2, la cual sugiere la existencia de varios tipos de microorganismos presentes en el transcurso de la reacción.

**Tabla 5.2** Volumen de biogás generado con el tiempo por el fluido ruminal

Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)	Temperatura (°C)	pH	Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)	Temperatura (°C)	pH
0	0	25	5.5	32	15	25	7
1	13	27	5.5	33	15	24	7
2	15	27	5.5	34	23	25	7
3	20	27	5.5	35	120	26	7
4	20	27	5.5	36	155	25	7
5	23	27	5.5	37	120	25	7
6	25	27	5.5	38	65	27	7
7	25	26	6	39	53	25	7
8	27	25	6	40	38	24	7
9	27	25	6	41	40	25	7
10	17	24	6	42	46	26	7
11	23	26.5	6	43	50	26	7
12	29	27	6	44	69	27	7
13	30	27	6	45	65	27	7
14	28	26	6	46	60	27	7
15	25	26	6	47	50	27	7
16	23	26	6	48	41	26	7
17	22	25	6	49	30	26	7
18	20	26	6	50	28	24	7
19	20	26	6	51	13	24	7
20	17	26	6	52	20	24	7
21	20	25	6	53	33	24	7
22	25	27	6	54	33	25	7
23	52	26	6	55	45	25	7
24	58	27	6	56	45	27	7
25	65	26	6	57	60	26	7
26	80	24	6	58	60	27	7
27	60	24	7	59	65	27	7
28	50	24	7	60	45	24	7
29	62	25	7	61	30	27	7
30	40	24	7	62	22	26	7



En los ensayos aquí realizados, el volumen de biogás se ve incrementado notablemente en la fase acetogénica; sin embargo, es en la metanogénesis donde el volumen obtenido llegó a incrementarse hasta un 48.38% más que la fase anterior. Este comportamiento concuerda con lo obtenido por Gavala y colaboradores (2003).

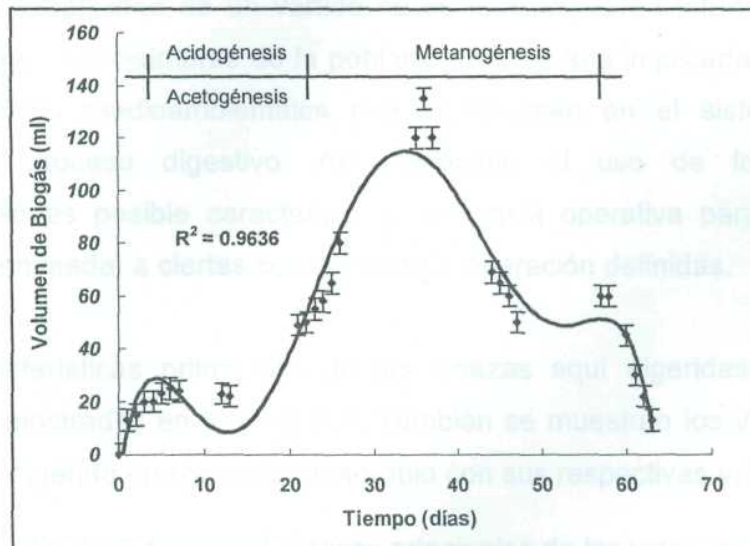


Figura 5.2 Volumen de biogás generado con el tiempo por el fluido ruminal.

Debido a que los alcances de este estudio no contemplaron el seguimiento permanente de las concentraciones del biogás. En la tabla 5.3, se muestran los valores promedio, obtenidos para diez corridas cromatográficas realizadas a lo largo del periodo experimental. Los resultados se expresan como porcentaje del componente en el biogás y los diferentes tiempos de retención (TRH) de cada elemento.

Tabla 5.3 Concentración y tiempos de retención de los gases analizados

Componente	Concentración (%)	Tiempo de Retención (min)
Hidrógeno	4.65	1.12
Oxígeno	No incluido	3.94
Nitrógeno	5.33	4.25
Metano	69.92	10.31
Dióxido de Carbono	20.1	15.14

Con estos resultados, se propuso iniciar la reacción fermentativa del vertido contaminante después del día 21 ya que como se puede observar en la gráfica anterior

es ahí donde se inicia el crecimiento de los microorganismos metanogénicos, con los cuales se pretende realizar la digestión en este proyecto.

### 5.3 Determinación de la biodegradabilidad de la alimentación

La biodegradabilidad de un vertido no es una propiedad intrínseca del mismo, sino que depende esencialmente de la población microbiana implicada en el proceso y de las condiciones medioambientales que prevalezcan en el sistema durante el transcurso del proceso digestivo. Así, mediante el uso de los estudios de biodegradabilidad es posible caracterizar la eficiencia operativa para una población microbiana determinada, a ciertas condiciones de operación definidas.

Las *características principales* de las vinazas aquí digeridas, junto con sus promedios son mostradas en la tabla 5.4. También se muestran los valores obtenidos para la muestra digerida en el reactor anaerobio con sus respectivas varianzas.

**Tabla 5.4** Características principales de las vinazas.

Parámetro	Unidades	Intervalo	Promedio	Digerida
pH	-----	3.5 - 5.5	4.75	3.6 (0.02)
Densidad	(gr/cm <sup>3</sup> )	0.97-0.985	0.977	0.97 (0.01)
Viscosidad	(gr/cm hr)	17978-18075	18026.5	18050 (0.016)
Temperatura	(°C)	82.5-86.5	84.5	86.3 (0.10)
DQO	(g/l)	12.2 - 63.5	49.35	59.2 (0.12)
DBO <sub>5</sub>	(g/l)	1.21 - 12.8	7.005	8.43 (0.04)
Sólidos tales	(g/l)	15.54 - 42.3	28.92	25.87 (0.09)
Sólidos volátiles	(g/l)	1.234 - 3.82	2.527	2.33 (0.02)
Fósforo total	(mg/l)	16.6-65.7	41.15	52.35 (0.11)
Nitrógeno (Kjeldhal)	(mg/l)	21.3-64.0	42.65	35 (0.09)
Fenoles*	-----	2.80-20.0	11.4	9.87 (0.05)
Materia orgánica* (%)	(%)	94.9-95.9	95.4	-----

\*Valores reportados por Pérez (1995)

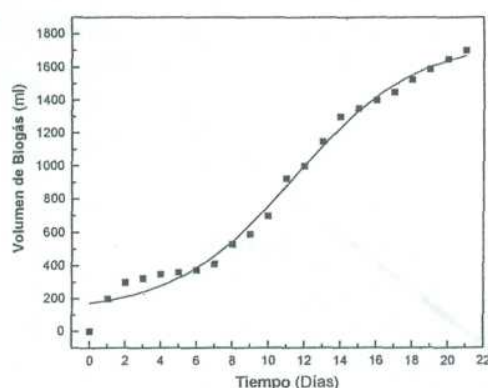
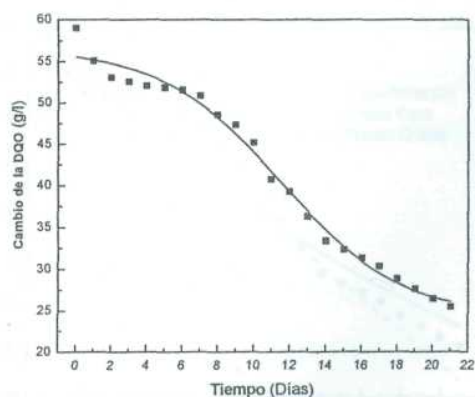
Con el fin de determinar la biodegradabilidad de las vinazas empleadas en el desarrollo experimental del presente estudio, se realizaron ensayos de degradación anaerobia en régimen discontinuo y condiciones mesofílicas (25° C), empleando para ello el inóculo bacteriano disponible de la sección anterior. En este estudio, se propuso analizar como primer punto la factibilidad del fluido ruminal metanogénico en los procesos de depuración de vertidos, la degradación del efluente se efectúa una vez obtenidas las condiciones especificadas para el inóculo.

La biodegradación se cuantificó mediante el cambio en la DQO, el volumen de biogás generado y los sólidos. Dichos resultados se pueden observar en la tabla 5.5 y en las figuras 5.3 y 5.4. En estas condiciones la variaciones del pH, STS y SVS no presentaron cambios importantes por lo cual no se graficaron.

**Tabla 5.5** Evaluación de los parámetros del proceso de biodegradación

Tiempo (días)	Cambio en la DQO (g/l)	Volumen de Biogás (ml)	STS (g/l)	SVS (g/l)
0	59	0	5.08	4.46
1	55.1	200	5.16	4.54
2	53.1	300	6.42	5.24
3	52.6	325	6.30	4.78
4	52.1	350	4.52	3.26
5	51.9	360	5.62	4.54
6	51.6	375	6.00	4.74
7	50.9	410	5.98	4.56
8	48.6	530	5.72	4.54
9	47.4	590	6.06	4.78
10	45.2	700	5.66	4.28
11	40.8	925	5.20	4.04
12	39.3	1000	5.68	4.14
13	36.3	1150	5.76	4.32
14	33.4	1300	5.68	4.36
15	32.4	1350	5.58	4.24
16	31.4	1400	6.08	4.62
17	30.4	1450	5.84	4.50
18	28.9	1525	6.04	3.90
19	27.7	1590	5.66	4.32
20	26.5	1650	5.32	4.02

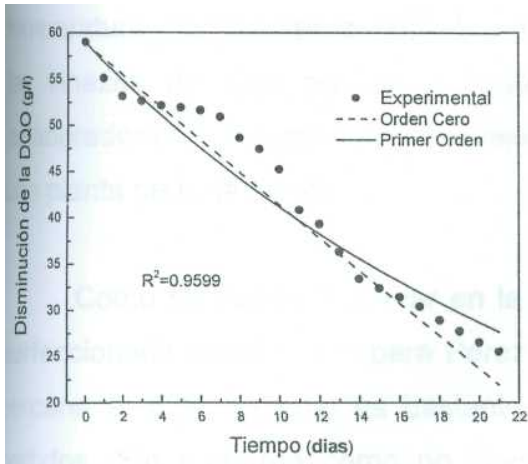
Como se observa en la figura 5.3, el cambio total en la DQO fue del 56.77% en 21 días de análisis. Es interesante comprobar que el sistema presentó un periodo entre los días 8-11 de ensayo, donde los cambios en este parámetro fueron importantes, destacándose el día 11, ya que es ahí donde se obtuvo 7.45%. Esta disminución se obtuvo también en las primeras 24 horas de digestión (6.6%), lo cual sugiere una buena afinidad del inoculo por el sustrato.



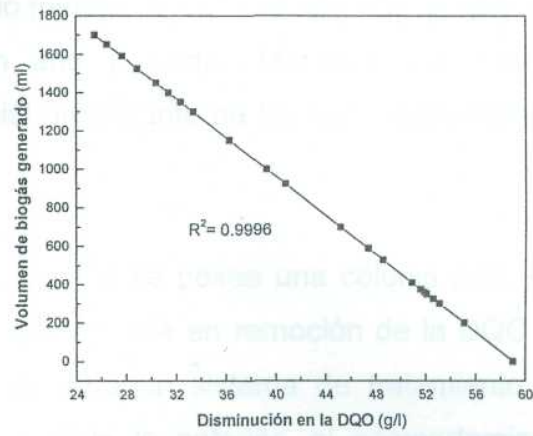
**Figura 5.3** Cambio de DQO en el tiempo **Figura 5.4** Producción de gas en el tiempo

Por otro lado, el comportamiento en la generación de biogás se muestra en la figura 5.4. Para evitar la presurización del sistema el biogás generado fue medido y extraído constantemente. No debe sorprender el hecho de que el mayor volumen de gas generado se presentó exactamente los mismos días importantes en los cambios de la DQO, es decir los días 1 y 11. En las primeras 24 horas se generaron 200 ml de gas mientras que el día 11 aportó 225 ml más material que la medición anterior. Al final, la cantidad generada fue de 19,180 ml. Es importante aclarar que, aun cuando se asume que la composición del biogás cambie con el tiempo debido a las poblaciones presentes del inoculo y a la inclusión de la vinaza; los alcances de este estudio no permitieron realizar un análisis cromatográfico diario del biogás generado.

La cinética mostrada por la biorreacción en la figura 5.5 fue de primer orden con un valor para la constante de reacción igual a  $0.036 \text{ días}^{-1}$  con un factor de ajuste de  $R^2 = 0.9599$ . Lo cual se aproxima razonablemente bien a lo reportado por Gossett y Belser quienes obtienen un valor para la misma constante pero con un sistema de lodos activados de  $0.022 \text{ días}^{-1}$  a  $35^\circ \text{ C}$  en condiciones anaeróbicas (Grady *et al.*, 1999).



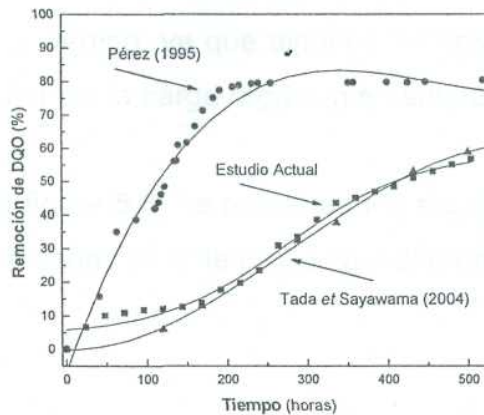
**Figura 5.5** Orden cinético de la reacción



**Figura 5.6** Relación entre la DQO y el gas

La figura 5.6 muestra la relación existente entre la disminución en la DQO y el biogás generado, la cual sugiere que por cada gramo de DQO disminuido se generan en promedio 971.2 ml de biogás constantemente. Este dato es muy importante ya que con él, se pueden evitar las evaluaciones periódicas de la DQO e inferir su valor mediante el volumen de gas. Así, aun cuando este valor sirvió para las mediciones posteriores, fue verificado por lo menos tres veces en cada ensayo para darle validez a todos los datos experimentales.

En la figura 5.7 se hace la comparación de los resultados obtenidos para la remoción de la DQO de este proyecto, con lo reportado en la literatura para el mismo proceso de degradación de vinazas (Pérez, 1995; Tara et Sayawama, 2004).



**Figura 5.7** Comparación de los datos experimentales con la literatura

---

Ambas investigaciones realizaron sus ensayos en el rango termófilo de temperatura (55° C); Pérez empleó un consorcio metanogénico previamente adaptado a las vinazas de vino por un periodo de un año y medio. Mientras que Tara y colaboradores, emplearon un complejo microbial procedente de los lodos activados de una planta de tratamiento.

Como se puede observar en la gráfica, cuando se posee una colonia biológica perfeccionada como lo fue para Pérez (1995) la eficiencia en remoción de la DQO es cercana al 82%, la cual es bastante aceptable para un sistema de tratamiento de vertidos. Sin embargo como no siempre es posible lo anterior, el comportamiento mostrado por otras opciones son analizadas; así se estudió la población presente en los lodos activados provenientes de una planta de tratamiento de desechos de una granja de Kyoto (Tara *et* Sayawama, 2004). Los resultados mostrados por este último consorcio son muy semejantes a los obtenidos por el fluido ruminal empleado en este estudio, solo que a una temperatura de operación menor. La comparación anterior sugiere que, emplear fluido ruminal en la depuración de vinazas tiene muy buenas perspectivas como para utilizado en las estaciones depuradoras de vinazas de la industria alcoholera como ecología no nativa.

#### **5.4 Influencia de la naturaleza y concentración del vertido**

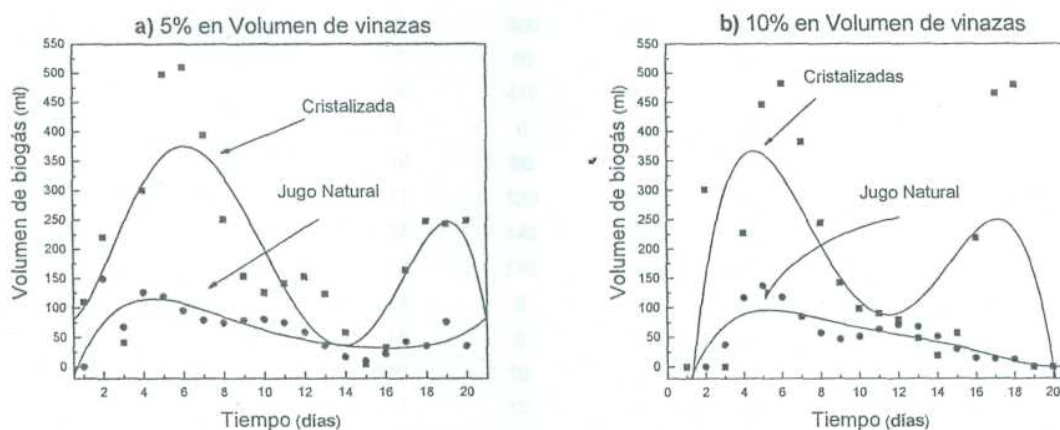
Es aconsejable tomar en cuenta la naturaleza y la concentración del vertido residual a ser tratado, ya que tienen un fuerte impacto sobre el desempeño del proceso anaerobio. Se recomienda estimar la cantidad de materia orgánica soluble y en suspensión que contiene el vertido, ya que algunos sistemas trabajan mejor cuando el efluente contiene principalmente la carga orgánica en suspensión.

En la tabla 5.6 y la figura 5.8, se muestran los resultados de obtenidos para las dos clases de vinazas empleadas en este proyecto a diferentes concentraciones.

**Tabla 5.6** Volumen de biogás con diferentes vinazas y concentraciones

Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)			
	5% en Vol. de Vinazas		10% en Vol. de Vinazas	
	Cristalizada	Jugo Natural	Cristalizada	Jugo Natural
1	110	0	0	0
2	220.5	149.4	301.1	0
3	41.2	67.1	0	37.6
4	300.8	126.6	227.7	116.4
5	497.7	118.9	445.2	136.6
6	510.3	95.2	481.9	117.3
7	394.1	78.9	382.1	84.2
8	250.3	75.0	244.2	57.3
9	153.7	78.3	142.2	46.6
10	125.9	80.3	98.0	51.2
11	141.0	74.2	89.4	62.8
12	152.1	58.1	79.0	70.8
13	123.6	35.9	47.9	67.3
14	58.1	16.5	19.3	51.3
15	4.1	10.0	56.3	29.8
16	31.7	21.4	219.1	14.6
17	163.4	41.4	465.4	13.2
18	246.8	34.7	479.3	12.5
19	243.2	75.8	0.0	0.0
20	248.0	35.0	0.0	0.0

Observe que las vinazas cristalizadas generaron mayor cantidad de biogás, lo que indica que la degradación fue más completa, aunque su comportamiento fue errático debido a las fluctuaciones mostradas en la generación de biogás.



**Figura 5.8** Generación de biogás a diferentes concentraciones y sustratos



Es probable que las diferencias biocinéticas entre ambos vertidos sean generadas por los elementos químicos añadidos a las vinazas para lograr su cristalización, ya que este es un proceso diseñado específicamente para que la materia orgánica en solución sea aglomerada para pasar a una suspensión. No obstante, esta hipótesis requiere de un estudio específico y profundo para su comprobación.

Finalmente, un aspecto importante a tomar en cuenta cuando alimenta a la destiladora es la parte económica, ya que ésta restringe el uso indiscriminado del jugo cristalizado ya que éste es más costoso que el jugo natural. Es así que, por las razones tanto económica como biocinéticas se propone emplear de aquí en adelante sólo las vinazas provenientes de la destilación del jugo natural.

La siguiente variación se presenta en la tabla 5.7 y en la figura 5.9, donde se puede observar el comportamiento que exhibió el consorcio cuando la concentración en la alimentación se modificó entre 5, 10 y 15%, a diferentes lapsos de tiempo.

**Tabla 5.7.** Volumen de biogás a diferentes tiempos de alimentación

Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)		
	24 Hrs.	48 Hrs.	72 Hrs.
1	176	0	0
2	250	475	0
3	250	50	350
4	630	1250	20
5	425	130	0
6	300	455	730
7	90	0	150
8	470	105	75
9	0	0	170
10	80	30	0
11	120	160	0
12	140	130	305
13	170	55	100
14	0	5	10
15	0	0	45
16	10	5	0
17	10	0	20
18	50	550	50
19	350	0	60
20	130	275	20



Como se puede observar, la manera de alimentar el vertido residual al fermentador ocasiona pulsaciones en la generación de biogás ya que se presentaron picos pronunciados los diferentes días de la alimentación. Bajo este criterio, la figura 5.9.a, parece mantener un comportamiento menos irregular que las dos opciones posteriores, lo cual puede reflejarse como mayor estabilidad en la fermentación. Por otro lado, la cantidad total de gas generado por este sistema fue de 3651 mi, resultando ser una de las cantidades más elevadas de gas durante el periodo de evaluación.

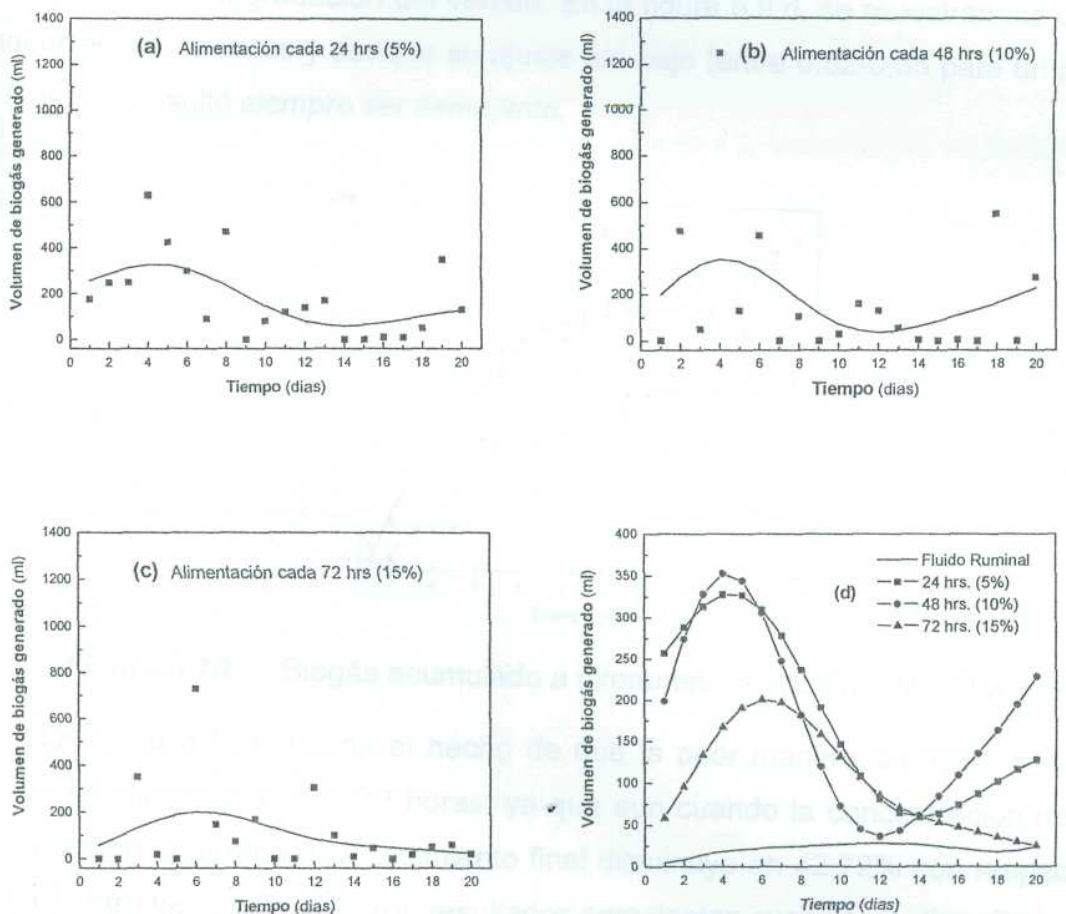
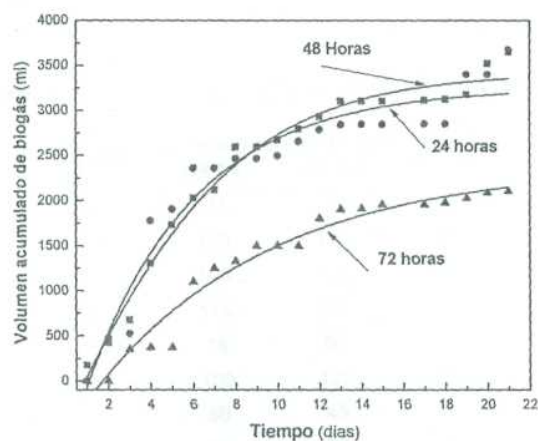


Figura 5.9 Biogás generado a diferentes tiempos de alimentación

La curva 5.9.b, muestra mayores variaciones en la cantidad de gas, llegando incluso a presentar la máxima cantidad para todos los digestores el día 4 de operación,

además fue el sistema que más produjo gas con un total de 3675 mi al final del periodo. Aquí también se muestran los resultados obtenidos para la fermentación natural del fluido ruminal, es decir solo con la materia orgánica que se le proporcionó al consorcio microbiano en el digestor que genera la biomasa. Por último la curva 5.9.C, resultó ser la peor manera de operar el biorreactor ya que la cantidad de gas que generó fue de apenas 2105 mi; más aun, al final de los 20 días de análisis se llegó a las mismas características que la fermentación natural del fluido ruminal (sin alimentación de vinazas), lo cual sugiere que en este tiempo ya no existía actividad microbiana favorable para la degradación del vertido. En la figura 5.9.d, se muestran las curvas de *tendencias de los datos* y aunque su ajuste fue bajo (entre 0.52-0.55 para un polinomio de 5 orden), resultó siempre ser semejante.



**Figura 5.10** Biogás acumulado a diferentes tiempos de alimentación

La figura 5.10 confirma el hecho de que la peor manera de trabajar para este digestor es alimentarlo cada 72 horas, ya que aun cuando la concentración de vertido fue la máxima analizada, su rendimiento final disminuyó en 42.72% con respecto a los otros. Por otro lado, se obtuvieron resultados semejantes cuando se alimenta cada 24 ó 48 horas al digestor (0.62% de diferencia), ya que ambos muestran tendencias parecidas de operación. Aunque obviamente, al analizar la concentración manejada resultó más favorable operarlo a la mayor de ellas (es decir 10%). De acuerdo con lo anterior, se puede sugerir que la manera óptima de trabajar este sistema sería

alimentar diariamente al reactor con una concentración máxima del 10% en volumen de vertido para no rebasar la capacidad de autorregulación del sistema biológico.

### 5.5 Influencia del pH del medio sobre la biodegradación

Como se sabe, en todo procedimiento bioquímico el pH tiene un impacto significativo en el desempeño de los digestores, con una disminución en la actividad biológica cuando las condiciones se alejan de un rango óptimo; así mientras más alejado está el proceso de dicho rango, menor es la actividad microbiana. En este caso, su efecto es particularmente importante debido a que la población metanogénica es el grupo más sensible dentro de una comunidad microbiana. Se han demostrado bajas eficiencias en la degradación de los procesos anaerobios a valores de pH menores 6.5 y mayores de 8.2 (Pérez, 1995). Los resultados obtenidos al variar el pH, se detallan en la tabla 5.8.

**Tabla 5.8** Generación de biogás a diferente pH y 5% en vol. de vinazas

Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)		
	pH 3.6	pH 5.5	pH 7.0
1	115	105	130
2	110	110	120
3	120	115	120
4	115	90	110
5	75	50	80
6	100	125	135
7	50	45	85
8	70	60	115
9	90	75	90
10	75	85	120
11	95	155	200
12	40	140	70
13	45	135	170
14	5	75	85
15	10	70	140
16	30	60	185
17	20	150	35
18	30	40	95
19	47.5	57.5	110
20	10.5	22.5	50

Atendiendo a lo sugerido por Angelidaki (1993) la figura 5.11, fue construida modificando el pH del contaminante mediante la adición de diferentes cantidades de

carbonato ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) con la finalidad de analizar el grado de inhibición que este parámetro ejerce sobre el sistema microbiano. Es importante mencionar que al incrementar la cantidad de carbonato, el color del vertido cambio a un café más intenso.

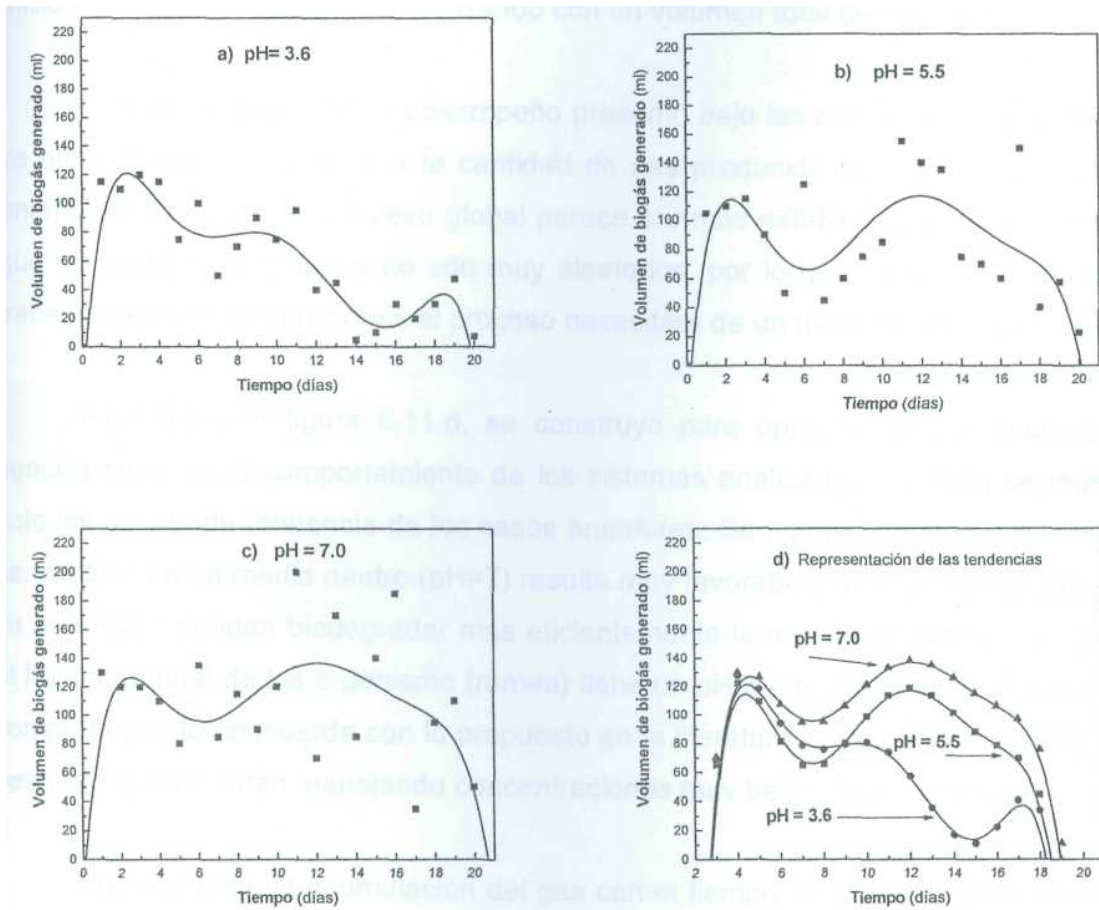


Figura 5.11 Evolución del gas con la variación en el pH al 5% de alimentación

Como se puede observar en la figura 5.11.a, su comportamiento cinético es muy aleatorio y con tendencia a decaer rápidamente. Se asume que el valor de pH está muy lejos de ser el óptimo ya que la etapa de mortandad microbiana parece tener fuerte influencia en el sistema, y aun cuando trata de resurgir después del día 15 esto no tiene mucho éxito ya que dejó de producir biogás a los 20 días exactamente, con una cantidad total igual a 3759 ml.

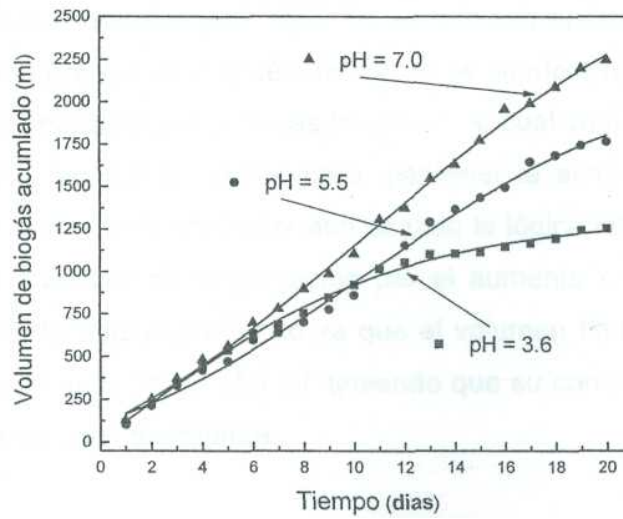
---

La figura 5.11 .b muestra una tendencia al decaimiento menos pronunciada que la anterior, sin embargo al final del periodo se llega al mismo resultado. Aquí se muestra un valor mínimo de producción para el día 7, aunque en este caso se reactiva el sistema nuevamente de manera considerable, llegando a valores como los obtenidos al inicio de la experimentación y finalizando con un volumen total de 5295 mi.

La cinética que mejor desempeño presentó bajo las condiciones propuestas se ve en la figura 5.11 .c, en ella la cantidad de gas producida fue superior a los casos anteriores (6735 mi). El proceso global parece ser más estable a través del tiempo ya que los cambios originados no son muy aleatorios, por lo que se puede inferir que al trabajar bajo estas condiciones el proceso necesitará de *un menor control de operación*.

Finalmente la figura 5.11 .d, se construyó para apreciar de una manera más sencilla cual fue el comportamiento de los sistemas analizados. En ésta se muestran solo las curvas de tendencia de los casos anteriores. Se puede comprobar que cuando se trabaja con un medio neutro (pH=7) resulta muy favorable para los microorganismos, ya que éstos pueden biodegradar más eficientemente la materia orgánica; aun cuando el habitat natural de los organismo (rumen) tiene un pH predominantemente ácido. Este comportamiento concuerda con lo propuesto en la literatura (Scenna *et al.*, 2002) aun a pesar de que se están manejando concentraciones muy bajas de alimentación.

*Por otro lado, la acumulación del gas con el tiempo se muestra gráficamente en la figura 5.12. Ahí se puede observar como el comportamiento es muy similar durante los primeros 8 días para todos los sistemas analizados. Sin embargo, posteriormente a este periodo la diferencia se hace notoria ya que mientras los últimos sistemas (5.5 y 7.0) presentan una tendencia lineal a continuar creciendo, el pH más bajo muestra una tendencia asintótica, lo cual sugiere que se llegó al estado estable. En estos ensayos se demuestra, que la eficiencia de trabajar con un sistema neutro es 44.18% mayor que a 3.6; mientras que la diferencia del mismo valor con el pH de 5.5, es tan solo de 21.38%.*



**Figura 5.12** Acumulación de biogás al variar el pH a 5% de alimentación

Ahora se propone incrementar nuevamente la concentración en la alimentación al 10%, para indagar como es que cambia la actividad microbológica. La respuesta a esta perturbación puede ser observada en la tabla 5.9 y en las figuras 5.13.

**Tabla 5.9** Generación de biogás a diferentes pH y 10% en vol. de vinazas

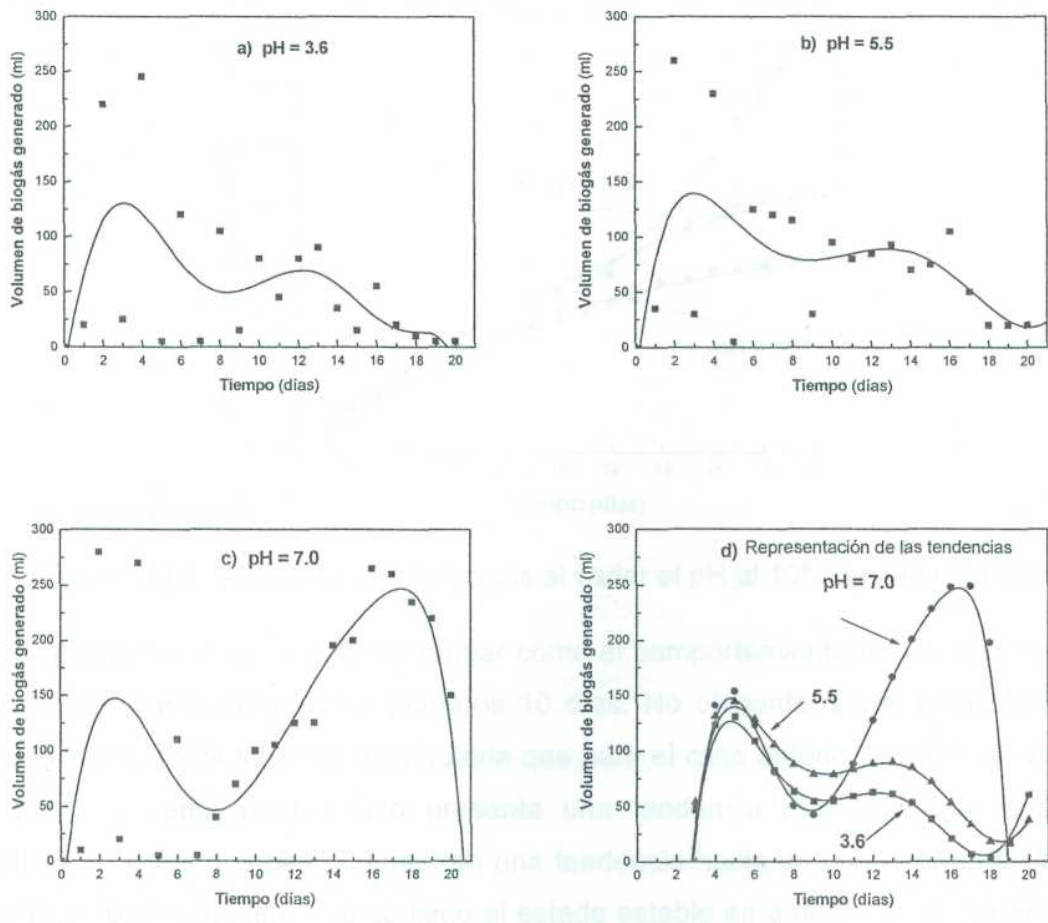
Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)		
	pH 3.6	pH 5.5	pH 7.0
1	20	35	10
2	220	260	280
3	25	30	20
4	245	230	270
5	5	5	5
6	120	125	110
7	5	120	5
8	105	115	40
9	15	30	70
10	80	95	100
11	45	80	105
12	80	85	125
13	90	93	125
14	35	70	195
15	15	75	200
16	55	105	265
17	20	50	260
18	10	20	235
19	5	20	220
20	5	20	150

---

Como se puede verificar en la figura 5.13.a, la influencia al decaimiento rápido mostrado por el sistema anterior (con 5%), se ve anulado en su mayor parte en este nuevo caso. Sin embargo, ahora después del día 15 se tiende a disminuir toda actividad microbiana. Su desempeño resultó ser más favorable, lo cual sugiere que la cantidad de material anterior (5%) no fue suficiente para mantener la actividad de los microbios existentes en el biorreactor. No obstante, aun cuando la lógica indicaba que se debería esperar una mayor cantidad de degradación por el aumento en la concentración de vinazas; esto no resultó totalmente cierto ya que el volumen final de gas para el caso del 10% en volumen disminuyó en 153 mi; teniendo que su comportamiento en general para ambos perfiles fue muy semejante.

El medio adaptado al pH de 5.5 (figura 5.13.b) continuó con su comportamiento anterior, incluso la cantidad total de biogás generado tiene valores muy similares siendo de 4989 mi al final. Dicho comportamiento hace suponer que cuando se trabaja en estas condiciones, la concentración de alimentación pierde influencia sobre el medio atenuado probablemente por la acidez existente.

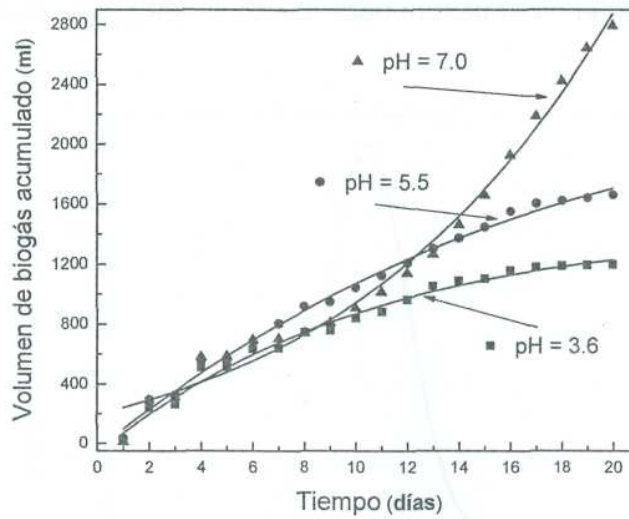
En la figura 5.13.c, se puede apreciar el excelente comportamiento mostrado por el consorcio a la modificación en la concentración de alimentación. Aquí se puede suponer que los tres sistemas se comportan de manera aproximadamente similar durante los primeros 8 días, pero luego se van separando apreciablemente dependiendo del pH manejado en el medio. Dicho proceder confirma nuevamente que el pH aquí manejado (neutralidad), se aproxima mucho más al óptimo que en los casos anteriores. En la literatura se asume que para los microorganismos metanogénicos dicho valor óptimo es de 7.2 (Scenna *et al.*, '2002).



**Figura 5.13** Evolución del biogás al variar el pH con 10% de alimentación

Por último, se tomaron todas las curvas de tendencia de los diferentes medios y se graficaron juntas en la figura 5.13.d. Ahí se puede observar como la tendencia de los dos primeros casos (3.6 y 5.5), es muy similar lo cual contrasta enormemente con los valores logrados por el medio trabajado en la neutralidad. Este mismo resultado confirma lo propuesto en estudios previos (Pérez, 1995), donde se demuestra que después de la primera semana de operación el sistema trabaja más eficientemente. La acumulación del gas con el tiempo se muestra gráficamente en la figura 5.14.





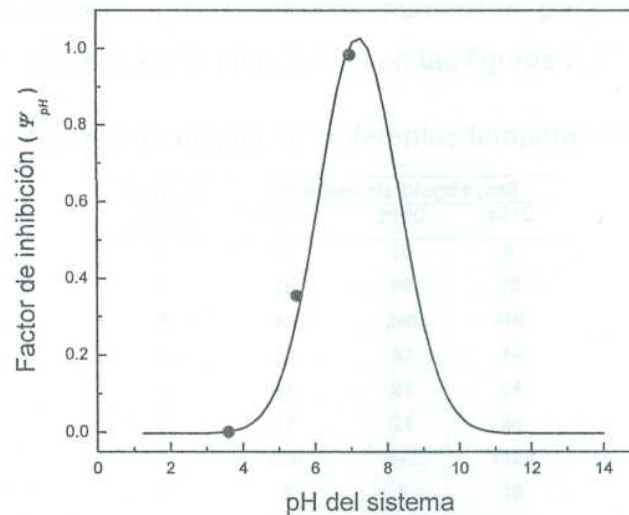
**Figura 5.14** Acumulación de biogás al variar el pH al 10% de alimentación

Nuevamente se puede comprobar como el comportamiento de los tres sistemas es muy semejante durante los primeros 10 días. No obstante, posteriormente a este periodo la diferencia se hace más notoria que para el caso anterior con 5% de vinazas; ya que el sistema neutralizado presenta una tendencia marcadamente creciente, mientras los otros dos casos muestran una tendencia hacia un punto de estabilización asintótico, lo cual sugiere que se llegó al estado estable en ambos casos. La eficiencia de trabajar con un sistema neutro es 56.98% mayor que a 3.6; mientras que la diferencia del mismo valor con el pH de 5.5, se hizo más grande llegando a ser al final de 40.39%. Todo lo anteriormente concurda favorablemente bien con lo reportado por Sánchez y colaboradores (2000).

Finalmente con el propósito de comparar el comportamiento obtenido por el sistema analizado con el factor de inhibición propuesto por Angelidaki y colaboradores (1993), se construyó la figura 5.15. Aquí los puntos mostrados son el promedio de las curvas presentadas anteriormente para los 3 valores sugeridos; en ella se puede observar como el pH resultó siempre estar muy próximo a lo propuesto en la literatura con un ajuste de  $R^2 = 0.986$ ; lo cual reconfirma la hipótesis de que se tienen trabajando

---

en su gran mayoría bacterias metanogénicas como principal consorcio, ya que son estas micropoblaciones las que mayor actividad muestran en la neutralidad.



*Figura 5.15* Comparación de los resultados experimentales con la teoría

Finalmente, como lo propone la literatura el cambio en el pH actuar como un inhibidor del proceso biológico ya que cuando éste no es el óptimo la cinética de reacción es menos eficiente. Este estudio, ha podido demostrar que cambiar en tres unidades el valor del pH origina incrementos de hasta el 50% en la eficiencia del biorreactor por lo cual se debe tener precaución al manejar este tipo de variable.

Se puede sugerir que la manera óptima de trabajar este sistema de reacción será alimentarlo con vinazas de jugo natural cada 24 horas, con una concentración máxima del 10% en volumen de vinazas para no rebasar la capacidad de autorregulación del sistema y a un pH preferentemente neutro. Todos los valores previamente obtenidos en los experimentos hasta aquí realizados, fueron establecidos para llevar a cabo los posteriores ensayos biocinéticos.

### **5.6 Efecto de la temperatura sobre la eficacia depurativa**

Aun cuando las micropoblaciones anaerobias pueden crecer en un amplio rango de temperaturas, en este estudio se ha realizado la digestión a tres valores diferentes

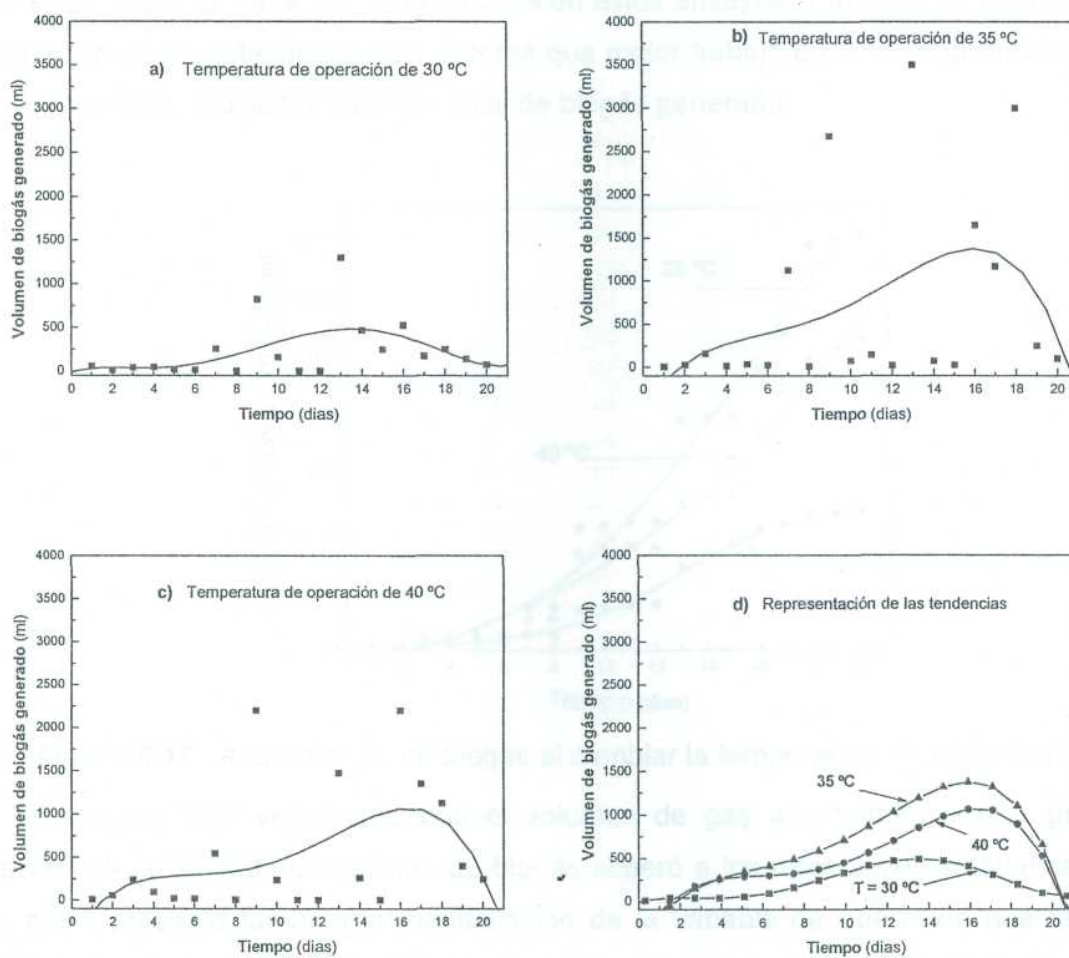
dentro del rango mesófilo. Como se sabe, ésta es una de las variables ambientales primordiales, ya que dicta los límites de viabilidad del proceso pues afecta a todos los microorganismos de manera diferente llegando incluso a lesionar la integridad celular de la población microbiana. Los resultados numéricos para esta nueva serie de ensayos, se pueden observar en la tabla 5.10 y en las figuras 5.16.

**Tabla 5.10** Volumen de biogás con diferentes temperaturas de operación

Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)		
	30 °C	35 °C	40 °C
1	56	10	6
2	12	56	28
3	40	240	160
4	48	97	14
5	18	21	34
6	17	21	24
7	259	547	1123
8	3	5	10
9	824	2200	2675
10	162	236	74
11	6	0	143
12	5	4	20
13	1300	1475	3500
14	470	260	70
15	250	0	24
16	530	2200	1650
17	175	1350	1170
18	250	1125	3000
19	140	400	250
20	75	250	100

En la curva 5.16.a, se puede observar que la actividad del consorcio a esta temperatura es detectada solo después del sexto día trabajo ya antes de esto, su generación de biogás no es importante. Por otro lado, la mayor producción se tuvo el día 13, después de una serie de ligeros incrementos; este comportamiento sugiere que los organismos no están trabajando a la temperatura óptima ya que es aleatorio su proceder. Este hecho es confirmado por el volumen total de gas generado ya que a esta temperatura se obtuvo la menor cantidad de producto (4,640 ml) de todos los sistemas analizados. Sin embargo, al comparar esta cantidad con las originadas con otras variables (pH, concentración de vinazas, etc.) resultó ser importante.

Por otro lado, el perfil mostrado por la curva 5.16.b, exhibió durante los seis primeros días, un proceder muy semejante que para el caso anterior. No obstante, su comportamiento es en general el más activo de los sistemas aquí analizados ya que aun cuando mostró pocos días de actividad, sus cantidades de producto generado resultaron ser las más importantes de todos los ensayos realizados, llegando a ser al final de 14,075 ml. lo que demuestra una muy buena biodegradación de la materia.



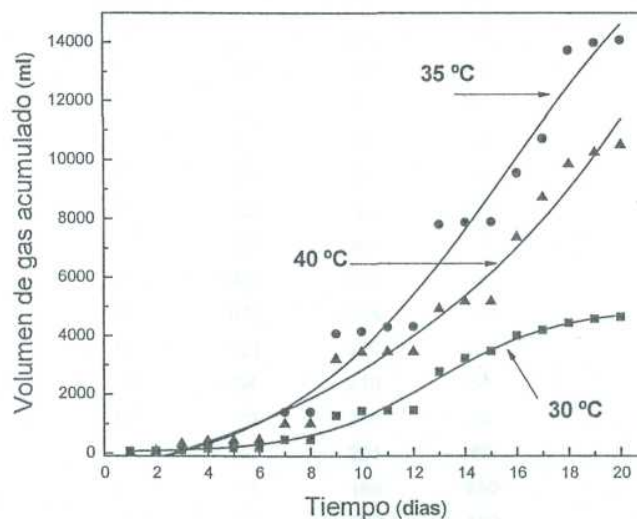
**Figura 5.16** Biogás generado a diferentes temperaturas de operación

Por otro lado, la curva 5.16.c, muestra una generación de biogás más estable en el tiempo, aunque con menor proporción en volumen que el caso anterior. Así, aun cuando los primeros seis días de trabajo son básicamente iguales a los ensayos

---

anteriores, se pueden ver diferencias en la actividad microbiana ya que se presentan más incrementos en la producción de gas con el tiempo, aunque al comparar estos volúmenes con el caso anterior su efectividad se ve ligeramente disminuida (10,497 mi).

Finalmente, las tendencias mostradas en la figura 5.16.d fueron elaboradas nuevamente a través de un polinomio de quinto orden con un factor de ajuste semejante en todos los casos (0.64-0.67). Aquí, se puede observar como al trabajar con 35° C se presenta la curva más pronunciada en estos ensayos, y aunque su producción fue intermitente en el tiempo, fue el sistema que mejor trabajó en la biodegradación del material orgánico, gracias al volumen total de biogás generado.



**Figura 5.17** Acumulación de biogás al cambiar la temperatura de operación

La figura 5.17 se elaboró con el volumen de gas acumulado, ahí se puede observar que a 35° C la producción de biogás superó a los otros sistemas analizados. Este caso, presentó también la manipulación de la variable de operación que mayor cantidad de biogás produjo, lo cual favorece enormemente la disminución de la carga orgánica del vertido. Muestra que trabajar que al 35° C se mejora la efectividad en un 67% que hacerlo a 30° C. Mientras que operarlo a 40° C, disminuye su eficiencia en un 25.42%, dándose este comportamiento final probablemente porque se alcanza el inicio de la desnaturalización térmica de la biomasa al no estar habituadas a temperaturas tan elevadas en su ambiente normal.

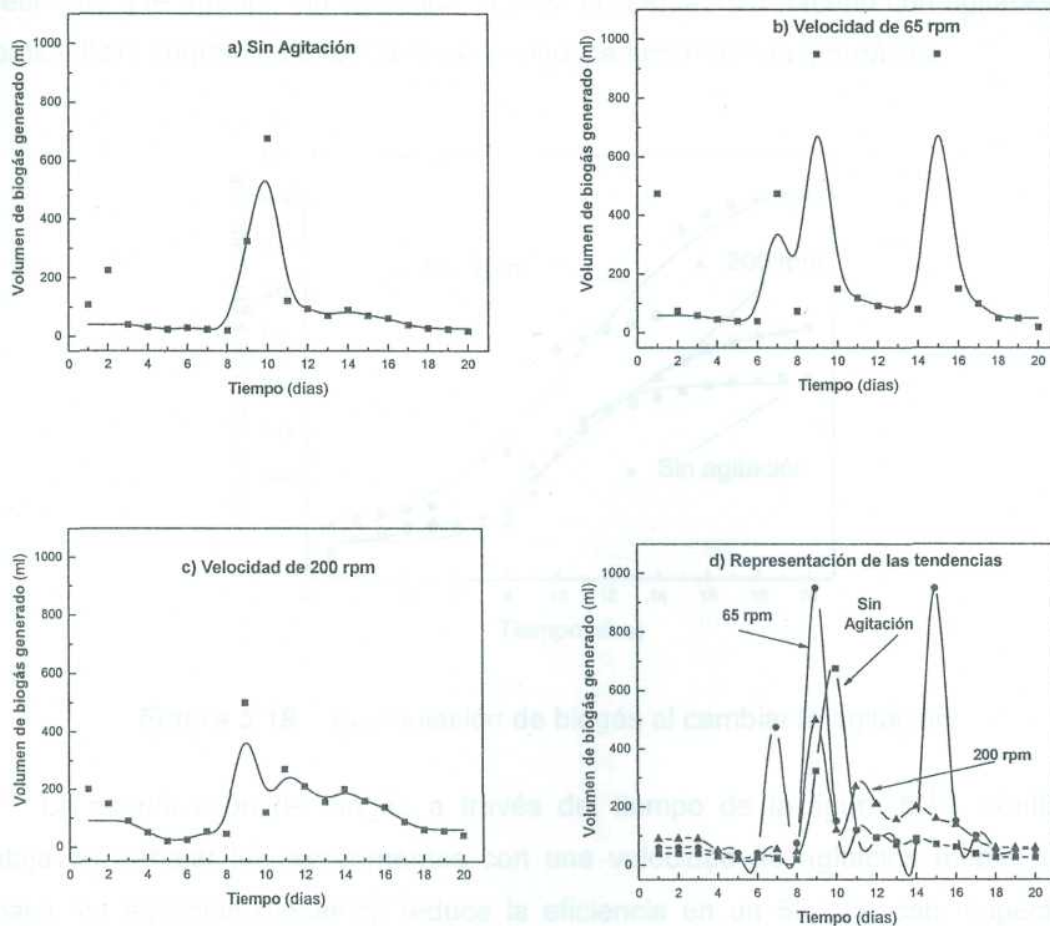
### 5.7 Importancia de la agitación en el funcionamiento operativo

Se sabe que, las transformaciones anaerobias no escapan a la influencia que la agitación tiene sobre la digestión, ya que ésta promueve el contacto íntimo entre los microorganismos y el sustrato, minimizando la resistencia a la transferencia de masa. Sin embargo, algunas poblaciones microbianas son sensibles a los esfuerzos cortantes originados por el mezclado, ya que si la agitación es vigorosa puede llegar a dañar la estructura celular y por ende la actividad biológica. Los resultados obtenidos a) modificar este parámetro se observan en la tabla 5.11 y en la figura 5.18.

Tabla 5.11 Volumen de biogás generado con diferentes velocidades de agitación

Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)		
	0 rpm	65 rpm	200 rpm
1	108	240	475
2	225	500	75
3	40	90	60
4	31	70	47
5	23	52	40
6	30	67	40
7	23	53	475
8	20	46	75
9	324	720	950
10	675	1500	150
11	121	270	120
12	94	210	94
13	70	156	80
14	90	201	80
15	71	159	950
16	62	138	150
17	39	87	100
18	27	60	50
19	24	55	50
20	18	40	20

En el perfil generado sin agitación del sistema (5.18.a), se puede observar que la actividad microbiana fue realmente baja, mostrando una contribución importante sólo del día 9 al 13. Todo el proceso posterior y anterior fue realmente pobre. Este desarrollo remarca la importancia que tiene el contacto entre las fases cuando se realiza una reacción heterogénea como en este caso. Además la cantidad total de biogás que presentó, fue inferior al mostrado frecuentemente por el digester generador de biomasa.



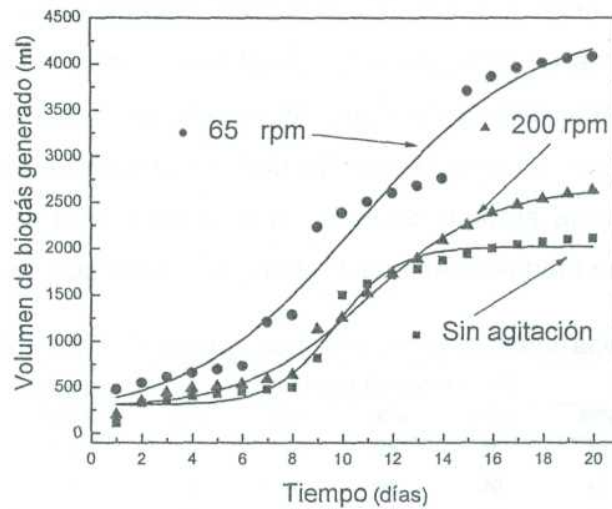
**Figura 5.18** Biogás generado con diferentes velocidades de agitación

Por otro lado la figura 5.18.b, muestra dos picos de actividad importantes cuando se aplica agitación media. En general, este sistema mostró una actividad microbiana más uniforme a través del tiempo, lo cual sugiere que el contacto entre las fases es el adecuado para que el sustrato llegue a la mayor parte del floculo.

Finalmente la curva 5.18.C, exhibe nuevamente una pérdida de actividad microbiológica, generada muy probablemente por la ruptura de los flóculos al ser sometidos éstos a altas tensiones mecánicas por la agitación. Aquí se presentó actividad importante los mismos días que para el caso sin agitación; es decir después del día ocho, solo que ahora la disminución de la DQO fue relativamente más lenta.

---

Con fines comparativos se construyó la curva 5.18.d, donde se puede confirmar el hecho de que trabajar sin agitación, resulta casi igual que hacerlo con agitación muy vigorosa. Esto contradice a la teoría de la cinética heterogénea inorgánica.



**Figura 5.19** Acumulación de biogás al cambiar la agitación

La acumulación de biogás a través del tiempo de la figura 5.19, confirma la ventaja de trabajar los experimentos con una velocidad de agitación media, ya que trabajar sin agitación mecánica reduce la eficiencia en un 55.13% con respecto a la máxima eficiencia aquí mostrada (60 rpm). Por otro lado, cuando la velocidad se eleva demasiado existe una pérdida en la efectividad del 36.7% comparándola con el mismo ensayo anterior. En resumen, se puede afirmar que tan deficientemente es trabajar el sistema sin agitación como hacerlo con agitación excesiva.



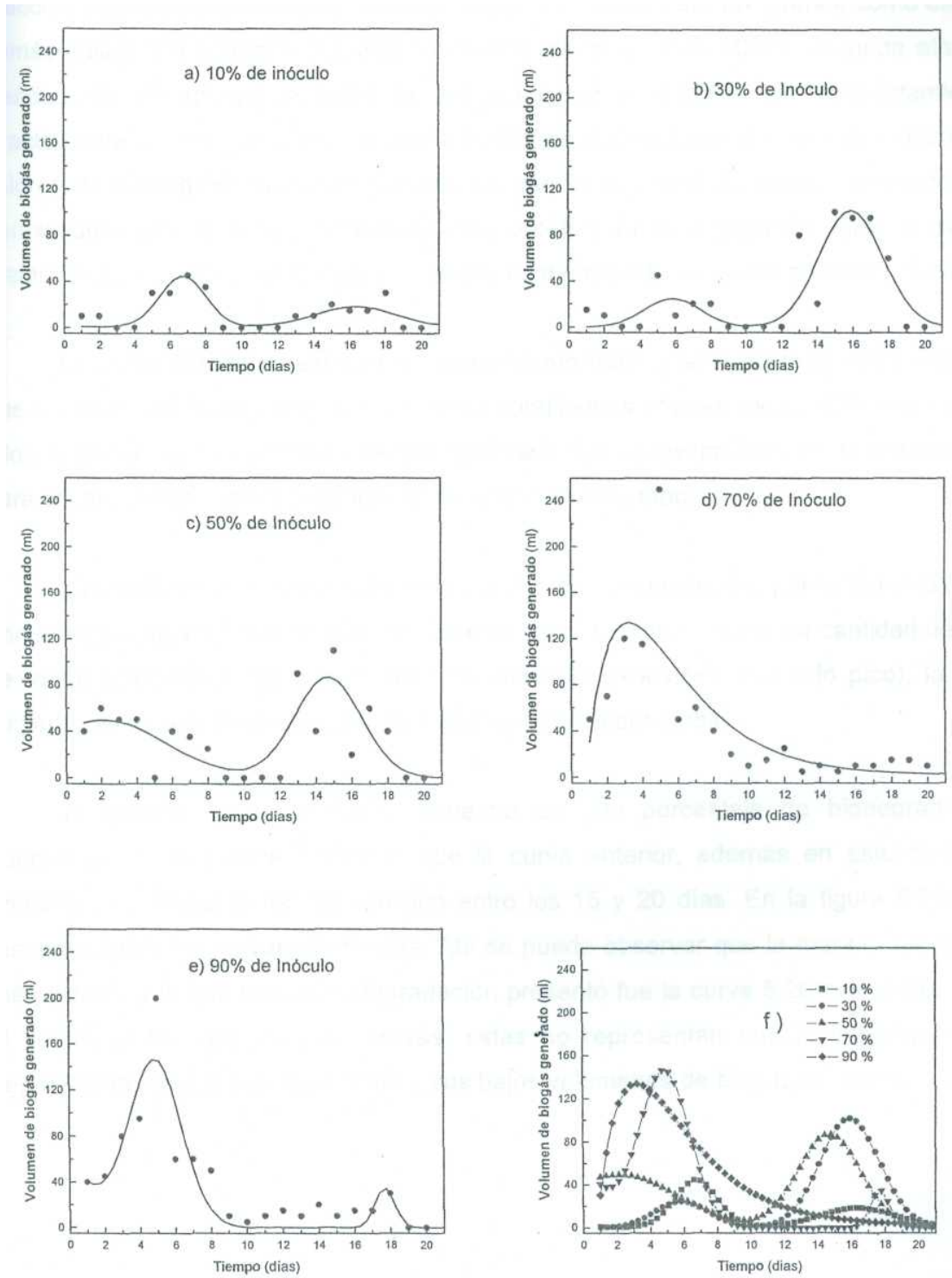
### 5.8 Dependencia de la concentración de biomasa en la digestión

Un factor importante cuando se diseña un digestor de flujo continuo, es el tiempo que permanecen los microorganismos en el reactor, independientemente del caudal del vertido residual que circula por el sistema, posibilitando con esto una mayor velocidad de carga orgánica. Dicha variable exhibe un efecto dominante sobre la capacidad y desempeño del reactor. Como ejemplo se tiene que, este parámetro influye tanto en el tipo de ecología que crece en el sistema como en su actividad, determinando por lo tanto la calidad de la fermentación. Aun cuando esta variable es fundamental para el control del sistema, actualmente solo se conocen valores aproximados para muchas aplicaciones prácticas. Los valores aquí obtenidos se observan en la tabla 5.12.

**Tabla 5.12** Volumen de biogás con diferentes concentraciones de biomasa

Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)				
	10%	30%	50%	70%	90%
1	10	15	40	50	40
2	10	10	60	70	45
3	0	0	50	120	80
4	0	0	50	115	95
5	30	45	0	250	200
6	30	10	40	50	60
7	45	20	35	60	60
8	35	20	25	40	50
9	0	0	0	20	10
10	0	0	0	10	5
11	0	0	0	15	10
12	0	0	0	25	15
13	10	80	90	5	10
14	10	20	40	10	20
15	20	100	110	5	10
16	15	95	20	10	15
17	15	95	60	10	15
18	30	60	40	15	30
19	0	0	0	15	0
20	0	0	0	10	0

Como se puede observar en la figura 5.20, casi todas las curvas presentan 2 máximos de reacción de diferentes magnitudes, aunque casi en los mismos tiempos. Esto sugiere, que el mecanismo de reacción es el mismo independientemente de la concentración de biomasa empleada.



**Figura 5.20** Generación de biogás a diferentes concentraciones de biomasa

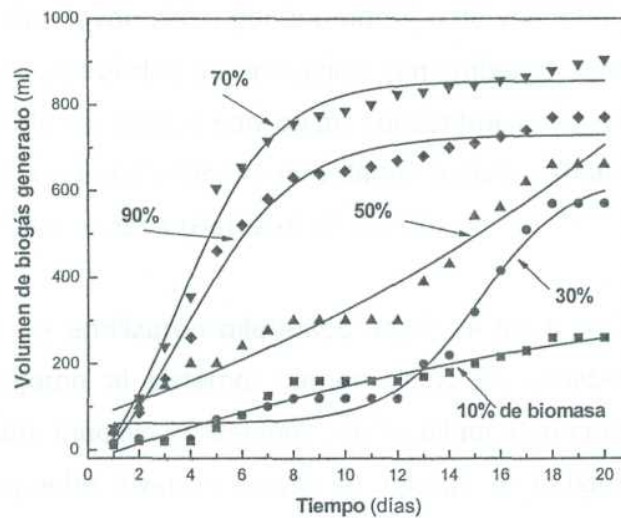
---

La curva 5.20.a, mostró su pico más pronunciado en una primera etapa de reacción (antes de los primeros 10 días), aunque no resultó ser tan grande como en los demás casos. Un segundo máximo se localizó entre los días 10-20 (segunda etapa), siendo este de apenas la mitad en magnitud que el anterior. Un comportamiento exactamente inverso sucede en la curva 5.20.b, en donde además se pueden observar valores de biodegradación más grandes ya que la cantidad de biogás generado fue aproximadamente el doble que para el caso anterior. En esta segunda curva la mayor reactividad se presentó en la segunda etapa, es decir después de los primeros 10 días.

La curva 5.20.c, muestra el comportamiento más estable de todo el proceso ya que los picos máximos generados en estas condiciones ofrecen menor diferencia entre ellos, mientras que la cantidad de gas generado fue aproximadamente la misma que para el caso anterior pero con mejor distribución en el tiempo.

Las mejores condiciones de reacción fueron las mostradas por la curva 5.20.d, donde se trabajó con 70% de inóculo. En este caso, se obtuvo la mayor cantidad de gas de todos el procesos además lo hizo en una sola exposición (un solo pico), lo cual sugiere que su reactividad puede ser más fácilmente controlable.

Finalmente la curva 5.20.e, muestra un alto porcentaje de biodegradación aunque no de la misma magnitud que la curva anterior, además en este caso se presenta una última señal de reacción entre los 15 y 20 días. En la figura 5.20.f, se resumen todas las curvas generadas. Ahí se puede observar que la manera de operar más estable y la que mayor biodegradación presentó fue la curva 5.20.c. Por otro lado, al comparar las dos primeras curvas, estas no representan mucha importancia de degradación, debido principalmente a sus bajos volúmenes de biogás generado.



**Figura 5.21** Acumulación de biogás a diferentes concentraciones de biomasa

La figura 5.21 muestra los diversos comportamientos de los sistemas mediante la acumulación de biogás. Aquí se confirma nuevamente que la mejor manera de operar este digestor se presentó con el 70% de biomasa libre. Lamentablemente este dato no es factible para llevar el proceso a nivel industrial ya que lo hace poco práctico. Sin embargo, al comparar todos los sistemas ensayados con el más eficiente se exhibió el siguiente comportamiento: trabajar con el 10% de organismos libres se disminuye en 71.3% la efectividad y al hacerlo con el 30% de biomasa el mismo parámetro se reduce en un 37.01%. Por otro lado, con el 50% de organismos la pérdida de eficiencia llegó a ser del 27%; mientras que al colocar 90% de microbios en el sistema la reducción fue de tan sólo 14.9%, esto fue ocasionado muy probablemente por la falta de sustrato presente en este ensayo.

### **5.9 Ensayos sobre la colonización de los soportes catalíticos**

Para alcanzar una eficiente transformación de la materia orgánica se requieren de altas concentraciones de materia activa en el medio. En este sentido, la inmovilización de microorganismos sobre soportes inertes ha sido la alternativa más exitosa (Jiang *et Ohtaguchi*, 2006). Este hecho ha impulsado el desarrollo de los tratamientos denominados "de alta velocidad", que emplean sistemas inmovilizados de flora microbiana, previniendo pérdidas por lavado (Hofman-Bang *et al.*, 2003).

Al comparar los sistemas con biomasa suspendida y los de materia soportada se tiene que los últimos están favorecidos por la reducción de volumen, el incremento en la actividad microbiana y la estabilidad de operación. Sin embargo, esta tecnología sólo es válida para el tratamiento de aguas con bajas concentraciones de material granular. Así, las aguas residuales procedentes de actividades agroindustriales son los sustratos idóneos para este tipo de procesos (Pérez *et al.*, 2005).

En este estudio se analizaron diferentes soportes para realizar la colonización microbiana. Se introdujeron al sistema: carbón activado, zeolitas, perlas de vidrio, albúmina y un catalizador inactivo de estaño. Los resultados numéricos se observan en la tabla 5.13; mientras que las diversas curvas se reportan en la figura 5.22.

**Tabla 5.13** Volumen de biogás al introducir diferentes soportes

Tiempo (días)	Volumen de biogás (ml)				
	Catalizador	Albúmina	Perlas de vidrio	Zeolitas	Carbón activado
1	40	55	85	190	225
2	940	755	180	400	225
3	860	50	10	15	30
4	70	0	0	15	0
5	50	0	0	20	0
6	30	25	30	35	40
7	30	15	25	30	25
8	30	20	30	50	45
9	0	0	500	40	25
10	0	0	0	0	0
11	0	60	40	10	10
12	0	50	45	15	10
13	25	500	35	25	50
14	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0
17	0	5	5	0	5
18	0	0	0	0	0
19	0	5	5	0	0
20	0	5	5	5	0

Es importante notar que en todas las curvas se tuvieron resultados marcadamente mejores que para los digestores con células libres.

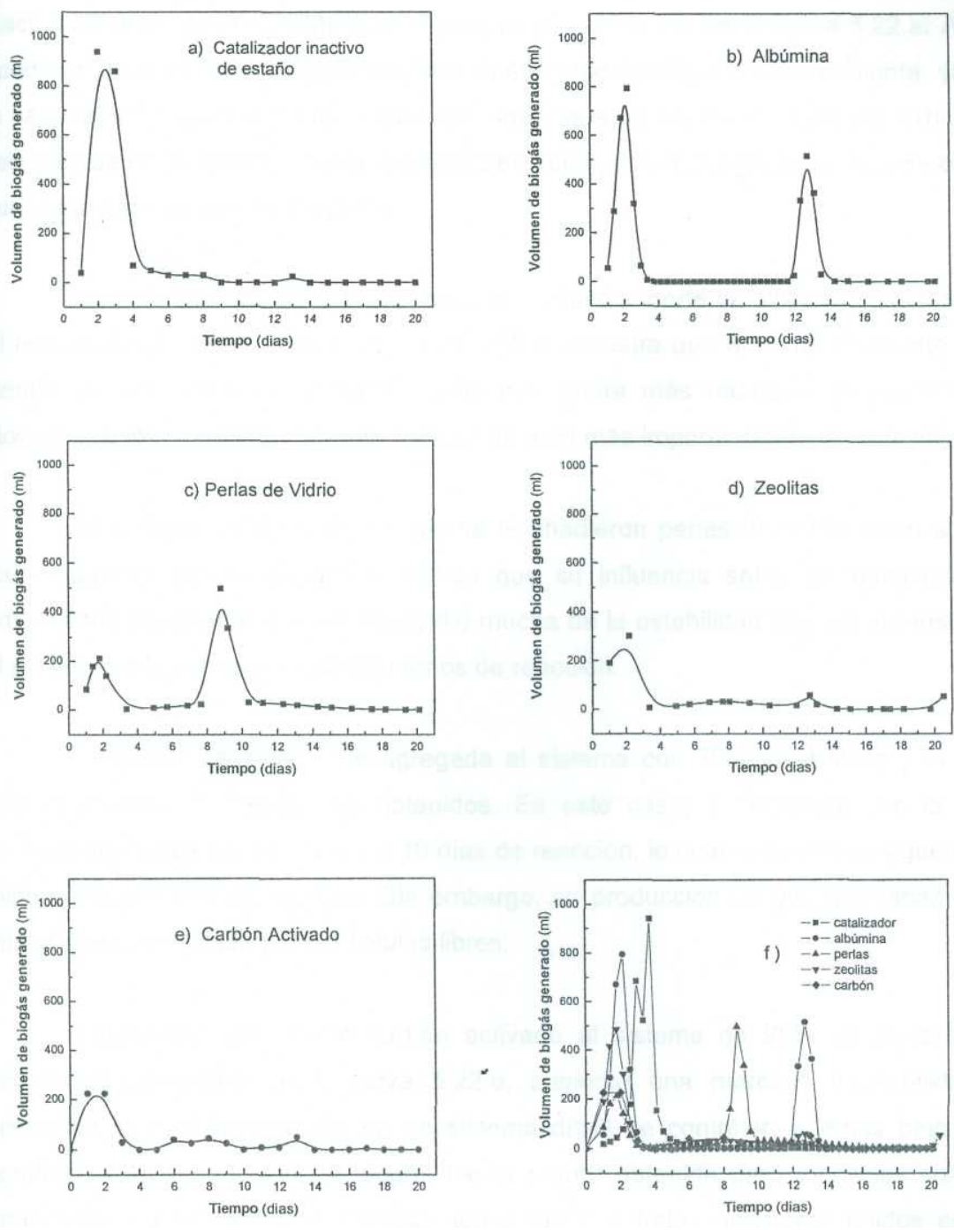


Figura 5.22 Comportamiento biocinético con diferentes soportes microbianos

---

Al reactor del 10% de inóculo, se le agregó un soporte catalítico de estaño inactivo desechado por PEMEX, el resultado se puede ver en la curva 5.22.a. Ahí se puede analizar como el comportamiento cinético fue modificado enormemente, ya que la cantidad de degradación que logró fue mayor que para las células libres. Exhibió un solo pico de considerable magnitud y después hubo poca reactividad, por eso se espera que dicho sistema sea muy estable.

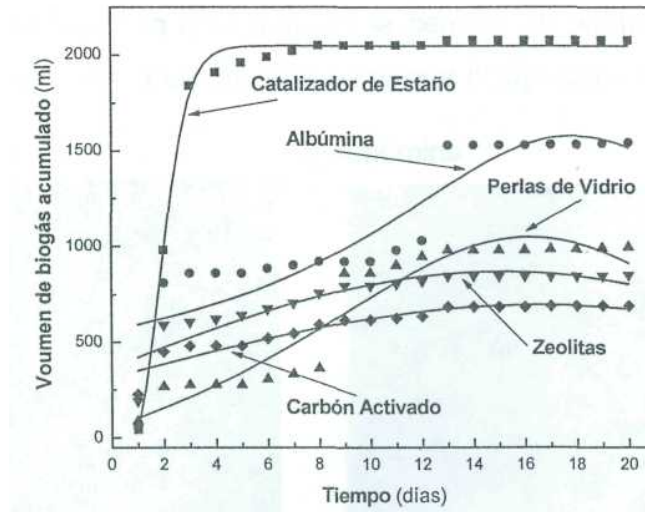
En el reactor del 30% de biomasa, se incluyó soporte de albúmina como matriz. El resultado que se observa en la curva 5.22.b, muestra que el comportamiento sigue siendo aproximadamente el mismo, solo que ahora más marcado en cuando a la biodegradación se refiere; por otro lado, el periodo más importante ahora es el inicial.

Al sistema del 50% de inóculo se le añadieron perlas de vidrio como soporte (curva 5.22.c). Los resultados muestran que su influencia sobre la reactividad del proceso fue importante aunque se perdió mucha de la estabilidad que venía mostrando el sistema, obteniéndose picos aleatorios de reacción.

La matriz de zeolita fue agregada al sistema con 70% de inóculo y la curva 5.22.d, muestra los resultados obtenidos. En este caso, se continúa con la curva pronunciada antes de los primeros 10 días de reacción, lo cual sugiere que sigue con el mismo comportamiento cinético. Sin embargo, su producción de gas fue varias veces mayor que la mostrada por las células libres.

Finalmente, se añadió carbón activado al sistema de 90% de inóculo. Los resultados mostrados en la curva 5.22.e; sugieren una marcada inestabilidad de operación lo cual lo convierte en un sistema difícil de controlar; además bajo estas condiciones la producción de biogás fue la menor obtenida para todos los sistemas analizados. La curva 5.22.f, muestra todos los resultados anteriores unidos en una misma gráfica, para corroborar las diferencias que cada uno de los ensayo presentó.

Con el propósito de comparar el comportamiento obtenido por los sistemas analizados para los volúmenes finales se elaboró la figura 5.23. En ella se muestran los volúmenes acumulados de gas, obtenidos bajo las diferentes condiciones analizadas.



**Figura 5.23** Acumulación de biogás con diferentes soportes microbianos

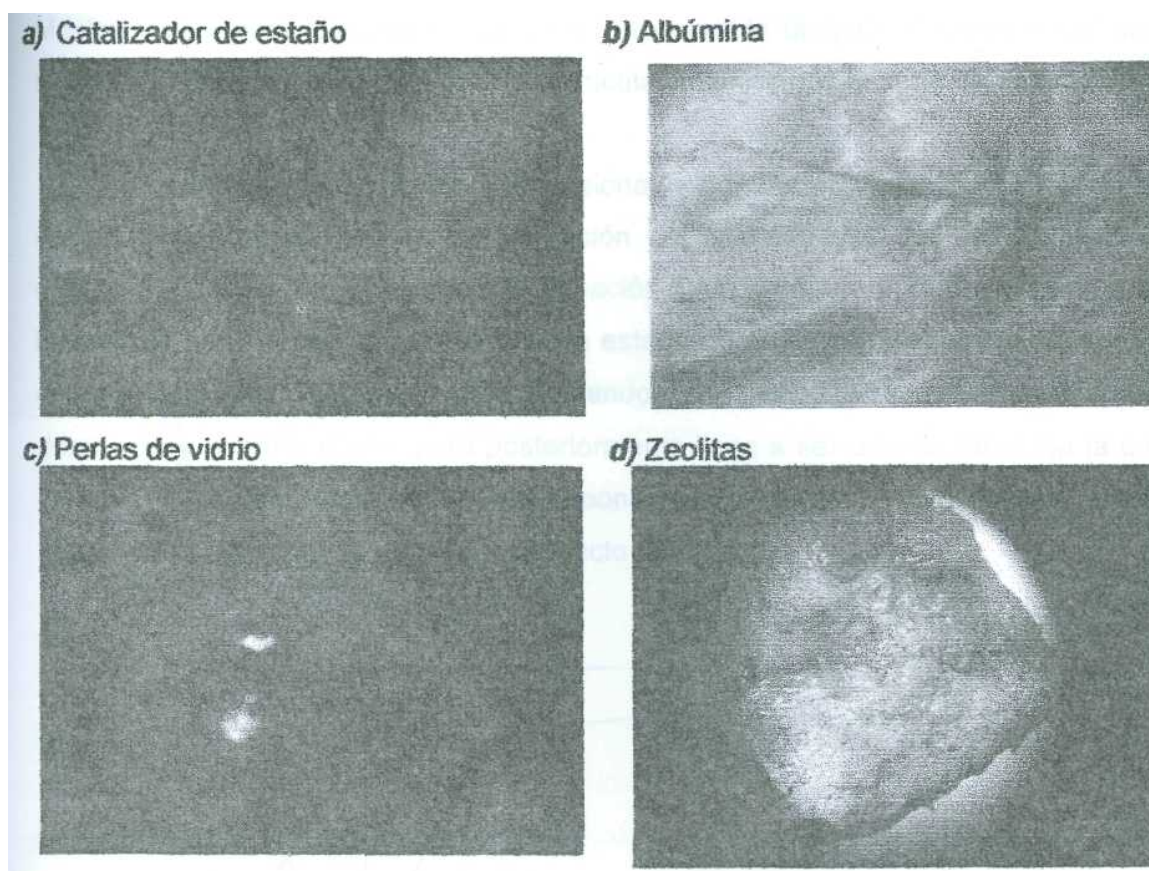
Aquí se puede observar que la presencia de los soportes incremento notablemente la producción de biogás, lo cual sugiere que la biodegradación del sustrato es más efectiva con los diferentes sólidos. En este caso, no solo se disminuyó el porcentaje de biomasa requerida sino también se pudo comprobar que la velocidad de colonización es bastante aceptable para los diferentes sólidos analizados. En este estudio se asume que todo el biogás generado por los sistemas con soportes sólidos es producido por el crecimiento de la biofilm en ellos.

De acuerdo con esta gráfica, el digestor más eficiente se obtuvo con el 10% de biomasa soportada en un catalizador inactivo de estaño, este hecho genera que las perspectivas de aplicación a nivel industrial para el consorcio analizado sean muy alentadoras ya que la biodegradación se multiplico varias veces con lo observado con sistemas de biomasa en suspensión.



---

Se comprobó que trabajar con albúmina disminuye la eficiencia en un 25,54%, mientras que al añadir perlas de vidrio se hace en un 52.04%. Por otro lado, contrariamente a lo muchos reportes afirman, adicionar zeolitas al sistema redujo la producción de biogás en un 59% y fue mismo ocurrió con el carbón activado pero de manera más drástica ya que con este material la pérdida de producto llegó a ser del 66.74% con lo cual se obtuvo la peor manera de operar el digester soportado.



*Figura 5.24* Representación de los soportes con biopelícula adherida

En la figura anterior se pueden observar las diversas maneras de adhesión del organismo a las matrices sólidas. Estas vistas al microscopio, solo muestran la capacidad adhesiva del consorcio, ya que en ninguno de los casos ensayados se llegó a formar una biopelícula bien definida. Lo anterior, se justifica porque el tiempo total de experimentación no superó los 30 días, por lo que es muy posible que si se trabaja más tiempo el sistema, se logre conseguir un espesor de biofilm. Lo que si queda de

---

manifiesto aquí, la diferente capacidad de atracción que cada matriz tiene sobre los microorganismos.

### 5.10 Modelado del funcionamiento de los biorreactores

A continuación se muestran los resultados obtenidos al simular las expresiones analíticas adimensionales que describen los perfiles de concentración para el problema de difusión-reacción isotérmico, en donde se considera una cinética del tipo Michaelis-Menten y en estado pseudo-estacionario. Se presenta también el comportamiento del factor de efectividad calculado para la partícula catalítica involucrada en este estudio.

El primero de los perfiles adimensionales generado con el modelo, describe el comportamiento que tiene la concentración del gas a través del tiempo, la cual se obtiene al resolver numéricamente la ecuación 3.15. La figura 5.25, muestra una curva hiperbólica ascendente la cual llega a un estado de equilibrio final, lo que sugiere que en un principio, el biogás se estará formando dentro del digestor de manera dinámica durante una primera etapa, pero posteriormente llega a ser una cantidad fija la que se genera. Dicho comportamiento hace suponer que después de esa primera etapa, se llega a un estado estable para este producto de reacción.

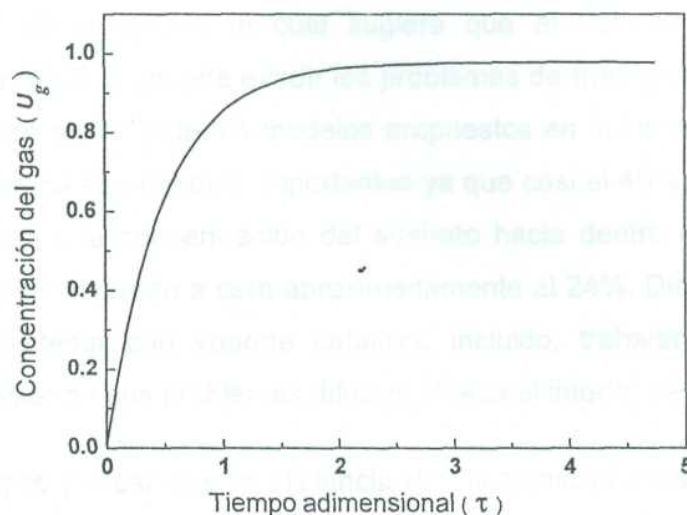
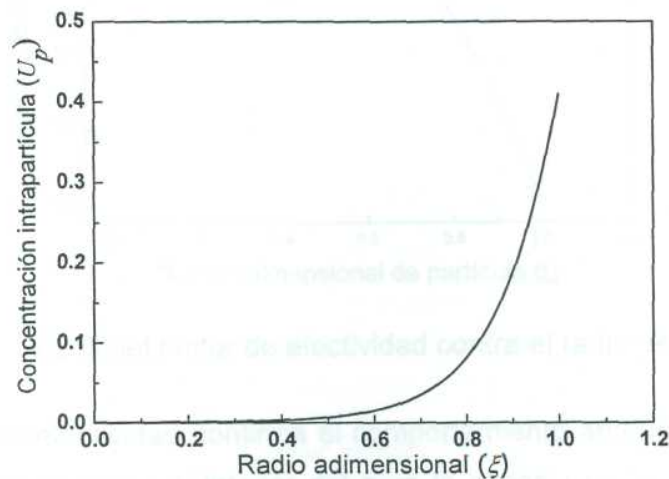


Figura 5.25 Comportamiento cinético de la generación de biogás

---

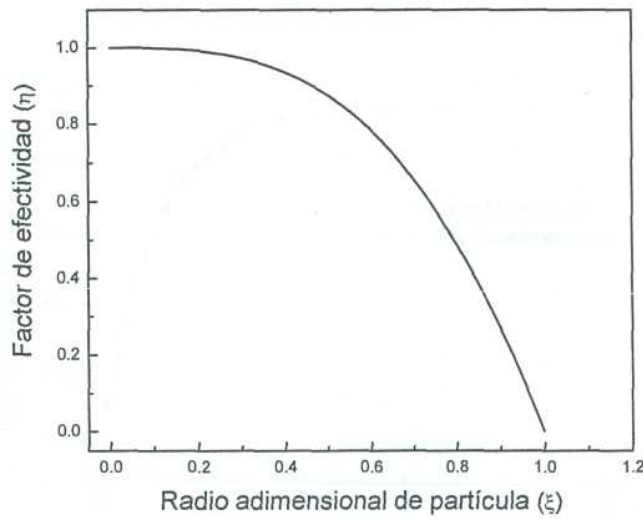
Como se ha indicado, la reacción química se está llevando a cabo sobre la superficie catalítica (es decir en los microorganismos), los cuales son considerados por el modelo como partículas esféricas porosas en suspensión, como una aproximación matemática. Los resultados numéricos obtenidos mediante la evaluación de la ecuación 3.16, junto con los problemas difusionales de masa se muestran en la figura 5.26.



**Figura 5.26** Perfil de concentración de materia en la Intrapartícula.

Se puede observar como los problemas externos a la transferencia de masa, generan que la concentración de sustrato que llega a la superficie catalítica sea inferior al 50% (en  $X=1$  de la curva); lo cual sugiere que el sistema aun cuando está perfectamente mezclado no puede evadir los problemas de transporte, los cuales no se toman en cuenta en muchos de los modelos propuestos en la literatura. Por otro lado, los problemas internos son también importantes ya que casi el 40% del sólido catalítico está desaprovechado, la concentración del sustrato hacia dentro del sólido (en  $X=0$ ) decae drásticamente, llegando a cero aproximadamente al 24%. Dicho comportamiento insinúa que un sistema con soporte catalítico incluido, trabajará de manera más eficiente, aun a pesar de sus problemas difusivos hacia el interior de la partícula.

Resulta lógico pensar que la eficiencia del biocatalizador es baja gracias a los problemas de transporte de materia mostrados en la figura anterior. La curva que muestra el factor de efectividad con respecto al radio se muestra en la figura 5.27, dicha gráfica se construyó mediante la evaluación matemática de la ecuación 3.7.



**Figura 5.27** Perfil del factor de efectividad contra el radio de la partícula.

Esta curva de efectividad confirma el comportamiento anterior, ya que conforme se analiza el fenómeno hacia el interior del poro la eficacia de la reacción disminuye significativamente.

Finalmente para darle validez a los perfiles teóricos calculados por el modelo, se compararon estos con los obtenidos de manera experimental en el digestor anaerobio. Los parámetros comparados son la concentración de biogás generado y la disminución de la carga orgánica (expresada como DQO).

Para el primer caso, se muestra en la figura 5.28 como cambia la concentración de biogás con el tiempo mediante la evaluación numérica de la ecuación 3.15.

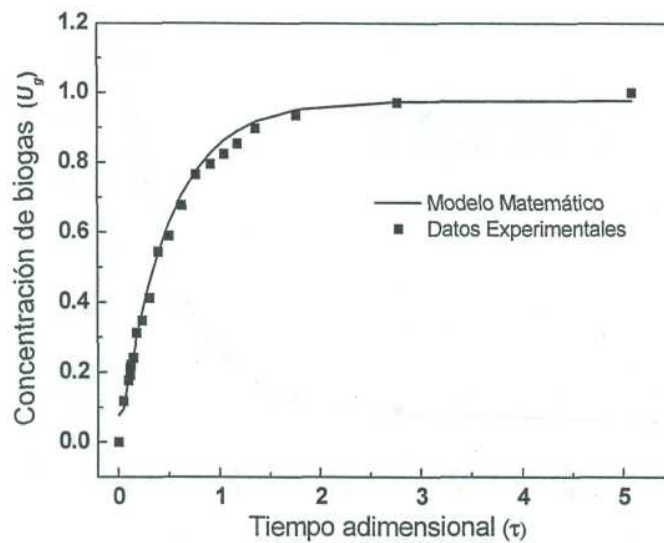


Figura 5.28 Cambio de la concentración del biogás con el tiempo.

Para este caso el ajuste de ambas curvas fue bastante bueno, lo cual sugiere que el comportamiento de este parámetro puede ser bien predicho con el empleo de este modelo. Se pudo calcular que el factor de ajuste fue del  $R^2 = 0.9960$  con una variación mínima en ambos datos.

Finalmente, se compararon los datos de disminución de DQO obtenidos por ambos métodos, para la parte teórica se empleó la solución de la ecuación 3.15 y además de los resultados experimentales obtenidos en la primera parte de los ensayos. Dichos resultados se muestran en la figura 5.29, donde se observa que la tendencia de ambos comportamientos es muy semejante, llegando a un estado estable al final del proceso. Para esta nueva corrida teórico-experimental, el factor de ajuste fue del 0.9943 lo cual hace muy favorable el empleo del modelo aquí propuesto para el tratamiento de vertidos residuales.

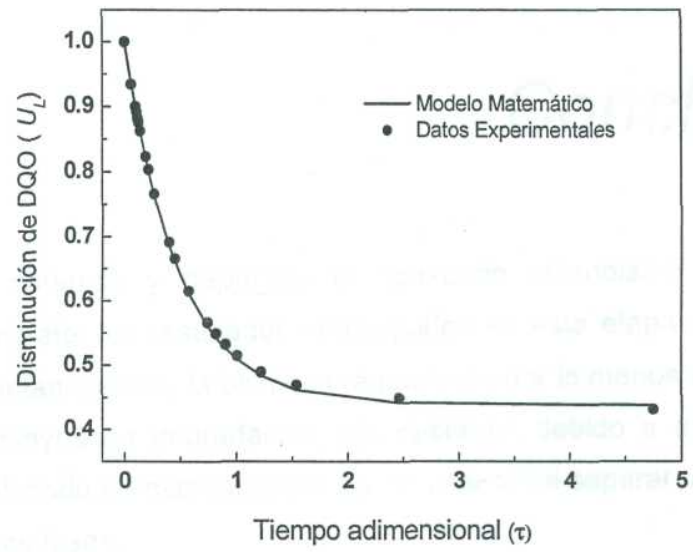


Figura 5.29 Cambio adimensional de la DQO con el tiempo.

---

## *Conclusiones*

Una vez obtenido y depurado el consorcio microbiano se procedió a su adaptación al sustrato; los resultados conseguidos en esta etapa confirman que para llegar a la fase metanogénica, la biomasa requiere de por lo menos 21 días de digestión previos a los ensayos de degradación. No obstante, debido a que se trata de una comunidad entrelazada de microorganismos, resulta difícil separar la actividad biológica de cada una de las fases.

Una vez alcanzado el estado metanogénico, los microbios son capaces de degradar los contaminantes orgánicos de las vinazas, llegando hasta un 56.77% de la DQO en 21 días de fermentación; observándose que las primeras 24 horas de digestión influyen considerablemente el proceso de reacción, ya que es ahí donde los cambios son más drásticos y se requiere de por lo menos 10 días más para que se presenten influencias igualmente de significativas.

Se pudo comprobar que la cantidad de gas generado esta en relación lineal con la disminución en la DQO, obteniéndose que por cada gramo de DQO disminuido se producen 917.2 ml de biogás con una cinética de primer orden. Así, los volúmenes de biogás generado en la fermentación, confirma la importancia que tiene el consorcio en el proceso. Los resultados obtenidos para la biodegradación, demuestran que el empleo de fluido ruminal en la depuración de vinazas, tiene muy buenas perspectivas para ser empleado en las estaciones depuradoras como consorcios no nativos con fines ambientales.

Se analizaron dos clases de vinazas, y se pudo comprobar que la cristalizada generó vertidos más fáciles de degradar; sin embargo, su comportamiento es bastante

---

errático lo que dificulta el control del proceso digestivo. Por otro lado, la de jugo natural presenta una menor biodegradabilidad pero mayor estabilidad de operación.

La manera de alimentar el vertido residual al fermentador ocasiona pulsaciones en la generación de biogás ya que generalmente se presentaron picos pronunciados el día de la alimentación. No obstante, cuando se alimenta cada 24 horas el comportamiento es menos aleatorio que para los otros casos, lo cual refleja una mayor estabilidad en la fermentación. Es importante notar que alimentar cada 72 horas al digestor, tiene el mismo resultado que cuando no se añade vinazas, mientras que la concentración al 10% anula el efecto del tiempo de alimentación ya que las curvas son aproximadamente iguales.

Por otro lado como lo propone la literatura, el cambio en el pH actúa como un inhibidor del proceso biológico ya que cuando éste no es el óptimo la cinética de reacción es menos eficiente. Se comprobó que cambiar en tres unidades el valor del pH origina incrementos de hasta el 50% de la eficiencia del biorreactor, por lo cual se debe tener precaución al manejar este tipo de variables.

De acuerdo con lo anterior, se puede sugerir que la manera óptima de trabajar el sistema de reacción será alimentarlo con vinazas de jugo natural cada 24 horas con una concentración máxima del 10% en volumen para no rebasar la capacidad de autorregulación del sistema biológico y a un pH preferentemente en la neutralidad.

Por otro lado, una mayor concentración de biomasa no siempre es bueno cuando se trabaja con células libres, ya que puede llegar el punto donde es tanta la carga de material biológico que éste no trabaja eficientemente. Además, si el porcentaje de biomasa es elevado, hace inadecuado el proceso a nivel industrial.

Por otro lado, al añadir soportes sólidos al digestor se favorece el movimiento de los organismos hacia las superficies, mostrando altas velocidades adhesión microbiana a los pocos días de experimentación. Además, la presencia de matrices modifica



---

notablemente el comportamiento cinético de los microorganismos, bajando la concentración de biomasa requerida para la digestión y potenciando su eficiencia varias veces más cuando se tiene crecimiento de biofilm.

Aun cuando se intento no tener desactivación térmica, las temperaturas de operación analizadas muestran que el consorcio es muy sensible a los cambios de este parámetro. Este dato se puede justificar al identificar el habitat natural de consorcio, ya que éste no muestra temperaturas elevadas en ningún caso. Por lo que se obtuvo como temperatura óptima los 35° C.

Los esfuerzos tangenciales a los que han sido sometidos los floculos microbianos debido a la agitación, originan que la eficiencia del digestor decayera tanto como lo encontrado cuando se opera el fermentador sin agitación. La velocidad aquí analizada como la más eficiente para agitación, concuerda bien con los datos publicados en la literatura.

Finalmente, una vez obtenidas todas las variables en sus rangos óptimos de operación se obtuvo un modelo matemático para un digestor de tanque agitado heterogéneo, el cual mostró una excelente tendencia cuando se compararon los resultados teóricos generados por el modelo con los experimentalmente obtenidos.

---

# ***Bibliografía***

1. Ahring B. K., *Perspectives for anaerobic digestion*. Adv. in Bioch. Eng. Biotechn., (2003) Vol. 81, pp. 1-30 f
2. Aivasidis, A.; Diamantis, V., Biochemical reaction engineering and process development in anaerobic wastewater treatment. Adv. Bioch. Eng. & Biotech. (2005) Vol. 92, pp. 49-76 f
3. Andrews J. F., Journal Sanitary Engineering División, Am. Soc. Civ. Eng. (1969) Vol. 95, pp. 95
4. Andrews J. F., Dynamic model of the anaerobic digestion process. J. San. Eng. Div. Proc. Am. Soc. Civ. Eng SA (1971) Vol. 1, pp. 95-116
5. Angelidaki I.; Ellegaard L; Ahring, A mathematical model for dynamic simulation of anaerobic digestion of complex substrates: focusing on ammonia inhibition, Biotech. & Bioeng. (1993) Vol. 42, pp.159-166
6. Angelidaki I.; Ellegaard L; Ahring B.K., Applications of the anaerobic digestion process. Bioch. Eng. Biotech. (2003) Vol. 82, pp.2-35 f
7. Aoi Y., In Situ Identification of microorganisms in biofilm communities. J. Biosci. & Bioeng. (2002), Vol. 94, pp. 552-556 f
8. Atkinson B. Reactores bioquímicos (1995). Ed. Reverte, S.A. Barcelona, España.
9. Ayman N. O.; Ince O.; Kasapgil B. Effect of wastewater composition on methanogenic activity in an anaerobic reactor. J. Env. Sci & Heal. Part A. (2004) Vol. A39, pp. 2941-2953 f
10. Beltrán, F. J.; García-Araya, J. F.; Álvarez, P. M. Wine distillery wastewater degradation: 2. Improvement of aerobic biodegradation by means of an integrated chemical (ozono)-biological treatment. J. Agric. Food. Chem. (1999) Vol.47, pp. 3919-3924 f

- 
11. Bequette B.W. Process dynamics - modeling analysis and simulation. (1998) Prentice Hall, New Jersey
  12. Bergamasco, R.; Bassetti, F. J.; Moraes, F. F.; Zanin, G. M. Characterization of free and immobilized invertase regarding activity and energy of activation. Braz. J. Chem. Eng. (2000) Vol. 17, pp. 873-886 †
  13. Boekhorst R. H.; Ogilvie J. R.; Pos, J. An overview of current simulation models for anaerobic digesters. In: Livestock waste: A renewable resource. R. J. Smith, ed. ASAE Publication N° 2-81. ASAE, St. Joseph, MI 49085 (1981)
  14. Breitenbucher, K.; Siegel, M.; Knupfer, A. Open-pore sintered glass as a high efficiency support medium in bioreactor: A new results and long term experiences active in high rate anaerobic digestion. Wat. Sci. Technol. (1990) Vol. 22, pp. 25-32
  15. Butt B.J. Reaction kinetics and reactor design. Second Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker, Inc. New York (2000) †
  16. Campos G. T; Ríos M. A.; Duran de Bázua C. La Caña de azúcar, su entorno ambiental. Parte I. Tratamiento de vinazas en una planta piloto en México mediante un reactor de biodisco. Informe técnico VIN-01-95. (1995) Fac. de Química UNAM. México, D.F.
  17. Carrillo, L, Microbiología agrícola., material bibliográfico, Universidad Nacional de Salta. Argentina (2003) Cap. 5, pp. 235-322 †
  18. Chang, H.T.; Parulekar S.J.; Ahmed M. A dual-growth kinetic model for biological wastewater reactors. Am. Chem. S. (2004) Vol. 45, pp. 234-240 †
  19. Chaudhari R. V.; Ramachandran P.A. Three phase slurry reactors. AIChE J. (1980) Vol. 26, pp. 177-201
  20. Datta R.; Rinker R. G. Transient response of three-phase slurry reactors. Chem. Eng. Sci. (1983) Vol. 39, pp. 893-901
  21. Do D.; Rice R. G. The transient response of CSTR containing porous catalyst pellets. Chem. Eng. Sci. (1982) Vol. 37, pp. 1471-1475
  22. Dueck J. Diffusion-kinetic rate of substrate consumption in a biofilm. Theor. Found. Chem. Eng. (2005) Vol. 39, pp. 573-578 †
  23. Fouad M.; Bhargava R. Mathematical model for the biofilm-activated sludge reactor. J. Env. Eng. (2005) Vol. 67, pp. 557-562 †

- 
24. Gavala, H. N; Angelidaki, I.; Birgitte K. Kinetics and modeling of anaerobic digestion process. *Adv. in Bioch. Eng. & Biotech.* (2003) Vol. 81, pp. 58-93 †
  25. Gavrilesco M.; Macoveanu M. Attached-growth process engineering in wastewater treatment. *Bioproc. Eng.* (2000) Vol. 23, pp. 95-106 †
  26. González C. A. Dinámica de un reactor de suspensión considerando una cinética tipo Michaelis-Menten. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. México, D.F. (2003) †
  27. Grady C.P.; Daigger, G.T.; Lim H.C. *Biological wastewater treatment.* Marcel Dekker, New York, (1999)
  28. Henze M.; Harremoes, P. Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors. A literature review. *Wat. Sci. Technol.* (1993) Vol. 15, pp. 1-55
  29. Hill D. T.; Barth C. L. A Dynamic model for simulation of animal waste digestion. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* (1977) Vol. 10, pp. 2119-2143
  30. Hill D. T. A Comprehensive dynamic model for animal waste methanogenesis. *Transactions of the ASAE; American Society of Agricultural Engineers.* (1982) 0001-2351/82/2505, pp.1374
  31. Hobson P. N.; Stewart C. S. *Rumen microbial ecosystem,* Ed. Elsevier applied Science. Cap 1. 117-199, (1997)
  32. Hofman-Bang J.; Zheng D., Westermann P.; K. Ahring B.; Raskin L. Molecular ecology of anaerobic reactor system. *Adv. Bioch. Eng. Biotech.* (2003) Vol. 81, pp. 153-201 †
  33. Hong J.; Hecker W.C.; Fletcher T. H. Improving the accuracy of predicting effectiveness factors for  $m^{\text{th}}$  order and Langmuir rate equations in spherical coordinates. *Ener. Fuels* (2000) Vol. 14, pp. 663-670 †
  34. Hoyos B.; Cadavid J. G.; Rangel H. Formulation and numeric calculation of non-isothermal effectiveness factor for finite cylindrical catalysts with bi-dimensional diffusion. *Latín Amer. Appli. Res.* (2004) Vol. 34, pp. 17-22 †
  35. Huysman, P.; van Meerien P.; Van Asshe, P. Factors affecting the colonization of non porous and porous packing material in model upflow reactor. *Biotech. Lett.* (1999) Vol 5, pp. 643-654
  36. Ingham J.; Dunn I. J.; Heinzle E.; Prenosil J. E. *Chemical engineering dynamics - modelling with PC simulation-*. VCH, New York (1995)

- 
37. Jefferson K.K. What drives bacteria to produce a biofilm?. FEMS Micro. Lett. (2004) Vol. 36, pp. 163-173 †
  38. Jiang G.; Ohtaguchi K. Kinetics of formation of a cyanobacterium on bioreactor surfaces. J. Chem. Eng. Japan. (2006) Vol 39, pp. 453-460 †
  39. Kioukia INI.; Níenow A. W.; Al-Rubeai M.; Emery A. N. Influence of agitation and sparging on the growth rate and infection of insect cells in bioreactors and a comparison with hybridoma culture. Biotech. Prog. (1996) Vol. 12, pp. 779-785 †
  40. Krause, D. O.; Russell J. B. How many ruminal bacteria are there? J. Dairy Sci. (1996) Vol. 79, pp. 1467-1474 †
  41. LaPara T.M.; Konopka, A.; Nakatsu, C.H.; Alleman, J.E., Effects of elevated temperature on bacterial community structure and function in bioreactors treating a synthetic wastewater. J. Ind. Micro. Biotech. (2000) Vol. 24, pp.140-145 †
  42. Lema, J.M.; Méndez, R.; García, P.; Fernandezpolanco, F. Chemical reactor engineering concepts in design and operation of anaerobic treatment processes. Wat. Sci. Techn. (1991) Vol. 24, pp.61-78
  43. Lens N. L; Gastesi R.F.; van-Aelst A. Diffusional properties of methanogenic granular sludge:  $^1\text{H}$  NMR characterization. Appl. Envir. Microb. (2003) Vol, 11, pp. 6644-6649 †
  44. Lettinga, G.; Hulshoff, L. W. UASB process design for various types of wastewaters. In Design of anaerobic process for the treatment of industrial and municipal waste, Ed. Malina, J. F. y Pohland, F. G., Technomics Publishing, Lancaster, Pennsylvania. (1992) Cap. 3, pp. 119-145
  45. Levenspiel O. Chemical reaction engineering. Ed. 3<sup>er</sup>., Jonh Wiley & Son, New York, (1999)
  46. Marroquín de la Rosa J. O.; Viveros T.; Ochoa J. A. A Linear approximation method to evaluate isothermal effectiveness factors. Chem. Eng. Comm. (1999) Vol.174, pp. 53-60 †
  47. Marroquín de la Rosa J. O.; Morones R.; Viveros T.; Ochoa J. A. An Analytic solution to the transient diffusion-reaction problem in particles dispersed in a slurry reactor. Chem. Eng. Sci. (2002) Vol. 57, pp. 1409-1417 †
  48. McCarty, P.L. One-hundred year of anaerobic treatment. In Anaerobic Digestion, Editor. D.E. Hughes y D.A. Stafford, Elsevier Biomedical Press, New York, (1982)

- 
49. McCarty, P.L.; Rittmann B.E. Environmental biotechnology: Principles and applications. Ed. McGraw Mil. (2001) Cap. 2, pp. 19-55
  50. McHugh S.; Carton M.; Collins G.; O'Flaherty V. Reactor performance and microbial community dynamics during anaerobic biological treatment of wastewaters at 16-37 °C. FEMS Microb. Ecol. (2004) Vol. 48, pp. 369-378 †
  51. McMahan, K. D.; Stroot P. G.; Mackie R. I.; Raskin L. Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions. II. Microbial population dynamics. Wat. Res. (2001) Vol. 35, pp.1817-1827
  52. Menisher, T.; Metghalchi, M.; Gutoff E. B. Mixing studies in bioreactors. Bioproc. Eng. (2000) Vol. 22, pp.115-120 †
  53. Oliveira S.C. Evaluation of effectiveness factor of immobilized enzymes using Runge-Kutta-Gill method: How to solve mathematical undetermination at particle center point?. Biopro. Eng. (1999) Vol. 20, pp. 185-187 †
  54. Pérez García Montserrat, Utilización de bioreactores avanzados en la depuración anaerobia de vertidos de alta carga orgánica. Tesis Doctoral, Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Cádiz. (1995) España
  55. Pérez M.; Romero L. I.; Sales D. Thermophilic anaerobic degradation of distillery wastewater in continuous-flow fluidized bed bioreactors, Biotech. Prog. (1997) Voi. 13, pp. 33-38 †
  56. Pérez M.; Romero L.I.; Rodríguez R.; Sales D. Effect of the pH influent conditions in fixed-film reactors for anaerobic thermophilic treatment of wine-distillery wastewater. Wat. Sci. Tech. (2005) Vol. 51, pp.183-189 †
  57. Pérez M.; Romero L. I.; Rodríguez-Cano R.; Sales D. Anaerobic thermophilic colonization of porous support. Chem. Biochem. Eng. Q. (2006) Vol 20, pp. 203-208 †  
v
  58. Pérez A.; Torres P.; Pizarro E. Arranque de un filtro anaerobio para el tratamiento de aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca: Influencia del inóculo. Ing. Comp. (2006) Voi. 8, pp. 47-54 †
  59. Peterson M.E.; Daniel R. M.; Danson M. J.; Eisenthal R. The dependence of enzyme activity on temperature: Determination and validation of parameters. Bioch.J., (2006) VoU.pp. 1-26 †
  60. Rice A.R.; Hamifton M.A.; Camper A.K. Movement, replication, and emigration rates of individual bacteria in a biofilm. Micro. Ecol. (2003) Vol. 45, pp.163-172 †

- 
61. Rodrigues J. A. D.; Pinto A. G.; Ratusznei S. M.; Zaiat M.; Gedraite R. Enhancement of the performance of an anaerobic sequencing batch reactor treating low-strength wastewater through implementation of a variable stirring rate program. *Braz. J. Chem. Eng.* (2004) Vol. 21, pp. 423-434 †
  62. Russell J. B.; Rychlik J. L. Factors that alter rumen microbial ecology. *Sci.* (2001) Vol. 92, pp. 1119-1123 †
  63. <http://saqarpa.gob.mx/>. Fecha de Actualización 23 de julio del 2006; Fecha de Consulta 24 de abril del 2007
  64. Sánchez, E.; Borja, R.; Weiland, P.; Travieso, L; Martín, A. Effect of temperature and pH on the kinetics of methane production, organic nitrogen and phosphorus removal in the batch anaerobic digestion process of cattle manure. *Biopro. Eng.* (2000) Vol. 22, pp. 247-255 †
  65. Scenna N.; Mussati M.; Aguirre P. Modelado, simulación y optimización de procesos químicos, Autor-Editor: Nicolás José Scenna, Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, Argentina. (2002) Cap 18, pp. 697-739 †
  66. <http://semarnat.gob.mx/>. Fecha de actualización 7 de Enero del 2007; Fecha de Consulta 24 de abril del 2007
  67. Sundaram, N.; Wankat, P.C. Dynamics of the irreversible Michaelis-Menten kinetic mechanism. *J. Phys. Chem. A.* (1998), Vol. 102, pp. 717-721 †
  68. Szukiewics M. K. New approximate model for diffusion and reaction in a porous catalyst. *AIChE J.* (2000), Vol. 46, No. 3, pp 661-665
  69. Szukiewics M. K. An approximate model for diffusion and reaction in a porous pellet. *Chem. Eng. Sci.* (2002), Vol. 57 pp 1451-1457
  70. Tada C; Sawayama S. Photoenhancement of biogas production from thermophilic anaerobic digestion. *J. Biosci. Bioeng.* (2004), Vol. 98 pp. 387-390 †
  71. Tarifa E. E. Simulación de Sistemas Químicos. Universidad Tecnológica Nacional, Material Bibliográfico. Buenos Aires, Argentina. (2000) Cap 3, pp. 28-64 †
  72. Thomas, M. T.; Scopes, R. K. The effects of temperature on the kinetics and stability of mesophilic and thermophilic 3-phosphoglycerate kinases. *Bioch. J.* (1998) Vol. 33, pp.1087-1095 †

- 
73. Towler B. F.; Rice R. G. A Note on the response of a CSTR to a spherical catalyst pellet. *Chem. Eng. Sci.* (1974) Vol. 29, pp.1828-1832
  74. Tyagi, R.D. Wastewater treatment by immobilized cell. Eds Tyagi R.D. y Vembu K., CRC press Boca Ratón, Florida (1990) Cap. 5, pp. 334-399
  75. Vogelaara J.C.; De Keizerb A.; Spijkera S.; Lettinga G. Bioflocculation of mesophilic and thermophilic activated sludge. *Wat. Res.* (2005) Vol. 39, pp. 37-46 †
  76. Von Sperling M. Principios do tratamento biológico de águas residuárias. Departamento de Engenharia Santária e Ambiental, Universidade Federal de Minas Gerais, Brazil (1997)
  77. Wentze/, M. C; *Moosbrugger*, R.E.; Sam-Soon, G.A.; Marais R. Tentative Guidelines for waste selection, process design, operation and control of upflow anaerobic sludge bed reactor. *Wat. Sci. & Tech.* (1994) Vol. 12, pp.31-42
  78. Whitaker S. "The method of volume averaging". Kluwer Academic Publishers (1999)
  79. Whitford M.F.; Teather R.M.; Forster R.J. Phylogenetic analysis of methanogens from the bovine rumen. *BMC Microb.* (2001) Vol. 17, pp.1-5 †
  80. Xavier J.B.; Picioreanu C; Loosdrecht C.M. A Framework for multidimensional modeling of activity and structure of multispecies biofilms. *Env. Microb.* (2005) Vol. 7, pp.1085-1103 †