## **UNVIERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"**

## **DIVISIÓN DE AGRONOMIA**

## **DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA**



BIODEGRADACIÓN DE UN AGUA RESIDUAL PROVENIENTE DE UNA INDUSTRIA PROCESADORA DE LÁCTEOS A DIFERENTES TIEMPOS DE RETENCIÓN HIDRÁULICA.

POR:

**DIANA JUANA MARIA PEREZ CISNEROS** 

**TESIS** 

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

**BUENAVISTA SALTILLO COAHUILA, DICIEMBRE DEL 2004** 

## UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

#### **DIVISIÓN DE AGRONOMIA**

# BIODEGRADACION DE UN AGUA RESIDUAL PROVENIENTE DE UNA INDUSTRIA PROCESADORA DE LACTEOS A DIFERENTES TIEMPOS DE RETENCIÓN HIDRÁULICA

Por:

Diana Juana María Pérez Cisneros

Que somete a consideración del H. Jurado examinador como requisito parcial para obtener el titulo de :

Ingeniero en Agrobiología

Presidente del Jurado

Dr. José Francisco Rodríguez Martínez

Dr Jesús Rodríguez Martínez

1° Sinodal

Biol. Joel Luna Martínez

2° Sinodal

Biol.. Sofía Comparán Sánchez 3° Sinodal

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMIA

M.C. ARNOLDO OYERVIDES GARCIA

Buenavista, Saltillo Coahuila, Diciembre del 2004

## INTRODUCCIÓN

Desde la aparición del hombre en la tierra este ha cubierto sus necesidades por medio de la utilización de recursos para su supervivencia, logrando, con el paso del tiempo crecer como sociedad, pero sin medir el costo del impacto.

Las industrias requieren materias primas provenientes de los recursos naturales renovables y no renovables para poder elaborar los productos que demanda la sociedad.

En el proceso de transformación de las materias primas las industrias generan desechos que son arrojados al aire, agua o al suelo, causando un desequilibrio y alterando el ambiente.

La contaminación es todo cambio indeseable en las características del aire, agua, suelo y los alimentos, afectando nocivamente la salud, la sobrevivencia las actividades de los humanos y organismos vivos (Miller, 1994).

El hombre se ha encargado de contaminar el agua vertiendo un alto numero de contaminantes a los mantos acuíferos, excediendo la capacidad de auto depuración del agua y provocando que llegue a ser en determinado casa inutilizable; por lo que se necesita el uso de tecnologías para reutilizar el agua y contrarrestar los males provocando un menor impacto en el ambiente.

#### **JUSTIFICACIÓN**

El déficit local y regional del agua, es debido, sobre todo al aumento de las necesidades surgidas del desarrollo económico y de la explosión demográfica. El hombre ha utilizado el agua para fines cada vez más numerosos y provocando su escasez (PNUMA, 2000).

Por esta razón la creciente importancia que tiene la conservación del agua ha despertado en el hombre la necesidad de buscar métodos para cuidarlos y recuperarlos, con fines de investigación (Da Cámara, 2000).

Los vertidos provenientes de la industria alimenticia normalmente contienen materia orgánica en distintos estados de concentración, resultado así recomendable el uso de diversos sistemas biológicos de tratamiento de vertidos. Puesto que estos vertidos difieren de las aguas residuales urbanas en las características generales y también, específicamente, por su mayor concentración de materia orgánica, se requiere un pretratamiento para producir un efluente equivalente.(Da Cámara 2000)

Las leyes ambientales en numerosos países han forzado a estas industrias a aplicar el tratamiento de aguas residuales más conveniente para reducir la carga orgánica de la contaminación, antes de descargar los efluentes a los mantos acuíferos. El tratamiento anaerobio abarca un método muy atractivo y conveniente para las industrias lácteas, donde sus efluentes se componen con frecuencia de mezclas de proteínas, de lípidos y de carbohidratos. (Miller, 1994)

#### **OBJETIVOS**

## Objetivo general.

Estudiar diferentes parámetros que influyen en la biodegradación de aguas residuales provenientes de una industria láctea local en un reactor anaerobio de flujo ascendente.

## Objetivos específicos.

- 1. Investigar la eficiencia de remoción de materia orgánica mediante Demanda Química de Oxígeno (DQO) con diferentes Tiempos de Retención Hidráulica(TRH) y Carga Orgánica Volumétrica (COV).
- 2. Investigar la formación de biogás relacionando la formación de metano y la reducción de la Demanda Química de Oxigeno en el reactor .
- 3. Investigar la posible influencia de la COV sobre cambios que puedan existir en formación de Acidos Grasos Volátiles (AGV) y el comportamiento del pH.

#### **REVISION BIBLIOGRAFICA**

#### Aquas residuales

El agua es una materia prima esencial para numerosos procesos industriales y constituye por consiguiente un vital recurso natural no renovable con presumible poderío económico (Winkler, 1998).

A pesar de su importancia, el agua es uno de los recursos más desaprovechados y peor utilizados de la Tierra. Se desperdicia y contamina con gran despreocupación y nos empeñamos muy poco en usarla de forma racional(Miller, 1994).

La contaminación del agua pone en peligro la salud pública, complica y encarece los abastecimientos de agua a poblaciones y a la industria, perjudica la pesca, la agricultura, el deporte y anula el valor estético de las corrientes superficiales. Los problemas ecológicos y de salud pública originados por las aguas residuales han sido mejor atendidos por países desarrollados en los cuales la población tiene más conciencia y más capacidad económica para pagar el costo de las obras de ingeniería necesaria para resolverlos(Guerra, 2000).

El uso excesivo y la contaminación de los recursos de agua dulce del mundo son fenómenos recientes. Se desconocen las consecuencias a largo plazo, pero ya han infligido grave daño al medio ambiente y presentan riesgos crecientes a numerosas especies. Prescindiendo del uso que se le de al agua, sea para la agricultura, la industria o los servicios municipales hay grandes posibilidades de mejorar su conservación y aprovechamiento (P.I.P., 1998)

A la combinación de los líquidos y residuos arrastrados por el agua provenientes de casas, edificios comerciales, fabricas e instituciones junto con cualquier agua subterránea, superficial o pluvial que pueda estar presente se define como agua residual o agua servida. Las cuatro fuentes de aguas residuales son: 1-aguas domesticas o urbanas, 2.-aguas residuales industriales, 3.-aguas de uso agrícola, 4.-aguas pluviales (Carrasco).

#### Industria láctea

La industria de Lácteos incluye la elaboración de diferentes productos, tales como pasteurizados, condensados, desnatados, leche en polvo, yogurt, mantequilla, quesos, helado y sus derivados, usando procedimientos como congelamiento, pasteurización y homogeneización (Carozzi, 1993; W. B. G, 1998; Vidal, 2000).

En las plantas procesadoras de lácteos, se recibe la leche todos los días del año; las aguas residuales de la industria de lácteos son generalmente producidas de una manera intermitente, por lo general se recibe la leche las primeras horas del día y se procesa en las horas siguientes produciendo residuos discontinuamente; el flujo y características de las aguas residuales cambia de una industria a otra dependiendo del tipo de sistemas y métodos de operación (Aymerich,2000).

#### Industria láctea en México

La industria de productos lácteos es la tercera actividad más importante dentro de la rama de la industria de alimentos, después de la industria del maíz y de la carne, sin embargo se encuentra antes que estas industrias en cuanto al ritmo de crecimiento observado los últimos 6 años Gran parte de la disponibilidad de leche en el país proviene de la producción nacional (Castro, 1998). Entre las principales empresas y marcas lideres que operan en nuestro país están las siguientes:

Cuadro 1. Empresas y marcas lideres en México\*

Grupo LaLa	LaLa
Grupo Alpura	Alpura 2000, LacDel, Yofrut
Nestle	Nido Chambourcy, Carnation, La lechera,
Grupo Zaragoza	Lucerma, Optima, Yaqui, Gota Blanca, La
Lechera Guadalajara	Sello Rojo, Al Día
Grupo Chilchota	Chilchota, Queen
Danone	Danone, DanFrut, Danonino, Dany
Sigma Alim. Lácteos	Yoplait, Chalet, La Villita
Grupo San Marcos	San Marcos, Dulac
Parmalat	Parmalat
Evamex(Latinlac)	Boreal, Nutrileche, Mileche, Baden, Los
Grupo Prolesa	Chipilo, Bonafina, Darel, El Sauz, Holstein,
New Zealand Milk P.	Nochebuena
Axa Alimentos	Caperucita, Creso
Industria Cor	Lyncott
Grupo Chen	Chen, Camelia, Norteño, Nor-Mex, Colonos
Kraft Foods	Philadelphia, Cheez Whiz
Liconsa	Liconsa, Programa de Abasto Social

<sup>\*</sup>Fuente: Diversos medios públicos de información

#### Productos lácteos

La leche se compone principalmente de agua, sales minerales, lactosa, grasa y vitaminas. Las sales y la lactosa se encuentran disueltas en agua. La grasa es insoluble en el agua y por esto se encuentra en la leche en forma de glóbulos grasos. Las sustancia proteínicas de la leche se dividen en proteínas y enzimas. Las proteínas en la leche son la caseína, la albúmina y la globulina. La caseína es la materia prima para los quesos (Grupo LALA, 2000; Phillips, 1996).

Entre los productos obtenidos a partir de la leche se encuentra el queso (resultante de la maduración y la cuajada de la caseína), yogurt (obtenido a partir

de leche tipificada o desnatada, sembrada con un cultivo especial y concentrada por evaporación) helado (congelación de la leche), crema (yuxtaposición de los glóbulos grasos que están en suspensión en la leche) (Soroa, 1974;Espreer,1996)

## Agua en la industria lechera.

## Necesidades de agua de la industria lechera

La industria lechera necesita diariamente grandes cantidades de agua para los procesos de producción, para la limpieza y las operaciones de lavado, en el rango de 2 a 5 litros de agua por litro de leche procesada (Phillips,1996).

Consecuentemente la cantidad de efluentes descargados es alto con una alta proporción de compuestos orgánicos biodegradables en él (Bahring, 1986).

El agua utilizada para estos fines puede dividirse en dos grupos: agua fresca y agua templada o de salida de los refrigeradores

Las necesidades son muy variables y dependen de la estructura de la central, pudiendo oscilar entre 2m³ y 10 m³ por tonelada de leche tratada (Soroa, 1974).

## Agua Residual De La Industria Láctea

La variedad de productos y los métodos de producción hacen que las aguas residuales de la industria láctea, tengan características muy variables, ya sea según el producto que se elabore afectan considerablemente la carga contaminante (Aymerich, 2000).

Las características de las aguas residuales de Lácteos pueden ser muy diferentes dependiendo del tipo de productos producidos por la industria. La relativa proporción de grasas, proteínas y carbohidratos pueden ser muy diferentes y pueden significativamente afectar el tipo y cantidad de intermediarios (Vidal et al., 2000).

La figura 1 muestra algunos de los compuestos intermediarios generados durante la biodegradación anaerobia de aguas residuales de lácteos y sus

interacciones; algunos de estos compuestos presentan inhibición/toxicidad y dificultades de biodegradación en procesos anaerobios.

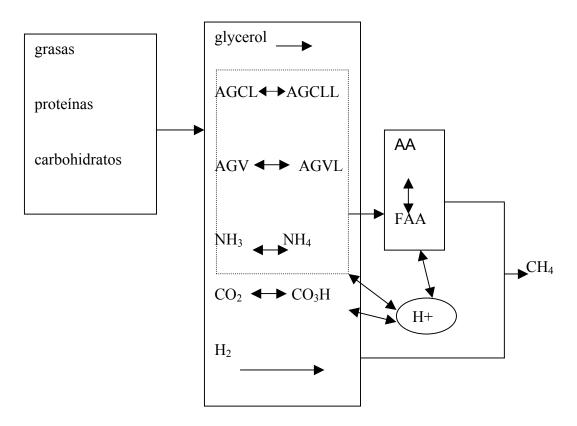


Figura 1. Biodegradación anaerobia de compuestos de la leche. a) GRASAS: Triglicéridos de diferentes ácidos: por ejemplo. butírico, caproico, laurico y ácido oleico; b) PROTEINAS: por ejemplo, caseína, albúmina; c) CARBOHIDRATOS: por ejemplo, lactosa; d) ACIDOS: AGCL: ácidos grasos de cadena larga. AGCLL: ácidos grasos de cadena larga libre. AGV: ácidos grasos volátiles. AGVL: ácidos grasos volátiles libres. AA: ácido acético. AAL: ácido acético libre (FAA).

## Origen de los residuos lácteos.

El residuo está constituido por las aguas de lavado, la cual se asemeja a una leche muy diluída, el pH varía entre ácido y alcalino; según las características

de las sustancias usadas para la limpieza de los pasteurizadores y demás aparatos (Aymerich, 2000).

En sí los residuos provienen de las siguientes fuentes:

- Aguas de enfriamiento y condensación; la mayoría son aguas limpias, cuyo contamínate es en la mayoría de los casos la temperatura.
- Agua de proceso contaminadas por la leche o por algunos de sus componentes.
- Residuos de producto de lavado, perdidas, purificación. Se contaminan además por las soluciones alcalinas, ácidas y/ o desinfectantes empleados.
- Residuos sanitarios.

## Cantidad y composición de los residuos lácteos

La cantidad diaria de agua residual es considerable en la industria lechera; las aguas residuales de la industria láctea son generalmente producidas de una forma intermitente y el flujo y cambios del agua desde una fábrica a otra, depende del tipo de sistemas y los métodos de operación (Vidal, 2000).

En general el agua residual de una industria láctea esta compuesta comúnmente por:

- a) Aguas residuales que contienen componentes de la leche. Son las resultantes de la limpieza de utensilios, aparatos y locales en las secciones de higienización y transformación industrial de la leche. Su cantidad total varía entre 0.8 y 1.5 veces el volumen de leche transformada cada día.
- *b) Aguas residuales de los servicios sociales*. Son los lavabos, retretes y cocinas. Representan unos 75 litros por empleado.
- C) aguas residuales de la refrigeración. Representan una cantidad de 2 a 4 veces mayor que la leche suministrada.

Los efluentes de la industria de lácteos contienen azucares disueltos y proteínas, grasas y posiblemente residuos de aditivos, los cuales pueden ocasionar grandes daños en las instalaciones de desagüe (W.B.G, 1998). Esto es

debido a que dichas aguas son ricas en sustancias orgánicas, las cuales no pueden ser eliminadas con facilidad; y si son desechadas sin tratamiento previo, pueden causar eutroficación en los ecosistemas (Carta, 2002). En el Cuadro 2 se observa en resumen la composición de estas aguas.

Esta agua ha de ser tratada si no puede diluirse en un volumen de 150 a 200 veces mayor, lo cual no es posible en la industria lechera.

Si en los ríos y lagos se evacuan aguas residuales muy sucias, es posible que en ellos se produzca también la muerte de los microorganismos. Se habla entonces de aguas muertas. El grado de impurificación de las aguas residuales debe de mantenerse bajo, independientemente de que la industria lechera vierta las suyas en la canalización publica o disponga de las instalaciones depuradoras propias, que implican una notable carga financiera. Esta exigencia está prescrita en las disposiciones legales (Soroa, 1974).

Cuadro 2 Composición de las aguas residuales que contienen restos de leche.\*

	Sección de recepción de la leche	Mantequería	Quesería
Residuo seco en g/l	1.5-1.6	0.4-7.5	1.2-16.2

Residuo de calcinación en g/l	0.5-1.1	0.3-2.1	0.4-2.9
Proteínas en g/l	0.2-1.0	0.02-2.9	0.4-2
Grasas en g/l	0.3-1.1	0.1-0.6	0.3-0.5
Lactosa en g/l	0.2-1.4	0.02-2.6	0.1-9.4
Consumo de permanganato potásico g/l			
	2.6-7.2	0.08-13.5	4.0-20.1
PH	8.3-10.1	6.5-9.7	4.3-7.9

<sup>\* (</sup>citado en Soroa, 1974)

## Eliminación del agua residual proveniente de las industrias lecheras.

## Evacuación de las aguas residuales no depuradas.

La industria lechera ubicada en las grandes ciudades tiene la posibilidad de verter sus aguas residuales en la canalización general, en otros casos las pueden evacuar en los terrenos de aprovechamiento agrícola, si estas industrias

están situadas en sus proximidades. Aunque el agua residual representa un valioso abono, existe el peligro de una contaminación por gérmenes patógenos.

Pero es frecuente que esta agua vaya a parar también a los causes de desagüe (canales naturales o artificiales de desagüe para la conducción de aguas residuales), aunque no está permitido.

## Depuración de las aguas residuales

La prevención y reducción de contaminantes de las aguas residuales de lácteos puede lograrse mediante el reciclaje directo y la reutilización de los residuos, (por ejemplo el uso del suero de queso para alimento para animales) o a través de diferentes tratamientos para aguas residuales: físico-químico, tratamiento biológico aerobio y/ o anaerobio.

## Tratamiento mecánico.

Mediante rastrillos finos y gruesos, coladores y filtros se retienen las partículas de suciedad, que después se desprenden mediante dispositivos descargadores y se destinan a la producción de abono.

La eficiencia depuradora de este procedimiento se incrementa cuando se precipitan mediante productos químicos las partículas de suciedad, por ejemplo, cloruro de hierro o sulfato de hierro y aluminio, que actúan sobre las partículas proteicas.

Cada vez se utilizan más las técnicas de filtración mediante membranas para la depuración de las aguas residuales. De esta forma no solo se separan eficazmente las sustancias nocivas, sino que además pueden aprovecharse éstas para distintos fines.

Los tratamientos físico-químicos permiten la remoción parcial de carga orgánica por precipitación de proteínas y grasas con diferentes compuestos químicos tales como sulfato de aluminio, cloruro ferrico, sulfuro férreo. Sin embargo, el costo de los reactivos es alto y la remoción de la demanda química

de oxigeno soluble es pobre, por lo tanto, los procesos biológicos son a menudo mas usados (Espreer, 1996).

## Tratamiento biológico.

Varios tratamientos aeróbicos convencionales han sido usados grandemente en la industria de Lácteos, lagunas aereadas y procesos de lodos activados. Sin embargo, los requerimientos de energía para la aereación en estas instalaciones son altos y a menudo ocurre un excesivo crecimiento de biomasa.

El interés en la digestión anaerobia está incrementando porque muestra varias ventajas comparado a la degradación aerobia. El tratamiento anaerobio; primeramente no necesita oxigeno; el tratar aguas residuales con altas concentraciones de materia orgánica, el crecimiento bacteriano es bajo, una gran parte del sustrato es convertido a metano y solo unas trazas de nutrientes son necesarias para mantener el proceso anaerobio.

## Digestión anaerobia

Los sistemas de tratamiento de aguas residuales mediante tecnología anaerobia han sido ampliamente utilizados en los últimos años para la degradación de compuestos de muy distinta naturaleza. El proceso está basado en una serie de reacciones microbiológicas en serie y paralelo que tienen como objetivo la transformación del contaminante en metano (Ruiz, 2001).

El proceso biotecnológico llamado digestión anaerobia, es un proceso común para el tratamiento de efluentes orgánicos, permite eliminar, al más bajo costo, hasta el 80% de la carga orgánica contaminante del agua. Con esta tecnología es posible eliminar sustancias de difícil degradación como son los productos químicos sintetizados por el hombre, entre los que se encuentra los

detergentes y los residuos de la industria química y petroquímica (Monroy, 1993 Fernández, 2001).

La digestión anaerobia involucra interacciones metabólicas complejas, y por lo menos tres grupos de bacterias. Bacterias fermentativas que hidrolizan los polímeros de substratos, tales como carbohidratos, grasas y proteínas, a compuestos más simples. El segundo paso es llevado a cabo por las bacterias acetogénicas, las cuales oxidan el propionato, butirato y ácidos grasos de cadena larga a acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>. Finalmente se utiliza el acetato y el H<sub>2</sub> producido para formar metano (Dupla, 2003).

La eficiencia de la degradación anaerobia de material orgánica es dependiente del metabolismo coordinado de las bacterias formadoras de ácido y las formadoras de metano (Yu H., 2002).

## Etapas de la digestión anaerobia

La digestión anaerobia, consiste en un proceso complejo de múltiples etapas, donde se degradan sustancias orgánicas fácilmente biodegradables en condiciones anaerobias bajo la acción de un sistema microbiano, formándose al final de este, metano y bióxido de carbono y realizadas por diferentes grupos de microorganismos (Rodríguez Mtz., 1998).

Primeramente se realiza una hidrólisis de sustancias de alto peso molecular, seguida por una fermentación de los productos resultantes de la hidrólisis hasta ácidos grasos volátiles (AGV), alcoholes grasos volátiles (ALGV), hidrógeno y bióxido de carbono. Después viene la acetogénesis, en donde se descomponen los AGV y ALGV, formándose acetato, hidrógeno y bióxido de carbono. Finalmente ocurre la metanogénesis, en la cual ocurre la conversión de acetato y la reducción del bióxido de carbono por hidrógeno (Banick).

## Hidrólisis y Fermentación:

Consiste en el desdoblamiento de las macromoléculas y la subsiguiente fermentación de los monómeros y oligómeros como ácidos grasos, carbohidratos, aminoácidos, bases púricas y compuestos aromáticos, para obtener principalmente ácidos grasos volátiles de cadenas cortas (C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>) como acetato, propionato, n e iso-butirato y n e iso-valérico, ácidos dicarboxílicos (succinato), alcoholes (metanol, etanol), lactato y piruvato, ácido fórmico, hidrógeno y dióxido de carbono. Los productos de importancia en esta etapa lo constituyen los ácidos grasos volátiles (AGV) y el hidrógeno, de tal manera que una sobrecarga de materia orgánica a los digestores anaerobios causará una alta producción de hidrógeno y ácidos, los cuales provocarán un descenso en el pH; como consecuencia ocurrirá la inhibición del grupo de bacterias que hacen posible la degradación anaerobia.

Coexisten bacterias anaerobias facultativas lo las como son enterobacterias, las cuales tienen la función de consumir oxígeno que se encuentra presente en las aguas residuales y producir la condición de anaerobiosis necesaria para este tipo de tratamientos. En los procesos de fermentación de hexosas y pentosas, el piruvato es un intermediario clave, a partir del cual según el tipo de microorganismos, y las condiciones del medio, incluidos los otros microorganismos presentes, se forman diferentes productos, regenerando los cofactores oxidados.

Los diferentes tipos de fermentaciones de azúcares se denominan según los productos de reducción del piruvato, que se agregan al medio. Los productos

más importantes son: lactato, acetato, butanodiol, formiato, isopropano e hidrógeno. El hidrógeno se produce fundamentalmente por el desdoblamiento del formiato catalizado por la formatoliasa, o por la reacción fósforo clásica, en presencia de ferredoxina oxidada (ferred. ox.), acetil coenzima A (AcCoA) y fósforo inorgánico; se produce acetilfosfato, dióxico de carbono y ferredoxina reducida, que transfiere los electrones del protón, liberando al hidrógeno molecular. A partir de acetilfosfato por fosforilación a nivel de sustrato, se regenera ATP y acetato.

En esta etapa, si no se controla bien el reactor puede ocurrir una desestabilización del proceso entero, dado que en caso de una sobrecarga la hidrólisis de la materia orgánica provoca una sobreproducción de ácidos que va a acidificar exageradamente el medio y bajar el pH hasta niveles inhibitorios. Además se puede producir un exceso de hidrógeno que va a inhibir la metanogénesis (Gottschalk, 1982).

#### Fermentación de aminoácidos

Algunos aminoácidos pueden servir como fuente de energía y de carbono para los anaerobios. La alanina, la glicina (a cual se disocia por una reacción muy compleja); treonina (por medio de enzimas), aspartato,(por anaerobios facultativos y obligados), glutamato( anaerobios obligados), la arginina (por clostridios y estreptococos) entre otros (Schlegel).

## Reacción de Stickland

Aunque algunas especies de *clostridios* crecen en medios que contienen algún aminoácido, muchos fermentan principalmente mezclas de aminoácidos. En

estos ocurren reacciones conjugadas de oxidación-reducción de pares de aminoácidos.

Este tipo de fermentación fue descubierto por Stickland en 1934 y es inherente prácticamente a todos los *Clostridium* proteolíticos tales como *C. Sporogenes, C. Sticklandii, C. Histoliticum y Botulinum.* Algunos amioácidos sirven básicamente como donadores de protones y otros como aceptores.

La reducción de los aminoácidos se considera una reacción bastante compleja. Los sistemas enzimáticos correspondientes están asociados a la membrana celular de las bacterias y constan de varias proteínas (Schlegel).

## Oxidación β-anaerobia de ácidos grasos y alcoholes

Los ácidos grasos libres son introducidos en la célula a través de la pared celular. Una vez dentro de la célula, el ácido graso es convertido en el correspondiente tio-ester-CoA, lo que sirve tanto para activar su degradación, como para disminuir el efecto tóxico de los ácidos grasos libres. La β-oxidación es un ciclo en espiral que va liberando un acetil-CoA en cada bucle, produciendo, principalmente, ácido acético. Si se trata de un ácido con un número, n, impar de átomos de carbono, al final se obtendrían n-1 acetil-CoA y un propionil-CoA. Durante el proceso se produce la deshidrogenación del ácido graso, liberándose hidrógeno molecular a través del intermediario NADH.

El  $H_2$  es el principal aceptor de electrones. La  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos es una reacción endotérmica, lo que unido a la linearidad de la ruta metabólica, hace que el proceso sea muy dependiente de la acción simbiótica de

los microorganismos consumidores de hidrógeno para que se pueda producir (Campos, 2002).

Las purinas y pirimidinas generadas por la hidrólisis de ácidos nucleicos son fermentadas rápidamente. A partir de adenina y guanina se forma xantina, que luego se transforma en formiato. El uracilo puede ser transformado a β-alanina, dióxido de carbono y amoniaco. Los productos de la hidrólisis de las grasas: glicerol, colina, galactosa y los ácidos grasos de cadena larga, son degradados en la fase de fermentación a ácidos grasos volátiles (Ammann,1990).

## Acetogénesis.

#### Bacterias OHPA.

Durante la acetogénesis, los productos de fermentación producidos anteriormente son convertidos en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono por un grupo de bacterias llamadas OHPA (bacterias acetogénicas productoras obligadas de hidrógeno). La particularidad de estas bacterias es que son inhibidas por el hidrógeno que producen, y es necesario que éste no se acumule en el medio.

Por eso las bacterias OHPA tienen una estrecha relación con bacterias que remueven el hidrógeno, las cuales son llamadas bacterias hidrogenofílicas, que por lo general son metanogénicas, pero si en el medio hay sulfato, las bacterias sulfato reductoras (BSR) sustituyen a las metanogénicas. Sin embargo cabe señalar que cuando el medio no contiene sulfato, ciertos grupos de las bacterias sulfato reductoras son capaces de establecer una relación sintrófica con la

metanogénicas hidrogenofílicas, de la misma manera que las bacterias OHPA (Madigan, 1998).

Esta relación sintrófica que se establece entre las bacterias productoras de hidrógeno y bacterias hidrogenofílicas, es una ventaja para los donadores de hidrógeno. Esta noción de transferencia de hidrógeno es sumamente importante para quien quiere entender los fenómenos de regulación de la digestión anaeróbica.

Numerosas bacterias fermentativas son capaces de transferir electrones vía hidrógeno a bacterias hidrogenofílicas, lo que genera por parte de estas bacterias fermentativas de un incremento en acetato, y por consecuencia una ganancia energética. Sin esta transferencia de hidrógeno o en caso de una acumulación de hidrógeno, estas bacterias fermentativas tendrán la obligación termodinámica de producir mayores cantidades de compuestos tales como el etanol, lactato, propionato, butirato, etc; lo que no es interesante para el sistema, porque esta diseñado para una producción máxima de acetato, principal precursor del metano en los reactores anaerobios (Guyot, 1990).

En los digestores anaerobios, las bacterias metanogénicas hidrogenofílicas son las que mantienen la concentración de hidrógeno en los niveles requeridos.

Algunas de las bacterias que metabolizan los AGV a acetato son: Syntrophomonas wolfei la cual oxida ácidos monocarboxílicos saturados de C4 a C8 y S. Wolinii la cual oxida propionato a acetato entre otras (Boone, 1980; Guyot, 1990).

## Bacterias homoacetogénicas.

Este grupo es capaz de transformar una mezcla de hidrógeno-dióxido de carbono, y de algunos sacáridos, tal como la glucosa y fructosa, en acetato únicamente (Schlegel).

## Metanogénesis.

Esta etapa, es la última en el proceso de la degradación anaerobia de la materia orgánica, y es llevado a cabo por el grupo de las bacterias metanogénicas. Habría demasiado que decir sobre este grupo de bacterias que tienen particularidades fisiológicas y metabólicas particulares. Las bacterias metanogénicas son anaerobias estrictas y es necesario tener potenciales redox inferiores a –330 mV para que pueda iniciarse la metanogénesis. Estas dos características hacen que estas bacterias deban ser manipuladas en condiciones de anaerobiosis perfectas. Existen especies mesófílas y especies termófílas.

Las particularidades bioquímicas de las bacterias metanogénicas, tal como la composición particular de su pared, unas secuencias nucleotídicas, enzimas hidrogenasas, sus coenzimas (por lo que requieren de metales tales como el níquel, fierro, cobalto y selenio) y metabolismo, las clasifican en las Archaebacterias, al cual pertenecen también bacterias extremadamente termófilas y extremadamente halófilas (Guyot et al., 1990)

Los microorganismos metanogénicos carecen de ácidos grasos en sus membranas y en su lugar tienen hidrocarburos unidos al glicerol. Una de las características por la cual las membranas de las arqueobacterias son únicas es que poseen pseudo-peptidoglicano el cual está compuesto por repeticiones alternas de dos aminoazúcares, N-acetilglucosamina y ácido N-

acetiltalosaminurónico; éste último compuesto es único en las arqueobacterias (Guyot et al, 1990).

Hay por lo menos 10 sustratos que se convierten en metano por la acción de uno u otro metanógeno. El CO<sub>2</sub>, es un sustrato casi universal, donde los electrones necesarios derivan, por lo general del H<sub>2</sub>. Los metanógenos crecen sobre H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>, son autotróficos y el CO<sub>2</sub> sirve tanto de fuente de carbono como de aceptor de electrones. Además del CO<sub>2</sub> hay otros compuestos que algunas especies metanogénicas convierten a metano. La formación de metano a partir de H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>, se considera del tipo de respiración anaeróbica, donde el CO<sub>2</sub> es el aceptor de electrones. Sin embargo, estudios bioquímicos señalan la ausencia de un sistema convencional de transporte de electrones con citocromos y quinonas en los metanógenos que crecen sobre H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>.

Las bacterias metanogénicas tienen en común la presencia de coenzimas que no se encuentran en otros géneros de bacterias, tal como:

- 1) La coenzima M o HS-CoM: participa en la etapa final de la formación de metano. La coenzima M tiene una estructura muy sencilla, que tiene el nombre químico de ácido 2-mercaptoetanosulfónico, el cual se reduce y se genera metano por el complejo enzimático metil reductasa-F<sub>430</sub> en la etapa final de la metanogénesis.
- 2) El cofactor F<sub>420</sub>, que es un transportador de electrones de bajo potencial y en los medios anaerobios se encuentran únicamente en las bacterias metanogénicas. Diferentes análogos del F<sub>420</sub> existen, todos tienen en común el mismo cromóforo (8-hidroxi-10metil-5-deazaisoalloxazine o 8-HMDI) y una cadena lateral específica. Cuatro formas diferentes de este cofactor pueden

- existir según el número de residuos (n) de ácido glutámico de la cadena lateral (Guyot et al., 1990).
- 3) La metanopterina (MPT) o factor F<sub>342</sub>, es una coenzima metanogénica que contiene un anillo de pterina sustituida, presenta una fluorescencia azul brillante después de una absorbancia a 342 nm. Es la coenzima que se relaciona con la transportación de moléculas monocarbonadas
- 4) El metanofurano, es una coenzima de bajo peso molecular que interactúa en la primera etapa de la metanogénesis a partir de CO<sub>2</sub>. Es la coenzima que se relaciona con la reducción del dióxido de carbono.
- 5) El factor o coenzima F<sub>430</sub>, desempeña una función íntima en la etapa terminal de la metanogénesis como parte del sistema de la metilreductasa. El requerimiento del níquel para el desarrollo de los metanogénos es un reflejo de la abundancia de F<sub>430</sub> en las células debido a mediciones cuidadosas que han demostrado que la mayor parte del níquel de las células de los metanógenos está asociado con el sistema de la metil reductasa/ F<sub>430</sub>.
- 6) El componente B o 7-mercaptoetanoiltreoninafosfato (HS-HTP), es la coenzima final única de los metanógenos. Participa en la etapa terminal de la metanogénesis catalizada por el sistema de la metil reductasa. HS-HTP se asemeja a la vitamina ácido pantoténico y sirve como un donador de electrones al sistema de la metil reductasa.

## Bacterias metanogénicas

Las bacterias metanogénicas oxidan un número reducido de sustratos: hidrógeno, formiato, metanol, metilaminas, acetato, etanol, 2-propanol, y

ciclopentanol. Básicamente, estas bacterias se pueden dividir en dos grandes grupos tróficos, esta simplificación permite entender mejor la fisiología microbiana de los reactores:

Las bacterias hidrogenofílicas no acetoclásticas: obtienen su energía de la oxidación del hidrógeno en presencia de dióxido de carbono como aceptor de electrones. La mayoría pueden utilizar al formiato.

Estas bacterias no pueden utilizar el acetato como fuente de energía pero unas lo pueden utilizar como fuente de carbono.

Los ejemplos más clásicos de estas bacterias y las más utilizadas en estudios bioquímicos y fisiológicos son:

- Methanobacterium formicicum
- Methanospirillum hungatei
- Methanobrevibacter sp.
- Methanobacterium thermoautotrophicum (especie termofilica).

Las bacterias metanogénicas acetoclásticas: producen metano a partir del grupo metil del acetato. Esta reacción es de suma importancia para la digestión anaerobia, dado que el 73% del metano producido por los digestores anaerobios viene del acetato.

En este grupo de bacterias, algunas pueden utilizar el metano, las metilaminas, metilsulfuros y el hidrógeno (Boone, 1991).

Las bacterias metanogénicas acetoclásticas pueden dividirse en dos subgéneros:

 Las bacterias del género Methanosarcina: son seudosarcinas que tienen una baja afinidad por el acetato, pueden ser inhibidas por el hidrógeno y el formiato.

- Además del acetato, estas bacterias pueden utilizar las metilaminas, el metanol, y algunas el hidrógeno.
- 2) Las bacterias del género *Methanosaeta*: son bacilos que forman largos filamentos fácilmente identificables en la observación microscópica. Tienen una K<sub>M</sub> para el acetato entre 0.7 y 1.2 mM y tiempos de generación entre 65 y 70 horas. Las bacterias de este género no utilizan el hidrógeno y el formiato, así como el metanol y las metilaminas. No son inhibidas por el hidrógeno y el formiato. Dada la gran afinidad de las *Methanosaetas* por el acetato, en los digestores anaerobios se prefiere tener lodos con un alto contenido de este grupo de bacterias. Por lo general, los lodos granulares de los reactores RAFALL contienen un alto contenido de *Methanosaeta* (Guyot et al, 1990).

## Reactor anaerobio de flujo ascendente de lecho de lodo (RAFALL)

Para el tratamiento de esta agua residual se han usado Reactores Anaerobios de Lecho de Lodos de Flujo Ascendente (RAFALL). El RAFALL consta de 4 partes esenciales. 1) el reactor propiamente dicho, es donde proliferan los organismos aerobios que transforman la materia orgánica en biogás y nuevos organismos, 2) una zona de transición donde el movimiento del agua hacia arriba tiende a arrastrar a los microorganismos que no están aglutinados en flóculos o esferas (fenómeno conocido como elutriación, de latín *elutrio, elutriatum*, arrastrar) y en la que se busca evitar que esas partículas salgan con el efluente tratado, 3) una zona de separación del gas de la fase líquida, y 4) colectores de agua tratada y de gas en la parte superior.

El RAFALL está clasificado como digestor de alta tasa debido a que soportan cargas de sólidos mayores y los sólidos totales se reducen en un 40-50% (Castro et al. 2001).

Los reactores modernos anaerobios de alta tasa son típicamente aplicados al tratamiento de aguas residuales de alta carga (DQO>1000 mg/ l) a temperaturas en el rango mesofílico (25-40°C). En la actualidad, prácticamente todas las aplicaciones a gran escala del tratamiento anaerobio son restringidas para aguas residuales con temperaturas que exceden los 18°C. Muchos tipos de aguas residuales tienen temperaturas mas bajas al rango mesofílico (< 25°C) y normalmente requieren de la adición de calor para un tratamiento eficiente. Los valores de DQO de muchos desechos industriales, tales como, la del alcohol, bebidas embotelladas, reciclaje de papel, frutas y vegetales enlatados, aguas residuales domésticas están por debajo de 1000 mg/ l, efluentes de agua diluida son también de bajas temperaturas. El tratamiento anaerobio exitoso de tales aguas residuales sin la adición de calor será un gran logro que pudiera tener un impacto enorme en la reducción del costo y los requerimientos de energía para el tratamiento de aguas residuales ( Banick).

## Aplicaciones de la digestión anaerobia

Existen trabajos realizados alrededor del mundo en los que se han tratado aguas provenientes de la industria láctea mediante digestión anaerobia.

El uso de reactores anaerobios es una técnica ampliamente utilizada alrededor del mundo, investigando la influencia del tiempo de retención hidráulica, de la concentración de materia orgánica así como la producción de biogás entre otras cosas.

En estudios realizados por Fang et al., (2002) se investigó la influencia del tiempo de retención hidráulica en un reactor RAFALL a un pH de 5.5 y a 37°C.

obteniendo que la degradación de gelatina incrementa con el tiempo. También Yu et al., (2002). Estudiaron la influencia de la temperatura y el pH en la acidificación de aguas residuales ricas en gelatina, demostrando que el pH y la temperatura afectan la acidogenesis; encontrando que a pH 5 y 6 es zona de transición de etapas.

Rajeshwari et al., (1999) estudiaron la digestión anaerobia, los resultados concordaron con los de Yu et al., (2002) y encontraron que la digestión anaerobia es altamente dependiente del pH, el cual para bacterias metanogénicas está entre 6.8 y 7.2, aunque por las bacterias ácido génicas es deseable un pH mayor. Ammann et al.,(1990) mencionan que a tiempos de retención hidráulica cortos puede haber lavado de biomasa. Fernández et al., (2001) al hacer un estudio sobre aguas residuales de industrias lácteas señalan que el uso de la digestión anaerobia es restringido porque la caída del pH inhibe la conversión de ácidos a metano; por lo que se necesita agregar algún amortiguador para contrarrestar este efecto; También Elefsiniotis et al.,(1993), obtuvieron resultados interesantes en un estudio realizados en un reactor mixto y en un reactor RAFALL, indicando que los rangos específicos de producción de AGV y la solubilización de DQO en cada sistema no se ve afectado por la variación en pH entre 4.3 y 5.2, pero a pH elevado los valores tienen un declive significativo entre 25-30%.

En cuanto a la remoción de ácidos grasos volátiles en el tratamiento anaerobio se llegó a la conclusión de que los mayores porcentajes de remoción de AGV se llevaron a cabo en los TRH más altos y que la dinámica de formación y consumo de los ácidos grasos volátiles en un sistema anaerobio se rige por la composición de la biomasa activa y la concentración inicial de ellos en el sustrato utilizado (Vázquez et al., 1999).

Vekken et al.,(2000) encontraron que existe una relación entre la concentración de AGV y el pH, lo cual depende de la composición de los desechos, puede diferir y causar cambios en el proceso.

Pereira et al.,(2003), mencionan que los ácidos grasos de cadena larga afectan la actividad acetogénica, acetoclásica e hidrogenofilica; este efecto es severo para que la actividad metanogénica.

Fang et al.,(1994) estudiaron la degradación anaerobia del butirato en un reactor RAFALL de 2.8 l. de capacidad consistiendo en remover de 97 a 99% de DQO con rangos de carga de 31 g DQO /l /día. De todo el DQO removido, el 94.5% fue convertido a metano; Para el estudio de remoción de metano se puede acceder usando test de actividad metanogénica (Jawad et al., 1999).

En un estudio realizado por Carta et al.,(2002) utilizando agua sintética con una concentración inicial de 4000 mg./L de DQO y un pH de 11.5 a una temperatura de 30°C, en reactores batch, encontraron que la carga orgánica es reducida y mineralizada liberando amonio y fosfato.

El tiempo de retención hidráulica afecta el grado de acidificación incrementándolo al igual que la biodegradabilidad de los principales constituyentes del agua residual de lácteos. Fang et al., (2000) al estudiar el efecto del TRH en la acidogenesis mesofílica de aguas residuales lácteas señalaron que el TRH tiene un efecto significante en la distribución de los productos del efluente a excepción del butirato.

Álvarez et al., (2000) al analizar la influencia del inoculo y el pH inicial de una biodegradación de un efluente lácteo encontraron que el pH en el cual se trabaja mejor con este tipo de agua residual es entre 8.5 y 11.

En un reactor de 2.8 L., Yu et al., (2000) encontraron que la baja conversión de proteína bajo condiciones ácidas puede ser atribuida a la baja solubilidad de la proteína y la actividad enzimática decreciente. La degradación de contaminantes lácteos incrementa con un pH de 4 a 5.5. El incremento del pH aumenta la degradación de carbohidratos, proteínas y lípidos escasamente; basados en la DQO, 48.4% de los contaminantes lácteos fueron convertidos en ácidos grasos volátiles y alcohol, 6.1% a biogás y 4.9% en biomasa.

Ramasamy et al., (2000) llevaron a cabo un estudio con agua láctea sintética en un reactor de tanque agitado usando TRH desde 5 hasta 15 días; encontrando que cuando éste decrecía el grado de biogás se incrementaba siendo más productivo el TRH de 10 días, con un rango de producción de biogás entre 56 y 58%.

Al estudiar Yu et al., (2000) la acidificación termofílica de aguas residuales lácteas encontraron que el grado de acidificación disminuye con el incremento de la demanda química de oxigeno a un rango de carga de 4 g/l/día. Los carbohidratos son rápidamente degradados a estos rangos pero no las proteínas y lípidos. En este estudio solo el 2.5-2.8% del influente fue convertido a biogás, lo cual concuerda con estudios llevado a cabo por Dinopoulou et al.,(1987).

Vidal et al.,(2000) estudiaron la influencia del contenido de grasas, encontrando que las condiciones de operación en la carga orgánica de un reactor anaerobio para tratamiento de efluentes lácteos son entre 3 y 5 g DQO/L. Las

cifras anteriores son recomendadas porque estas condiciones garantizan los altos niveles de biodegradabilidad y metanización de esta agua y eliminan problemas de flotación.

Al estudiar la acidogenesis a varios niveles de pH, Yu et al.,(2002) encontraron que a pH 5.5 el 95% de los carbohidratos, 82% de proteínas y 41% de los lípidos fueron degradados. Al incrementar el pH una unidad, incrementa la producción de ácidos y alcohol a dúo con su conversión en biogás.

En una investigación sobre el efecto de la resiembra y el control del pH realizada por Ghaly et al.,(2000) se encontró que el tiempo óptimo de retención para aguas residuales con queso ácido fue de 15 días y que a pH bajos ocurre una inhibición irreversible del grupo bacteriano. Con el sistema de resiembra se obtuvo una reducción de DQO del 62%.

Gavala et al.,(1998) estudiaron el tratamiento de una agua residual de lácteos en un reactor RAFALL de 10L, operando en un rango de 6.2 a 7.5 gr. DQO litro/día. Dichos autores lograron resultados favorables, al tratar aguas residuales con alto contenido de materia orgánica, pero requirieron tiempos de retención hidráulica muy elevados.

La flotación de lodo y/ o el desarrollo de lodos con diferentes características físicas y/ o pobre actividad son atribuidos a la presencia de grasas Perle et al., (1995) y Rinzema et al.,(1993) reportaron flotación de lodo y un total lavado de lodo en reactores RAFALL con una carga de lípidos excediendo de 2-3 g DQO/I/d.

Alves et al., (1997) operaron dos reactores anaerobios de lecho fijo los cuales trataban agua residual de lácteos con una carga orgánica por arriba de 9 g DQO/l.d y mostraron que la presencia de altas cantidades de lípidos afectaba fuertemente el total funcionamiento, pero reducía la adherencia de la biomasa; aunque la biomasa contenida en ambos reactores fue prácticamente la misma. También concluyeron que la actividad metanogénica usando butirato como el substrato fue mejorada por la presencia de lípidos, pero no se observó una respuesta significativa con otros productos intermedios.

Por otra parte, la adsorción de grasas por la superficie del lodo anaerobio puede limitar el transporte de substratos solubles a la biomasa y consecuentemente causar la disminución de conversión de los substratos (Sayed et al., 1988; Rinzema et al., 1993). Petruy y Lettinga (1997) mostraron que el 70% de los lípidos fueron adsorbidos por el lodo granular, dentro de aproximadamente un día, y después de eso los lípidos retenidos fueron lentamente convertidos a gas metano. Sayed et al., (1988) reportaron similares problemas de adsorción en los flóculos del lodo en aguas residuales ricas en proteínas.

Estudios llevados a cabo por Hanaki et al., (1981), muestran que los ácidos grasos de cadena larga afectan la cantidad de hidrógeno producido por las bacterias acetogenicas, las cuales son responsables de la β-oxidación de AGCL.. La inhibición de acetogenicas y metanógenas acetotróficas causa una pronunciada fase de retraso en experimentos batch, mientras la inhibición de bacterias metanogénicas hidrogenotróficas solo causa una disminución en la conversión de hidrógeno.

#### **MATERIALES Y METODOS**

## Ubicación del experimento

La realización de este trabajo se llevo a cabo en el laboratorio de Biotecnología Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila con sede en Saltillo Coahuila.

## **Material Experimental**

Para esta investigación se utilizó principalmente un reactor anaerobio de flujo ascendente, mejor conocido como RAFALL cuyas características son las siguientes:

Está elaborado con material acrílico, con una altura de 1.89 m., con 52 litros de capacidad total; siendo 1.97 litros de fase gaseosa, una fase hídrica de 32.4 litros y 17.63 litros de lodo granular.

Este reactor fue diseñado en el Lab. De Biotecnología Ambiental del Departamento de Biotecnología. El reactor contaba con una entrada para el Influente y una salida para el efluente y con 12 puertos a lo largo del reactor con una distancia entre ellos de 3 cm.

## Descripción del experimento.

En estudios previos realizados en el laboratorio con este tipo de agua residual se encontró que debido a su alto contenido de materia orgánica; necesitaba diluirse para obtener una mayor eficiencia del reactor, por lo que se prepararon diluciones en agua residual municipal hasta obtener una DQO de 6gr/l y un pH de 9, con el fin de amortiguar la acidificación por la formación de AGV (Rodríguez Mtz.,2004). Las diluciones con agua residual municipal fueron con el fin de no utilizar agua ya tratada, puesto que esta agua contiene una DQO de 1 g/l. En investigaciones revisadas, el rango en el que se trabaja es entre 3 y 7 g/l de DQO. Vidal et al (2000) menciona que a mayor carga orgánica resulta contraproducente el uso de tiempos de retención muy largos debido a su costo de operación.

Se reguló la entrada del agua problema al reactor, con la ayuda de una bomba peristáltica Simon marca Manostat ® ; se elaboraron pruebas de la demanda química de oxigeno (DQO), formación de metano y ácidos grasos volátiles (AGV), de muestras tomadas del efluente del reactor así como la determinación de la actividad metanogénica por medio de sólidos totales suspendidos (STS) y sólidos volátiles suspendidos (SVS) del lodo contenido dentro del mismo.

El lodo utilizado en el reactor es un lodo granular anaerobio proveniente de una planta tratadora de agua residual, de una industria cervecera de la ciudad de Zacatecas.

Determinación de tiempos de retención hidráulica.

Para poder iniciar un tratamiento del experimento en el reactor RAFALL se necesita poner la bomba a determinada velocidad, para que la fase hídrica contenida en el reactor se desplace en el tiempo indicado. A esto se le llama tiempo de retención hidráulica (TRH) buscando él óptimo en el cual ocurra mayor disminución de degradación de materia orgánica en términos de DQO.

#### Análisis del efluente del reactor.

Para esta determinación se tomaron muestras de 3-5 ml del agua modelo tratada, en intervalos de 24 horas o cada que se hacía un aumento en la carga orgánica. De estas muestras se hacía la determinación de DQO, concentración de AGV y pH.

## Establecimiento del pH óptimo.

Para que el tratamiento del agua residual se dé de una manera satisfactoria es necesario elevar el pH del la misma, ya que dentro del reactor se puede crear un entorno ácido por la concentración de los productos intermedios (AGV).

La regulación de éste parámetro se llevó a cabo agregando solución de hidróxido de sodio (NaOH) 6 N al agua para elevar el pH del influente a 9, agregando aproximadamente 120 ml. de NaOH 6 N, por cada 80 litros de agua residual; se agita y se monitorea el pH en un pH-metro previamente calibrado con soluciones buffer de 4 y 7.

#### Determinación de la velocidad de reacción.

Para la determinación de la velocidad de reacción se hace una regresión lineal de las velocidades de formación de metano y la carga orgánica volumétrica, en los diferentes tiempos de retención hidráulica utilizados en el experimento. La ecuación de la recta dada nos indica el orden de la reacción que corresponde a la ecuación InV = In K + n InCOV(Rodríguez Mtz. et al., 2002).

## Determinación de la actividad metanogénica.

Para el calculo de éste parámetro son necesarias las velocidades de formación de metano de cada TRH, divididos entre los sólidos volátiles

## suspendidos (SVS) los cuales se analizaron tomando en cuanta el lodo contenido en el reactor, al finalizar el experimento

## Técnica para determinar la demanda química de oxígeno (DQO).

La Demanda química de oxigeno se define como la cantidad del oxidante específico que reacciona con la muestra bajo condiciones controladas. Debido a sus propiedades únicas, el ion dicromato (Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) es el oxidante específico en este método y se reduce a ion crómico (Cr<sup>3+</sup>) en estas pruebas.

<u>La materia orgánica es oxidada por el dicromato de potasio en un medio</u> fuertemente ácido en presencia del catalizador (Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). La coloración pasa de un color amarillo a verde-azul y se lee a una absorbancia de 600 nm.

Se debe encender el termo-reactor (Digestor Thermoreaktor TR300) y dejar calentar por 30 minutos, para alcanzar la temperatura adecuada (150° C).

Mientras tanto, en un tubo HACH con tapón de rosca se añaden 3.5 ml. de solución de ácido de plata y 1.5 ml. de la solución digestora de dicromato de potasio. Después se agregan 2.5 ml de la muestra a analizar; si la concentración de DQO es alta (>1000 ppm) se adicionan solo 250 µl. de muestra . y se prepara un blanco añadiendo agua destilada. Posteriormente se tapa, se agita por inversión lentamente y se colocan los tubos en el termo-reactor por un tiempo de 2 horas.

Transcurrido el tiempo se sacan los tubos y se deja que se enfríen a la temperatura ambiente, para luego leerlos en el espectrofotómetro HACH DR-2010, a una longitud de onda de 600 nm

Por último se calcula la concentración de la DQO con la curva estándar por medio de la curva de calibración. (APHA, 1998)

#### Técnica para determinar metano en el biogás.

La determinación de la composición del biogás fue realizada por cromatografía de gases, utilizando un detector de conductividad térmica (DCT).El principio de este análisis es el siguiente: la respuesta producida por un cambio de

conductividad térmica es registrada después de compararse con la producida por el gas de referencia; si la muestra problema es distinta al estándar se produce un desequilibrio térmico que es detectado y convertido en un estímulo eléctrico, el cual se representa en el cromatograma como un pico que es característico a ese compuesto, a un determinado tiempo de retención.

Se hace una curva de calibración con los estándares de los gases a diferentes concentraciones; los cuales son inyectados en el cromatógrafo de gases Varian 3400 equipado con un detector de conductividad térmica (DCT) y una columna GC-Q J & W SCIENTIFIC CAT. 115-3432, para obtener el cromatograma y la curva de calibración que se utilizará para la determinación de la concentración de la mezcla de gases problema por extrapolación.

Se toman 25 µl de la muestra problema y se inyectan al cromatógrafo de gases bajo las siguientes condiciones de operación: temperatura de la columna de 50 °C al final de la corrida (por 4 minutos), temperatura del inyector de 200 °C, temperatura del detector de 200 °C y a una temperatura del filamento de 260°C.

La lectura es en mV, los cuales se convierten en g metano o nitrógeno / l a partir de la curva de calibración. (APHA., 1998)

#### Técnica para determinar ácidos grasos.

La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) fue monitoreada en un cromatógrafo de gases (Varian 3300) equipado con una columna capilar J&W DB-FFAP y un detector de ionización de flama (utilizando gas hidrógeno) y usando helio como gas acarreador; inyectando 1 μl de muestra de fase liquida (anteriormente centrifugada a 5000 RPM durante 10 minutos) del reactor.

La muestra se evapora en la entrada de la flama pasando después a la columna en donde se analiza con un tiempo de corrida de 10 minutos. Las condiciones de operación son las siguientes: temperatura del detector 250° C, temperatura del inyector de 250 °C, y la temperatura de la columna al inicio es de 150° C. Después se calienta a una velocidad de 10° por minuto hasta alcanzar una temperatura de 230° C. La lectura es en mV los cuales se convierten en gramos del ácido correspondiente, a partir de una curva de calibración.

### Determinación de sólidos totales suspendidos

Se colocó papel filtro dentro de la estufa a una temperatura de 100°C ±3 dejándose ahí durante 6 horas hasta llevarlo a peso constante. Después de este paso se introdujo en el desecador que debe tener un desecante (ya sea sílica gel o sulfato de cobre que viran al tener cierto grado de humedad. Si viró es necesario ponerlo a secar a 100°C por seis horas). Se deja atemperar al ambiente, después se pesa tomando el papel filtro con pinzas para crisol para evitar pasarle grasa o humedad de las manos. Este peso se anota en la bitácora y representa el peso del papel filtro solo. Terminado este paso se conecta la bomba para crear vacío al matraz Kitazato o al frasco con filtro; se coloca el papel filtro, se humedece y se filtra el lodo contenido en el reactor (es necesario haber cortado por la cantidad de filtros en base a los reactores que se hicieron para el experimento). Filtrado el lodo, este se introduce a la estufa y se deja secar durante 8 horas. Terminado este periodo, se pasa al desecador y se deja atemperar, se pesa y se anota en la bitácora. Al papel filtro seco se le resta el peso del papel filtro.(APHA, 1998)

#### Sólidos volátiles suspendidos

Después de haber pesado el papel filtro con el lodo se coloca dentro de un crisol de porcelana y se quema en una mufla a 600°C por 2 horas; se realizan las operaciones correspondientes. (APHA, 1998)

### **RESULTADOS Y DISCUSIONES**

Eficiencia de remoción de materia orgánica mediante Demanda Química de oxigeno (DQO) con diferentes tiempos de retención hidráulica y carga orgánica Volumétrica (COV).

Los resultados obtenidos se simplifican en el cuadro 3 en el cual se observan los gramos por litro de metano, la eficiencia de remoción de la DQO en porcentaje la demanda química de oxigeno en porcentaje y la carga orgánica volumétrica obtenida en los diferentes tiempos de retención hidráulica

EL TRH de 12 días trabajo con una carga orgánica volumétrica de 0.5 gr/l/d, el pH inicial al igual que los demás tratamientos fue de 9 y al lo largo del experimento fue descendiendo hasta tomar un valor de 7.2. Su eficiencia de remoción de materia orgánica fue del 80% y alcanzó una acumulación de metano de 3.65 gr/l que en mililitros representan 1680 ml.

Al disminuir la COV a 0.6g/l/d en TRH de 10 días, se obtuvo un 77% de eficiencia de remoción de DQO, y 3.4 de gr/l de metano (1617 ml), su pH tuvo un declive experimento hasta legar a 7 al finalizar.

La eficiencia de remoción de el TRH de 8 días fue de 70% y su acumulación de metano al terminar fue de 2.3 gr/l (1470 ml). Se manejó una COV de 0.75gr/l/d y su valor final del pH fue de 6.9,

Por último el TRH de 4 días obtuvo un porcentaje menos eficiente de remoción de DQO (38%), en comparación con los otros, manejándose una COV de 1 gr/l/d la acumulación de CH<sub>4</sub> presente fue de 0.79 gr/l (1050 ml) y disminuyendo su pH a 6.5 al final del experimento.(Cuadro 3)

La eficiencia de remoción se vió favorecida en el TRH más alto, en el cual la carga orgánica era de 0.5 g/l/d. Aunque no hubo gran diferencia con el TRH de 10 días También se observó una relación entre la formación de metano y la remoción de materia orgánica.

En la figura 2 se muestra el comportamiento de la ER y los ml de metano en función del TRH en los cuales se observa claramente como al aumento del TRH incrementa también la eficiencia de remoción y la acumulación de CH<sub>4</sub>. en ml e indicándome que existe una relación entre el TRH y la eficiencia de remoción de la materia orgánica. Entre más alto sea el TRH, mayor eficiencia se obtuvo. Lo anterior va de la mano con la formación de producto que es el metano.

Al comparar los datos entre sí podemos ver el comportamiento de los TRH a lo largo del experimento. El TRH que en comparación con los otros obtuvo mayor remoción fue el de 12 días con un 80% y el de menor remoción fue el TRH de 4 días con una eficiencia de remoción del 38%. La eficiencia de remoción de la DQO y formación de metano fueron incrementando conforme aumenta el TRH.

# Comportamiento del reactor anaerobio de flujo ascendente de lecho de lodos en los diferentes tiempos de retención hidráulica.

TRH días	CH₄ g/l	CH₄ en ml	ER % DQO	COV g/l/d	pH inicial	pH final
4	.79	1050	38	1	9	6.5
8	2.30	1470	70	0.75	9	6.94
10	3.46	1617	77	0.6	9	7
12	3.63	1680	80	0.5	0	7.2

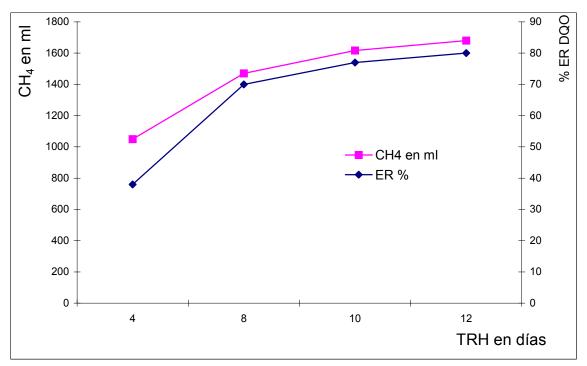


Figura 2 ER en % y ml de metano en función del tiempo de retención hidráulica en el tratamiento de agua residual de la industria láctea.

Vazquez et al. (1999) indican que los TRH por encima de 8 días son los óptimos para trabajar con aguas residuales provenientes de la industria láctea; ya que se obtiene una mayor acumulación de metano que a TRH menores; permitiendo de esta manera que a TRH mas largos, el grupo de bacterias encargadas de la digestión anaerobia puedan asimilar mejor el sustrato del agua residual de lácteos; constituído principalmente por carbohidratos, grasas y lípidos, los cuales al ser degradados formaran productos intermedios(AGV), antes de ser formado el producto final deseado que es el metano.

(Ramasamy et al., 2000), estudiaron diferentes tiempos de retención hidráulica para el tratamiento de aguas sintéticas lácteas, obteniendo mayor formación de biogás a un TRH de 10 días, con un reactor de tanque con mezcla continua. Estos resultados son similares a los obtenidos en este trabajo de investigación, pero utilizando un reactor de lecho de lodo de flujo ascendente y agua residual láctea. (Fang et al., 2000), quien utilizó agua sintética, obtuvo a un

TRH de 24 hrs. una mayor formación de metano. Esto puede atribuírsele al hecho de que el agua sintética no contiene las mismas características químicas de un agua residual proveniente, directamente de la industria láctela igual que las condiciones de operación del reactor y el tipo de lodo utilizado en los mismos. Puede decirse que el utilizar influentes proveniente de industrias lácteas es mucho mas complejo que el tratar aguas sintéticas, lo cual requiere un mayor tiempo de retención hidráulica para su biodegradación; sugiriendo que el TRH tiene un efecto significante en la distribución de los productos del efluente. Ghaly et al.,(2000) encontró que el tiempo óptimo de retención para aguas residuales de elaboración del queso, fue de 15 días. Nuestros resultados difieren con los del TRH de éste experimento, que puede deberse a que los componentes del agua residual que van a fluctuar dependiendo de los procesos llevados a cabo.

La carga orgánica volumétrica disminuye variando desde 1 g/l/d hasta 0.5 g/l/d al aumentar el tiempo de retención hidráulica(Figura 3). Respecto a la carga orgánica volumétrica tenemos que al aumentar los días, la carga orgánica fue disminuyendo.

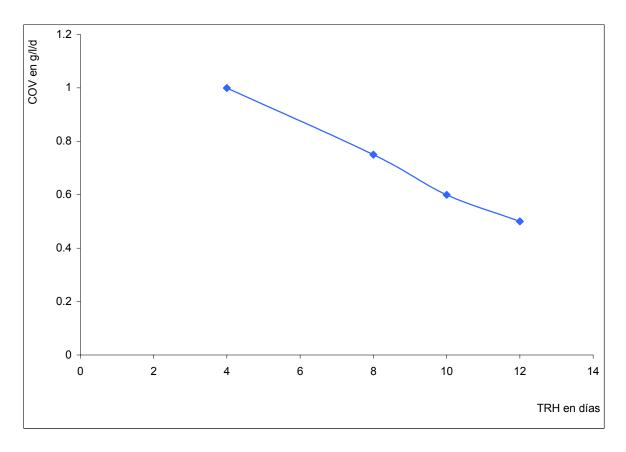


Figura 3 Relación entre la carga orgánica volumétrica (COV en g/l) y el tiempo de retención hidráulica (TRH en días).

La relación existente entre los TRH y la carga orgánica volumétrica es que en cuanto mayor sea la carga menor TRH se va a presentar, los TRH mas largos

(12 y 19 días) tuvieron cargas de 0.5 gr/l/d y 0.6 gr/l/d, siendo la mitad del TRH más corto (4 días), y al observar los resultados en vemos que la COV repercute en las variables tomadas en cuenta.

En la figura 3 se observa la relación entre los TRH y la COV, este efecto del tiempo de retención hidráulica sobre la carga orgánica volumétrica se ve influenciado en la remoción de la materia orgánica y en la velocidad de formación de metano. Esto concuerda con estudios realizados por Fang et al, (2002) en donde se uso agua residual rica en gelatina (constituida principalmente de carbohidratos) obteniendo que la degradación incrementa con el TRH, y decrece cuando se aumenta la carga orgánica

Fang et al. (1994) reportaron que la remoción de la materia orgánica expresada en demanda química de oxigeno (DQO) es dependiente de la concentración de la carga orgánica volumétrica en un reactor RAFALL concordando con los resultados obtenidos.

Vidal et al., (2000) obtuvieron varias conclusiones de su estudio sobre la influencia de diferentes concentraciones de carbohidratos, proteínas y grasas sobre la biodegradabilidad anaerobia de agua residual láctea, las cuales se pueden seguir para tratar este tipo de efluentes. La concentración de DQO recomendada para asegurar altos niveles de biodegradabilidad y formación de metano fue de 3 a 5 gr. de DQO, ya que ocurría una inhibición del proceso a concentraciones mayores a 6 gr DQO/l.

## Formación de biogás relacionando la formación de metano y la reducción de la Demanda química de oxigeno en el reactor .

La formación de metano en los diferentes tiempos se observa en el cuadro 1 en donde la mayor acumulación ocurre en el TRH mas alto, obteniendo 3.63 gr/l de producto, lo cual es 4.5 veces mayor que el obtenido en un TRH de 4 días.(Figura 4)

En cuanto a la generación de metano acumulado a lo largo de cada tiempo de retención hidráulica, en el tiempo de 12 días se obtuvieron 3.63 gr. de metano por litro; el TRH de 10 días 3.46 gr. CH<sub>4</sub>/I; 2.30 gr. CH<sub>4</sub>/I en el TRH de 8 días y en el TRH de 4 días se obtuvieron 0.79gr. CH<sub>4</sub>/I. Estos datos fueron obtenidos al final de cada TRH. Los datos se observan mejor en la Figura 4 la cual nos expone los gr/I de metano acumulado y los tiempos de retención, indicándome que a un TRH de 10 y 12 no hay una gran diferencia, ya que los datos están en el rango. La acumulación de metano se ejemplifica en la Figura 5.

La formación de biogás va relacionada con la ER DQO obtenida, en los TRH de 12 y 10 días se obtuvieron valores más altos de acumulación de metano y una eficiencia de remoción alta; comprándolos con los otros 2 TRH (8 y 4 días)en donde se presento una baja ER (70 y 38%, respectivamente) y valores pobres de acumulación de metano (0.79 gr/l y 2.3 gr/l)

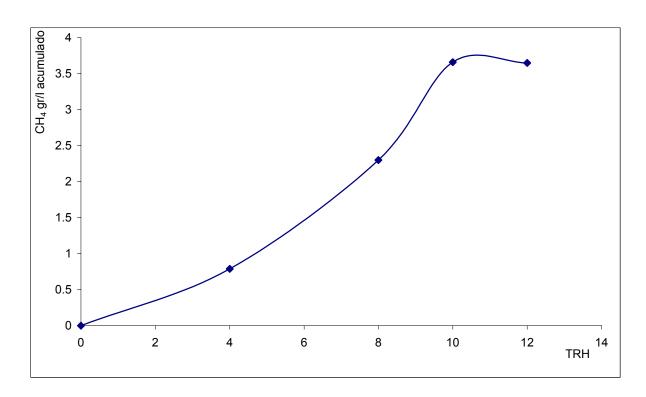


Figura 4 Relación del metano acumulado (gr/l) y el tiempo de retención hidráulica (día) en un reactor RAFALL.

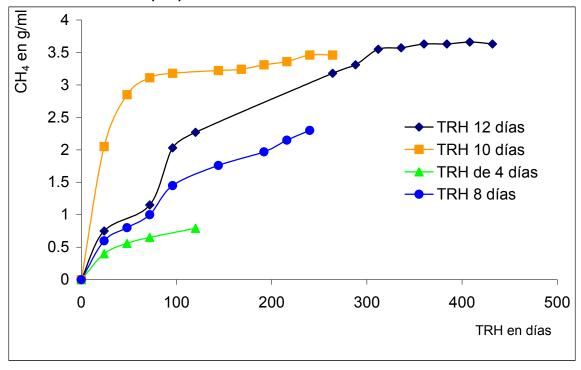


Figura 5 Cinética de formación de metano en g/l a diferentes TRH en un Reactor UASB, tratando aguas residuales de la industria de lácteos.

A mayores TRH la degradación de materia orgánica es mayor y por lo tanto existe una favorable formación de metano, ya que existe un mayor tiempo de exposición de la materia orgánica ante el grupo de bacterias en el reactor dándoles tiempo para degradar los diversos compuestos que se encuentran en el agua residual. Como sabemos los componentes del agua residual de lácteos le proveen una naturaleza compleja, por lo tanto, los tiempos de retención hidráulica de 10 y 12 días favorecieron la mayor formación de metano; esta información se observa con claridad en la Figura 5. Los datos concuerdan con investigaciones realizadas por Fang al en el 2002 (en agua residual con gelatina), Yang et al en el 2003 practicado en aguas residuales con residuos de la elaboración del queso, al igual que con Yu et al., (2000) que aunque trabajaron con diferentes TRH obtuvieron su mayor producción de biogás a TRH más altos.

En la figura 6 se observan las diferentes velocidades de formación de metano, mismas que se obtuvieron al graficar las pendientes en cada uno de las curvas de acumulación de metano, se muestra una velocidad mayor a un TRH de 10 días seguido por el de 12 días, en relación a los otros tiempos de retención ya que la diferencia entre ellos es pequeña.

Los datos cinéticos en los cuales se grafica concentración contra tiempo de los TRH de 4 y 8 días, tienen una pendiente menos pronunciada indicando una velocidad de formación de metano menor y en consecuencia, decrece la producción de metano,

A un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 10 días la velocidad inicial de formación de metano es mayor (3gr/l/h), en comparación a la observada a un TRH de 12 días (1. 86 gr/l/h), demostrando que a TRH altos va a haber una mejor actividad en el reactor.

Las velocidades de formación de metano de los TRH de 8 días fue de 0.876 gr/l/h y para el TRH de 4 días se logró una velocidad de formación de 0.6079 gr/l/h.

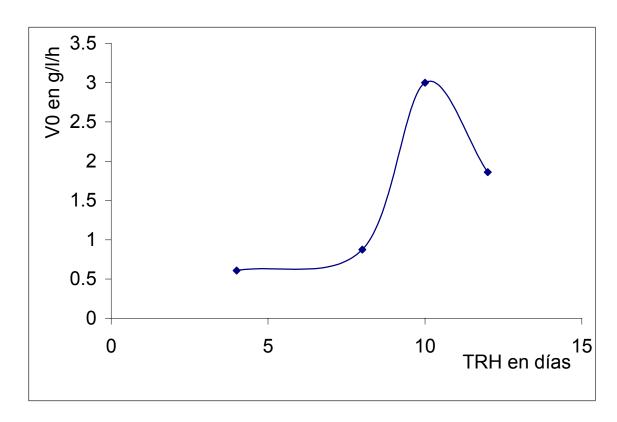


Figura 6. Comportamiento de velocidad inicial de formación de metano en función del TRH en días en un reactor RAFALL a partir de aguas residuales de la industria de lácteos con una concentración de 6 gr/l de DQO.

Con respecto al SVS, se obtuvieron 22.98 gr./l con los que se calculó la actividad metanogénica. En el Cuadro 4 se muestra que a un TRH de 10 días la actividad es más alta (0.031324 gr/l/día), pero que no varía mucho a comparación del TRH de 12 días (0.019142 gr/l/d) y en un TRH de 8 y de 4 días se alcanzó solamente una actividad de 0.0091465gr/l/d y 0.006347 gr./l/día respectivamente; siendo la más baja la del TRH de 4 días.

Graficando los logaritmos de las velocidades de formación contra la COV (figura 7) obtenemos una recta la cual sirve para identificar el orden de la reacción que en este caso es de casi primer orden por el resultado de n que es 0.7274. Esto tiene que ver con las sustancias participantes dentro de la reacción y la energía de activación. La grafica se obtiene mediante la relación de la carga orgánica volumétrica por la velocidad inicial de la reacción. Al decir que una reacción es de primer orden ésta indica que la velocidad de reacción es dependiente del consumo de los reactivos o de la formación de productos.

La ecuación a la que responden estos datos es a aquélla dada por:

Los logaritmos naturales se utilizaron para linealizar los resultados y así poder obtener la ecuación dada con anterioridad, con una R<sup>2</sup>= de 0.9985, indicándome que los datos no están muy alejados de la recta trazada.

En el orden de reacción se concuerda con datos presentados por Rodríguez et al., (2002) donde obtienen que en la biodegradación de el agua residual proveniente del rastro municipal es de primer orden, esto me puede indicar que no

se altera la ecuación cinética de la reacción al tratar diferentes aguas y que es dependiente del consumo de sustratos o la formación de productos.

En cuanto a la actividad metanogénica los datos obtenidos indican que las diferentes bacterias presentes trabajan mejor a TRH de 10 y 12 días ya que es donde se presentan los valores más altos. Cabe mencionar que de acuerdo a la formación de metano, el TRH de 12 días tuvo mayor eficiencia de remoción aunque no tuvo mayor actividad; puede deberse a que la actividad de otras bacterias que se encargasen de consumir los productos intermedios superaran en actividad a las encargadas de transformar el acetato a metano.

# Cuadro 4 Actividad metanogénica presente en los diferentes TRH aplicados en el experimento

TRH (días)	Actividad metanogénica (g/l/d)
4	0.006347208
8	0.009146494
10	0.03132361
12	0.019420639

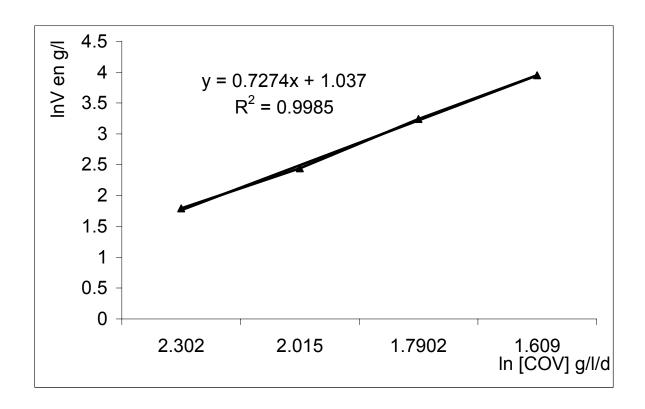


Figura 7. Relación de la formación de metano y la carga orgánica volumétrica de acuerdo a la ecuación InV = Ink + n In[COV]

En un estudio efectuado por Fernández et al (2001) señalan que la digestión anaerobia no es recomendable para las aguas residuales provenientes de lácteos lo cual está en desacuerdo con los resultados logrados de este trabajo que dan a conocer una eficiencia alta en cuestión a la remoción de materia orgánica.

### Formación y consumo de los ácidos grasos volátiles y su influencia sobre el pH en el reactor RAFALL a diferentes tiempos de retención.

El comportamiento de los ácidos grasos volátiles fue variable en cada uno de los TRH muestreados.

El ácido acético tuvo un menor consumo en el TRH de 4 días existiendo un consumo de 7.57 mg/ml, pero también hubo menor formación en comparación con los otros tiempos(Cuadro 5). El TRH que tiene un comportamiento más marcado

en cuanto a formación y consumo del producto intermedio acético, es el de 12 días, en el cual hay una formación inicial de 10.51 mg./ml de ácido acético y al final del experimento hay solamente 2.94 mg./ml.

En la Figura 8 se observa el comportamiento del ácido acético a los diversos TRH utilizados; mostrando que hubo consumo de acético aunque en diferentes proporciones, en el TRH de 10 días hay una formación mayor que los ácidos propiónico y butírico, en el TRH de 8 días y en el TRH de 4 la concentración de ácido acético es menor que la concentración de propiónico en el efluente, lo cual se puede deber a la composición del agua residual, ya que hay mayor formación de propiónico cuando la presencia de carbohidratos es mayor, al igual que por la COV que se le asignó al reactor en esos tiempos. Ghaly et al (2000) en su estudio obtuvo AGV de los cuales el de mayor concentración fue el ácido acético concordando con los datos obtenidos a un TRH de 12 y de 10 días.

Cuadro 5. Comportamiento del ácido acético (mg/ml) en el reactor RAFALL a diferentes tiempos de retención hidráulica.

	TRH				
Hora	12 días (mg/ml	10 días(mg/ml)	8 días(mg/ml)	4 días(mg/ml)	
0	10.51534	5.932515	13.17791	12.26994	
24	10.4908	5.349693	18.03681	13.12883	
72	5.067485	6.01227	23.19018	14.72393	
96	6.269939	6.01227	16.93252	14.84663	
120	6.748466	5.521472	14.60123	13.74233	
264	7.214724	5.190184	16.19632	13.37423	

1	1			i
288	5.042945	1.582822	16.31902	
312	5.631902	1.840491	17.17791	
336	4.08589	2.08589	16.56442	
360	2.208589	1.779141		
384	2.858896	1.717791		
408	2.93865			
432	2.93865			

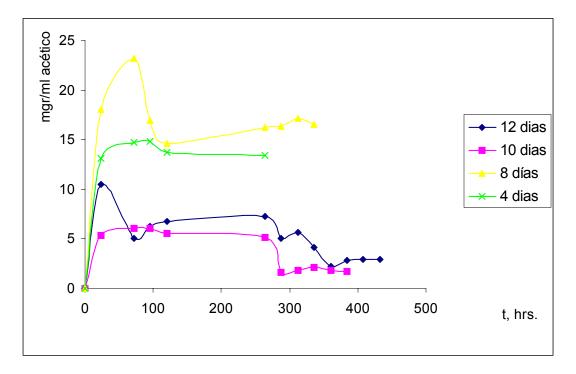


Figura 8. Comportamiento del ácido acético en un reactor RAFALL a diferentes tiempos de retención.

Dinopoulou et al., (1988) hace referencia que el grado de acidificación varía proporcionalmente con el TRH. Los ácidos acético y propiónico está relacionado con los parámetros operacionales, Esto muestra una tendencia del ácido acético a incrementar con el TRH al contrario del ácido propiónico que aumenta con la disminución del TRH. Los AGV se ven influenciados por el pH.

El comportamiento de los AGV es de acuerdo a lo que mencionando en Anderson et al.(1982) y Rodríguez et al (1998) ya que ellos mencionan que existe

la formación por acetogénesis de propiónico y butírico que darán lugar finalmente a la remoción de materia orgánica y formación de biogás.

Vazquez et al. (2000) concluyeron que la concentración final de AGV disminuye a TRH mas altos y que la dinámica de formación y consumo de los AGV en un sistema anaerobio se rige por la carga orgánica volumétrica del reactor. Lo cual concuerda con los datos hallados en el experimento ya que en los TRH de 4 y 8 días en donde existió mayor COV se observo disminución en relación a la formación de biogás y la ER de DQO (%).

Con respecto al ácido propiónico los datos se muestran en el Cuadro 6 viéndose que en el TRH de 4 días se mantiene muy estable sin presentar una disminución en sus valores siendo su acumulación mayor de 19.12 mg/ml y un consumo final de 16.28 mg/ml. En el TRH de 8 días hubo una acumulación mayor de 32.35 mg/ml y un consumo final de 21.09 mg/ml. En comparación con el TRH de 10 días, no hubo un movimiento considerable, fluctuando entre 4.83 mg/ml (el mas alto) y 1.99 mg/ml de consumo final.

El TRH de 12 días tuvo una formación inicial de 16.61 mg/ml y al final un consumo de 5.06 mg/ml.

A un TRH de 4 días se presentó una concentración más alta de ácido propiónico en el reactor provocando que la acumulación de metano fuese menor comparado con los demás TRH(Figura 10)

Cuadro 6. Comportamiento del ácido propiónico (mg/ml) en el reactor RAFALL a diferentes tiempos de retención hidráulica.

Hora	TRH
	12 días (mg/ml) 10 días(mg/ml)8 días(mg/ml)4 días(mg/ml)

0	0	0	0	0
24	14.7541	4.830601	15.30055	12.02186
72	7.989071	2.754098	32.34973	19.12568
96	7.857923	1.442623	23.60656	18.9071
120	4.284153	1.639344	21.31148	17.81421
264	7.47541	2.131148	22.0765	16.28415
288	5.169399	1.486339	22.95082	
312	6.054645	4.240437	21.85792	
336	5.431694	2.95082	21.0929	
360	3.551913	3.803279		
384	3.79235	1.989071		
408	5.060109			

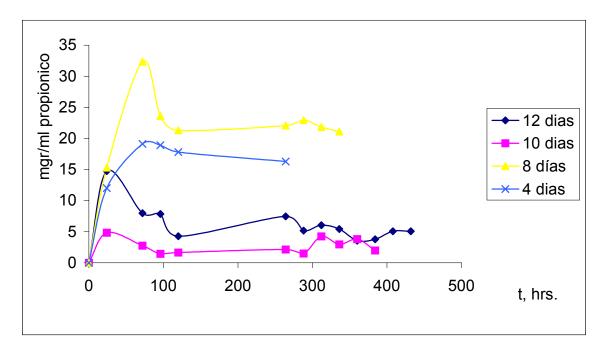


Figura 9. Formación y consumo del ácido propiónico a diferentes tiempos de retención hidráulica en un reactor RAFALL.

En el Cuadro 7 se observa el comportamiento del ácido butírico, mostrando que casi no hubo fluctuación en el TRH de 4 días que alcanzó una concentración de 14.25 mg/ml y un consumo final de 13.69 mg/ml y en el TRH de 10 días acumulación mayor de 3.17 y un consumo final de 2.38 mg/ml. El TRH de 8 horas tuvo un consumo final 15.08 mg/ml y una acumulación de 24.60 mg/ml de ác.

butírico y el TRH de 12 días tuvo un consumo final de 3.86 mg/ml y una formación mayor de 16.03 mg/ml .

El ácido butírico presentó una concentración casi constante a lo largo de los TRH de 8 días y de 4 días , pudo ser afectado por el bajo consumo de acético y propiónico, ya que aquí el consumo de este ácido es mínimo (Figura 10).

Los resultados de una cinética de degradación butirato, acetato e hidrógeno realizados por Birgitte et al.,(1986)indica que la concentración de ácido butírico es mínima con relación a los otros ácidos presentes en el medio.

El TRH de 12 días tiene fluctuaciones en cuanto a la concentración de los AGV a lo largo del experimento; que se relacionan entre sí , ya que al ir disminuyendo el ácido acético, se forman los ácidos propiónico y butírico; mostrando claramente la relación de las diferentes etapas de la digestión anaerobia. Elefsiniotis et al., 1994 expone en su trabajo que los ácidos grasos volátiles son usualmente los principales productos de la digestión acidogénica.

En resultados obtenidos por Yu et al (2002) al tratar un agua sintética de lácteos obtuvieron que la formación de metano es influenciada por el pH, el cual afecta la composición del biogás. El pH dentro del reactor se mantuvo en un rango de 6 a 7

Cabe mencionar que el pH se mantuvo en los valores cercanos al favoreciendo la degradación de agua residual en cuestión esto es mencionado en trabajos realizados por Yu et al (2002), Fang et al., (2002)

Cuadro 7. Comportamiento del ácido butírico (mg/ml) en el reactor RAFALL a diferentes tiempos de retención hidráulica.

	TRH			
Hora	12 días (mg/ml) 10 días(mg/ml) 8 días(mg/ml) 4 días(mg/ml			

I	1			1
0	0	0	0	0
24	9.920635	3.079365	18.25397	13.1746
72	5.825397	3.015873	24.60317	14.25397
96	6.52381	2.968254	17.30159	14.07937
120	2.84127	2.857143	14.74603	13.44444
264	8.666667	2	16.19048	13.69841
288	5.587302	1.666667	15.87302	
312	6.174603	1.587302	15.55556	
336	0.796825	2	15.07937	
360	2.650794	2.428571		
384	2.888889	2.380952		
408	3.857143			
432	3.857143			

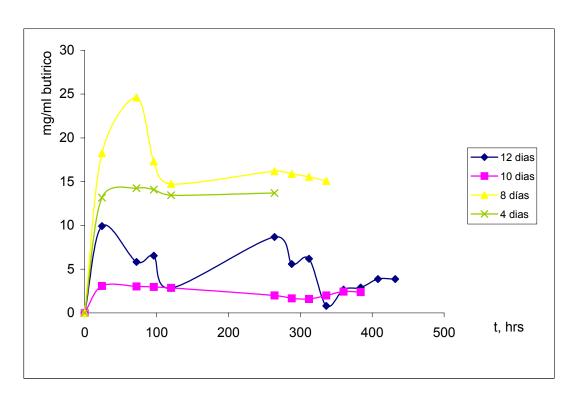


Figura 10. Formación y consumo del ácido butírico a diferentes tiempos de retención hidráulica en un reactor RAFALL.

Pereira et al., 2003., al estudiar la acumulación de ácidos grasos volátiles sobre un proceso anaerobio, expresa que el efecto tóxico de los ácidos grasos no es permanente, contrario a lo observado en este estudio, en donde a un TRH de 4 días el efecto tóxico provocado por la acumulación de los ácidos grasos volátiles no fue reversible y no existió la formación de metano esperada, ya que el efecto tóxico provocado por los ácidos grasos actúa sobre el transporte de substratos a las células bacterianas, participantes en el proceso de digestión anaerobia.

Los resultados logrados en este trabajo indican que a alta COV existe menor degradación del agua residual, habiendo acumulación de AGV y baja formación de metano, lo cual pudo suceder por una saturación del sistema debido a la concentración de los productos intermedios, lo que concuerda con Dupla et al., (2003) al llevar a cabo una evaluación de la carga orgánica en un reactor de lecho fijo.

Esa acumulación de los AGV conduce a una disminución del pH, por lo que es esencial que el reactor contenga suficiente capacidad buffer para neutralizar cualquier acumulación eventual de los mismos y con esto prevenir zonas ácidas en el digestor (Rajeswari et al., 2000) por lo que de no haberse aumentado el pH al inicio del tratamiento se hubiera presentado una acidificación del medio, Veeken (2000) explica en un estudio sobre el efecto del pH que la disminución de esta variable se debe a altas concentraciones de ácidos grasos volátiles; observándose en el TRH de 4 días en donde hubo mayor acumulación de los AGV.

### CONCLUSIONES

- El estudio realizado en el reactor anaerobio de flujo ascendente de lecho de lodos trajo como resultados para el tratamiento del agua residual de la industria láctea local, el TRH de 12 días y de 10 días tuvieron un comportamiento similar, pero es recomendable el TRH de 10 días ya que su velocidad de formación de metano es mayor y las variaciones entre sí no son altas.
  - La mayor eficiencia de remoción se obtuvo en un TRH de 12 días, siendo esta del 80%. Aunque éste TRH tuvo una menor velocidad de formación, su producción acumulada de metano fue mayor, esto comparándolo con los resultados del TRH de 10 días
  - Los ácidos grasos volátiles tuvieron un comportamiento de acuerdo a lo mencionado en la literatura en donde hubo formación y consumo para dar lugar a el producto final que es la formación de biogás.
  - ❖ En el TRH con mayor carga orgánica volumétrica (1 g/l/d) se obtuvo una menor eficiencia de remoción de materia orgánica(38%),por lo que se deduce que a menor carga orgánica habrá mejor consumo del sustrato por parte del grupo de bacterias presentes en el lodo.
- Al igual que en la eficiencia de remoción, la carga orgánica volumétrica se relaciona con el comportamiento de los AGV, ya que al aumentar la COV no se le da oportunidad a los microorganismos de desdoblar el sustrato y por lo mismo no existe un tratamiento eficiente.

### **RECOMENDACIONES**

Es recomendable incluir una fase de aclimatación de los microorganismos, para que el reactor trabaje eficientemente.

También es muy importante las diluciones del agua residual de lácteos con agua residual municipal ya que ésta ayuda a que se retarde la acidificación del agua a tratar.

El TRH de 10 días es el más recomendable ya que su actividad metanogénica y su velocidad de formación de metano es mayor. Al observar el metano acumulado en todos los TRH se observó que no hay demasiada fluctuación entre el TRH de 12 días y el de 10 y éste último nos reducirá costos.

Hay que tomar en cuenta que los resultados obtenidos en este trabajo pueden variar ya que dependen del tipo de lodo que se utilice; ya que no todos los lodos van a tener las mismas condiciones y la misma actividad bacteriana lo cual puede provocar fluctuaciones en los resultados.

### **LITERATURA CITADA**

- Álvarez. M. P. Pereda M. F. Carta E. A. Duran B. M. Guillen J. B.2000.
   Influence of inoculum and initial on pH on dairy effluent biodegradation and mineralization. Chemical Engineering Department. Spain.
- Alves M. M, Álvarez P. R. M., Mota V. J. A. Mota M. 1997. Effect of lipids on biomass development in anaerobic fixed-bed reactors treating a synthetic dairy waste. 2: 521-524
- American Public Health Association 1998 Standard methods for the examination of water and wastewater 20° ed. Ed. APHA, AWWA, WEF, Washington DC20005
- Ammann R.J. Brinder J. B. Olson R J. Crishol S. W. Devereux R. And Stlahl D. A. 1990 Combination of 16s rRNA- targeted oligonucleotide probes witty flow cytometry for analysing mixed microbial populations Appl. Environ. Microbiol. 56:1919-1925
- Aymerich M. S. 2000. Tratamiento de residuos lácteos. Dirección mercadeo y Agroindustria CNP.
- Bahring B. Westermann 1986 Kinetics of butyrate, acetate and hydrogen metabolism in a thermophilic, Anaerobic, butirate-degrading triculture. Applied and environmental microbiology. 1: 434-439
- Banick G. C. ABSR treatment of diluite wastewater at psychrophilic temperatures. Disponible en :

http://ASBRtreatmet of diluite wastewater at pshychrophilic temperatures.htm

- Boone D. 1991. Isolation and characterisation of a dimetyl sulphide degrading methanogen. Methanolous siciliae H. 1350 from an oil well, characterisation of sulphide. M. Silicilae T4/M and emendation of m. Siliciae Int S. Syst bacteriol. 41: 410-416
- Boone D.R. Bryant M. P. 1980 Propionate degrading bacterium syntrophobacter wolinii sp. Nov from methanogenic ecosystems Appl. Environmental microbiology. 40: 626-632
- Brummeler E. Hulshoff Pol W. Dolfing J Lettinga G Zehnder 1985 methanogenesis i8n a up-flow anaerobic sludge blanket reactor at pH 6 on an Acetate-propionate mixture. Applied and environmental microbiology Netherlands.
- Campos E. 2002. Etapa fermentativa o acidogénica. Disponible en: www.udl.es/usuaris/r5213847/acidog.html
- Carl. R. G., Barford, J. P. 1985 The develop of granulation in a up-flow the digester and up-flow anaerobic blanket digester treating cane juice stillage. Biotechnology letters. Vol. 7 No. 7 pp. 493-448
- Carozzi 1993 Wastewater pre-treatment of the dairy industry. In: Proceedings of the fifth seminar on wastewater treatment by anaerobic digestion.
   Bologna pp. 463-467
- Carrasco T. F. Contaminación del agua disponible en : http://www.asiste.itgo.com/.1htm
- Carta E., Álvarez M. P., Romero. G. F., Pereda M. J. 2002. Changes in the nutrients from a Dairy wastewater in batch reactor at high pH and organic load. Department chemical engineering, faculty of chemistry Spain.
- Castro C. L. C; Sánchez G, Ireugas E. F. L; Saucedo L. G. 2001. Tendencias y oportunidades del desarrollo de la red de leche en México. No 317. Vol 33 Disponible en <a href="https://www.fira.gob.mx/Boletines/boletin009">www.fira.gob.mx/Boletines/boletin009</a> 01.pdf
- Castro G. A., Durán B. M. C. Enríquez P. M Pliego P. Y. 1998. Consideraciones en un ingenio azucarero para minimizar las descargas líquidas y mejorar las condiciones de operación de su planta de tratamiento de aguas residuales. Ingenio. (cámara nacional de las industrias azucarera y alcoholera) México 3,4: 2-7

- Da Cámara L. Hernández M. Paz L. 2000. Manual de diseño para plantas de tratamiento de aguas residuales alimenticias. Departamento de Fenómenos de transporte. Venezuela.
- Dinopoulu G, Thomasine R and Lester J. 1987 Anaerobic acidogenesis of a complex wastewater: I. The influence of operational parameters on reactor performance. Biotechnology and bioengineering 31: 958-968
- Dupla M. Conte T, Bouvier J.C., Benet N, Steyer . 2003. Dynamic evaluation of a fixed bed anaerobic digestion process in response to organic overloads and toxicant shock loads. Laboratory of environmental biotechnology. France
- Elefsiniotis P. Oldham W. 1994. Influence of pH on the acid-phase anaerobic digestion of primary sludge. Journal of chemical technology biotechnology. 60: 89-96
  - Espreer. 1996 Lactología industrial Editorial Acribia S.A. 6°. Ed. España
- Fang H.H. P. 2002 Mesophilic acidification of gelatinaseus wastewater
   Journal of biotechnology 93: 99-105
- Fang H.H.P. Memeber, ASCE, and H. Q. Yu. 2000. Effect of HRT on mesophilic acidogenesis of dairy wastewater. Journal of environmental engineering. 126,12:1145-1148
- Fang. H. H. P. Ho-kwong Ch. Yu-You L. 1994 Anaerobic degradation of butyrate in a UASB reactor. Bioresource Technology Vol. 55 pp. 75-81
- Fereira M. A. Cavaleiro Mota M. Alves M. M.. 2003. Accumulation of long chain fatty acids onto anaerobic sludge under steady and shock loading conditions: effect on acetogenic and methanogenic activity. Water science and technology. 48,6: 33-40.
- Fernandez B. Porrier P. Chamy R. 2001 Effect of inoculum- substrate ratio on the start-up of solid waste anaerobic digesters. Water Science and technology. 44, 4: 103-108
- Gavala H. N, Kopsinis H. Skidas I. V. Stamatelatou K. Lyberatos G. 1998
   Treatment of dairy wastewater using up-flow anaerobic sludge blanket reactor.
   Journal of agricultural engineering research. 73: 59-63

- Ghaly A.E., Ramkumar D.R. Sadaka S.S. Rochon J.D. 2000. Effect of resending and pH control on performance of two stage mesophilic anaerobic digester operating on acid cheese whey. Canadian agricultural engineering. 42, 4: 173-183
  - Gottschalk G: 1982 Bacterial metabolism 2a ed. Springer Verlag.New York
- Grupo industrial LaLa 2000. El impacto social y económico de la ganadería lechera en la región lagunera. 7° ed. México.
- Guerra. R.; González S. M; Trupiano A. P.; Figueroa M. E. Seghezzo L. y
   Cuevas C.M. 2000. Perfiles de actividad metanogénica especifica en un reactor
   UASB utilizado para el tratamiento de líquidos cloacales pre-sedimentados.
   Universidad Nacional de Salta. Argentina
- Guyot J. P. 1990. Introducción a a microbiología de los digestores anaerobios. Conferencias sobre el tratamiento anaerobio de aguas residuales en América latina pp. 1-13
- Hanaki K, Matsuo T, Nagase M. 1981. Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in the anaerobic digestion process degrading complex substrate. Water science and technology 19: 311-317.
- Jawad M. Tare V. 1999. Microbial composition assessment of anaerobic bimass through methanogenic activity tests. Water SA 25,3: 345-350.
- Keunyoung Y. Youngeob Y., Seokhwan H. 2003. Selective optimisation in thermophilic acidogenesis of cheese-whey wastewater to acetic and butyric acids: partial acidification and methanation.
- Madigan T. D. Martiniko J. M. Parker J. 1998 Biología de los microorganismos . 1° ed. Editorial Prentice hall pp. 858-860, 869-887
- Método D- 1252-83 1994 "standard test method for chemical oxygen demand in water" American society for testing materials USA ASTM Committee on standards Philadelphia P.A. Vol. 11.02
- Miller. G. T. 1994. Ecología y medio ambiente. Grupo editorial Iberoamericana. México
- Pereira. M. A Cavaleiro A. J. Mota and Alves M.M. 2003. Accumulation of long chain fatty acids onto anaerobic sludge under steady state and shock loading

conditions: effect on acetogenic and methanogenic activity. Water Science and technology 48,6: 33-40

- Perle M., Kimchie S. Sh G. 1995. Some biochemical aspects of the anaerobic degradation of dairy wastewater. Water Research 6: 1549-1554
- Petruy R .1999 Anaerobic treatment of protein, lipid and carbohydrate containing wastewater's using the EGSB technology
- Petruy R, Lettinga G, 1997. Digestion of milk- fat emulsion. Bioresource technology 67, 141-149
  - Phillips C.J.C.1996 Progress In dairy science. C. A. B. International UK.
  - PNUMA. 2000 Perspectivas del medio ambiente mundial Ed. Prensa
- Population Information program (P. I. P.).1998. Water Crisis Looms as
   World Population Grows Disponible en:
   <a href="http://www.Jhuccp.org/prs/sm14/sm14chap7">http://www.Jhuccp.org/prs/sm14/sm14chap7</a> 4.stm#top
- Rajeshwari K. V. Balakrishan M, Kansal A, Larra K. 1999. State of- the art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment. Renewable &sustainable reviews. India.
- Ramasamy, K. Kalaichelvan G. And Nagamani, B. 1992 Working with anaerobies methanogens laboratory manual. Fermentation laboratory Manual, Tamil Nadu Agricultural University. Coimbatore India p. 91
- Ramasamy. E. V. Abbasy S. A. 2000. Energy recovery from dairy wastewaters: impacts of biofilm support systems on anaerobic CTS reactors. Journal of energy applied 65: 91-98
- Rinzema A. 1988. Anaerobic treatment of wastewater with high concentration of lipids and sulphate.
- Rodríguez M. J., Garza G Y., Kalyuzhny S.,1998. Investigación cinética de la metanogénesis de la glucosa. Antecedentes de un modelo matemático, Revista de la Sociedad Química de México. 42,4:147-152.
- Rodríguez Mtz. J., Rodríguez G I., Pedraza F. E., Balagurusamy N., Sosa S.
   G. and Garza G. Y. 2002. Kinetics of anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater in batch and up-flow anaerobic sludge blanket reactor. Bioresource Technology 85: 235-241

- Rodríguez M. J. Arévalo P. C. Garza G. Y. 2004. Estudio científico técnico de la biomineralización de un agua residual de la industria NORMEX. México. (En proceso)
- Ruiz G. Roca E. Lema J. M. 2001. Selección de variables para la identificación de estados no estacionarios en la operación de reactores anaerobios Departamento de Ingeniería Química. Instituto de investigaciones tecnológicas España.
- Schlegel G. Transporte de electrones en condiciones anaerobias.
   Microbiología general C. 304
  - Soroa P. J. M. 1974. Industrias lácteas. Editorial Aedos 5° Ed. España.
- Ssayed S, Zanden J, Wijiffels R., Lettinga G., 1988. Anaerobic degradation of the various fractions of slaughterhouse wastewater. Biological Wastes 23: 117-142
- Vázquez B. E., Roer M. N., Aldo M. P. Remoción de ácidos grasos volátiles durante el tratamiento anaerobio de aguas residuales porcícolas. México.
- Veeken A., Kalyuzhnyi S., Scharff H, Hamelers B. 2000. Effect of pH an VFA on hydrolysis of organic solid waste. Journal of environmental engineering pp-1076-1081
- Vidal G. Carvalho A. Méndez R. Lema J.M. 2000 Influence of the content in fats and proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewater's. Bioresorce technology Vol. 74 pp. 231-239
- Voolapalli R., Stuckey D. 1999. Relative importance of trophic group concentrations during anaerobic degradation of volatile fatty acids. Applied and environmental microbiology 65,11
- Winkler M. A., 1998. Tratamiento biológico de aguas de desecho. Limusa.
   Universidad de Survey. Guilford
- World bank Group. 1998 Dairy industry. Pollution prevention and abastesment handbook. Pp.295-297
- Yu H.Q fang. H. H. P. 2003. Acidogenesis of gelatin- rich wastewater in an up-flow anaerobic reactor: influence of pH and temperature. Water research. 37: 55-56

- Yu. H. Q. Fang H.H.P 2000 Thermophilic acidification of dairy wastewater. Appl. Microbiol. Biotechnology. 54: 439-444
  - Yu. H. Q. Fang H.H.P 2002. Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels. Water science and technology. 45,10:201-206.