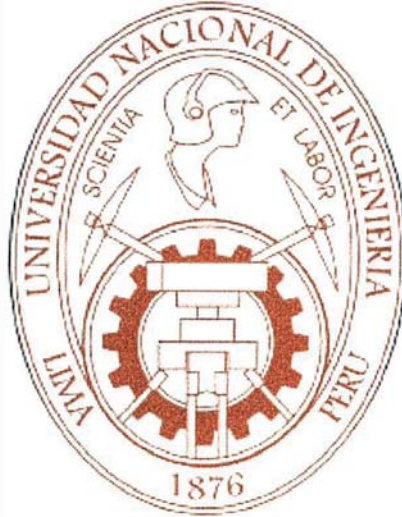


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL**



**GRANULACIÓN DEL LODO ANAEROBIO DE UN RAFA,  
UTILIZANDO DIFERENTES MEDIOS DE SOPORTE, Y,  
LIXIVIADO COMO SUBSTRATO**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO SANITARIO**

**PRESENTADO POR:**

**EDGARD MARCELO CORONEL VILLARREAL**

**JOSÉ ÁNGEL MÁRQUEZ DEL ALCÁZAR**

**LIMA, PERÚ  
2009**

**DEDICATORIA:**

*A mis padres Marcelo y Nora, y a todos aquellos que me apoyaron en este período, a pesar del tiempo que les ha robado la granulación anaerobia.*

***Edgard Coronel Villarreal***

*A mi esposa Marjorie, a mis hijos Nicolás y Gabriel, y, a mis padres José y Pilar, por su constante preocupación y motivación para este logro.*

***José Márquez Del Alcázar***

## AGRADECIMIENTO

---

Queremos agradecer a todas aquellas personas, quienes nos brindaron su valioso apoyo; muy en especial:

- Al Biólogo Juan Juscamayta Morales, profesor de la Universidad Nacional Agraria La Molina, no sólo por la asesoría técnica, sino también por brindarnos las instalaciones de su laboratorio, equipamiento y reactivos, para la realización del Test de AME y otros ensayos microbiológicos.
- Al Ingeniero Otto Rosasco Gerkes, por la asesoría técnica y estímulo, para lograr la realización de este estudio.
- A la Ingeniera Rosa Yaya Beas, quien nos dio la orientación y pauta, para la elección e inicio del tema de investigación.
- Al señor Manuel Romero, Técnico Operario de la planta de tratamiento de aguas residuales UNI-TRAR, cuyo aporte en la operación y mantenimiento de los digestores fue de gran importancia.
- A la empresa Vega Upaca S. A. – Relima, en especial al señor Odilón Amado, ex- Gerente General, quien apostó por apoyar la investigación científica, promoviendo la fase inicial del convenio marco con la UNI, y, por el financiamiento de este estudio.

También, agradecemos a todas aquellas personas que, de alguna manera, nos apoyaron en algún momento, ya sea en la fase preliminar o durante el desarrollo del estudio.

## RESUMEN

---

El empleo de reactores UASB para el tratamiento de lixiviados en los rellenos sanitarios, es una de las tecnologías más viables por su capacidad de tratar altas cargas orgánicas. El mejoramiento de las características de biodegradación y de sedimentación del lodo, mediante la granulación anaerobia, es una alternativa que aun está en proceso de desarrollo a nivel mundial.

El presente trabajo, fue desarrollado con el objetivo de granular el lodo del reactor UASB (RAFA) de la planta de tratamiento de aguas residuales UNITRAR, empleando lixiviado del relleno sanitario Portillo Grande como substrato, y comparar las propiedades físicas de los diferentes materiales empleados como medios de soporte. Para este estudio, se emplearon cuatro digestores batch, conectados a sus respectivos gasómetros, y para el análisis de la actividad metanogénica específica, se instaló un respirómetro anaerobio.

En la fase inicial, se aclimató el lodo anaerobio al lixiviado utilizado como substrato. Luego se adicionaron los medios de soporte "alginato", "carbón activado granular" y "zeolita", a fin de propiciar la granulación anaerobia del lodo. Sin embargo, se detectó la deshidratación y desaparición de las biopartículas de alginato, las cuales tuvieron que ser reemplazadas por otras biopartículas elaboradas en base a quitosano. Para la determinación de la presencia de microorganismos en los medios de soporte, se emplearon técnicas histológicas de cortes micrométricos.

Finalmente se demostró que todos los medios de soporte empleados (a excepción del alginato), lograron granular de acuerdo a la teoría de *"mejoramiento de la granulación por los núcleos de crecimiento"*, siendo el quitosano el material que ofrece las mejores condiciones para propiciar la granulación anaerobia.

## ÍNDICE

---

CARÁTULA.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTO.....	III
RESUMEN.....	IV
ÍNDICE.....	V
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	XIII

<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
I.1.- ANTECEDENTES.....	1
I.2.- PROBLEMA A INVESTIGAR .....	3
I.3.- JUSTIFICACIÓN .....	3
I.4.- DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	4

<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>6</b>
<b>II.1.- LODO ANAEROBIO.....</b>	<b>6</b>
II.1.1.- DEFINICIÓN .....	6
II.1.2.- CLASIFICACIÓN.....	6
II.1.2.1.- Lodos floculentos .....	6
II.1.2.2.- Lodos granulares.....	7
II.1.3.- CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS .....	8
II.1.4.- BIOMASA DEL LODO GRANULAR .....	8
II.1.5.- ACTIVIDAD METANOGÉNICA DEL LODO ANAEROBIO .....	11
II.1.6.- RESISTENCIA AL OXÍGENO .....	11
<b>II.2.- DIGESTIÓN ANAEROBIA.....</b>	<b>13</b>
II.2.1.- DEFINICIÓN .....	13
II.2.2.- PRODUCTOS FINALES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA .....	13
II.2.2.1.- Biogás .....	13
II.2.2.2.- Efluente.....	14
II.2.3.- CINÉTICA DE LAS REACCIONES BIOLÓGICAS.....	15
II.2.3.1.- Tasa de utilización de sustrato (coeficientes de producción) ..	15

II.2.3.2.- Tasa crecimiento .....	16
II.2.3.3.- Tasa específica de utilización de sustrato .....	18
II.2.3.4.- Cinéticas de inhibición.....	19
<b>II.2.4.- EL PROCESO MICROBIOLÓGICO Y BIOQUÍMICO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA.....</b>	<b>21</b>
II.2.4.1.- Hidrólisis.....	22
II.2.4.1.1.- Inhibición de la hidrólisis de macromoléculas .....	25
II.2.4.2.- Etapa fermentativa o acidogénica.....	25
II.2.4.2.1.- Fermentación de carbohidratos solubles .....	26
II.2.4.2.2.- Fermentación de aminoácidos.....	27
II.2.4.2.3.- Cinética de la fermentación de hidratos de carbono y aminoácidos .....	28
II.2.4.2.4.- Inhibidores de la fermentación de hidratos de carbono y aminoácidos .....	28
II.2.4.2.5.- Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga (Acetogénesis de AGCL).....	28
II.2.4.2.6.- Cinética de la oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga.....	29
II.2.4.2.7.- Inhibición de la oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga.....	29
II.2.4.3.- Fase acetogénica .....	30
II.2.4.3.1.- Cinética de la acetogénesis .....	31
II.2.4.3.2.- Inhibidores de la acetogénesis .....	31
II.2.4.4.- Fase metanogénica .....	32
II.2.4.4.1.- Tipos de metanogénesis.....	37
A.- Metanogénesis Hidrogenotrófica.....	37
B.- Metanogénesis acetoclástica o acetotrófica .....	37
II.2.4.4.2.- Cinética de la metanogénesis.....	39
II.2.4.4.3.- Inhibición de la metanogénesis.....	39
II.2.4.5.- Parámetros ambientales y de control .....	40
II.2.4.5.1.- Temperatura .....	40
A.- Influencia de la temperatura sobre aspectos físico-químicos ...	40
B.- Influencia de la temperatura sobre aspectos bioquímicos .....	41
II.2.4.5.2.- Contenido de nutrientes.....	46
II.2.4.5.3.- Velocidad de carga orgánica (VCO) y tiempo de retención hidráulico (TRH) .....	46
II.2.4.5.4.- Agitación.....	47
II.2.4.5.5.- El pH .....	49
II.2.4.5.6.- Alcalinidad .....	50
II.2.4.5.7.- Tóxicos e inhibidores .....	51
A.- Nitrógeno amoniacal .....	52
B.- Ácidos grasos volátiles.....	54
C.- Hidrógeno .....	55
D.- Compuestos azufrados en los sistemas anaerobios .....	55
E.- Ácidos grasos de cadena larga .....	56
F.- Cationes y metales pesados .....	57
<b>II.3.- REACTORES ANAEROBIOS EMPLEADOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES .....</b>	<b>60</b>
II.3.1.- CONFIGURACIÓN DE LOS REACTORES EN FUNCIÓN DE LA HIDRÁULICA .....	60

II.3.2.- DESCRIPCIÓN DE LOS PRINCIPALES REACTORES ANAEROBIOS .....	62
II.3.2.1.- Laguna anaerobia .....	62
II.3.2.2.- Decanto digestores .....	63
II.3.2.3.- Filtro anaerobio .....	63
II.3.2.4.- Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente con manto de lodo ....	64
II.3.2.5.- Otras configuraciones de reactores anaerobios.....	67
<b>II.4.- REACTOR ANAEROBIO DE FLUJO ASCENDENTE DE LA PTAR UNI-TRAR.....</b>	<b>72</b>
II.4.1.- BREVE DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO UNI-TRAR.....	72
II.4.2.- DESCRIPCIÓN DEL RAFA DE UNI-TRAR .....	73
II.4.3.- COMPONENTES .....	73
II.4.3.1.- Sistema de alimentación .....	73
II.4.3.2.- Reactor .....	74
II.4.3.3.- Cámara de gases .....	74
II.4.3.4.- Sistemas de recolección de agua tratada .....	74
<b>II.5.- LIXIVIADO.....</b>	<b>76</b>
II.5.1.- DEFINICIÓN .....	76
II.5.2.- COMPOSICIÓN DEL LIXIVIADO .....	76
II.5.2.1.- Líquido del lixiviado .....	76
II.5.2.2.- Compuestos orgánicos e inorgánicos.....	77
II.5.2.3.- Variabilidad de la composición de lixiviados .....	78
II.5.2.4.- Sustancias Peligrosas .....	81
II.5.3.- RECIRCULACIÓN DE LIXIVIADOS .....	81
II.5.4.- TRANSFORMACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS QUE OCURREN EN EL INTERIOR DEL RELLENO SANITARIO.....	82
II.5.4.1.- Fase 01: Ajuste inicial.....	83
II.5.4.2.- Fase 02: Transición.....	83
II.5.4.3.- Fase 03: Acidificación.....	84
II.5.4.4.- Fase 04: Metanogénesis .....	84
II.5.4.5.- Fase 05: Maduración final .....	85
<b>II.6.- RELLENO SANITARIO PORTILLO GRANDE .....</b>	<b>87</b>
II.6.1.- UBICACIÓN .....	87
II.6.2.- RESIDUOS NO PELIGROSOS .....	87
II.6.2.1.- Distribución de Plataformas.....	87
II.6.2.2.- Toneladas Dispuestas .....	88
II.6.3.- LIXIVIADO .....	88
II.6.3.1.- Líquido del lixiviado .....	88
II.6.3.2.- Drenaje de Lixiviados .....	89
II.6.3.3.- Recirculación de Lixiviados en el relleno sanitario Portillo Grande .....	89
II.6.3.4.- Volumen de Lixiviado .....	90
II.6.3.5.- Propiedades organolépticas .....	90
II.6.3.5.1.- Color.....	90
II.6.3.5.2.- Espumas .....	90
II.6.3.5.3.- Olor .....	90
II.6.3.5.4.- Acción corrosiva .....	92
II.6.3.6.- Muestreo de Lixiviado.....	94
<b>II.7.- GRANULACIÓN DEL LODO ANAEROBIO .....</b>	<b>97</b>

II.7.1.- INTRODUCCIÓN .....	97
II.7.2.- TEORÍAS SOBRE LA GRANULACIÓN .....	99
II.7.2.1.- Teorías Físicas .....	100
II.7.2.1.1.- Teoría de la selección de la presión (1983) .....	101
II.7.2.1.2.- Crecimiento de los sólidos suspendidos colonizados (1994) .....	102
II.7.2.2.- Teorías Microbianas .....	103
II.7.2.2.1.- Enfoque Fisiológico .....	104
A.- Hipótesis de Ciudad del Cabo (1987) .....	104
II.7.2.2.2.- Crecimiento del núcleo microbiano .....	108
A.- La "Teoría del Spaghetti" (1987) .....	108
II.7.2.2.3.- Enfoque Ecológico .....	110
A.- Formación de puentes de microflocs por filamentos de Methanothrix (1987) .....	110
B.- Cúmulos de Methanothrix rodeados por polímeros extracelulares (ECP) (1991) .....	111
C.- Tres tipos de gránulos degradantes de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) (1980) .....	111
D.- Gránulos de capas múltiples con agregados de Methanothrix, como centros de formación de núcleo (1990) .....	115
II.7.2.3.- Teorías Termodinámicas .....	118
II.7.2.3.1.- Modelo de 4 pasos para la formación del gránulo y el biofilm (1996) .....	118
II.7.2.3.2.- Modelo de la tensión superficial (1995) .....	121
II.7.2.3.3.- Teoría de la translocación-deshidratación del protón (2000) .....	124
A.- Deshidratación de las superficies bacterianas .....	124
B.- Formación del gránulo embrionario .....	126
C.- Maduración del gránulo .....	126
D.- Post-maduración .....	127
II.7.3.- MEJORAMIENTO DE LA GRANULACIÓN POR LOS NÚCLEOS DE CRECIMIENTO .....	128
II.7.3.1.- Carbón Activado .....	131
II.7.3.2.- Polímero absorbente del agua .....	132
<b>II.8.- MEDIOS DE SOPORTE .....</b>	<b>134</b>
II.8.1.- INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS EN BIO-PARTÍCULAS .....	135
II.8.1.1.- Perlas de Alginato .....	135
II.8.1.2.- Perlas de Quitosano .....	136
II.8.2.- CARBÓN ACTIVADO .....	140
II.8.3.- ZEOLITA .....	141
II.8.3.1.- Aplicaciones de la Zeolita .....	144
II.8.3.1.1.- Catálisis .....	144
II.8.3.1.2.- Absorción .....	145
II.8.3.1.3.- Intercambio de iones .....	145
<b>CAPÍTULO III: OBJETIVOS .....</b>	<b>147</b>
<b>III.1.- OBJETIVO N° 1 .....</b>	<b>147</b>
III.1.1.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS - 1 .....	147
<b>III.2.- OBJETIVO N° 2 .....</b>	<b>147</b>
III.2.1.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS - 2 .....	148



<b>CAPÍTULO IV: MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>149</b>
<b>IV.1.- DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO</b> .....	<b>149</b>
<b>IV.2.- HIPÓTESIS</b> .....	<b>150</b>
<b>IV.3.- EQUIPOS EMPLEADOS</b> .....	<b>151</b>
<b>IV.3.1.- DIGESTORES BACHT</b> .....	<b>151</b>
IV.3.1.1.- Cilindro Plástico de 200 litros.....	152
IV.3.1.2.- Sistema de agitación manual.....	153
IV.3.1.3.- Sistema para el suministro de lixiviado y aditivos.....	155
IV.3.1.4.- Sistema de extracción de muestras.....	155
IV.3.1.5.- Sistema de extracción de biogás.....	156
<b>IV.3.2.- GASÓMETROS (TANQUES DE MARIOTTE)</b> .....	<b>156</b>
IV.3.2.1.- Principio de funcionamiento.....	156
IV.3.2.2.- Descripción del equipo.....	159
IV.3.2.2.1.- Tanque de agua.....	159
IV.3.2.2.2.- Manguera para el ingreso del biogás.....	159
IV.3.2.2.3.- Manguera para el desplazamiento de agua.....	160
IV.3.2.2.4.- Manguera para la recarga de agua.....	160
IV.3.2.2.5.- Vacuómetro.....	160
<b>IV.3.3.- RESPIRÓMETRO ANAEROBIO (PARA EL TEST DE AME)</b> .....	<b>161</b>
IV.3.3.1.- Principio de funcionamiento.....	161
IV.3.3.2.- Descripción del equipo.....	163
IV.3.3.2.1.- Baño maría.....	163
IV.3.3.2.2.- Frascos para la digestión.....	164
IV.3.3.2.3.- Frascos para el lavado de biogás.....	164
IV.3.3.2.4.- Gasómetros (Tanques de Mariotte).....	164
IV.3.3.2.5.- Balón de Nitrógeno.....	165
<b>IV.4.- MÉTODOS ANALÍTICOS</b> .....	<b>166</b>
IV.4.1.- SÓLIDOS TOTALES (ST).....	166
IV.4.2.- SÓLIDOS TOTALES VOLÁTILES (STV).....	166
IV.4.3.- SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES (SST).....	166
IV.4.4.- SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES (SSV).....	166
IV.4.5.- DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5).....	167
IV.4.6.- DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO).....	167
IV.4.7.- pH.....	167
IV.4.8.- CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.....	167
<b>IV.5.- PROCEDIMIENTO</b> .....	<b>168</b>
<b>IV.5.1.- CARACTERIZACIÓN DEL LODO ANAEROBIO</b> .....	<b>168</b>
IV.5.1.1.- Elección de la altura de lodo del RAFA.....	168
IV.5.1.2.- Caracterización del lodo del RAFA de UNI-TRAR.....	169
<b>IV.5.2.- OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES BATCH</b> .....	<b>170</b>
IV.5.2.1.- Ubicación del sistema.....	170
IV.5.2.2.- Pruebas de hermeticidad del sistema.....	171
IV.5.2.3.- Inoculación del lodo anaerobio.....	173
IV.5.2.4.- Operación de los digestores.....	175
<b>IV.5.3.- PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LOS MEDIOS DE SOPORTE</b> .....	<b>176</b>
IV.5.3.1.- Perlas de Alginato.....	178
IV.5.3.1.1.- Método de preparación /Obtención.....	178
A.- Materiales y reactivos.....	178
B.- Proceso de Inmovilización microbiana en alginato.....	178

IV.5.3.1.2.- Inoculación.....	181
IV.5.3.2.- Perlas de quitosano .....	182
IV.5.3.2.1.- Método de preparación /Obtención .....	182
A.- Materiales y reactivos .....	182
B.- Proceso de elaboración de medios de soporte .....	182
IV.5.3.2.2.- Inoculación.....	186
IV.5.3.3.- Carbón Activado .....	187
IV.5.3.3.1.- Método de Preparación /obtención.....	187
A.- Tamizado .....	187
IV.5.3.3.2.- Inoculación.....	187
IV.5.3.4.- Zeolita .....	189
IV.5.3.4.1.- Método de Preparación /obtención.....	189
A.- Tamizado .....	189
IV.5.3.4.2.- Inoculación.....	191
IV.5.4.- TEST DE ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECIFICA (AME) ...	192
IV.5.4.1.- Principio del Test .....	192
IV.5.4.2.- Preparación de soluciones y reactivos necesarios .....	192
IV.5.4.2.1.- Soluciones Stock de nutrientes .....	192
IV.5.4.2.2.- Solucion Stock de ácidos orgánicos .....	193
IV.5.4.3.- Desarrollo del test de AME.....	194
IV.5.5.- DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN LOS MEDIOS DE SOPORTE.....	196
IV.5.5.1.- Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, sin tratamiento previo de lavado de la muestra .....	197
IV.5.5.1.1.- Perlas de quitosano sin previo lavado .....	197
IV.5.5.1.2.- Carbón activado sin previo lavado.....	199
IV.5.5.2.- Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, con tratamiento previo de lavado de la muestra.....	200
IV.5.5.2.1.- Perlas de quitosano con previo lavado .....	200
IV.5.5.3.- Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, empleando técnicas histológicas de cortes micrométricos .	201
IV.5.5.3.1.- Procedimiento para realizar los cortes micrométricos.....	202
IV.5.5.3.2.- Tinciones.....	204
A.- Procedimiento para la tinción HE (Hematoxilina – Eosina).....	204
B.- Procedimiento para la tinción Gram .....	205
IV.5.6.- DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN DE LOS MEDIOS DE SOPORTE.....	206

**CAPÍTULO V: RESULTADOS ..... 208**

**V.1.- RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DEL LODO ANAEROBIO  
..... 208**

**V.2.- RESULTADOS DE LA OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES..... 209**

V.2.1.- COMPORTAMIENTO DE LOS PARÁMETROS AMBIENTALES Y  
DE CONTROL .....

**V.3.- RESULTADOS DE LA PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE  
SOPORTE EMPLEANDO BIOPARTÍCULAS..... 233**

V.3.1.- CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS PERLAS DE ALGINATO 233

V.3.2.- CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS PERLAS DE QUITOSANO  
..... 233

**V.4.- RESULTADOS DEL TEST DE AME ..... 235**

V.4.1.- TEST DE AME N° 1 .....	236
V.4.1.1.- Desarrollo del test de AME N° 1 para el digestor batch C-1 ...	236
V.4.1.2.- Desarrollo del test de AME N° 1 para el digestor batch C-2 ...	237
V.4.1.3.- Desarrollo del test de AME N° 1 para el digestor batch C-3 ...	238
V.4.1.4.- Desarrollo del test de AME N° 1 para el digestor batch C-4 ...	239
V.4.2.- TEST DE AME N° 2 .....	240
V.4.2.1.- Desarrollo del test de AME N° 2 para el digestor batch C-1 ...	240
V.4.2.2.- Desarrollo del test de AME N° 2 para el digestor batch C-2 ...	241
V.4.2.3.- Desarrollo del test de AME N° 2 para el digestor batch C-3 ...	242
V.4.2.4.- Desarrollo del test de AME N° 2 para el digestor batch C-4 ...	243
V.4.3.- TEST DE AME N° 3 .....	244
V.4.3.1.- Desarrollo del test de AME N° 3 para el digestor batch C-1 ...	244
V.4.3.2.- Desarrollo del test de AME N° 3 para el digestor batch C-2 ...	245
V.4.3.3.- Desarrollo del test de AME N° 3 para el digestor batch C-3 ...	246
V.4.3.4.- Desarrollo del test de AME N° 3 para el digestor batch C-4 ...	247
V.4.4.- TEST DE AME N° 4 .....	248
V.4.4.1.- Desarrollo del test de AME N° 4 para el digestor batch C-1 ...	248
V.4.4.2.- Desarrollo del test de AME N° 4 para el digestor batch C-2 ...	249
V.4.4.3.- Desarrollo del test de AME N° 4 para el digestor batch C-3 ...	250
V.4.4.4.- Desarrollo del test de AME N° 4 para el digestor batch C-4 ...	251
V.4.5.- TEST DE AME N° 5 .....	252
V.4.5.1.- Desarrollo del test de AME N° 5 para el digestor batch C-1 ...	252
V.4.5.2.- Desarrollo del test de AME N° 5 para el digestor batch C-2 ...	253
V.4.5.3.- Desarrollo del test de AME N° 5 para el digestor batch C-3 ...	254
V.4.5.4.- Desarrollo del test de AME N° 5 para el digestor batch C-4 ...	255
<b>V.5.- RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN LOS MEDIOS DE SOPORTE .....</b>	<b>256</b>
V.5.1.- RESULTADOS SIN TRATAMIENTO PREVIO DE LAVADO DE LA MUESTRA .....	256
V.5.2.- RESULTADOS CON TRATAMIENTO PREVIO DE LAVADO DE LA MUESTRA .....	257
V.5.3.- RESULTADOS EMPLEANDO TÉCNICAS HISTOLÓGICAS DE CORTES MICROMÉTRICOS.....	258
V.5.3.1.- Presencia de microorganismos y tamaño de poros en perlas de quitosano .....	258
V.5.3.2.- Presencia de microorganismos en carbón activado granular .	261
V.5.3.3.- Presencia de microorganismos y tamaño de poros en zeolita	262
<b>V.6.- RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN DE LOS MEDIOS DE SOPORTE.....</b>	<b>265</b>
<b><u>CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN .....</u></b>	<b>266</b>
<b>RESPECTO A LA OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES .....</b>	<b>266</b>
<b>RESPECTO AL ALGINATO:.....</b>	<b>267</b>
<b>RESPECTO AL QUITOSANO:.....</b>	<b>267</b>
<b>RESPECTO A LA COMPARACIÓN DE BIOPARTÍCULAS:.....</b>	<b>268</b>
<b>RESPECTO AL CARBÓN ACTIVADO GRANULAR (CAG):.....</b>	<b>268</b>
<b>RESPECTO A LA ZEOLITA:.....</b>	<b>269</b>
<b>RESPECTO A LOS MEDIOS DE SOPORTE EN GENERAL: .....</b>	<b>269</b>
<b><u>CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES .....</u></b>	<b>271</b>

<b><u>CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES</u></b> .....	<b>273</b>
<b><u>FUENTES DE INFORMACIÓN</u></b> .....	<b>274</b>
<b><u>ANEXOS</u></b> .....	<b>278</b>
ANEXO 1: INFORMES DE ENSAYOS DE LABORATORIO PARA EL ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS, ELABORADOS POR INSPECTORATE SERVICES PERÚ S.A.C .....	279
ANEXO 2: PLANOS DE DETALLES DE LOS DIGESTORES BATCH.....	292
ANEXO 3: TABLA 10.1: CARACTERIZACIÓN DE LODOS DE FOSAS SÉPTICAS.....	293
ANEXO 4: ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL CARBÓN ACTIVADO GRANULAR.....	295
ANEXO 5: ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LA ZEOLITA (ABSORSOL) .....	302

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

---

### ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1:	Relación entre la biomasa de materia orgánica y la biomasa producida durante la degradación anaerobia de la glucosa.....	9
Tabla 2.2:	Grupos metabólicos presentes en el lodo granular anaerobio.....	9
Tabla 2.3:	Fuentes de inóculo para Reactores Anaerobios.....	11
Tabla 2.4:	Componentes del biogás en función del sustrato utilizado (Coombs, 1990).....	14
Tabla 2.5:	Diferentes cinéticas de crecimiento de microorganismos usadas en la bibliografía (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).....	18
Tabla 2.6:	Tipos de inhibición y expresión matemática de la cinética.....	19
Tabla 2.7:	Reacciones acetogénicas que ocurren en los sistemas anaerobios (Stams, 1994).....	30
Tabla 2.8:	Clasificación de metanogénicos.....	36
Tabla 2.9:	Algunos metanogénicos aislados y sus sustratos.....	36
Tabla 2.10:	Principales reacciones metanogénicas y otras consumidoras de hidrógeno (adaptada de Stams, 1994 y Fergusson et al., 1987)....	38
Tabla 2.11:	Resumen de constantes cinéticas propuestas para los diferentes procesos (Pavlostathis et al., 1991).....	40
Tabla 2.12:	Temperatura óptima y máxima, parámetros cinéticos de crecimiento para diferentes cultivos metanogénicos acetoclásticos (van Lier et al., 1993).....	44
Tabla 2.13:	Rangos de concentración de nutrientes, necesarios para el correcto crecimiento de las bacterias anaerobias (Henze, 1995).....	46
Tabla 2.14:	Concentración de inhibición y toxicidad de metales pesados (Hayes y Theis, 1978).....	58
Tabla 2.15:	Concentración límite de cationes en sistemas anaerobios (Kugelman y Chin, 1971).....	59
Tabla 2.16:	Tipos básicos de reactores en función de la hidráulica.....	61

Tabla 2.17:	Rangos de composición de un lixiviado, en función del estado de descomposición de la materia orgánica en el relleno sanitario. ....	78
Tabla 2.18:	Cuadro Comparativo de los Parámetros DBO, DQO en rellenos sanitarios de Sudamérica. ....	80
Tabla 2.19:	Residuos no peligrosos - Relleno Sanitario Portillo Grande.....	88
Tabla 2.20:	Métodos de análisis químicos de efluentes líquidos. ....	94
Tabla 2.21:	Caracterización de lixiviados en el relleno sanitario Portillo Grande. ....	96
Tabla 2.22:	Revisión de las diferentes teorías sobre la granulación del lodo anaerobio. ....	100
Tabla 2.23:	Modelo propuesto por Ahn's (2000) para la granulación del lodo anaerobio. ....	117
Tabla 2.24:	Influencia de la adición de varios materiales inertes en la granulación del lodo. ....	130
Tabla 2.25:	Valores típicos de algunos grados populares de carbones CARBOCHEM. ....	141
Tabla 4.1:	Selección de la altura de lodo - RAFA - UNI.....	168
Tabla 4.2:	Cálculo del volumen del licor mezclado lodo-lixiviado.....	174
Tabla 4.3:	Distribución de los medios de soporte inoculados a los digestores anaerobios. ....	177
Tabla 4.4:	Solución de Macro nutrientes. ....	192
Tabla 4.5:	Solución de Micro nutrientes. ....	193
Tabla 4.6:	Medio Reductor. ....	193
Tabla 4.7:	Solución de ácidos orgánicos. ....	193
Tabla 5.1:	Caracterización de lodo del RAFA de UNI-TRAR.....	208
Tabla 5.2:	Características físicas de las perlas de alginato. ....	233
Tabla 5.3:	Características físicas de las perlas de quitosano - NaOH al 2.5N. ....	233
Tabla 5.4:	Características físicas de las perlas de quitosano - NaOH al 50%. ....	234
Tabla 5.5:	Diámetro de los poros del quitosano. ....	258
Tabla 5.6:	Diámetros de los poros de la zeolita.....	263
Tabla 5.7:	Velocidades promedio de sedimentación de los medios de soporte. ....	265
Tabla 10.1:	Caracterización de lodos de fosas sépticas.....	294

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1:	Vista de los gránulos del lodo anarobio del RAFA de UNI-TRAR. ...	7
Figura 2.2:	Grupos microbiales relacionados con el metabolismo bacterial, para el reactor acidogénico, expresado en NMP ml <sup>-1</sup> .....	10
Figura 2.3:	Grupos microbiales relacionados con el metabolismo bacterial, para el reactor metanogénico, expresado en NMP ml <sup>-1</sup> . ....	10
Figura 2.4:	Recuperación del AME de lodos anaerobios. ....	12
Figura 2.5:	Ilustración de la cinética de crecimiento de Monod.....	17
Figura 2.6:	Efecto de la concentración de sustrato sobre la relación tasa específica de crecimiento/tasa máxima, para diferentes valores de "n", considerando que la constante de inhibición es $K_i=3 K_s$ . ....	20
Figura 2.7:	Esquema de reacciones de la digestión anaerobia de materiales poliméricos. (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).. ....	22
Figura 2.8:	Relación entre la energía libre de la reacción y la presión parcial de hidrógeno (Boone y Mah, 1987). ....	32
Figura 2.9:	Árbol filogenético universal.....	34
Figura 2.10:	Dependencia de la constante de crecimiento de la temperatura (van Lier et al., 1993). ....	42
Figura 2.11:	Esquemas de los reactores básicos. ....	61
Figura 2.12:	Configuraciones de los principales reactores anaerobios utilizados en el tratamiento de aguas residuales.....	64
Figura 2.13:	Proceso de un reactor UASB.....	65
Figura 2.14:	Estructura de las capas de un gránulo de lodo anaerobio. ....	67
Figura 2.15:	Otras configuraciones de reactores anaerobios.....	71
Figura 2.16:	Vista del RAFA de la Planta UNI-TRAR.....	74
Figura 2.17:	Vista del sistema de recolección de agua tratada y de la salida de lodos. ....	75
Figura 2.18:	Fases de estabilización del lixiviado en un relleno sanitario. ....	85
Figura 2.19:	Vista panorámica del relleno sanitario Portillo Grande.....	87
Figura 2.20:	Vista de la secuencia del proceso de recirculación de lixiviados, en el Relleno Sanitario Portillo Grande.....	89
Figura 2.21:	Gráfica histórica de la producción de lixiviados en el Relleno Sanitario Portillo Grande. ....	91
Figura 2.22:	Vista de las características del lixiviado, en el Relleno Sanitario Portillo Grande. ....	92
Figura 2.23:	Vista de los efectos agresivos del lixiviado al concreto.....	93
Figura 2.24:	Vista del muestreo de lixiviados del relleno sanitario Portillo Grande, realizados por la consultora Cinyde SAC, en Junio del 2007.....	95
Figura 2.25:	Gránulos anaerobios de un reactor UASB de la Papierfabriek Roemond.....	98
Figura 2.26:	Modelo de distribución de tamaño para gránulos metanogénicos. ....	103
Figura 2.27:	Perfiles de concentración observados en un UASB.....	106
Figura 2.28:	Microscopía de Barrido Electrónico (SEM) de células crecientes de Methanotrix. (Hulshoff Pol LW.The phenomenon of granulation of anaerobic sludge.Ph. D.Thesis, Agricultural University Wageningen, The Netherlands, 1989).....	113

Figura 2.29: Agregado de Methanosarcina, presente en el fondo de un reactor UASB. (Hulshoff Pol LW. The phenomenon of granulation of anaerobic sludge. Ph. D.Thesis, Agricultural University Wageningen, The Netherlands, 1989).	113
Figura 2.30: Perfiles de concentración observados en un UASB.	115
Figura 2.31: Energía Gibbs de Interacción Total.	119
Figura 2.32: Energías libres de adhesión ( $\Delta G_{adh}$ ), para bacterias con diferentes $\gamma_{BV}$ , evaluadas como una función de $\gamma_{LV}$ (Thaveesri et. al., 1995).	122
Figura 2.33: Esquema de la formación del gránulo, de acuerdo a Thaveesri et al.	123
Figura 2.34: Representación esquemática del modelo de translocación-deshidratación del protón para la granulación del lodo.	125
Figura 2.35: Moléculas de celulosa, quitina y quitosano.	137
Figura 2.36: Esquema simplificado para la obtención de quitina y quitosano a partir de conchas de crustáceos.	139
Figura 2.37: Vista de la zeolita.	143
Figura 2.38: Estructura de la clinoptilolita.	143
Figura 4.1: Vista panorámica del sistema "Digestor-Tanque de Mariotte".	151
Figura 4.2: Cilindro de 200 l empleado como digestor Batch.	152
Figura 4.3: Base interior y exterior del cilindro de 200 l.	152
Figura 4.4: Vista del sistema de agitación manual.	154
Figura 4.5: Vista de las paletas metálicas forradas con caucho.	154
Figura 4.6: Vista del sistema para el suministro de lixiviado y aditivos.	155
Figura 4.7: Vista del sistema de extracción de muestras.	155
Figura 4.8: Vista del sistema de extracción de biogás.	156
Figura 4.9: Esquema del gasómetro (tanque de Mariotte).	157
Figura 4.10: Curva de la Presión interna vs. tiempo de operación del gasómetro (tanque de Mariotte).	158
Figura 4.11: Vista de los gasómetros (tanques de Mariotte).	159
Figura 4.12: Accesorios de un gasómetro (tanque de Mariotte).	160
Figura 4.13: Vista del vacuómetro.	161
Figura 4.14: Vista panorámica del respirómetro anaerobio.	163
Figura 4.15: Vista del balón de Nitrógeno.	165
Figura 4.16: Vista del RAFA de UNI-TRAR.	168
Figura 4.17: Toma de muestra de lodo del RAFA de UNI-TRAR (07-03-08).	169
Figura 4.18: Vista de la ubicación de los digestores batch.	170
Figura 4.19: Vista del sistema Digestor – Tanque de Mariotte.	170
Figura 4.20: Vista de trabajos de hermeticidad de un digestor.	172
Figura 4.21: Vista del sistema Digestor –Mariotte hermetizado.	172
Figura 4.22: Inoculación del digestor con lodo del RAFA.	173
Figura 4.23: Llenado del digestor con lixiviado.	175
Figura 4.24: Aplicación del agua de dilución.	175
Figura 4.25: Preparación de la disolución de Alginato sódico.	178
Figura 4.26: Preparación del lodo para la mezcla con alginato.	179
Figura 4.27: Mezcla del lodo con el alginato.	179
Figura 4.28: Preparación de perlas de alginato.	180
Figura 4.29: Tratamiento final de las perlas de alginato.	180
Figura 4.30: Inoculación de las perlas de alginato.	181
Figura 4.31: Vista de las escamas de quitosano.	183
Figura 4.32: Preparación de la disolución de quitosano.	183



Figura 4.33: Preparación de la solución de NaOH.....	184
Figura 4.34: Formación de las perlas de quitosano.....	184
Figura 4.35: Vista de las perlas formadas con NaOH al 50% y NaOH 2.5N. ....	185
Figura 4.36: Neutralización del pH y lavado de las perlas de quitosano. ....	185
Figura 4.37: Determinación del pH y medición del gránulo.....	186
Figura 4.38: Clasificación por diámetro del carbón activado.....	187
Figura 4.39: Vista de la inoculación del carbón activado.....	188
Figura 4.40: Vista del absorsol sin tamizar.....	190
Figura 4.41: Vista de la tamización del absorsol.....	190
Figura 4.42: Vista del absorsol tamizado a emplear (malla N°8).....	190
Figura 4.43: Vista de la inoculación de la zeolita (Absorsol).....	191
Figura 4.44: Vista de la muestra de perlas de quitosano.....	197
Figura 4.45: Vista del corte de perlas de quitosano.....	197
Figura 4.46: Coloración Gram de perla de quitosano sin previo lavado.....	198
Figura 4.47: Fragmentación de una partícula de carbón activado.....	199
Figura 4.48: Perlas de quitosano, luego de ser lavadas.....	200
Figura 4.49: Vista de los bloques de parafina con los medios de soporte incluidos.....	202
Figura 4.50: Vista de la muestra de los cortes micrométricos listos.....	203
Figura 4.51: Vista del micrótopo empleado.....	203
Figura 4.52: Determinación de la velocidad de sedimentación.....	207
Figura 4.53: Vista de la sedimentación de los tres medios de soporte.....	207
Figura 5.1: Gráfica del comportamiento de los SST.....	213
Figura 5.2: Gráfica del comportamiento de los SSV.....	214
Figura 5.3: Gráfica del comportamiento de la DBO <sub>5</sub> .....	215
Figura 5.4: Gráfica del comportamiento de la DQO.....	216
Figura 5.5: Gráfica del comportamiento del pH.....	217
Figura 5.6: Gráfica del comportamiento de la Temperatura.....	218
Figura 5.7: Gráfica del %SSV/SST.....	219
Figura 5.8: Gráfica del %DBO <sub>5</sub> /DQO.....	220
Figura 5.9: Gráfica de la DBO <sub>5</sub> /SSV.....	221
Figura 5.10: Gráfica de la producción horaria de biogás – Abril 2008.....	222
Figura 5.11: Gráfica de la producción horaria de biogás – Mayo 2008 (1 <sup>a</sup> parte). .....	223
Figura 5.12: Gráfica de la producción horaria de biogás – Mayo 2008 (2 <sup>a</sup> parte). .....	224
Figura 5.13: Gráfica de la producción horaria de biogás – Junio 2008 (1 <sup>a</sup> parte). .....	225
Figura 5.14: Gráfica de la producción horaria de biogás – Junio 2008 (2 <sup>a</sup> parte). .....	226
Figura 5.15: Gráfica de la producción horaria de biogás – Julio 2008 (1 <sup>a</sup> parte). .....	227
Figura 5.16: Gráfica de la producción horaria de biogás – Julio 2008 (2 <sup>a</sup> parte). .....	228
Figura 5.17: Gráfica de la producción horaria de biogás – Agosto 2008 (1 <sup>a</sup> parte). .....	229
Figura 5.18: Gráfica de la producción horaria de biogás – Agosto 2008 (2 <sup>a</sup> parte). .....	230
Figura 5.19: Gráfica de la producción horaria de biogás – Setiembre 2008 (1 <sup>a</sup> parte).....	231

Figura 5.20: Gráfica de la producción horaria de biogás – Setiembre 2008 (2ª parte).....	232
Figura 5.21: Gráfica de la variación de la AME.....	235
Figura 5.22: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°1-C-1.....	236
Figura 5.23: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°1-C-1..	236
Figura 5.24: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°1-C-2.....	237
Figura 5.25: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°1-C-2..	237
Figura 5.26: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°1-C-3.....	238
Figura 5.27: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°1-C-3..	238
Figura 5.28: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°1-C-4.....	239
Figura 5.29: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°1-C-4..	239
Figura 5.30: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°2-C-1.....	240
Figura 5.31: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°2-C-1..	240
Figura 5.32: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°2-C-2.....	241
Figura 5.33: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°2-C-2..	241
Figura 5.34: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°2-C-3.....	242
Figura 5.35: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°2-C-3..	242
Figura 5.36: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°2-C-4.....	243
Figura 5.37: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°2-C-4..	243
Figura 5.38: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°3-C-1.....	244
Figura 5.39: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°3-C-1..	244
Figura 5.40: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°3-C-2.....	245
Figura 5.41: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°3-C-2..	245
Figura 5.42: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°3-C-3.....	246
Figura 5.43: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°3-C-3..	246
Figura 5.44: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°3-C-4.....	247
Figura 5.45: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°3-C-4..	247
Figura 5.46: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°4-C-1.....	248
Figura 5.47: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°4-C-1..	248
Figura 5.48: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°4-C-2.....	249
Figura 5.49: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°4-C-2..	249
Figura 5.50: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°4-C-3.....	250
Figura 5.51: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°4-C-3..	250
Figura 5.52: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°4-C-4.....	251

Figura 5.53: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°4-C-4..	251
Figura 5.54: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°5-C-1. .....	252
Figura 5.55: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°5-C-1..	252
Figura 5.56: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°5-C-2. .....	253
Figura 5.57: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°5-C-2..	253
Figura 5.58: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°5-C-3. .....	254
Figura 5.59: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°5-C-3..	254
Figura 5.60: Gráfica del volumen acumulado de CH <sub>4</sub> producido-Test N°5-C-4. .....	255
Figura 5.61: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°5-C-4..	255
Figura 5.62: Bacterias presentes en muestra de quitosano sin previo lavado.	256
Figura 5.63: Carbón activado fragmentado con formación de biofilm. ....	256
Figura 5.64: Bacterias presentes en muestra de quitosano con previo lavado.	257
Figura 5.65: Vista de los poros de una perla de quitosano infiltrada en parafina, a través de un estereoscopio.....	258
Figura 5.66: Medición en microscopio de los poros de una perla de quitosano de un corte micrométrico.....	259
Figura 5.67: Hallazgo de bacterias Gram negativas al interior de los poros de las perlas de quitosano. ....	259
Figura 5.68: Consorcio microbiano presente en el poro de una perla de quitosano.....	260
Figura 5.69: Vista de los poros de un grano de carbón activado infiltrado en parafina, a través de un estereoscopio.....	261
Figura 5.70: Vista del poro colonizado de un grano de carbón activado.....	261
Figura 5.71: Corte micrométrico de una partícula de zeolita.....	262
Figura 5.72: Medición en microscopio de los poros de una partícula de zeolita de un corte micrométrico.....	262
Figura 5.73: Vista del poro colonizado de una partícula de zeolita. ....	263
Figura 5.74: Vista de otro poro colonizado, por bacterias Gram-negativas, de otra partícula de zeolita. ....	264

# GRANULACIÓN DEL LODO ANAEROBIO DE UN RAFA, UTILIZANDO DIFERENTES MEDIOS DE SOPORTE, Y, LIXIVIADO COMO SUBSTRATO

## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

---

### I.1.- ANTECEDENTES

Los gránulos, presentes en el lodo anaerobio, fueron descritos por primera vez en la década de los 70, lo que condujo a un mayor desarrollo de la tecnología anaerobia en el tratamiento de efluentes, principalmente del agua residual doméstica, dando lugar así, a la creación de nuevos reactores anaerobios, donde la inmovilización de la masa anaerobia, era obtenida por características propias del agregado (tamaño y densidad). Aún continúan perfeccionándose estos reactores según avanza el estudio de dichos gránulos.<sup>1</sup>

Este desarrollo tecnológico, hizo prioritario el estudio de los fundamentos de la microbiología, ecología y fisiología de los microorganismos envueltos en este proceso, así como los procesos y condiciones para propiciar la granulación anaerobia.

La aplicación del proceso de degradación anaerobia a efluentes industriales, con contenidos inhibitorios o tóxicos, puede ser mejorada fomentando la “granulación”, dado que este orden del consorcio de bacterias, puede llegar a soportar mayores cargas debido al orden con el cual se encuentran agrupados.

---

<sup>1</sup> Caracterización da biomassa anaerobia granular : análise cualitativa e quantitativa de imagen ,hibridizacao com sondas geneticas.

Esta posibilidad, de “construir” o alentar el crecimiento de consorcios bacterianos, es uno de los desafíos dentro de este tipo de tecnologías.

En el País, hasta el momento, no hay estudios publicados referentes a la granulación y a las teorías que conllevan a este proceso. En cuanto a los digestores anaerobios, y en especial, a los reactores anaerobios de alta tasa, no se ha encontrado información específica referente a estudios desarrollados aquí, sobre la composición microbiológica, química, y propiedades físicas de los gránulos, siendo ello importante para las fases de diseño, arranque y operación del reactor, debido a que los parámetros para diseñar son tomados de fuentes referenciales y no de estudios realizados en nuestro medio.

En general, el estudio de los gránulos abarca una gran parte microbiológica, variando de especies según el substrato utilizado y las condiciones climáticas del medio. Como referencia, se tiene el estudio de las *archaeas metanogénicas*, responsables, en parte, del proceso de granulación. Hasta la fecha solo se han identificado en el mundo 108 especies, y, en el Brasil, específicamente en el estado de Sao Paulo, se tienen identificadas 4, no conociéndose aun la cantidad total de familias existentes de este microorganismo en Brasil<sup>2</sup>. Con esa referencia, se concluye que el campo de estudio de los gránulos anaerobios está aun en proceso de desarrollo.

---

<sup>2</sup> Dominios de la Archaea (Filomena Vazoller)

## **I.2.- PROBLEMA A INVESTIGAR**

Determinar si el lodo anaerobio del RAFA (reactor UASB) de la planta de tratamiento de aguas residuales UNI-TRAR, granula, empleando diferentes aditivos como medios de soporte, y comparar las propiedades físicas de estos. También, conocer el comportamiento del lodo anaerobio durante el proceso de granulación, a través del monitoreo de los parámetros de control, usando como sustrato, el lixiviado proveniente del relleno sanitario Portillo Grande.

## **I.3.- JUSTIFICACIÓN**

El tratamiento del lixiviado de un relleno sanitario, mediante reactores UASB, es una de las alternativas tecnológicas más viables y adecuadas, de acuerdo a la bibliografía y diversas fuentes consultadas, por su gran capacidad de soportar altos rangos de carga orgánica aplicada.

Debido a la muy elevada carga orgánica presente en el lixiviado, surgió la necesidad de investigar la mejora de las características degradantes del lodo de un reactor UASB, empleado como inóculo, haciendo uso de aditivos (carbón activado, zeolita, perlas de alginato y perlas de quitosano) como medios de soporte, de acuerdo a las teorías de granulación.

#### **I.4.- DEFINICIÓN DE TÉRMINOS**

- **Absorción:** Fijación y concentración selectiva de sólidos disueltos en el interior de un material sólido, por difusión.
- **Adsorción:** Fenómeno físico-químico que consiste en la fijación de sustancias gaseosas, líquidas o moléculas libres disueltas en la superficie de un sólido.
- **AGV:** Ácidos grasos volátiles.
- **Agua residual:** Agua que ha sido usada por una comunidad o industria y que contiene material orgánico o inorgánico disuelto o en suspensión.
- **Anaerobio:** Condición en la cual no hay presencia de aire u oxígeno.
- **Biofilm:** Película biológica adherida a un medio sólido y que lleva a cabo la degradación de la materia orgánica.
- **DBO<sub>5</sub>:** Demanda bioquímica de oxígeno, definida como la cantidad de oxígeno requerido por los microorganismos, mientras se estabiliza la materia orgánica putrescible, bajo condiciones aerobias, de tiempo y temperatura específicos (5 días y a 20° C).
- **Desacetilación:** Proceso por el cual la quitina se somete a un proceso que le quita una parte de su estructura, el grupo acetilo, obteniéndose un derivado quitosán presente en un 70 % en el quitosano.
- **Digestión anaerobia:** Descomposición biológica de la materia orgánica del lodo, en ausencia de oxígeno.
- **DQO:** Demanda química de oxígeno, que expresa la cantidad de oxígeno consumida por los cuerpos reductores en un agua sin intervención de los microorganismos.
- **Extruir:** Proceso por el cual, el material polimérico es alimentado por un extremo de la máquina y debido a la acción de empuje se funde, fluye y

mezcla en el cañón y se obtiene por el otro lado con un perfil geométrico preestablecido.

- **pH:** Logaritmo de signo negativo, de la concentración de iones hidrógeno expresado en moles por litro.
- **Planta de tratamiento:** Infraestructura y procesos que permiten la depuración de aguas residuales.
- **Polímero:** Es una molécula de gran tamaño constituida esencialmente de azúcares (polisacáridos) y oxígeno.
- **PTAR:** Planta de tratamiento de aguas residuales.
- **RAFA:** Reactor anaerobio de flujo ascendente.
- **Reactor anaerobio de flujo ascendente:** Proceso continuo de tratamiento anaerobio de aguas residuales, en el cual el desecho circula en forma ascendente a través de un manto de lodos o filtro, para la estabilización parcial de la materia orgánica. El desecho fluye del proceso por la parte superior y normalmente se obtiene gas como producto.
- **Reactor UASB:** Reactor anaerobio de flujo ascendente con manto de lodos, cuyas siglas en inglés significan **Upflow Anaerobic Sludge Blanket**.
- **SST:** Sólidos suspendidos totales.
- **SSV:** Sólidos suspendidos volátiles.
- **ST:** Sólidos totales.
- **STV:** Sólidos totales volátiles.



## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

---

### II.1.- LODO ANAEROBIO

#### II.1.1.- DEFINICIÓN

El lodo anaerobio, es una masa semisólida de consistencia pastosa, compuesta de agua y partículas de diferentes tamaños. Contiene una biomasa anaerobia, donde los grupos metabólicos presentes están en función del tipo de substrato a degradar; presentan color negro, y tienen capacidad para producir biogás.

#### II.1.2.- CLASIFICACIÓN

Los lodos anaerobios se pueden clasificar, según su consistencia, en lodos floculentos y lodos granulares.

##### II.1.2.1.- Lodos floculentos

Son lodos densos, que no presentan conglomerados (estructuras) de consistencia definida, donde la biomasa anaerobia se encuentra dispersa.

### II.1.2.2.- Lodos granulares

Son lodos densos, que están compuestos por conglomerados (estructuras definidas), donde albergan a la biomasa anaerobia que se agrupa por capas, según su requerimiento de nutrientes o el sinergismo entre ellos (los gránulos).

Los gránulos anaerobios, a su vez se pueden clasificar según su tamaño en:

- a) Flocs: poseen estructura suelta, forma indefinida y capa única,
- b) Pellets: poseen una estructura mas densa que los flocs, bien definida y sedimentan fácilmente, y,
- c) Gránulos: son pellets densos con apariencia granular y alta sedimentación.<sup>3</sup>

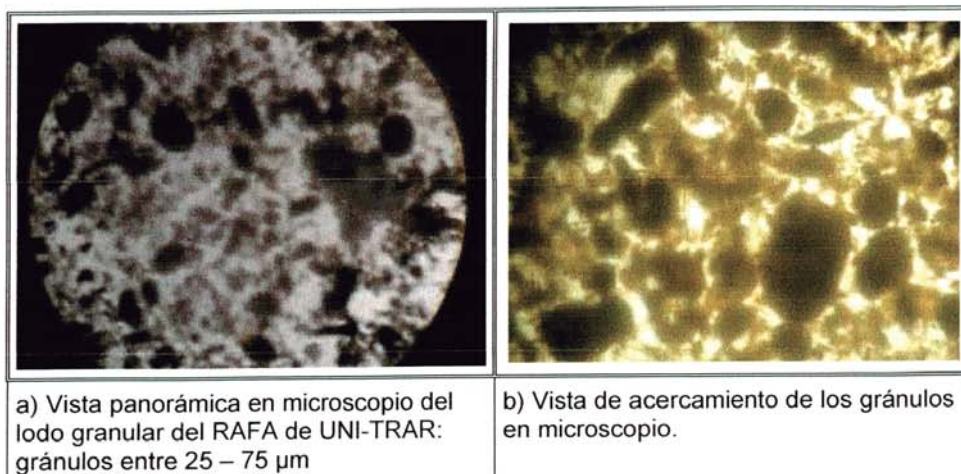


Figura 2.1: Vista de los gránulos del lodo anarobio del RAFA de UNI-TRAR.

Realizado en el laboratorio de la PTAR- Carapongo de SEDAPAL (22/06/07). Agradecimiento a la Bióloga Sofía Basilio.

<sup>3</sup> Arranque y Operación de reactores anaerobios; J. .Alexandra; Universidad del Valle; Cali - Colombia

### **II.1.3.- CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS**

Según Méndez Novelo et al<sup>4</sup>, las características de los lodos pueden variar según las características del afluente que ingresa (agua residual comercial o residencial).

El tipo de lodo encontrado en los tanques sépticos, se caracteriza por ser floculento, muy diluido (97% agua), y por tener altas concentraciones de carga orgánica, con valores de DQO alrededor de 40000 mg/l. (ver Anexo 3).

De acuerdo a la revisión de diversos estudios, los lodos de los reactores UASB, se caracterizan por tener altas concentraciones de SSV, valores como 18800 y 19500 mg/l encontrados por Castillo et al. (2002), y, valores alrededor de 30200 mg/l de SVT encontrados por Cardoso et al. (2002).

### **II.1.4.- BIOMASA DEL LODO GRANULAR**

La caracterización del lodo granular anaerobio, presenta una ecología bacteriana diversa, donde los grupos fisiológicos no se encuentran en un mismo nivel, desde el punto de vista de los potenciales de oxidación - reducción. La distribución bacteriana sugiere un orden de capas sucesivas que van desde una superficial, a la más profunda donde se encuentran los anaerobios estrictos<sup>5</sup>.

La biomasa presente en el lodo granular anaerobio, contiene diferentes grupos fisiológicos bacterianos: bacterias fermentadoras de glucosa (BF); bacterias nitrato reductoras (BNR); Bacterias sulfato reductoras (BSR); y microorganismos metanogénicos (MM).

---

<sup>4</sup> Determinación de la tasa de acumulación de lodos en fosas sépticas de la ciudad de Mérida Yucatán; Méndez, Gijón, Quintal, Osorio; 2007.

<sup>5</sup> An examination of the structure of UASB granules; Quarmby, 1995.

La determinación de la biomasa en el lodo anaerobio se realiza a través del cálculo del contenido de proteínas presentes en él, con el fin de poder estimar las poblaciones bacterianas presentes en el lodo.

El incremento de la concentración del sustrato expresado en DQO, incentiva el aumento de microorganismos presentes en la biomasa del lodo granular, lo que conduce a un incremento de la remoción de materia orgánica. En el cuadro adjunto se presenta los valores encontrados (Magali Chávez et al<sup>6</sup>).

Tabla 2.1: Relación entre la biomasa de materia orgánica y la biomasa producida durante la degradación anaerobia de la glucosa.

DQO ( mg/l)	Remoción de materia Orgánica (%)	Biomasa (ug /l)
1000	65.7	492.53
2000	77.3	540.2
3000	85.3	560.25

Tabla 2.2: Grupos metabólicos presentes en el lodo granular anaerobio.

GRUPOS METABÓLICOS	SIGLAS
Bacterias fermentadoras de glucosa	BFG
Bacterias fermentadoras de Lactato	BFL
Bacterias acetógenicas de propionato	BAP
Bacterias acetógenicas de formato	BAF
Bacterias acetógenicas de etanol	BAE
Bacterias sulfato reductoras de acetato	BSRA
Bacterias sulfato reductoras de lactato	BSRL
Bacterias sulfato reductoras de etanol	BSRE
Bacterias metanógenicas de acetato	BMA
Bacterias metanógenicas de formato	BMF
Bacterias metanógenicas de metanol	BMM

Según Claudia Sandoval et al<sup>7</sup>, los grupos metabólicos presentes en el lodo fueron estudiados usando la técnica de NMP (n=3), usando medios de cultivo, logrando así identificar los siguientes grupos metabólicos presentes en el lodo anaerobio, que utilizó como sustrato la FORSU, operando en dos fases (ácida y metanogénica).

<sup>6</sup> Evaluación de la biomasa en el lodo granular anaerobio en reactores por carga; M. Chavez ,D Mejias , M. Masy ,A.Escorihuela, E.Chacin N.Flores; Universidad de Zulia ,Venezuela.

<sup>7</sup> Caracterización microbiológica de lodos anaerobios utilizados en el tratamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos; C. Sandoval, M. Carreño, E. Castillo, M. Vergara; 2007, Universidad tecnológica de Pereira.

El número de tubos positivos en las diferentes diluciones, fue usado para obtener el NMP, según la tabla de probabilidades reportada en el Standard Methods.

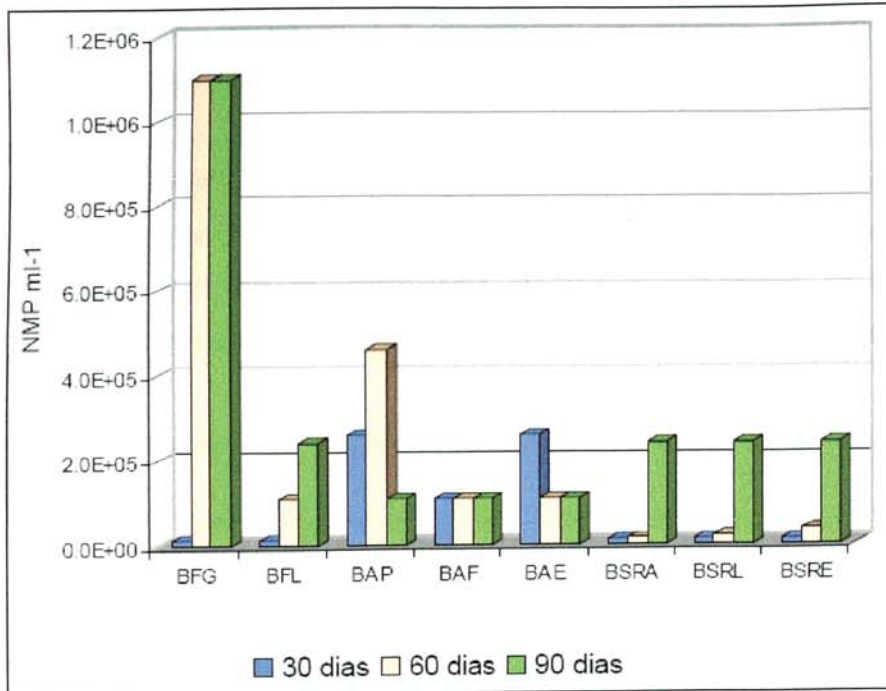


Figura 2.2: Grupos microbiales relacionados con el metabolismo bacterial, para el reactor acidogénico, expresado en NMP ml<sup>-1</sup>.

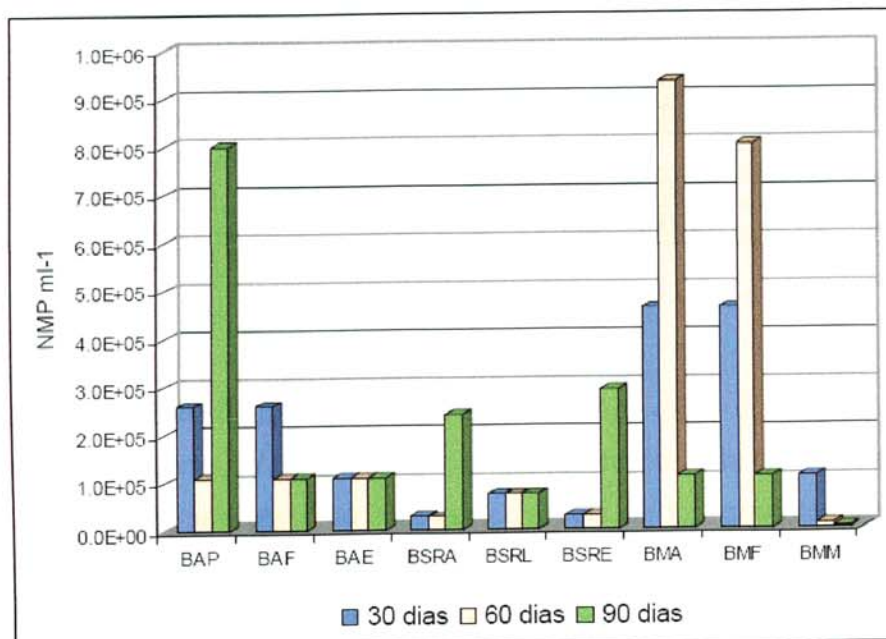


Figura 2.3: Grupos microbiales relacionados con el metabolismo bacterial, para el reactor metanogénico, expresado en NMP ml<sup>-1</sup>.

### II.1.5.- ACTIVIDAD METANOGENICA DEL LODO ANAEROBIO

Una de las propiedades a considerar en un lodo anaerobio, para ser utilizado como inóculo, es su capacidad para degradar substratos, lo cual se refleja en su capacidad de producción de biogás, lo que demuestra, que en el lodo están presentes los consorcios bacterianos, necesarios para la producción de biogás.

Los lodos que presentan mayores valores de actividad metanogénica, indican que su biomasa esta aclimatada al tipo de substrato utilizado; el parámetro también se utiliza para evaluar la capacidad de inhibición de algunos compuestos tóxicos en función al descenso del parámetro.

En el cuadro adjunto, se presenta para diferentes tipos de inóculo, valores de AME.

Tabla 2.3: Fuentes de inóculo para Reactores Anaerobios.

Tipo de inóculo	Actividad Metanogénica (g CH <sub>4</sub> - DQO/g SSV.d)	SSV en el lodo (g/l)
Lodo Granular	0.5 a 1.5	70 a 120
Biopelícula	0.4 a 1.2	ND
Lodos digeridos de aguas residuales domésticas	0.02 a 0.2	15 a 40
Estiercol digerido	0.02 a 0.08	20 a 80
Estiercol fresco	0.001 a 0.002	30 a 140
Laguna Anaerobia	0.03	30
Tanque Séptico	0.01 a 0.07	10 a 50
Sedimento de Laguna	0.002 a 0.005	20 a 50

Fuente: Guyot, 1993; Ramírez, 1996.

### II.1.6.- RESISTENCIA AL OXÍGENO

La mayor parte de las investigaciones, referentes a la tolerancia de oxígeno en el lodo anaerobio, se han concentrado en los gránulos anaerobios de reactores tipo manto de lodos (UASB, por su sigla en ingles **U**pflow **A**naerobic **S**ludge **B**lanket) (Kato et al, 1993; Macarie y Guiot, 1996; Shen y Guiot, 1996).

Según el estudio "Resistencia a la exposición al oxígeno de lodos anaerobios suspendidos", se determinó que si bien los lodos anaerobios tienen una baja resistencia intrínseca al oxígeno, esta resistencia aumenta cuando el lodo o la biomasa anaerobia se encuentra en presencia de un sustrato; dicha resistencia aumenta principalmente por la protección ejercida por las bacterias facultativas, que reducen la concentración de oxígeno disuelto vía metabolización del medio, es decir vía respiración aerobia heterótrofa (Macario y Guiot, 1996 Kato et al , 1993). Los perfiles de consumo de oxígeno, en las botellas en las cuales se realizó el estudio, mostraron que para concentraciones de oxígeno inicial, menores o iguales al 20% en el espacio gaseoso, la desaparición del oxígeno se completa al segundo día de incubación en presencia del medio, esto implica que la biomasa anaerobia estuvo menos expuesta al efecto tóxico del oxígeno que las botellas con lodo sin sustrato, por consiguiente tuvo mayores tasas de recuperación de AME, tal como se puede apreciar en el grafico adjunto<sup>8</sup>:

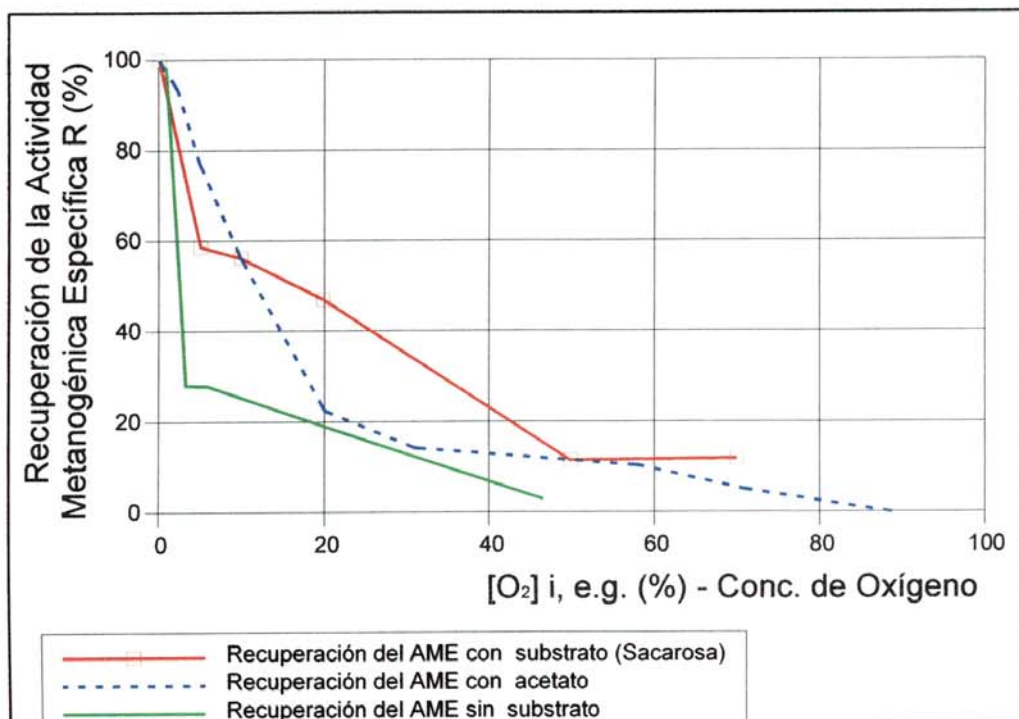


Figura 2.4: Recuperación del AME de lodos anaerobios.

<sup>8</sup> Resistencia a la Exposición al oxígeno de lodos anaerobios suspendidos, Carlos Estrada, Herve Macario, Mario Takayuki Kato, Rodríguez,Poggi; ,2001.

## **II.2.- DIGESTIÓN ANAEROBIA**

### **II.2.1.- DEFINICIÓN**

La digestión anaerobia es un proceso biológico degradativo, en el cual, parte de los materiales orgánicos de un substrato son convertidos en biogás (mezcla de dióxido de carbono y metano con trazas de otros elementos), por un consorcio de bacterias sensibles o completamente inhibidas por el oxígeno. Utilizando el proceso de digestión anaerobia, es posible convertir gran cantidad de residuos, residuos vegetales, estiércoles, efluentes de la industria alimentaria y fermentativa, de la industria papelera y de algunas industrias químicas, en subproductos útiles. En la digestión anaerobia más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, consumiéndose sólo un 10% de la energía en crecimiento bacteriano, frente al 50% consumido en un sistema aerobio (Muñoz Valero et al., 1987).

### **II.2.2.- PRODUCTOS FINALES DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA**

Los principales productos del proceso de digestión anaerobia, trabajando en sistemas de alta carga orgánica y en mezcla completa, son el biogás y un efluente estabilizado.

#### **II.2.2.1.- Biogás**

Es una mezcla gaseosa, formada principalmente, por metano, dióxido de carbono y pequeñas proporciones de otros gases, como  $H_2S$ ,  $H_2$ ,  $NH_3$ , etc. La composición o riqueza del biogás depende del material digerido y del funcionamiento del proceso. En la Tabla 2.4, se muestran valores medios de composición del biogás, en función del substrato utilizado.

La potencial calorífica inferior del biogás es aproximadamente de 5.250 kcal/m<sup>3</sup>, para una riqueza en metano de 60%.



Tabla 2.4: Componentes del biogás en función del sustrato utilizado (Coombs, 1990).

Componente	Residuos agrícolas	Lodos de depuradora	Residuos industriales	Gas de vertedero
Metano	50-80%	50-80%	50-70%	45-65%
Dióxido de carbono	30-50%	20-50%	30-50%	34-55%
Agua	Saturado	Saturado	Saturado	Saturado
Hidrógeno	0-2%	0-5%	0-2%	0-1%
Sulfuro de hidrógeno	100-700 ppm	0-1%	0-8%	0.5-100 ppm
Amoníaco	Trazas	Trazas	Trazas	Trazas
Monóxido de carbono	0-1%	0-1%	0-1%	Trazas
Nitrógeno	0-1%	0-3%	0-1%	0-20%
Oxígeno	0-1%	0-1%	0-1%	0-5%
Compuestos orgánicos	Trazas	Trazas	Trazas	5 ppm (terpenos, esteroides,...)

### II.2.2.2.- Efluente

Las características del efluente, dependen mucho del tipo de sistema, pero tratando con sistemas de mezcla completa y con residuos orgánicos, se puede decir que el efluente es la mezcla del influente estabilizado y la biomasa microbiana producida. Durante el proceso anaerobio parte de la materia orgánica se transforma en metano, por lo que el contenido en materia orgánica es menor que en el influente. Se trata, además, de un producto más mineralizado que el influente, con lo que normalmente aumenta el contenido de nitrógeno amoniacal y disminuye el nitrógeno orgánico.

## II.2.3.- CINÉTICA DE LAS REACCIONES BIOLÓGICAS

### II.2.3.1.- Tasa de utilización de sustrato (coeficientes de producción)

El crecimiento celular, engloba la conversión metabólica de un sustrato en sus productos, lo que hace que se libere energía en forma de ATP (ruta catabólica), que será utilizada para la síntesis celular (ruta anabólica).

*Catabolismo: Sustrato → Productos + Energía*

*Anabolismo: Sustrato + Energía + Nutrientes → Masa celular*

*Resultado Global: Sustrato + Nutrientes → Masa celular + Productos*

La cantidad de masa celular, o biomasa formada, es proporcional a la cantidad de sustrato y de producto. Se puede definir un coeficiente para cada tipo de bacterias, llamado coeficiente de producción, y, que puede ser determinado experimentalmente:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Producción de biomasa: } Y_{X,S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \\ \text{Producción de producto: } Y_{P,S} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \end{array} \right\} \quad (2.1)$$

Donde S: Sustrato, X: Biomasa y P: Producto.

El crecimiento de la población de microorganismos se puede asociar al consumo de sustrato mediante el uso del coeficiente de producción:

$$\frac{dX}{dt} = Y_{X,S} \frac{dS}{dt} - bX \quad , \quad (2.2)$$

donde  $bX$  es un término que refleja la lisis bacteriana, habiéndose asociado también, con el concepto de energía de mantenimiento, o energía utilizada, no para el crecimiento, sino para el mantenimiento de los microorganismos (respiración).

### II.2.3.2.- Tasa crecimiento

En condiciones ideales, el crecimiento de las poblaciones bacterianas sigue un crecimiento exponencial en el tiempo. Puesto que el crecimiento de la población bacteriana ocurre por división de las células individuales, la tasa de crecimiento bacteriano es proporcional al tamaño de la población. Esto lleva a la reacción autocatalítica descrita mediante la cinética de primer orden (Monod, 1950):

$$\frac{dX}{dt} = \mu X, \quad (2.3)$$

donde  $\mu$ : la tasa de crecimiento específica.

Considerando la respiración endógena, la tasa de crecimiento se expresará mediante la siguiente expresión:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - bX, \quad (2.4)$$

donde  $b$  es la tasa de lisis o coeficiente de respiración.

Al integrar la ecuación 2.4, considerando  $\mu$  y  $b$  constantes, se obtiene la función de la concentración de la población bacteriana en el tiempo,

$$X = X_{(t=0)} e^{(\mu-b)t} \quad (2.5)$$

En la práctica existen limitaciones al crecimiento, dadas por ejemplo, por la limitación del sustrato disponible o por la presencia de tóxicos. La concentración de sustrato disponible limita la velocidad de crecimiento de las poblaciones bacterianas. La forma de simular esta influencia ha sido objeto de controversia, siendo diferente en función de las condiciones y del grupo de microorganismos. En general se acepta que se cumple la cinética de Monod (1950), quien propuso una expresión similar a la ecuación de Michaelis-Menten de velocidad de reacción enzimática:

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad (2.6)$$

Tabla 2.5: Diferentes cinéticas de crecimiento de microorganismos usadas en la bibliografía (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991)

Tipo de cinética	$-dS/dt$	$\mu$	
Primer orden	$K.S$	$\frac{KS}{S_0 - S}$	(2.7)
Grau et al. (1975)	$\frac{\mu}{Y} \frac{S}{S_0} X$	$\mu \frac{S}{S_0}$	(2.8)
Monod (1950)	$\frac{\mu}{Y} \frac{S}{K_s + S} X$	$\mu \frac{S}{K_s + S}$	(2.9)
Contois (1959)	$\frac{\mu_m}{Y} \frac{S}{BX + S} X$	$\mu_m \frac{S}{BX + S}$	(2.10)
Chen y Hashimoto (1978)	$\mu \frac{S}{K.X + Y.S} X$	$\mu \frac{S}{K.S_0 + (1 - K)S}$	(2.11)

Sobre la base de la cinética de Monod se pueden introducir nuevas modificaciones, por ejemplo para el caso de la existencia de varios substratos limitantes, mediante términos tipo Monod multiplicativos (Angelidaki et al., 1999). Así si se consideran dos substratos limitantes,  $S_1$  y  $S_2$ ,

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S_1}{S_1 + K_{S_1}} \frac{S_2}{S_2 + K_{S_2}} \quad (2.12)$$

### II.2.3.3.- Tasa específica de utilización de sustrato

A partir de las expresiones 2.2 y 2.4 se puede definir la tasa específica de utilización de sustrato (U), es decir, la variación de sustrato en el tiempo por unidad de biomasa:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - bX = Y_{X,S} \frac{dS}{dt} - bX \Rightarrow \mu X = Y_{X,S} \frac{dS}{dt} \Rightarrow U = \frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = \frac{\mu}{Y} \quad (2.13)$$

### II.2.3.4.- Cinéticas de inhibición

La presencia de un compuesto tóxico para los microorganismos, se refleja en una menor tasa de crecimiento de los mismos. No todos los microorganismos se ven afectados de la misma forma por los mismos compuestos. Se dice que hay tres tipos básicos de inhibición, en función de la reversibilidad y del parámetro cinético al que afecta.

A través de las constantes “biocinéticas” de la ecuación de Monod (2.6) para la tasa de crecimiento específico y de utilización de sustrato, se puede ajustar el modelo para tener en cuenta los factores inhibidores. Lo más común en los modelos consultados en la bibliografía es que sea la velocidad de crecimiento específica  $\mu$  la variable afectada, aunque algunas sustancias pueden afectar al coeficiente de producción o a la tasa de lisis (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

En la Tabla 2.6, se muestran las ecuaciones de los diferentes tipos de inhibición que afectan a la velocidad de crecimiento específica.

Tabla 2.6: Tipos de inhibición y expresión matemática de la cinética.

Tipo de inhibición	Parámetro afectado	Expresión de la cinética
Inhibición no competitiva	Tasa máxima de crecimiento	$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \cdot \frac{K_I}{K_I + I} \quad (2.14)$
Inhibición competitiva	Constante de saturación	$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_S \left( 1 + \frac{I}{K_I} \right) + S} \quad (2.15)$
Inhibición Acompetitiva	Tasa máxima y constante de saturación.	$\mu = \frac{\mu_{\max}}{1 + \frac{K_S}{S} + \frac{I}{K_I}} \quad (2.16)$

En todos los casos,  $K_I$  es la constante de inhibición y  $I$  la concentración de compuesto inhibidor.

La expresión de la inhibición incompetiva, se denomina también cinética de Haldane, y ha sido utilizada para expresar la inhibición por el propio sustrato (S) o por el producto (P) (Andrews y Graef, 1971):

donde  $\mu$ : tasa de crecimiento específica;  $\mu_m$ : tasa máxima de crecimiento específica; S: concentración de sustrato;  $K_s$ : constante de saturación.

La dependencia del sustrato de la velocidad de crecimiento específica ( $\mu$ ), es de forma que si la cantidad de sustrato es muy grande, la tasa específica se aproxima al valor máximo, y, si la concentración del sustrato tiende a cero, se aproxima a cero (Figura 2.5).

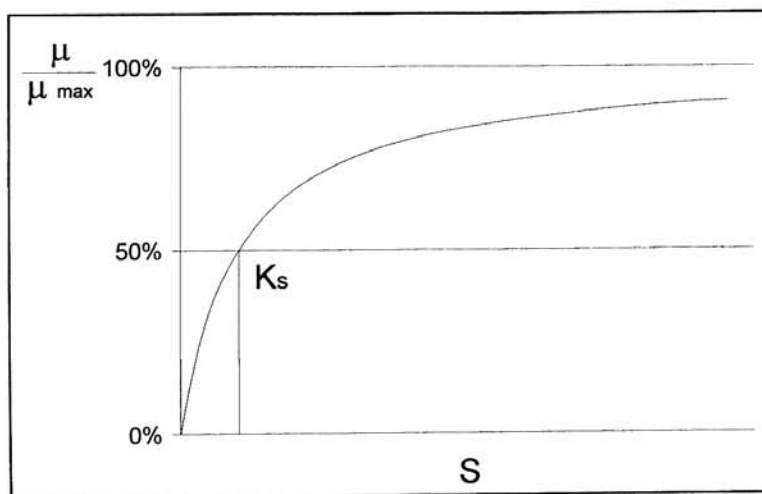


Figura 2.5: Ilustración de la cinética de crecimiento de Monod.

Otras funciones del sustrato se han considerado para simular la cinética de crecimiento de microorganismos anaerobios, tal y como se muestra en la Tabla 2.5.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{1}{1 + \frac{K_S}{S} + \frac{S}{K_I}}; \quad \mu = \mu_{\max} \frac{1}{1 + \frac{K_S}{S} + \frac{P}{K_I}} \quad (2.17)$$

También se utiliza la llamada “ecuación de Haldane generalizada”,

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{1 + \frac{K_S}{S} + \left(\frac{S}{K_I}\right)^n}, \quad (2.18)$$

dónde n es el orden de inhibición. Con estos tipos de expresiones, hay un valor de concentración de sustrato para el que la tasa de crecimiento es máxima (Figura 2.6). Este valor se puede determinar analíticamente en función de los valores de las constantes de saturación e inhibición,

$$S_{\mu_{\max}} = \sqrt[n+1]{\frac{K_S \cdot K_I^n}{n}}; \quad [\mu]_{\max} = \frac{\mu_{\max}}{1 + \left(1 + n^{1/n}\right) \left(n \frac{K_S}{K_I}\right)^{\frac{n}{n+1}}} \quad (2.19)$$

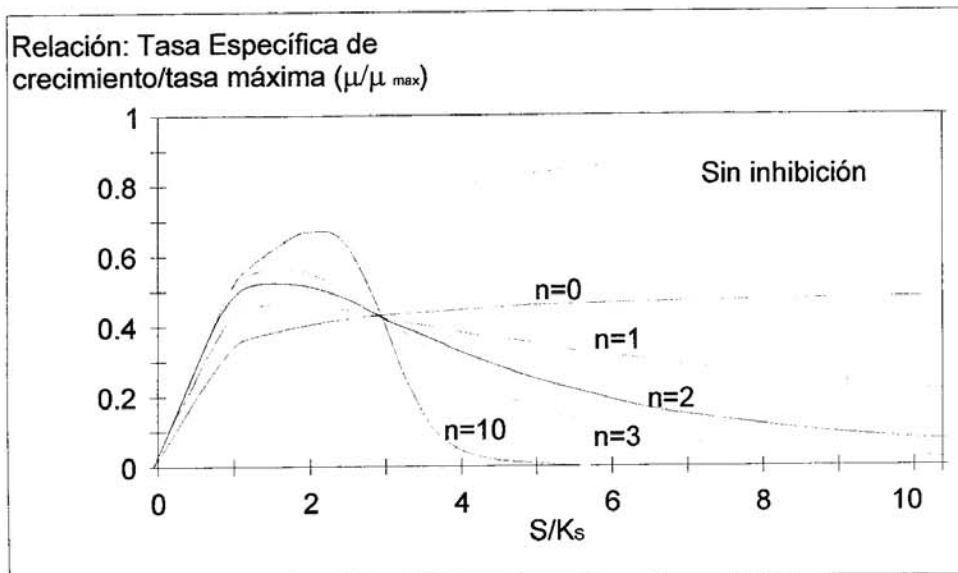


Figura 2.6: Efecto de la concentración de sustrato sobre la relación tasa específica de crecimiento/tasa máxima, para diferentes valores de “n”, considerando que la constante de inhibición es  $K_I=3 K_S$ .

Los procesos biológicos están afectados por la temperatura. De forma general, al aumentar la temperatura aumenta la tasa específica de crecimiento, hasta llegar al óptimo. A partir del óptimo, diferente para cada grupo de microorganismos, la velocidad disminuye. La expresión más ampliamente utilizada en la modelación de los procesos anaerobios es la ecuación de Arrhenius (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991),

$$\mu = k_1 \exp[a_1(T - T_{ref})] - k_2 \exp[a_2(T - T_{ref})] \quad (2.20)$$

El pH influye en la velocidad de crecimiento de los microorganismos anaerobios. Generalmente se considera que afecta a la tasa máxima de crecimiento, mediante expresiones descritas por la función de Michaelis normalizada (Angelidaki et al., 1993),

$$\mu_{pH} = \mu.F(pH) \quad (2.21)$$

#### II.2.4.- EL PROCESO MICROBIOLÓGICO Y BIOQUÍMICO DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA

Los modelos tradicionales de digestión anaerobia, dividen las reacciones que ocurren durante el proceso de mineralización de la materia orgánica en varias fases, llevadas a cabo por diferentes grupos de bacterias, relacionados entre ellos. De hecho muchas de estas reacciones ocurren simultáneamente sin una separación clara de fases. En la Figura 2.7, se muestra el esquema de las diferentes fases de la digestión anaerobia, con los principales microorganismos de los diferentes procesos y los compuestos intermediarios.

La primera fase es la hidrólisis de partículas y moléculas complejas que son hidrolizadas por enzimas extracelulares producidas por los microorganismos fermentativos. Como resultado se producen compuestos solubles, que serán metabolizados por las bacterias anaerobias en el interior de las células. Los compuestos solubles, básicamente diferentes tipos de oligosacáridos y azúcares, alcoholes, aminoácidos y ácidos grasos, son fermentados por los



microorganismos acidogénicos que producen, principalmente, ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, dióxido de carbono e hidrógeno. Los ácidos grasos de cadena corta son transformados en acético, hidrógeno y CO<sub>2</sub>, mediante la acción de los microorganismos acetogénicos. Finalmente ocurre la metanogénesis, que produce metano principalmente a partir de acético y a partir de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>.

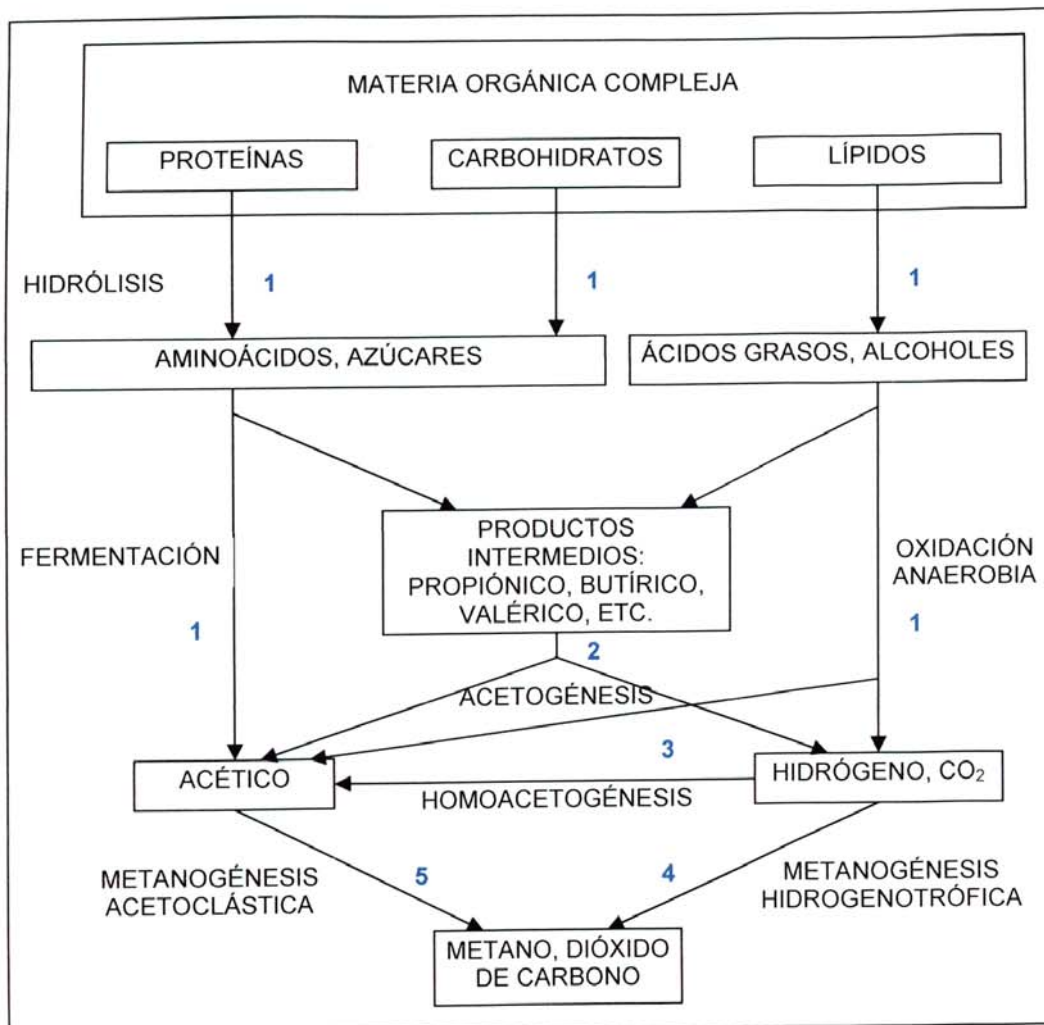


Figura 2.7: Esquema de reacciones de la digestión anaerobia de materiales poliméricos. (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). Los números indican la población bacteriana responsable del proceso: 1: bacterias fermentativas; 2: bacterias acetogénicas que producen hidrógeno; 3: bacterias homoacetogénicas; 4: bacterias metanogénicas hidrogenotróficas; 5: bacterias metanogénicas acetoclásticas.

#### II.2.4.1.- Hidrólisis

La materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos, a menos que, se hidrolicen en compuestos

solubles, que puedan atravesar la membrana celular. La hidrólisis es, por tanto, el primer paso necesario para la degradación anaerobia de substratos orgánicos complejos. La hidrólisis de estas partículas orgánicas, es llevada a cabo por enzimas extracelulares excretadas por las bacterias fermentativas. La etapa hidrolítica, puede ser la etapa limitante de la velocidad del proceso global, sobre todo, tratando residuos con alto contenido en sólidos. Incluso en casos, donde las fases acidogénicas o metanogénicas son consideradas como pasos limitantes, la hidrólisis puede afectar el conjunto del proceso (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

Cualquier substrato se compone de los tres tipos básicos de macromoléculas: hidratos de carbono, proteínas y lípidos. La hidrólisis de cada tipo de compuesto se realiza por diferentes grupos enzimáticos. El grado de hidrólisis y la velocidad del proceso depende de muchos factores, entre otros del pH, de la temperatura, de la concentración de biomasa hidrolítica, del tipo de materia orgánica particulada (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991), y del tamaño de partícula (Hills y Nakano, 1984).

Uno de los principales componentes de la materia orgánica, sobre todo en residuos ganaderos, son los materiales lignocelulósicos, compuestos principalmente por lignina, celulosa y hemicelulosa. La lignina es un material altamente refractario a la degradación anaerobia, afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, de la hemicelulosa y de otros polímeros, convirtiéndose su degradación en el proceso limitante de la velocidad de la hidrólisis y por tanto, de la degradación anaerobia de determinados substratos (Sleat y Mah, 1987; Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991; Veeken y Hamelers, 1999).

Las proteínas son hidrolizadas por proteasas en proteosas, peptonas, péptidos y aminoácidos. Hay proteasas extracelulares, conocidas como proteinasas que atacan la proteína entera, y las peptidasas, intracelulares, que cortan aminoácidos del extremo de proteínas y

péptidos. Los aminoácidos producidos son degradados a ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono, hidrógeno, amonio y sulfuro reducido. Generalmente la tasa de hidrólisis de proteínas es menor que la de los carbohidratos (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

La degradación de lípidos, en ambientes anaerobios, consiste en una ruptura inicial de las grasas por un grupo de enzimas hidrolíticas (lipasas), en los correspondientes ácidos grasos de cadena larga y moléculas de glicerol o galactasa.

La tasa de hidrólisis, en general, aumenta con la temperatura (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991; Siegrist et al., 1993; Veeken y Hamelers, 1999), independientemente del compuesto de que se trate.

Hills y Nakano (1984) demostraron que la tasa de hidrólisis depende, también, del tamaño de las partículas, debido fundamentalmente a la disponibilidad de superficie para la adsorción de las enzimas hidrolíticas. Los pretratamientos físico-químicos, cuyo principal efecto es la reducción del tamaño de las partículas, producen un aumento en la tasa de hidrólisis, y si esta fase es la limitante del proceso anaerobio, supone un beneficio para el proceso general, produciendo menores tiempos de retención y tamaños de reactor menores. En la bibliografía se relatan numerosas experiencias positivas en este sentido: pretratamiento con ultrasonidos de lodos de depuradora (Tiehm et al., 1997); pretratamiento mecánico de diferentes tipos de substratos (Baier y Schmidheiny, 1997; Hartmand et al., 1999; Palmowski y Müller, 1999); pretratamientos que combinan ultrasonidos y ataque alcalino (Chiu et al., 1997); pretratamientos térmicos (Bonmatí et al., 2000); o termoquímicos (Delgenès et al., 1999). La dependencia del tamaño de partícula ha motivado el desarrollo de diversos modelos que se basan en este parámetro para simular la velocidad del proceso hidrolítico (Hills y Nakano, 1984; Vavilin et al., 1995; Valentini et al., 1997; Sanders et al., 1999; Palmowski y Müller, 1999).

#### **II.2.4.1.1.- Inhibición de la hidrólisis de macromoléculas**

La hidrólisis puede verse afectada por la presencia de algún compuesto, que sea tóxico, o inhibidor de la población bacteriana, responsable de la producción de enzimas extracelulares. Gallert et al. (1997), encontraron que la concentración de amonio influye negativamente en la desaminación de peptonas. Angelidaki et al. (1999), consideran que la tasa de hidrólisis de carbohidratos y proteínas, está limitada por la concentración total de ácidos grasos volátiles (AGV). Henze et al. (1995), considera que la tasa de hidrólisis está inhibida por la concentración de oxígeno y nitrato.

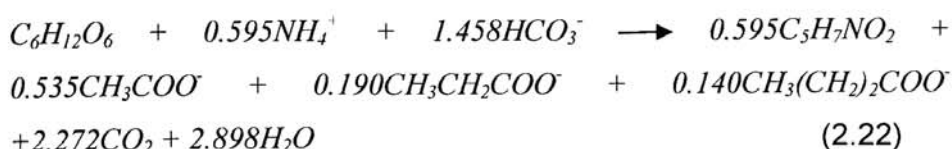
#### **II.2.4.2.- Etapa fermentativa o acidogénica**

Las moléculas orgánicas solubles son fermentadas por varios organismos fermentativos, formando compuestos, que pueden ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico, H<sub>2</sub>), y compuestos orgánicos más reducidos (láctico, etanol, propiónico, butírico, principalmente), que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas a substratos que puedan utilizar las metanogénicas (Stams, 1994). Las proporciones entre los productos de la fermentación, varían en función del consumo de H<sub>2</sub> por parte de las bacterias que utilizan hidrógeno. Cuando el H<sub>2</sub> es eliminado de forma eficiente, las bacterias fermentativas no producen compuestos reducidos como el etanol, favoreciendo la producción de H<sub>2</sub> y la liberación de energía en forma de ATP (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). La actividad de algunas bacterias fermentativas y acetogénicas, depende de la concentración de H<sub>2</sub>, siendo posible sólo a valores muy bajos de presión parcial de H<sub>2</sub>. La eliminación continua de H<sub>2</sub> mediante oxidación por CO<sub>2</sub> (bacterias metanogénicas hidrogenotróficas) estimula la acción de las bacterias fermentativas, al eliminar un producto de la reacción (Boone y Xun, 1987).

### II.2.4.2.1.- Fermentación de carbohidratos solubles

La ruta de degradación de la glucosa en los sistemas anaerobios proporciona como principales productos ácidos grasos volátiles, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>.

McCarty (1971), como posteriormente recogió Pavlostathis y Giraldo-Gómez (1991), propone una estequiometría basada en principios bioenergéticos y termodinámicos, considerando la energía producida en la respiración y la consumida para la síntesis celular de los microorganismos responsables. Siguiendo a Pavlostathis y Giraldo-Gómez (1991), las fracciones de glucosa consumida para la respiración y para la síntesis son, respectivamente, 0.504 y 0.496.  $\Delta G^{\circ} = -50.39$  kcal/mol de glucosa,

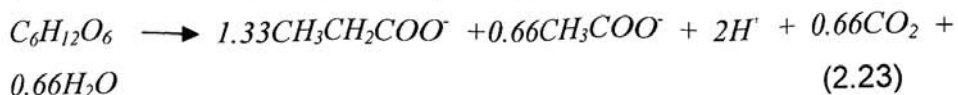


$$\Delta G^{\circ} = -50.39 \text{ Kcal/mol glucosa}$$

La fermentación de azúcares se realiza por diversos tipos de microorganismos, siguiendo diferentes rutas metabólicas, en función del organismo responsable, y obteniendo productos finales diferentes. Los principales microorganismos son los que producen butírico o butanol, básicamente del género Clostridium, que convierten la glucosa y algunos aminoácidos en ácido butírico, acético, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>. Las proporciones de los diversos productos se modifican por la duración y las condiciones de la fermentación, siendo el butírico y el acético los productos mayoritarios si el pH se mantiene alcalino (Madigan et al., 1998).

Las bacterias ácido-propiónicas, del género Propionibacterium, llevan a cabo un proceso distinto, conocido como fermentación ácido-propiónica, en el que se produce la fermentación del ácido láctico, carbohidratos y polihidroxi-alcoholes, produciendo, principalmente, ácido propiónico, succínico, acético y CO<sub>2</sub>. Sus

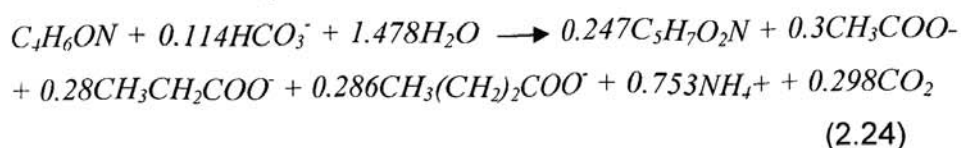
requerimientos nutricionales son complejos y crecen con lentitud. Las diferencias en el metabolismo respecto a los Clostridium se producen a partir de la formación del piruvato por la ruta Embden.-Meyerhof. Con el objeto de que la oxidación-reducción resulte equilibrada, dos tercios de la glucosa se transforman en propionato y un tercio en acetato (Metzler, 1981).



$$\Delta G (ph)' = -310 \text{ KJ} = -74.16$$

#### II.2.4.2.2.- Fermentación de aminoácidos

Los principales productos de la fermentación de aminoácidos, y de otras moléculas nitrogenadas, son ácidos grasos de cadena corta, succínicos, aminovalérico y H<sub>2</sub> (Tabla 2.7). La fermentación de aminoácidos se considera un proceso rápido y que en general, no limita la velocidad de la degradación de compuestos proteicos (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). La estequiometría propuesta por McCarty, 1974, y adaptada por Pavlostathis et al. (1991), considerando las diferentes fracciones para respiración y síntesis de biomasa, se expresa como sigue:



$$\Delta G^\circ = -8.87 \text{ Kcal/mol}$$

Algunos organismos del género Clostridium pueden fermentar aminoácidos. Los productos finales de la oxidación son NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> y un ácido carboxílico con un átomo de carbono menos que el aminoácido oxidado (Madigan et al., 1998). Producen n-butírico y ácido isobutírico, isovalérico, caproico, sulfuro de hidrógeno, metilmercaptano, cadaverina, putrescina (en función del tipo de aminoácido de que proceda), etc.

#### **II.2.4.2.3.- Cinética de la fermentación de hidratos de carbono y aminoácidos**

La mayoría de los modelos publicados simulan la velocidad de la fermentación mediante la cinética de Monod, modificada por funciones de inhibición, aunque muchos autores no consideran inhibición, debido a la versatilidad de los microorganismos fermentativos.

La tasa específica máxima de crecimiento de los microorganismos que degradan carbohidratos, varía de 0,50 a 0,20 h<sup>-1</sup>, y la constante de saturación (K<sub>S</sub>) de 0,004 a 11,76 mM (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991).

#### **II.2.4.2.4.- Inhibidores de la fermentación de hidratos de carbono y aminoácidos**

No se han descrito muchos inhibidores de esta etapa, destacándose tan sólo los ácidos grasos de cadena larga (AGCL), señalados por Angelidaki et al. (1999). La concentración de hidrógeno juega un papel regulador importante del funcionamiento de la fermentación, tal y como describen Boone y Xun (1987).

#### **II.2.4.2.5.- Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga (Acetogénesis de AGCL)**

La ruta principal de degradación de AGCL es la β-oxidación. Los ácidos grasos libres son introducidos en la célula, a través de la pared celular. Este proceso puede ser desarrollado por un gran número de microorganismos, incluso un número mayor que los organismos capaces de hidrolizar las grasas.

Una vez dentro de la célula, el ácido graso es convertido en el correspondiente tio-éster-CoA, lo que sirve tanto para activar su

degradación, como para disminuir el efecto tóxico de los ácidos grasos libres.

La  $\beta$ -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 (Ratledge, 1992). 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.

#### **II.2.4.2.6.- Cinética de la oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga**

Pocos autores han introducido la degradación de ácidos grasos de cadena larga en sus modelos, y los que lo han hecho han utilizado la cinética tipo Monod modificada por factores de inhibición (Siegrist et al., 1993). Angelidaki et al. (1999) consideran dos términos multiplicativos (uno referente a la limitación de AGCL y otro referente a la concentración de amonio, nutriente necesario para la síntesis celular), teniendo en cuenta también un factor multiplicativo en función del pH. La inhibición por el substrato la simulan mediante cinética de Haldane.

#### **II.2.4.2.7.- Inhibición de la oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga**

El principal inhibidor de este proceso es el  $H_2$  (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991; Stam, 1994). Siegrist et al. (1993) señalan también como inhibidor de este proceso la concentración de ácido acético. Angelidaki et al. (1999) consideran como principal inhibidor la propia concentración de AGCL, junto con el pH.



### II.2.4.3.- Fase acetogénica

Mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos ( $H_2$  y acetato), otros (valerato, butirato, propionato, algunos aminoácidos, etc.) necesitan ser transformados en productos más sencillos, acetato e hidrógeno, a través de las bacterias acetogénicas (Tabla 2.7).

Tabla 2.7: Reacciones acetogénicas que ocurren en los sistemas anaerobios (Stams, 1994).

Reacciones acetogénicas	$\Delta G^{0'}$ (KJ)
<b>Etanol y láctico</b>	
$Etanol + H_2O \longrightarrow Acetato + H^+ + 2H_2$	+9.6
$Lactato^{-1} + 2H_2O \longrightarrow Acetato^{-1} + H^+ + 2H_2 + HCO_3^{-}$	-4.2
<b>Ácidos Grasos</b>	
$Acetato^{-1} + 4H_2O \longrightarrow H^+ + 4H_2 + 2HCO_3^{-}$	+104.6
$Propionato^{-1} + 3H_2O \longrightarrow Acetato^{-1} + HCO_3^{-} + H^+ + 3H_2$	+76.1
$Butirato^{-1} + 2H_2O \longrightarrow 2Acetato^{-1} + H^+ + 2H_2$	+48.1
$Valerato^{-1} + 3H_2O \longrightarrow 3Acetato^{-1} + 2H^+ + 4H_2$	+96.2
<b>Aminoácidos</b>	
$Alanina + 3H_2O \longrightarrow Acetato^{-1} + HCO_3^{-} + NH_4^+ + H^+ + 2H_2$	+7.5
$Aspartato^{-1} + 4H_2O \longrightarrow Acetato^{-1} + 2HCO_3^{-} + NH_4^+ + H^+ + 2H_2$	-14.0
$Leucina + 3H_2O \longrightarrow Isovalerato^{-1} + HCO_3^{-} + NH_4^+ + H^+ + 2H_2$	+4.2
$Glutamato^{-1} + 4H_2O \longrightarrow Propionato^{-1} + 2HCO_3^{-} + NH_4^+ + H^+ + 2H_2$	-5.8
$Glutamato^{-1} + 7H_2O \longrightarrow Acetato^{-1} + 3HCO_3^{-} + NH_4^+ + 3H^+ + 5H_2$	+70.3

Representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini* (Boone y Bryant, 1980). Los procesos acetogénicos son energéticamente difíciles, por lo que necesitan "ser ayudados" por los organismos metanogénicos, u otros organismos consumidores de hidrógeno (Stams, 1994), y, la energía libre de la reacción depende de la presión parcial de hidrógeno del medio (Figura 2.8).

Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos, que consumen H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, y producen acetato. Los principales exponentes son *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum*. Este tipo de bacterias son capaces de crecer heterotróficamente en azúcares, al contrario que los metanogénicos, siendo más parecidos a los fermentativos que a los metanogénicos, a pesar de utilizar los mismos substratos (Madigan et al., 1998). Algunos autores han considerado este proceso en sus modelos, como Hill (1982) que considera un 10% del acetato formado por esta vía.

#### **II.2.4.3.1.- Cinética de la acetogénesis**

La mayoría de los modelos que consideran esta fase aplican la cinética de Monod para su simulación matemática, aunque modificada por coeficientes de inhibición (Hill, 1982; Mosey, 1983; Ahring y Westermann, 1987b; Costello et al., 1991; Siegrist et al., 1993; Angelidaki et al., 1999). La mayoría de las funciones de inhibición utilizadas son del tipo de inhibición no competitiva reversible (ver ecuación (2.14)).

#### **II.2.4.3.2.- Inhibidores de la acetogénesis**

El principal inhibidor de la acetogénesis, cuya acumulación provoca la rápida acumulación de los substratos, es el hidrógeno molecular (Ahring y Westermann, 1987a y Fukuzaki et al., 1990), pudiéndose decir que la oxidación del propiónico sólo es posible si la presión parcial de H<sub>2</sub> está por debajo de  $5,8 \times 10^{-5}$  atmósferas (Boone y Mah, 1987). Otros compuestos pueden inhibir también el correcto desarrollo de las poblaciones acetogénicas, como el propio ácido acético (producto de la acetogénesis) (Ahring y Westermann, 1988; Angelidaki et al., 1993; Siegrist et al., 1993; Hyun et al., 1998), o los ácidos grasos de cadena larga (Galbraith et al., 1971; Hanaki et al., 1981; Angelidaki et al., 1999), además de estar muy afectado por el valor de pH (Siegrist et al., 1993; Angelidaki et al., 1993).

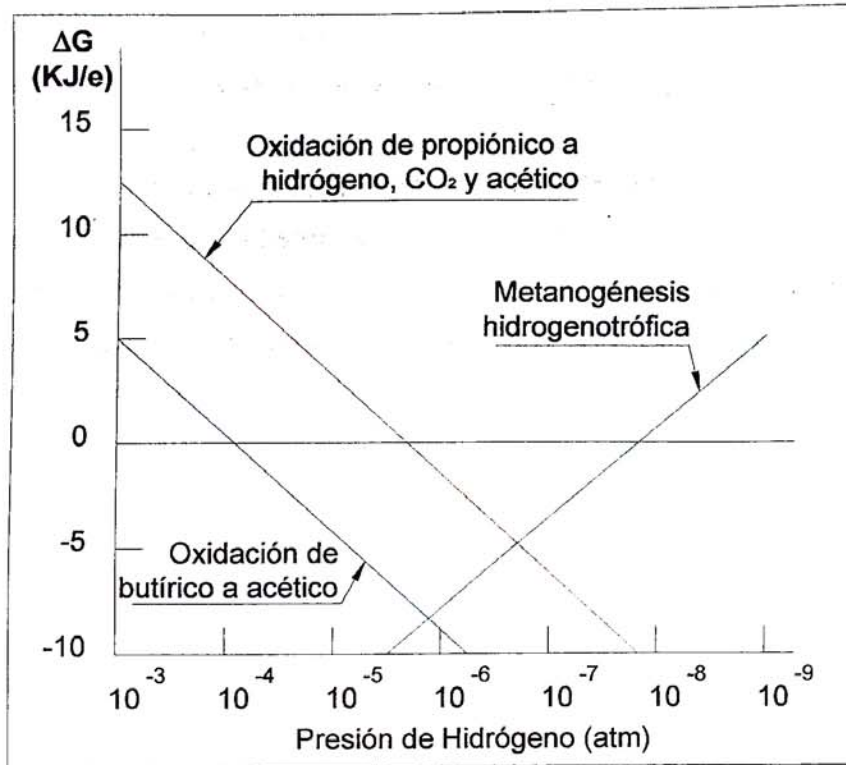


Figura 2.8: Relación entre la energía libre de la reacción y la presión parcial de hidrógeno (Boone y Mah, 1987).

#### II.2.4.4.- Fase metanogénica

Los microorganismos metanogénicos, pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores, siendo, además, los que dan nombre al proceso general de biometanización.

La digestión anaerobia de la materia orgánica en el medio ambiente, libera aproximadamente 500 millones de toneladas de metano al año, dentro de la atmósfera, representando cerca del 0.5% de la materia orgánica derivada de la fotosíntesis (Kirsop, 1984; Sahm, 1984).

La metanogénesis, ocurre en forma natural en sedimentos de fondo, o en el rumen de herbívoros. Los organismos metanogénicos, crecen

lentamente en el agua residual, y su tiempo de generación oscila desde 3 días a 35°C, hasta los 50 días a 10°C (Ritchie et al., 1997).

Las bacterias metanogénicas, son las responsables de la formación de metano a partir de substratos monocarbonados o con dos átomos de carbono, unidos por un enlace covalente: acetato, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, formato, metanol y algunas metilaminas. Todos esos substratos son convertidos a metilCoM (CH<sub>3</sub>-S-CoM), el cual es convertido a CH<sub>4</sub> por la metilCoM reductasa (Ritchie et al., 1997). Todas las bacterias metanogénicas que se han estudiado poseen varias coenzimas especiales, siendo la coenzima M, la que participa en el paso final de la formación de metano (Madigan et al., 1998).

Los organismos metanogénicos se clasifican dentro del dominio Archaea, y, morfológicamente, pueden ser bacilos cortos y largos, cocos de varias ordenaciones celulares, células en forma de placas y metanógenos filamentosos, existiendo tanto Gram positivos como Gram negativos (Madigan et al., 1998).

Las bacterias metanogénicas son filogenéticamente coherentes con el reino Eurya-archaeota (ver Figura 2.9), que en conjunto con la Crenarchaeota, constituyen el dominio Archaea. Las bacterias metanogénicas fueron el primer grupo en tener su taxonomía basada en el estudio de la frecuencia 16s rRNA (Raskin et al., 1994).

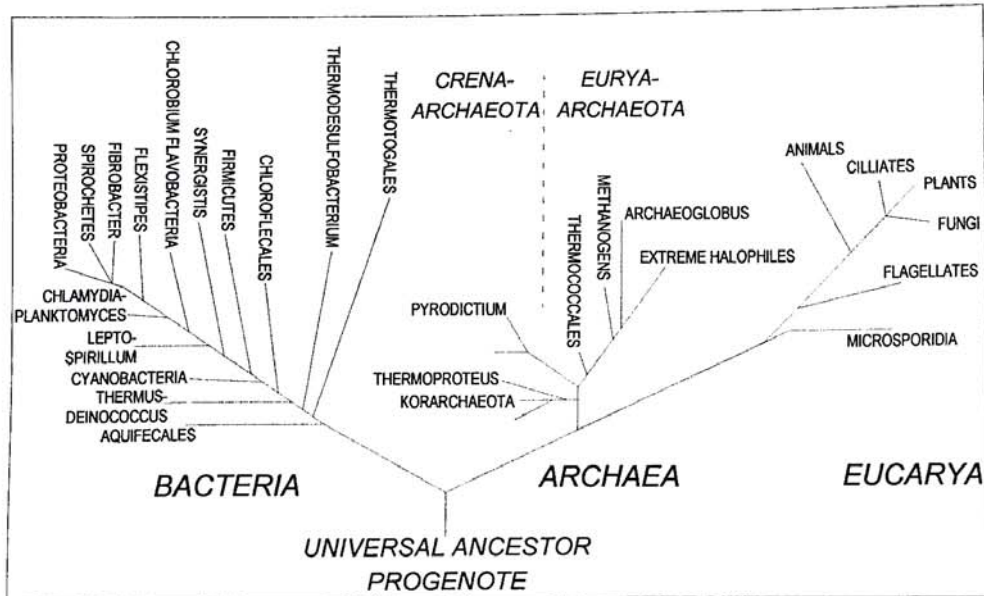


Figura 2.9: Árbol filogenético universal.

Los metanogénicos, perteneciendo al dominio separado “archaea”, difieren de las bacterias en las siguientes características (Sahm, 1984):

- 1) Difieren en la composición de la pared celular, por ejemplo, la pared celular de los metanogénicos, carece de peptidoglicanos.
- 2) También difieren en la composición de la membrana celular, la cual está hecha de cadenas ramificadas de hidrocarburos, adicionadas al glicerol por conexiones de éter.
- 3) Los metanogénicos, tienen una coenzima específica:  $F_{420}$ , a 5-deazaflavin, la cual actúa como un transportador de electrones en el metabolismo. Estas formas oxidadas absorben la luz a 420 nm (Cheeseman et al., 1972). Esta coenzima de fluorescencia verde azulada, ha sido propuesta para la cuantificación de los metanogénicos en cultivos mixtos (van Beelen et al., 1983). La determinación de la  $F_{420}$  en extracciones celulares, es retirada por extracción, seguido de la medición de la fluorescencia o por cromatografía líquida de alto desempeño (o desempeño) (HPLC), con detección fluorimétrica (Peck, 1989). Colonias metanogénicas pueden ser distinguidas de algunas no-metanogénicas, por el uso de la microscopia de fluorescencia (Edwards y McBride, 1975;

Kataoka et al., 1991). Sin embargo, se ha encontrado que el uso de  $F_{420}$  para el consorcio metanogénico puede ser erróneo, pero si puede ser considerado para la determinación de la actividad metanogénica acetoclástica (Dolfing and Mulder, 1985). Otra coenzima que contiene níquel es la  $F_{430}$ , la cual es también única en los metanogénicos.

- 4) Los metanogénicos pertenecen al reino euryarchaeota, dentro del dominio archaea. Ellos son estrictamente anaeróbicos y se desarrollan en ambientes libres de oxígeno como en los sedimentos del agua dulce o del mar, pantanos, rellenos sanitarios, rumen de vacunos, o, en la digestión anaerobia. Una coenzima clave involucrada en la producción de metano es la coenzima metil M.
- 5) Los metanogénicos tienen secuencias de RNA en el ribosoma, que difieren de los de las bacterias y eukaryotes. Un ejemplo de la clasificación general de los metanogénicos, se muestra en la Tabla 2.8 (Balch et al., 1979; Simon y Goodman, 2002). Los metanogénicos fueron agrupados dentro de cuatro órdenes:
  - i. Methanobacteriales (Por ejemplo: Methanobacterium, Methanobrevibacter, Methanothermus),
  - ii. Methanomicrobiales (Por ejemplo: Methanomicrobium, Methanogenium, Methanospirillum, Methanococcoides),
  - iii. Methanococcales (Por ejemplo: Methanococcus), y
  - iv. Methanosarcinales

Cuarentinueve especies de metanogénicos han sido descritos (Vogels et al., 1988), y otros están siendo descubiertos. La Tabla 2.9 (Koster, 1988), es una compilación de algunos de los metanogénicos aislados y sus respectivos substratos.

Tabla 2.8: Clasificación de metanogénicos.

Orden	Familia	Género	Especie
Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	Methanobacterium	<i>M. formicicum</i>
			<i>M. bryantii</i>
			<i>M. thermoautotrophicum</i>
		Methanobrevibacter	<i>M. ruminantium</i>
			<i>M. arboriphilus</i>
			<i>M. smithii</i>
Methanococcales	Methanococcaceae	Methanococcus	<i>M. voltae</i>
		Methanomicrobium	<i>M. mobile</i>
Methanomicrobiliaes	Methanomicrobiaceae	Methanogenium	<i>M. cariaci</i>
			<i>M. marisnigri</i>
		Methanospirillum	<i>M. hungatei</i>
			<i>M. barkeri</i>
	Methanosarcinaceae	Methanosarcina	<i>M. mazei</i>

Balch et al. (1979)

Fuente: Gabriel Bitton, "Wastewater Microbiology" – Third edition, 2005.

Tabla 2.9: Algunos metanogénicos aislados y sus substratos.

Bacteria	Substrato	Bacteria	Substrato
<i>Methanobacterium bryantii</i>	H <sub>2</sub>	<i>Methanoplanus limicola</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH
<i>M. formicicum</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>M. endosymbiosus</i>	H <sub>2</sub>
<i>M. thermoautotrophicum</i>	H <sub>2</sub>	<i>Methanogenium cariaci</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH
<i>M. alcaliphilum</i>	H <sub>2</sub>	<i>M. marisnigri</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH
		<i>M. tatii</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH
<i>Methanobrevibacter arboriphilus</i>	H <sub>2</sub>	<i>M. olentangyi</i>	H <sub>2</sub>
<i>M. ruminantium</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>M. thermophilicum</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH
<i>M. smithii</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>M. bourgense</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH
<i>Methanococcus vannielli</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>M. aggregans</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH
<i>M. voltae</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>Methanococcoides methylutens</i>	CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> y CH <sub>3</sub> OH
<i>M. deltae</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>Methanotherix soehngeni</i>	CH <sub>3</sub> COOH
<i>M. maripaludis</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>M. concilii</i>	CH <sub>3</sub> COOH
<i>M. jannaschii</i>	H <sub>2</sub>	<i>Methanothermus fervidus</i>	H <sub>2</sub>
<i>M. thermolithoautotrophicus</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>Methanolobus tindarius</i>	CH <sub>3</sub> OH, CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH, y (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N
<i>M. frisius</i>	H <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> OH CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> y (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N	<i>Methanosarcina barkeri</i>	CH <sub>3</sub> OH, CH <sub>3</sub> COOH, H <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH y (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N
<i>Methanomicrobium mobile</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH	<i>Methanosarcina thermophila</i>	CH <sub>3</sub> OH, CH <sub>3</sub> COOH, H <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH, y (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> N
<i>M. paynteri</i>	H <sub>2</sub>		
<i>Methanospirillum hungatei</i>	H <sub>2</sub> y HCOOH		

De Koster (1988).

Fuente: Gabriel Bitton, "Wastewater Microbiology" – Third edition, 2005.

#### **II.2.4.4.1.- Tipos de metanogénesis**

Se pueden establecer dos grandes grupos de microorganismos, en función del sustrato principal, dividiéndose en los hidrogenotróficos, que consumen hidrógeno y fórmico, y los metilotróficos o acetoclásticos, que consumen grupos metilos del acetato, metanol y algunas aminas (Cairó y París, 1988). Las principales reacciones metanogénicas se recogen en la Tabla 2.10.

La mayoría de los organismos metanogénicos son capaces de utilizar el  $H_2$  como aceptor de electrones, mientras que sólo dos géneros son capaces de utilizar el acetato (Ferguson y Mah, 1987). A pesar de ello, en ciertos ambientes anaerobios, éste es el principal precursor del metano, considerándose que alrededor del 70% del metano producido en los reactores anaerobios se forma a partir de acetato (Jeris et al., 1965, citado en Ferguson y Mah, 1987). Los dos géneros que tienen especies acetotróficas son *Methanosarcina* y *Methanothrix*, siendo el principal exponente *Methanosarcina barkeri*, que es capaz de crecer en diversos sustratos, entre los que están  $H_2$  y  $CO_2$ , acetato, metanol, metilaminas y CO (Cairó y París, 1988).

#### **A.- Metanogénesis Hidrogenotrófica**

Convierte el Hidrógeno y  $CO_2$  en metano (Ver Tabla 2.10). La mayor parte de los metanococcales y metanobacteriales, usan el  $H_2$  y el  $CO_2$  (Ritchie et al., 1997).

#### **B.- Metanogénesis acetoclástica o acetotrófica**

Este grupo comprende dos géneros principales: *Methanosarcina* (Smith y Mah, 1978) y *Methanothrix* (Huser et al., 1982). Durante la digestión termofílica ( $58^\circ C$ ) de la lignocelulosa residual, la metanosarcina fue el metanogénico acetotrófico dominante encontrado en el bioreactor. Después de 4 meses, la *Metanosarcina* ( $\mu_{max}=0.3d^{-1}$ ;  $K_S=200mg/l$ ) fue



desplazada por el Methanotrix ( $\mu_{\max}=0.1d^{-1}$ ;  $K_S=30mg/l$ ). Se determinó que la competición a favor del Methanotrix se debió a los bajos valores de  $K_S$  al acetato para estos microorganismos (Gujer and Zehnder, 1983; Koster, 1988; Zinder et al., 1984).

Cerca de los dos tercios de metano, proviene de la conversión del acetato por la metanogénesis acetotrófica. El tercio restante resulta de la reducción del  $CO_2$  por el hidrógeno (Mackie and Bryant, 1981).

Tabla 2.10: Principales reacciones metanogénicas y otras consumidoras de hidrógeno (adaptada de Stams, 1994 y Fergusson et al., 1987).

Principales reacciones metanogénicas y otras consumidoras de Hidrógeno	$\Delta G^{\circ}$ (KJ)
<b>Reacciones hidrogenotróficas</b>	
$4H_2 + H^+ + 2HCO_3^- \rightarrow Acetato + 4H_2O$	+104.6
$4H_2 + 4S^{\circ} \rightarrow 4HS^- + 4H^+$	-112
$4H_2 + H^+ + 2HCO_3^- \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-135.6
$4H_2 + H^+ + 4SO_4^{2-} \rightarrow HS^- + 4H_2O$	-151.9
$4H_2 + 4fumarato \rightarrow 4succinato$	-344.6
$4H_2 + 2H^+ + NO_3^- \rightarrow NH_4 + 3H_2O$	-599.6
<b>Interconversión formato - hidrógeno</b>	
$H_2 + HCO_3^- \rightarrow formato + H_2O$	-1.3
<b>Metanogénesis acetoclástica</b>	
$Acetato + H_2O \rightarrow HCO_3^- + CH_4$	-31.0
<b>Metanogénesis a partir de otros substratos</b>	
<i>Fórmico</i>	
$4HCOOH \rightarrow CH_4 + 3CO_2 + 2H_2O$	
<i>Metanol</i>	
$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O$	
<i>Trimetil-amina</i>	
$4(CH_3)_3N + 6H_2O \rightarrow 9CH_4 + 3CO_2 + 4NH_3$	
<i>Dimetil-amina</i>	
$2(CH_3)_2NH + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2NH_3$	
<i>Monometil-amina</i>	
$4(CH_3)NH_2 + 2H_2O \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 4NH_3$	

#### **II.2.4.4.2.- Cinética de la metanogénesis**

La mayoría de los modelos utilizan la cinética de Monod, para simular el crecimiento de los microorganismos metanogénicos, considerando como sustrato principal el acetato. Algunos autores consideran separadamente la simulación de los organismos hidrogenotróficos, aunque muchos otros lo consideran inseparable de la fase acetogénica (Angelidaki et al., 1993; 1999). Puesto que la acetogénesis no puede desarrollarse a no ser que el consumo de hidrógeno sea muy eficiente (Figura 2.8), puede, que en los ambientes donde no haya problemas de acumulación de hidrógeno, sea suficiente con este tipo de modelo. No obstante, hay toda una generación de modelos que se basan, precisamente, en el papel regulador del hidrógeno.

#### **II.2.4.4.3.- Inhibición de la metanogénesis**

Diversos compuestos se han descrito como inhibidores del crecimiento de los microorganismos metanogénicos. Entre los más conocidos están: el nitrógeno amoniacal, los ácidos grasos de cadena larga, ácidos grasos volátiles, algunos cationes, etc. No todos los grupos de metanogénicos resultan igualmente inhibidos por los mismos compuestos. La inhibición por amoníaco libre es más fuerte para los metanogénicos acetoclásticos que para los hidrogenotróficos (Hansen et al., 1998).

A modo de resumen, se puede decir que, a excepción del paso hidrolítico, los demás procesos pueden ser simulados suficientemente bien utilizando la cinética de Monod. Un resumen de los parámetros cinéticos, adaptado de Pavlosthatís et al. (1991), se muestra en la Tabla 2.11. Es de destacar la gran variación de los parámetros, debido a la gran variabilidad en el modo de operación, condiciones ambientales y operacionales (Campos, 2001).

Tabla 2.11: Resumen de constantes cinéticas propuestas para los diferentes procesos (Pavlosthatis et al., 1991).

Substrato	Proceso	$k$	$K_s$	$\mu_{max}$	$Y$	$b$
		$\frac{gDQO}{gSSV \cdot d}$	$\frac{mgDQO}{L}$	$(d^{-1})$	$\frac{gSSV}{gDQO}$	$(d^{-1})$
Carbohidratos	Acidogénesis	1.33-0.76	22.5-630	7.2-30	0.14-0.17	6.1
AGCL	Oxidación anaerobia	0.77-6.76	105-3180	0.085-0.55	0.04-0.11	0.01-0.015
AGV	Acetogénesis	6.2-17.1	12-500	0.13-1.20	0.025-0.047	0.01-0.027
Acetato	Metanogénesis acetoclástica	2.6-11.6	11-421	0.08-0.7	0.01-0.054	0.004-0.037
H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	Metanogénesis hidrogenotrófica	1.92-90	4.8x10 <sup>-5</sup> -0.6	0.05-4.07	0.017-0.045	0.088

#### II.2.4.5.- Parámetros ambientales y de control

##### II.2.4.5.1.- Temperatura

De forma general, a altas temperaturas las tasas de reacciones químicas y biológicas son más rápidas que a bajas temperaturas. La velocidad de reacción de los procesos biológicos dependen de la velocidad de crecimiento de los microorganismos responsables, que a su vez es dependiente de la temperatura (van Lier, 1995).

##### A.- Influencia de la temperatura sobre aspectos físico-químicos

La solubilidad de los gases NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S y H<sub>2</sub>, desciende al aumentar la temperatura, favoreciéndose la transferencia líquido-gas, y por tanto, desapareciendo más rápidamente del medio acuoso. Esto supone un efecto positivo, dada la toxicidad sobre el crecimiento de los microorganismos anaerobios de los citados compuestos. Una posible desventaja de este fenómeno es que el descenso de la solubilidad del CO<sub>2</sub>, implicará un aumento del pH en los reactores termofílicos,

lo que en condiciones de alta concentración de amonio puede ser negativo (van Lier, 1995).

La solubilidad de la mayoría de las sales aumenta con la temperatura. Las sales orgánicas son más solubles a altas temperaturas, por lo que la materia orgánica es más accesible para los microorganismos, y aumenta la velocidad del proceso. Sin embargo, si se trata de compuestos tóxicos, al aumentar su solubilidad con la temperatura serán potencialmente más tóxicos, lo que puede explicar parcialmente la mayor inhibición de determinados compuestos orgánicos en el rango termofílico, como los ácidos grasos de cadena larga (Hwu et al., 1997).

Además, la temperatura influye directamente en determinados equilibrios químicos, con gran influencia sobre el proceso anaerobio, como los del amonio-amoniaco libre o ácidos grasos volátiles ionizados y no-ionizados. En general, con la temperatura se favorecen las formas no ionizadas, que resultan más tóxicas para los microorganismos ( $\text{NH}_3$  y AH).

La viscosidad de los líquidos y semisólidos disminuye al aumentar la temperatura, lo que implica menores requerimientos energéticos para la mezcla (agitación). A altas temperaturas se produce también una mejor sedimentación de los sólidos.

### **B.- Influencia de la temperatura sobre aspectos bioquímicos**

El proceso anaerobio se produce en la naturaleza en un amplio rango de temperaturas, que van desde  $0^\circ$  a  $97^\circ\text{C}$  (Muñoz-Valero et al., 1987). La eficiencia del proceso, no obstante, es muy diferente en función de la temperatura del medio. Se habla de tres rangos principales de temperatura, psicrófilico (por

debajo de 25°C), mesofílico (entre 25 y 45°C) y termofílico (entre 45°C y 65°C), siendo la tasa máxima específica de crecimiento ( $\mu_{max}$ ) mayor, conforme aumenta la temperatura (van Lier et al., 1993). Dentro de cada rango de temperatura, existe un intervalo en que dicho parámetro se hace máximo. Será interesante, por tanto, trabajar en torno a este punto (Figura 2.10).

La velocidad del proceso aumenta con la temperatura, aunque también aumentan los requerimientos energéticos, y puede disminuir la estabilidad del proceso (Fannin, 1987), al menos en presencia de determinados tóxicos. Por otro lado, es preciso desarrollar un completo balance energético para establecer el interés de mantener una determinada temperatura.

El rango psicrófilico se plantea como poco viable, debido al gran tamaño de reactor necesario. Sin embargo, simplifica mucho el diseño y hay menos problemas de estabilidad. Cuanto mayor es la duración del tiempo de retención, menor es la diferencia entre las velocidades de degradación a diferentes temperaturas (Fannin, 1987).

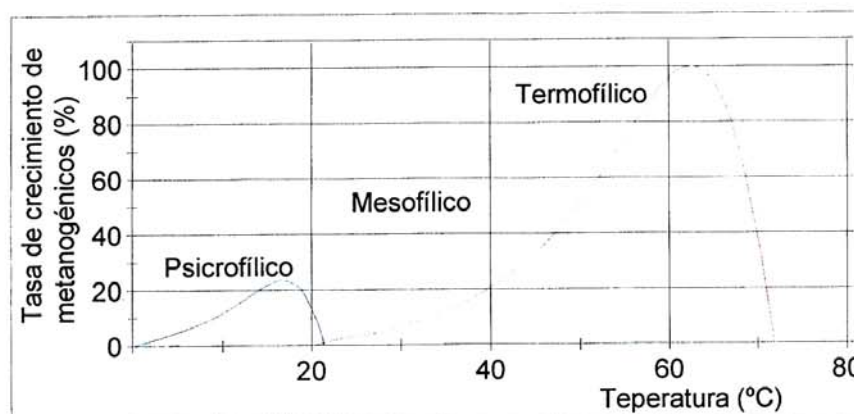


Figura 2.10: Dependencia de la constante de crecimiento de la temperatura (van Lier et al., 1993).

La temperatura más utilizada en la digestión anaerobia de residuos está dentro del rango mesofílico, alrededor de 35-

37°C, aunque hay cierta tendencia en los últimos años a pasar al rango termofílico tanto para conseguir una mayor velocidad del proceso, como para mejorar la destrucción de organismos patógenos.

La producción de biogás en ausencia de inhibidores, aumenta con la temperatura, puesto que aumenta la tasa de crecimiento de los microorganismos; temperaturas más bajas implican tiempos de retención más largos, y por tanto, mayores volúmenes de reactor. La tasa de hidrólisis también aumenta con la temperatura (Veeken y Hamelers, 1999), por lo que el régimen termofílico puede tener gran interés al tratar residuos en los que la hidrólisis sea la etapa limitante, como los residuos con alto contenido en componentes lignocelulósicos.

El régimen termofílico se ha relacionado tradicionalmente con mayores problemas de estabilidad (Hobson, 1990). Sin embargo, otros autores consideran que las plantas termofílicas son tan estables y tan operables como las mesofílicas, presentando, además de las ventajas antes mencionadas, una mayor producción de gas por unidad de sólidos volátiles y una mejora en el postratamiento, ya que el efluente de la digestión termofílica es más fácilmente deshidratable, junto con una menor producción de malos olores (Ahring, 1995; Krugel et al., 1998).

La temperatura óptima para el crecimiento bacteriano depende de cada especie, tal y como se muestra en la Tabla 2.12. La mayoría de las bacterias termofílicas presentan tasas específicas de crecimiento máximas mayores que los organismos mesofílicos. La temperatura normal de operación dentro del rango termofílico está sobre los 55°C (52-56°C). Por encima de este nivel los microorganismos acetogénicos disminuyen drásticamente su velocidad de crecimiento. Sin

embargo, la tasa específica de crecimiento de los microorganismos metanogénicos continua aumentando hasta los 70°C (Ahring, 1995).

La sensibilidad a los cambios de temperatura ambiental depende de diversos factores, principalmente del grado de adaptación del cultivo, del modo de operación y del tipo de bioreactor. En el rango termofílico, un aumento brusco de la temperatura puede provocar un importante descenso en la producción de gas (van Lier et al., 1993), mientras que una bajada puede suponer un descenso en la producción de gas, pero completamente reversible (van Lier et al., 1993), o puede no mostrar diferencias (Ahring et al., 1995), debido a la disminución del efecto de inhibición por amoníaco. Para pasar un reactor del rango mesofílico al termofílico sin que se produzca una parada en la producción de gas, se deberá realizar muy lentamente (van Lier et al., 1993).

Tabla 2.12: Temperatura óptima y máxima, parámetros cinéticos de crecimiento para diferentes cultivos metanogénicos acetoclásticos (van Lier et al., 1993).

Metanogénicos acetoclásticos	T <sub>opt</sub> (°C)	T <sub>max</sub> (°C)	μ <sub>max</sub> (d <sup>-1</sup> )	K <sub>S</sub> (Ac) mgDQO/l
<i>Methanosarcina barkeri</i>	35-40	-	0.023	320
<i>Methanosarcina thermophila</i>	50	55-60	0.058	288
<i>Methanosarcina CALS-1</i>	55-58	60	0.058	-
<i>Methanosarcina MP</i>	55	60	-	-
<i>Methanosarcina MSTA-1</i>	55	65	0.053	685
<i>Methanosarcina CHTI55</i>	57	63	0.085	614
<i>Methanotherx soehngenii</i>	37	45-50	0.0085	45
<i>Methanotherx conciliii</i>	35-40	40-45	0.029	77
<i>Methanosaeta sp. PT</i>	55	65-70	0.020	-
<i>TAM</i>	60	70	0.012	51
<i>Methanotherx sp. CALS-1</i>	60	65-70	0.028	<64
<i>Methanotherx thermoacetophila</i>	65	70	-	-
<i>Co-cultivo oxidante de acetato</i>	60	-	0.019	-

El efecto inhibitor del amonio, es mayor en el rango termofílico que en el mesofílico, por el aumento de la concentración de la forma tóxica  $\text{NH}_3$ , al aumentar la temperatura (Angelidaki y Ahring, 1994 y Hansen et al., 1998), a pesar de la mayor sensibilidad de los microorganismos mesofílicos al amoníaco libre (Gallert et al., 1998). Un problema adicional al de inhibición por amonio es la mayor tasa de hidrólisis de proteínas en el rango termofílico frente al mesofílico (Gallert et al., 1998).

El tratamiento termofílico, presenta la importante ventaja de la mayor eliminación de organismos patógenos, que puede ser un factor clave en función del destino final del efluente, sobre todo para su uso como fertilizante orgánico. Un tratamiento termofílico por encima de  $50^\circ\text{C}$ , reúne en un sólo paso el tratamiento de higienización y el de digestión anaerobia (Angelidaki y Ahring, 1997). El proceso de digestión anaerobia produce la inactivación de algunos virus patógenos (enterovirus y parvovirus), pero la tasa de inactivación depende del tipo de virus, de la duración del proceso y de la temperatura de operación (Turner y Burton, 1997). Sobre lodos de depuradora se han realizado numerosos estudios de comparación de la eficiencia de eliminación de patógenos en función de la temperatura de tratamiento, resultando generalmente muy favorable el rango termofílico (Watanabe et al., 1997, Krugel et al., 1998). Una técnica interesante, especialmente en instalaciones ya existentes de digestión de lodos de depuradora, es la combinación de dos fases de digestión, una primera de alta carga en termofílico y una segunda con menor carga en mesofílico. Con este sistema aprovechan las ventajas del sistema termofílico (reducción de patógenos, menos problemas de formación de espumas, foaming) y evitan posibles problemas de inestabilidad (Han et al., 1997; Oles et al., 1997).



#### II.2.4.5.2.- Contenido de nutrientes

El proceso anaerobio se caracteriza, frente a procesos aerobios, por los bajos requerimientos de nutrientes, debido fundamentalmente a los bajos índices de producción de biomasa. A pesar de ello, la biomasa necesita para su desarrollo el suministro de una serie de nutrientes minerales, además de una fuente de carbono y de energía. Para determinados procesos necesita, además, compuestos orgánicos especiales, como vitaminas. Los principales nutrientes del sistema anaerobio son nitrógeno, sulfuro, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio, riboflavina y vitamina B12 (Speece, 1987).

Los valores mínimos necesarios para el correcto crecimiento de los microorganismos se muestran en la Tabla 2.13.

Otros autores han expresado las necesidades de nitrógeno y fósforo en función de la concentración de carbono de la alimentación, considerándose que la relación C/N debe oscilar entre 15-30:1, y la C/P de 75-113/1 (Speece, 1987a).

Tabla 2.13: Rangos de concentración de nutrientes, necesarios para el correcto crecimiento de las bacterias anaerobias (Henze, 1995).

Nutriente	g/Kg SSV	g/KgDQO (B)
Nitrógeno	80-120	55-85
Fósforo	10-25	7-18
Azufre	10-25	7-18
Hierro	5-15	4-11

#### II.2.4.5.3.- Velocidad de carga orgánica (VCO) y tiempo de retención hidráulico (TRH)

El tiempo de retención es un parámetro muy importante, que dependerá típicamente del tipo de reactor utilizado. En los sistemas de mezcla completa, el tiempo de retención hidráulico coincide con el tiempo de retención celular, es decir de la biomasa, por lo que el

tiempo de retención deberá ser suficientemente largo para permitir el desarrollo de la población bacteriana. El tiempo de retención, junto con la velocidad de carga, determinada por el tipo de sustrato, son los principales parámetros de diseño, definiendo el volumen del digestor.

La fracción de materia orgánica degradada aumenta, al aumentar el TRH, sin embargo la producción volumétrica de metano (producción por unidad de reactor) disminuye, una vez superado el óptimo. Es por tanto necesario determinar para cada tipo de residuo y de digestor el tiempo de retención que optimiza el proceso.

Los tiempos de retención usuales tratando residuos ganaderos varían mucho según la fuente consultada y van de 10 a 30 días (Hobson, 1990).

La carga orgánica es la relación de la cantidad de materia orgánica, expresada normalmente en unidades de DQO o de sólidos volátiles, por unidad de reactor y unidad de tiempo, siendo directamente dependiente de la concentración del sustrato y del tiempo de retención.

Altas cargas orgánicas, en ausencia de inhibidores, proporcionan altas producciones volumétricas de biogás. Parece que la resistencia a ciertos inhibidores puede aumentar con la carga orgánica (Angelidaki et al., 1993). Sin embargo la inestabilidad aumenta también con el aumento de carga, especialmente en el caso de "sobrecargas" puntuales, que conllevan la acumulación de ácidos grasos volátiles (Ahring et al., 1995).

#### **II.2.4.5.4.- Agitación**

La agitación de los reactores anaerobios tiene diversos objetivos, que se resumen en los siguientes puntos (Noone, 1990):

- a) poner en contacto el substrato fresco o influente con la población bacteriana, y eliminar los metabolitos producidos por los metanogénicos, al favorecer la salida de los gases;
- b) proporcionar una densidad uniforme de población bacteriana;
- c) prevenir la formación de capa superficial y de espumas, así como la sedimentación en el reactor;
- d) prevenir la formación de espacios muertos que reducirían el volumen efectivo del reactor, y la formación de caminos preferenciales en función de la hidráulica del sistema;
- e) eliminar la estratificación térmica, manteniendo una temperatura uniforme en todo el reactor.

Algunos tipos de reactores, pueden funcionar bien sin ningún sistema de agitación. Se suelen utilizar para substratos con muy alto contenido en sólidos, o sobre substratos básicamente solubles, con regímenes de flujo tipo pistón.

La agitación puede ser de varios tipos: mecánica, hidráulica o neumática. Para grandes tamaños parece que la agitación por gas es la que mayores ventajas presenta, tanto por el efecto de agitación, como por su sencillez de diseño y operación (Muñoz Valero et al., 1987).

La velocidad de agitación es un parámetro que puede influir en el desarrollo del proceso, siendo necesario un equilibrio entre la buena homogeneización y la correcta formación de agregados bacterianos (Fannin, 1987). Una velocidad de agitación alta, por encima de 700 rpm, puede disminuir ligeramente la producción de biogás (Stafford, 1982), por ruptura de agregados bacterianos.

#### **II.2.4.5.5.- El pH**

Los microorganismos anaerobios necesitan un pH en torno a la neutralidad para su correcto desarrollo, aunque permiten cierta oscilación (Clark y Speece, 1989). Parece ser que el pH afecta fundamentalmente a la actividad enzimática de los microorganismos (Webb, J.L., 1963, citado en Clark y Speece, 1989), mediante:

- cambios de estado de los grupos ionizables de las enzimas como el carboxil y amino;
- alteración de los componentes no ionizables del sistema, como por ejemplo el sustrato; y desnaturalización de la estructura proteica de las enzimas.

Para que el proceso se desarrolle de forma satisfactoria, el pH debe estar en torno a la neutralidad, presentando problemas graves si el pH baja de 6 o sube de 8,3 (Lay et al., 1997). Sin embargo, el proceso de inhibición parece ser completamente reversible, aunque el tiempo de recuperación depende de la duración de la alteración.

El pH es también una importante variable de diagnóstico de los sistemas anaerobios, pues muchos fenómenos tienen influencia sobre el mismo. Ejemplos clásicos son las sobrecargas orgánicas, o la presencia de un inhibidor de la etapa metanogénica, que pueden provocar desequilibrios entre la producción y el consumo de ácidos grasos volátiles, produciendo la acumulación de éstos y el consiguiente descenso del pH, produciéndose la acidificación del reactor. En función de la alcalinidad del medio, la bajada de pH será más o menos rápida.

En cualquier caso, el pH no se considera una buena variable de control por resultar demasiado lento: una vez detectada una variación importante del pH, el fracaso del sistema puede ser ya irreversible (Iza, 1995). Por ello se consideran otras variables como

mejores indicadores del estado del proceso anaerobio, como la producción de biogás y su contenido en metano (Hill y Holmberg, 1988), el contenido de ácidos grasos volátiles o la relación entre ellos (Hill et al., 1987; Ahring et al., 1995), la presión parcial de hidrógeno, o indicadores basados en el número de bacterias o actividad bacteriana (Angelidaki et al., 1997b).

Por otro lado, el pH es un importante modulador del sistema, puesto que influye en varios equilibrios químicos, pudiendo desplazarlos hacia la formación de una determinada componente que tenga influencia en el proceso. Su papel es fundamental en el equilibrio amonio - amoníaco, teniendo por tanto, una gran importancia en el proceso general, por ser el amoníaco libre un importante inhibidor de la fase metanogénica (Zeeman et al., 1985). El pH influye también en el mecanismo de inhibición de degradación de propionato por acético, habiéndose descrito una mayor inhibición a pH bajos (Fukuzaki et al., 1990), debido a que, en este caso, el componente tóxico es la forma no ionizada del ácido acético, que aumenta con la acidez del medio.

#### **II.2.4.5.6.- Alcalinidad**

La alcalinidad es una medida de la capacidad tampón del medio. Esta capacidad tampón puede ser proporcionada por un amplio rango de sustancias, siendo por tanto una medida inespecífica. En el rango de pH de 6 a 8, el principal equilibrio químico que controla la alcalinidad es el dióxido de carbono-bicarbonato.

La relación de alcalinidad RA, se define como la relación entre la alcalinidad debida a los AGV (AI) y la debida al bicarbonato (AT), recomendándose no sobrepasar un valor de 0,3-0,4 para evitar la acidificación del reactor (Iza, 1995).

La alcalinidad al bicarbonato debe mantenerse por encima de 2500 mg/L para asegurar la estabilidad del digestor (Fannin, 1987).

#### **II.2.4.5.7.- Tóxicos e inhibidores**

La magnitud de toxicidad observada o recogida en la bibliografía es una función de diversos factores, incluyendo concentración, antagonismos, sinergismos, formación de complejos y aclimatación (Kugelman y Chin, 1971). La concentración es el único factor que usualmente se considera, lo que lleva a afirmaciones absolutistas, muchas veces erróneas.

En general, la velocidad de crecimiento bacteriano aumenta con la concentración de sustrato, llegando a un punto en que se estabiliza, y, dependiendo de cada caso concreto, puede llegar a descender (inhibición por el sustrato). Así, en términos absolutos, una sustancia es un tóxico o un sustrato dependiendo de su concentración. Los fenómenos de antagonismo y sinergismo son muy importantes al hablar de toxicidad. Antagonismo es una reducción de la toxicidad de un sustrato en presencia de otro y sinergismo es el aumento del efecto tóxico de una sustancia causada por la presencia de otra. La formación de complejos resulta, también, fundamental. Si una sustancia no está en solución, no puede penetrar dentro de la célula, y por tanto no podrá afectar el metabolismo del organismo. La magnitud del efecto tóxico de una sustancia, puede ser reducida significativamente por aclimatación de la población de microorganismos al tóxico. La aclimatación implica una reorganización de los recursos metabólicos para vencer los obstáculos metabólicos producidos por el sustrato tóxico, más que mutación o selección de las poblaciones (Kugelman y Chin, 1971).

Otros factores pueden afectar también la toxicidad de un determinado compuesto, por ejemplo, el tipo de agregados

bacterianos, siendo más resistentes en general, los lodos granulares que los floculentos (Hwu et al., 1997). También la temperatura juega un importante papel en el efecto tóxico de determinados compuestos (amonio, sulfuro, ácidos grasos volátiles, etc.).

Son muchas las sustancias que pueden resultar inhibitoras del crecimiento de los microorganismos anaerobios.

#### **A.- Nitrógeno amoniacal**

El nitrógeno orgánico durante el proceso anaerobio, se hidroliza produciendo formas amoniacales. Aunque el nitrógeno amoniacal es un importante nutriente para el crecimiento de los microorganismos (Bryant et al., 1971), cuya carencia puede provocar el fracaso en la producción de gas, una concentración excesivamente alta del mismo puede limitar su crecimiento.

La forma que parece causar la inhibición por amonio es el amoníaco libre ( $\text{NH}_3$ ), ya que el efecto inhibitorio del amonio parece aumentar a pH alcalino y a altas temperaturas (Zeeman et al., 1985). Los límites de inhibición de nuevo varían mucho según el autor. Hashimoto (1986), encontró inhibición a una concentración de 0,02 g N- $\text{NH}_3$ /L en el rango mesofílico, 0,2 g N- $\text{NH}_3$ /L en el rango termofílico sin aclimatación, y, 0,39 g N- $\text{NH}_3$ /L en el rango termofílico con aclimatación. Angelidaki y Ahring (1993b) observaron que con una concentración de 0,650 g N- $\text{NH}_3$ /L, la velocidad de crecimiento de los metanogénicos, a partir de acético, disminuye un 20%. Hansen et al. (1998), trabajando con purines de cerdo, observaron inhibición sólo a partir de la concentración 1,1 g N- $\text{NH}_3$ /L, disminuyendo acusadamente la tasa de crecimiento específico. Este valor de la concentración de inhibición tan alto se debe a la larga adaptación previa del inóculo utilizado.

Los principales microorganismos afectados por altas concentraciones de amonio son los metanogénicos. Un cambio brusco en la concentración de amonio, produce un descenso en la velocidad de crecimiento de los organismos metanogénicos, pero no en la tasa de crecimiento de los acidogénicos o acetogénicos (Koster y Lettinga, 1988; Robbins et al., 1989).

Los microorganismos metanogénicos que consumen acético son más sensibles a la inhibición por amonio que los consumidores de H<sub>2</sub> (Angelidaki y Ahring, 1993b, Hansen et al., 1998).

Una concentración de amonio superior a los 7-8 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L puede inhibir la hidrólisis de proteínas (Krylova et al., 1997). Gallert et al. (1998), observaron que al aumentar la concentración de 0,5 a 6,5 g N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/L en el régimen mesofílico, aumentó la inhibición sobre la desaminación de peptonas (proteolisis) y la metanogénesis, y sin embargo no observaron acumulación de hidrógeno, indicando que la metanogénesis hidrogenotrófica no resulta inhibida a este nivel de concentración.

Algunos autores han apuntado diferencias de comportamiento frente a la inhibición por amonio de microorganismos mesofílicos o termofílicos. Aunque normalmente se considera más problemático el proceso termofílico, puesto que el agente inhibidor es el amoníaco libre, Gallert et al. (1998) encontraron que los microorganismos mesofílicos son más sensibles a la inhibición por NH<sub>3</sub>, con un valor de la constante de inhibición (considerando inhibición no competitiva reversible) de los metanogénicos, de 92 mg NH<sub>3</sub>/L, mientras que en termofílico el valor de esta constante se cifró en 251 mg NH<sub>3</sub>/L; también



encontraron que la degradabilidad de las proteínas (peptona) es mayor en termofílico que en mesofílico.

### **B.- Ácidos grasos volátiles**

Los ácidos grasos volátiles son los más importantes intermediarios del proceso anaerobio, siendo, por ello, fundamental conocer su evolución. Juegan un papel muy importante en la monitorización y control de reactores anaerobios, mostrando una rápida respuesta a las variaciones en el sistema, por ejemplo en el caso de sobrecargas orgánicas (Ahring et al., 1995), o en el caso de la introducción de tóxicos. El aumento de su concentración está relacionado con la disminución en la producción de biogás (Hill et al., 1987).

Además, los ácidos grasos volátiles pueden inhibir algunos de los procesos que tienen lugar en un reactor anaerobio, aunque hay cierta dispersión en la bibliografía.

La acumulación de propiónico en el reactor, especialmente de la forma no ionizada, puede inhibir la acetogénesis a partir de propiónico (Fukuzaki et al., 1990), y la metanogénesis acetoclástica (Barredo y Evison, 1991).

La acumulación de acético, puede inhibir la acetogénesis a partir de propiónico (Fukuzaki et al., 1990), y la acetogénesis a partir de butírico (Ahring y Westermann, 1988). Sin embargo, son necesarias concentraciones de acético muy altas para que llegue a afectar a la producción de metano, por encima de 4000 mg/L o más (Stafford, 1982; Ahring et al., 1995).

Ahring et al. (1995), concluyeron que concentraciones de ácidos grasos volátiles por debajo de 3000 mg acético/L, no producen ninguna disminución de la producción de metano.

Son los ácidos propiónico y valérico los primeros que afectan al proceso, mientras que el butírico y el acético han de acumularse por encima de 6000 mg/l para afectar a la tasa de producción de metano.

### **C.- Hidrógeno**

El hidrógeno es un importante intermediario del proceso anaerobio, su acumulación puede provocar la inhibición de la acetogénesis, con la consiguiente acumulación de ácidos grasos volátiles, estando especialmente descrita la acumulación de propiónico (Harper y Pohland, 1986; Boone y Xun, 1987; Fukuzaki et al, 1990).

### **D.- Compuestos azufrados en los sistemas anaerobios**

En presencia de sulfatos, las bacterias metanogénicas compiten con las bacterias sulfato-reductoras por los substratos útiles, mostrando las últimas, ventajas termodinámicas y cinéticas sobre las primeras, tanto sobre las que consumen hidrógeno como sobre las acetoclásticas (Hulshoff Pol et al., 1998). El resultado de esta competición, determinará la proporción de sulfhídrico y metano en el biogás producido. El sulfato es, además, un importante inhibidor, aumentando el efecto inhibidor en función de la relación DQO/sulfato, de forma que los substratos adaptados no muestran inhibición para valores de la relación por encima de 10, y sí hay signos de inhibición por debajo de un valor de 7-8, aunque es posible mantener un proceso estable (Omil et al., 1995).

Además de la competición, el sulfhídrico es tóxico a altas concentraciones para muchos grupos bacterianos. Parece que la forma tóxica es la no ionizada, ya que es la que puede atravesar la membrana celular, por lo que la inhibición se ve

favorecida a pH bajo y a bajas temperaturas (predominio de la forma no ionizada y mayor solubilidad en la fase líquida). En general, el lodo granular es menos sensible que la biomasa en suspensión a la inhibición por  $H_2S$ , a pH bajo y neutro, aunque parece ser similar a altos pH. A valores de pH altos, la inhibición de las metanogénicas es mayor que la de las sulfatoreductoras, mientras que a bajos pH no hay diferencia entre ambos grupos.

### **E.- Ácidos grasos de cadena larga**

Altas concentraciones de ácidos grasos de cadena larga pueden inhibir el proceso de digestión anaerobia (Galbraith et al., 1971; Hanaki et al., 1981; Angelidaki et al., 1990; Angelidaki y Ahring, 1992; Rinzema et al., 1994; Hwu et al., 1997). Las grasas neutras (triglicéridos) son hidrolizadas rápidamente a ácidos grasos de cadena larga (AGCL). Las concentraciones límite de inhibición no están muy claras en la bibliografía, y depende mucho del tipo de ácido graso, así como de la forma en que se encuentra.

Aunque la adsorción de los AGCL sobre la pared celular puede jugar un papel importante sobre la inhibición, ésta se ha relacionado con la concentración de AGCL, más que con la relación de ácidos grasos/biomasa (Koster y Cramer, 1987; Angelidaki y Ahring, 1992). El efecto tóxico se ha descrito como no reversible, y la forma tóxica son los ácidos grasos libres. El efecto inhibitor de los lípidos está muy relacionado con la adaptación de los microorganismos, y prácticamente condicionados a la existencia de microorganismos acetogénicos que degraden AGCL, a medida que se van produciendo por hidrólisis de las grasas (triglicéridos u otras formas), evitando así, alcanzar concentraciones tóxicas (Angelidaki y Ahring, 1992, Rinzema et al., 1994).

Según la bibliografía, la toxicidad de los ácidos grasos de cadena larga, en especial del oleico, es mayor en el rango termofílico que en el mesofílico, estando también afectada por el tipo de lodo (granular o floculento) (Hwu et al., 1997). Angelidaki y Ahring concluyeron que los ácidos grasos libres de cadena larga, oleico y estérico, inhiben todos los pasos de la digestión anaerobia termofílica, provocando, a una concentración de 0,2 g/L de oleico, el aumento en la duración del desfase inicial en la producción de metano, fase *lag*, mientras que el crecimiento bacteriano es completamente inhibido a una concentración de 0,5 g/L de oleico y 1,0 g/L de esteárico (Angelidaki y Ahring, 1992).

En presencia de calcio, el efecto tóxico de los ácidos grasos de cadena larga disminuye, debido a la precipitación de las sales cálcicas (Galbraith et al., 1971; Koster, 1987; Angelidaki et al., 1990).

#### **F.- Cationes y metales pesados**

Todos los cationes pueden proporcionar toxicidad a algún nivel de concentración, aumentando la toxicidad con el peso molecular, por lo que los metales pesados son los que provocan toxicidad a menor concentración, (Hayes y Theis, 1978).

El orden de toxicidad de los metales pesados es:

$Ni > Cu \gg Cr(IV) \cong Cr(III) > Pb > Zn$  (Hayes y Theis, 1978).

Los niveles de inhibición varían mucho en función de la fuente, debido a varios factores. En primer lugar la toxicidad es menor si la introducción en el reactor es gradual (Tabla 2.14).

Los metales pesados precipitan en presencia de sulfuros, desapareciendo de la solución, por lo que resultan menos tóxicos para los microorganismos, pudiendo llegar a tolerarse elevadas concentraciones de metales pesados (Kugelman y Chin, 1971).

Tabla 2.14: Concentración de inhibición y toxicidad de metales pesados (Hayes y Theis, 1978).

Metal	Alimentación gradual		Alimentación brusca
	Concentración de Inhibición* (mg/L)	Límite de toxicidad (mg/L)	Límite de toxicidad (mg/L)
Cr(III)	130	260	<200
Cr(VI)	110	420	<180
Cu	40	70	<50
Ni	10	30	<30
Cd	-	>20	>10
Pb	340	>340	>250
Zn	400	600	<1700

\*Inicio de la disminución de la producción de gas

Otros cationes como calcio, sodio, potasio, etc., pueden resultar inhibidores para el proceso anaerobio, a concentraciones altas (Kugelman y Chin, 1971; Omil et al., 1995; Kim et al., 1999). La concentración de inhibición por cationes depende mucho de la presencia de posibles antagonistas, tal y como se muestra en la Tabla 2.15. El potasio es antagonista del sodio, del magnesio y del calcio; el sodio lo es del amonio, potasio, magnesio y calcio; el calcio del potasio; el magnesio del potasio y el amonio del potasio (Kugelman y Chin, 1971).

Tabla 2.15: Concentración límite de cationes en sistemas anaerobios (Kugelman y Chin, 1971).

Cación	Alimentación sencilla		Alimentación continua	
	Cación simple (M)	En presencia de antagonicos (M)	Cación simple (M)	En presencia de antagonicos (M)
Sodio	0.2	0.3-0.35	0.3	70.35
Potasio	0.09	0.15-0.2	0.13	0.35
Calcio	0.07	0.125-0.15	0.15	0.2
Magnesio	0.05	0.125	0.065	0.14

### **II.3.- REACTORES ANAEROBIOS EMPLEADOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**

Para el tratamiento anaerobio de las aguas residuales, los principales tipos de reactores que vienen siendo empleados en la práctica (en mayor escala en Brasil), son:

- lagunas anaerobias,
- decanto-digestores,
- filtros anaeróbicos,
- reactores anaerobios de flujo ascendente con manto de lodo (UASB), y
- reactores anaerobios con lecho expandido o fluidificado.

En general, los reactores anaerobios son precedidos de unidades de pre-tratamiento, para la remoción de sólidos gruesos y arena, y, en algunos casos seguidos de unidades de pos-tratamiento para un pulimento, con el objetivo de remover la materia orgánica remanente o de otros constituyentes del desagüe.

#### **II.3.1.- CONFIGURACIÓN DE LOS REACTORES EN FUNCIÓN DE LA HIDRÁULICA**

Las configuraciones de los reactores tienen como base primaria las características hidráulicas (flujo y mezcla) en su interior, para promover la mezcla adecuada que proporcione un contacto biomasa-desagüe apropiado. Como los microorganismos son esenciales para que ocurran las reacciones, es sumamente importante que, además de la existencia de un micro-ambiente favorable en el interior de los reactores, el alimento no solo debe estar apenas disponible en la masa líquida, sino también que sea colocado en contacto íntimo con la biomasa para promover su degradación. (Takayuki Kato et. al., 1999). Los reactores básicos, en función de las características hidráulicas, pueden ser clasificados conforme a la Tabla 2.16, cuyos esquemas correspondientes se encuentran en la Figura 2.11.

Tabla 2.16: Tipos básicos de reactores en función de la hidráulica.

Tipo de reactor	Flujo	Mezcla	Características
Batelada	Discontinuo o intermitente	Completa	El reactor llenado con desagüe al inicio, es vaciado al final del tratamiento, repitiéndose la operación con una nueva carga. El contenido en el interior del reactor es mezclado completamente, permitiendo un buen contacto desagüe-biomasa.
Pistón o tubular	Continuo	Tubular	El desagüe entra y pasa por medio de un tanque largo y estrecho, con las partículas líquidas saliendo en la misma secuencia de entrada. No ocurre una mezcla en el sentido longitudinal y con poca o ninguna dispersión transversal. Las concentraciones de los constituyentes de los desagües disminuyen desde la entrada hasta la salida del tanque longitudinal
Mezcla completa	Continuo	Completa	Luego de que el desagüe entra en el reactor, las partículas líquidas son inmediatamente dispersadas en el interior, ocurriendo una mezcla completa (homogenización). Las concentraciones son prácticamente iguales en todo el reactor, las mismas del efluente
Arbitrario	Continuo	Mixta	Características intermedias entre las del reactor tubular y las del reactor de mezcla completa. En la práctica, no hay reactores con mezcla completa o tubulares (denominados ideales), pero sí una aproximación para uno u otro.

Fuente: Red Cooperativa de Investigaciones, "Tratamiento de Esgotos Sanitarios por Proceso Anaeróbico e Disposição Controlada no Solo", 1999.

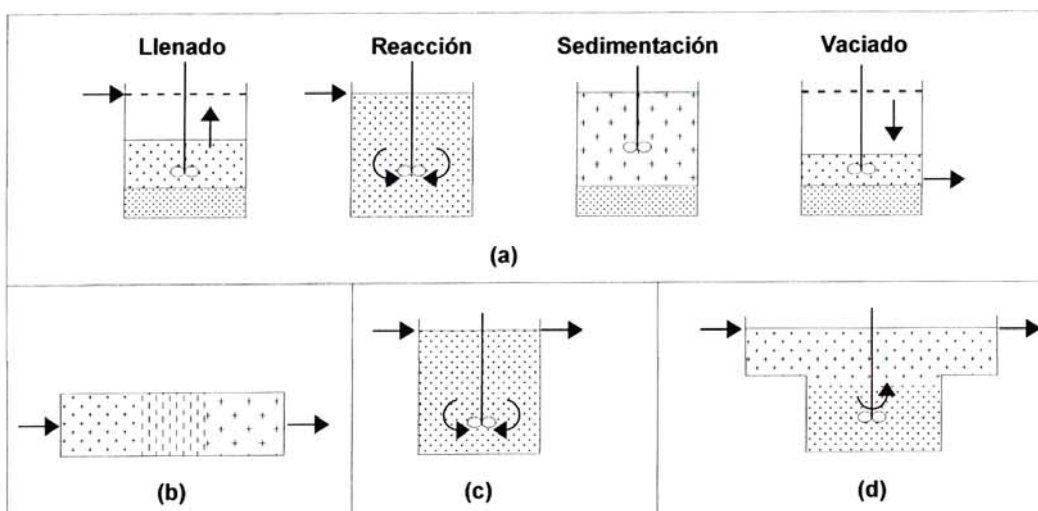


Figura 2.11: Esquemas de los reactores básicos: (a) Reactor de batelada en secuencia operacional, (b) Reactor tubular, (c) Reactor de mezcla completa, (d) Reactor arbitrario.

Fuente: Red Cooperativa de Investigaciones, "Tratamiento de Esgotos Sanitarios por Proceso Anaeróbico e Disposição Controlada no Solo", 1999.



## **II.3.2.- DESCRIPCIÓN DE LOS PRINCIPALES REACTORES ANAEROBIOS**

A continuación se hará una breve descripción de los principales reactores anaerobios, haciendo mayor énfasis en el reactor UASB, debido a que está relacionado más estrechamente con el tema de investigación.

### **II.3.2.1.- Laguna anaerobia**

Es un estanque con alta carga orgánica, en el cual se efectúa el tratamiento en ausencia e oxígeno<sup>9</sup>.

Para su aplicación en la práctica del tratamiento de aguas residuales, la laguna anaerobia presenta las siguientes características:

- tiempo de retención hidráulica en el rango de 1 a 6 días,
- carga orgánica volumétrica entre 0.1 y 0.3 kg DBO<sub>5</sub>/m<sup>3</sup>.d,
- profundidad entre 2 y 5 m,
- eficiencia de remoción de DBO entre 50% y 60%, dependiendo de la temperatura media de los desagües<sup>10</sup>.

En la configuración típica de una laguna anaerobia, ocurre la ausencia de oxígeno libre en la casi totalidad de su volumen; no hay agitación por vía externa, y el flujo en el interior es más en el sentido horizontal, lo que favorece la sedimentación de los sólidos suspendidos del agua residual a lo largo del trayecto del líquido entre la entrada y salida. Por lo tanto, una parte significativa del volumen útil de la laguna funciona como un sedimentador, siendo el fondo, la región más activa de la laguna, en la cual ocurren las reacciones. Allí se desarrolla una biomasa esencialmente para la digestión de la materia orgánica particulada sedimentada, limitando la eficiencia de la remoción de la DBO total; de allí la necesidad de complementar el tratamiento para la fracción más

---

<sup>9</sup> "Norma de Saneamiento S-090 – "Reglamento Nacional de Construcciones"

<sup>10</sup> Fuente: Red Cooperativa de Investigaciones, "Tratamiento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo", 1999.

soluble. Como la laguna por lo general no tiene cobertura, los gases producidos son liberados a la atmósfera, lo que puede traer problemas de olores en ciertos casos (Takayuki Kato et. al., 1999).

### **II.3.2.2.- Decanto digestores**

Son los precursores en el tratamiento anaerobio de las aguas residuales, teniendo diversos tipos de configuración en la práctica. Los tanques sépticos y los tanques Imhoff son ejemplos de estos reactores.

En términos de configuración y funcionamiento como reactor, el tanque séptico se asemeja a la laguna anaerobia, siendo sus dimensiones proporcionalmente menores (con tiempos de retención hidráulica del orden de 12 a 24 h). Predominan los mecanismos físicos de sedimentación; como el lodo del desagüe se va depositando en el fondo del tanque, mayormente ocurre la remoción de la DBO particulada, después del desarrollo y retención de la biomasa anaerobia. La estabilización de la DBO soluble es pequeña (Takayuki Kato et. al., 1999).

### **II.3.2.3.- Filtro anaerobio**

El filtro anaerobio se caracteriza por llenar parte de su volumen con material de soporte inerte, que permanece estacionario, y, en el cual se forma un lecho de lodo biológico fijo, una vez que allí se desarrolla una biomasa adherida. El material de relleno, sirve como soporte para los microorganismos que forman películas o biofilms en su superficie, propiciando alta retención de biomasa en el reactor. Por lo tanto el filtro anaerobio es típicamente un reactor con inmovilización de biomasa por adherencia en un medio de soporte fijo que se mantiene estacionario. Dependiendo de los vacíos resultantes, puede ocurrir la colmatación de los intersticios, ya sea por el crecimiento excesivo o por la distribución no uniforme de la biomasa, sea por los sólidos del afluente que allí se acumulan (Takayuki Kato et. al., 1999).

Por eso y en general, los filtros anaerobios son indicados para el tratamiento de desagües más solubles, como característica propia, o reteniendo los sólidos orgánicos de mayores dimensiones en una unidad anterior, como por ejemplo, un decanto digestor.

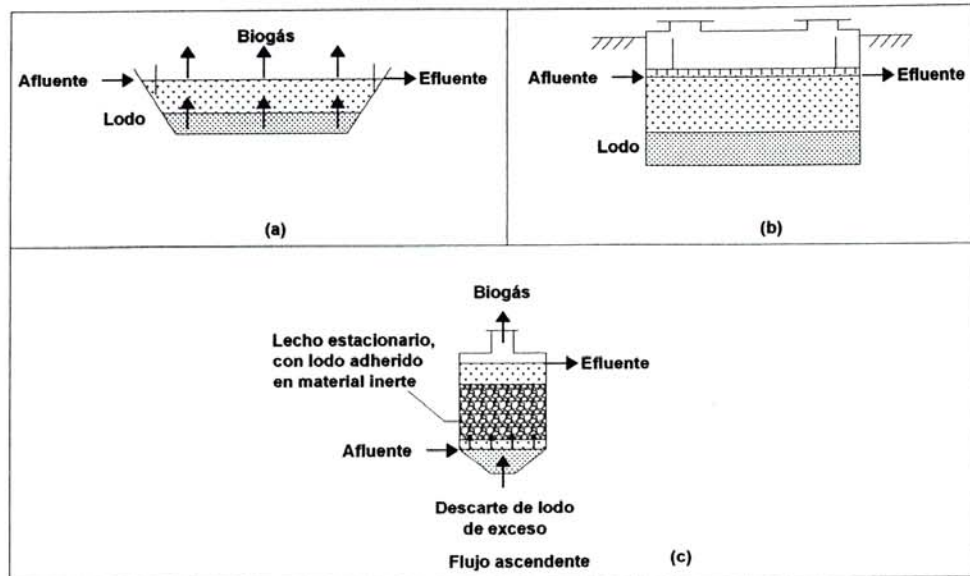


Figura 2.12: Configuraciones de los principales reactores anaerobios utilizados en el tratamiento de aguas residuales. (a) Laguna anaerobia. (b) Decanto-digestor (fosa séptica). (c) Filtro anaerobio.

#### II.3.2.4.- Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente con manto de lodo

El reactor UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket = Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente con manto de lodo), usa una biomasa inmovilizada que permite la retención del lodo en el sistema de tratamiento. Esto fue introducido a inicios del siglo y, luego de numerosas modificaciones, fue puesto en uso comercial en Holanda, para el tratamiento del agua residual industrial proveniente de la industria de alimentos.

El digestor tipo UASB, consiste en una capa de fondo de lodo espeso, un manto de lodo y una capa ascendente de líquido (Lettinga, 1995) (ver Figura 2.13).

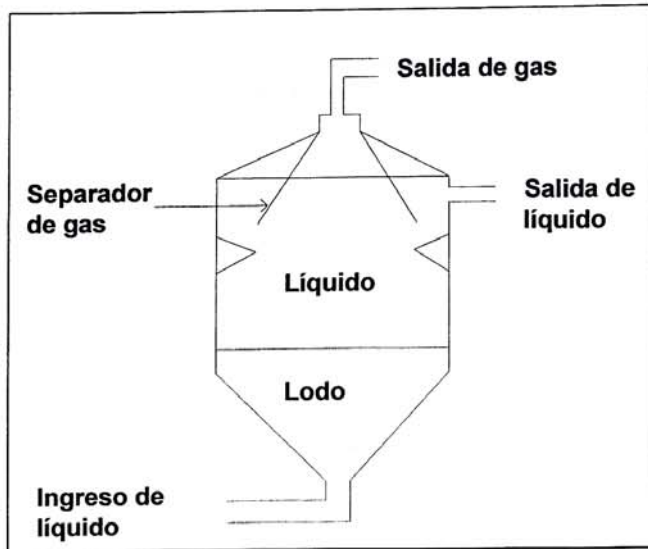


Figura 2.13: Proceso de un reactor UASB.  
Adaptado de Lettinga et al. (1980).

El agua residual fluye hacia arriba, a través de una cama de lodo, la cual es cubierta con un manto flotante de flocs de bacterias activas. Una pantalla regulable separa los flocs de lodo del agua tratada, y, el gas es recolectado por la parte superior del reactor (Schink, 1988). De este proceso resulta la formación de un lodo granular compacto, el cual tiene una buena sedimentación, y, resiste las fuerzas de corte causadas por el flujo ascendente del agua residual. El lodo es inmovilizado por la formación de agregados microbianos altamente colonizables, los cuales crecen dentro de los distintos gránulos (1 – 5 mm), y a su vez, tienen un alto contenido de SSV y alta actividad específica.

Las técnicas inmunológicas, la examinación de microscopía electrónica de barrido (SEM), y, los análisis de rayos "X" por dispersión de energía de los lodos granulares, han mostrado que los gránulos están compuestos de metanogénicos como el *Methanothrix soehngenii* (Brummeler et al., 1985; Hulshoff Pol et al., 1982; 1983), *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanosarcina* (Vissier et al., 1991; Wu et al., 1987).

Tanto las microscopías de barrido electrónica y la de transmisión de electrones, han mostrado que los gránulos son estructuras de tres

capas (MacLeod et al., 1990) (Fig. 2.14). La capa interior consiste de células *Methanothrix*, las cuales pueden actuar como los núcleos centrales para la iniciación del desarrollo del gránulo. La capa intermedia, consiste de bacterias alargadas, que incluye tanto a las acetogénicas productoras de  $H_2$ , como a los organismos consumidores de  $H_2$ . La capa exterior consiste de una mezcla de bacilos, cocos y microorganismos filamentosos. Esta capa compila una mezcla de organismos fermentadores y de organismos productores de  $H_2$ . De este modo, un gránulo aparece para albergar los grupos fisiológicos necesarios, para convertir compuestos orgánicos en metano.

La estructura por capas de los gránulos de lodo anaerobio, fue confirmada empleando el sondeo dirigido al 16S rRNA (Harmsen et al., 1996; Liu et al., 2002a; Sekiguchi et al., 1999). Ambos gránulos, mesofílico y termofílico, demostraron tener estructuras por capas, teniendo la más externa en su mayor parte células bacterianas, mientras que la capa interior contenía mayormente células archaeas (*Methanosaeta*-, *Methanobacterium*-, *Methanospirillum*-, y *Methanosarcina*-like cells) (Sekiguchi et al., 1999).

Micro electrodos, en combinación con sondeos genéticos, son útiles en la proyección del pH, metano, y perfiles de sulfuro dentro de los gránulos. Este enfoque proporciona información útil para la interacción entre los metanogénicos y las bacterias sulfato-reductoras dentro de los gránulos. Por ejemplo, en gránulos alimentados con glucosa como sustrato, se demostró que el pH se incrementó, desde la capa exterior hacia la interior del gránulo. (ej.: la conversión de ácidos a metano en la parte interior).

Esta tecnología también demostró que la reducción del sulfato ocurrió en la parte externa del gránulo, mientras que la precipitación del FeS ocurrió en la parte interna (Yamaguchi et al., 2001). En biorreactores metanogénicos-sulfurogénicos, las bacterias sulfato-reductoras fueron localizadas en la capa superficial, bajo una profundidad de 100  $\mu m$ ,

mientras que la metanogénicas fueron encontradas en el núcleo de los agragados (Santegoeds et al., 1999).

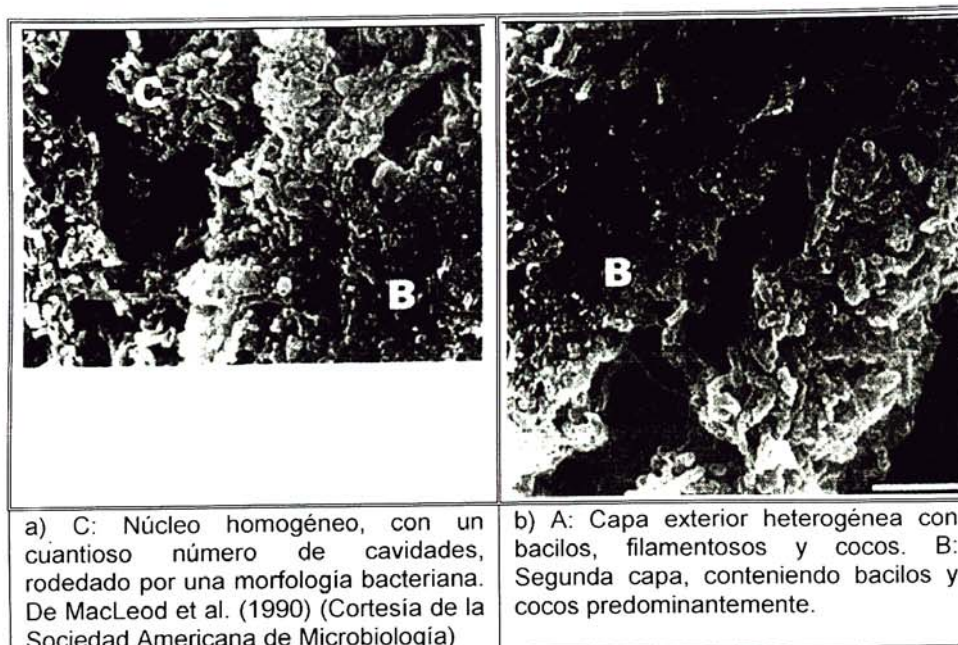


Figura 2.14: Estructura de tras capas de un gránulo de lodo anaerobio (barra = 5  $\mu\text{m}$ ).

Fuente: Gabriel Bitton, "Waste water Treatment", 3ª Edición – 2005.

La composición microbiana de los gránulos, depende del tipo de sustrato para el crecimiento (Grotenhuis et al., 1991). Los factores que afectan el nivel de granulación, incluyen las características del agua residual (rangos altos cuando el agua residual está compuesta de carbohidratos solubles), condiciones de operación (por ej. Rango de carga de lodo), temperatura, pH, y la disponibilidad esencial de nutrientes (Hulshoff Pol et al., 1983; Wu et al., 1987). Los problemas asociados con la granulación incluyen el deterioro de los gránulos del lodo, la adhesión de bacterias de rápido crecimiento, la flotación, y, las incrustaciones por carbonato de calcio (Lettinga et al., 1997).

### II.3.2.5.- Otras configuraciones de reactores anaerobios

Nuevas versiones de reactores UASB incluyen, entre otros, los siguientes:

- a) Reactor Anaerobio con manto de lodo granular expandido** (EGSB = **Expanded Granular Sludge Bed**): funciona con flujos de velocidad más altos y permite el tratamiento de aguas residuales con baja carga constante, con temperaturas por debajo de los 10°C (Kato et al., 1994; Rebac et al., 1995). Algunos autores se refieren al reactor como de lecho expandido, cuando el grado de expansión se encuentra entre un 20% y 30%. Cuando la expansión es mayor, se considera de lecho fluidificado. Las velocidades ascensionales van desde 2.5 m/h hasta 10 m/h. Por sus características hidrodinámicas, se asemeja a los reactores de lecho expandido o fluidificado, excepto por el hecho de no usar cualquier medio de soporte para la adherencia y desarrollo de la biomasa. La inoculación debe ser realizada a partir de reactores UASB existentes que demuestren la posibilidad de formar un lodo floculento denso, con buenas características de sedimentación, permitiendo la aplicación de una velocidad ascensional superior a la de un UASB convencional.
- b) Reactor Anaerobio de Lecho expandido o Fluidificado (RALF):** El término “fluidificado”, es caracterizado por las condiciones hidrodinámicas en el reactor. A medida que la velocidad ascensional aumenta, el lecho del lodo va gradualmente expandiéndose en un grado mayor al 20 -30% (Takayuki Kato et al., 1999), a diferencia del sistema anterior. Pueden usar medios de soporte para la inmovilización de la biomasa.
- c) Reactor anaerobio secuencial en batelada:** Adecuado para desagües con baja concentración (caso de los desagües sanitarios) y para temperaturas más bajas, por lo tanto, aplicado para regiones con clima templado o frío. El tratamiento se efectúa en un único tanque, en una secuencia operacional que comprende:
1. Una fase de llenado con desagüe,

2. Una fase de tratamiento propiamente dicha, por medio de las reacciones o transformaciones de los constituyentes del desagüe, por los microorganismos que se desarrollan,
  3. Una fase de sedimentación final del lodo biológico, luego que se completen las reacciones, y,
  4. Una fase de vaciado del tanque del líquido tratado y clarificado. Su esquema es similar al de la Figura 2.11 (a).
- d) Reactor anaerobio compartimentado:** Consiste de un tanque de diversas cámaras dispuestas horizontalmente en serie, cada cual separada por paredes, o por compartimentos dispuestos verticalmente. El flujo en cada cámara es vertical ascendente. En términos de proceso, este reactor se caracteriza por separar algunas de las fases de la digestión anaerobia, que termodinámicamente favorece la formación de metano, eliminando el  $H_2$  en la primera o primeras cámaras. El hidrógeno naturalmente formado en la digestión, puede impedir la rápida degradación del ácido propiónico, que es una etapa precursora del ácido acético y su consecuente metanogénización.
- e) Reactor UASB compartimentado:** Constituido por un tanque con cámaras que son operadas en paralelo. El principio de funcionamiento del sistema, con los tres compartimentos de digestión en paralelo, tiene por objetivo la obtención de un régimen hidráulico más estable al interior del reactor.
- f) Reactor anaerobio de contacto:** Se asemeja mucho al proceso de lodos activados aerobio, de allí que muchas veces se le reconozca como proceso de lodos activados anaerobio. También se le conoce como claridigestor o reactor anaerobio de dos etapas. El digestor es un tanque de mezcla completa que requiere agitación por medio externo, habiendo la formación de un lodo floculento, que se mantiene suspendido en el tanque. Los sólidos que salen con el efluente son separados en el decantador y el lodo anaerobio activo



retorna al digestor, para luego mezclarse con el afluente. La formación de gases en el sedimentador limita la separación de los sólidos, favoreciendo la flotación y arrastre de estos con el efluente final.

- g) Reactor anaerobio con biodisco rotatorio:** Se basa en un sistema aerobio similar. Está constituido por un tanque cubierto, dentro del cual se emplean discos de material liviano y poroso, para la fijación u desarrollo de microorganismos por adherencia. Los discos, casi totalmente inmersos, se colocan en forma de placas paralelas concéntricas a un eje giratorio, accionado con una rotación adecuada por un motor externo.
- h) Reactor anaerobio con recirculación interna:** Conocido también como reactor IC (internal circulation), se caracteriza por las altas velocidades líquidas ascensionales. Como el caso del EGSB, el lodo a ser utilizado es granular, en función de las características hidrodinámicas. Este reactor, hace uso del gas para ayudar a la circulación interna que promueve la mezcla y el contacto. Por este motivo se les denomina también reactores tipo "gas lift". El biogás formado, se acumula en un tanque especial en la parte superior, que presurizado hasta un cierto nivel, fuerza la circulación interna, tanto de líquido como de algún lodo.
- i) Reactor anaerobio horizontal de lecho fijo:** Conocido también como reactor RAHLF, es posiblemente la más nueva generación de reactores modernos de alta tasa. En esta nueva configuración, que fue propuesta por Foresti et al. (1995), la inmovilización de la biomasa ocurre en un medio de soporte estacionario, en el caso original siendo utilizado material de poliuretano (espuma), y el flujo es horizontal, el cual se aproxima a un régimen de flujo pistón. Las características del material de relleno: liviano, poroso, de alta superficie específica y de costo atractivo, son algunas de las ventajas que se presentan.

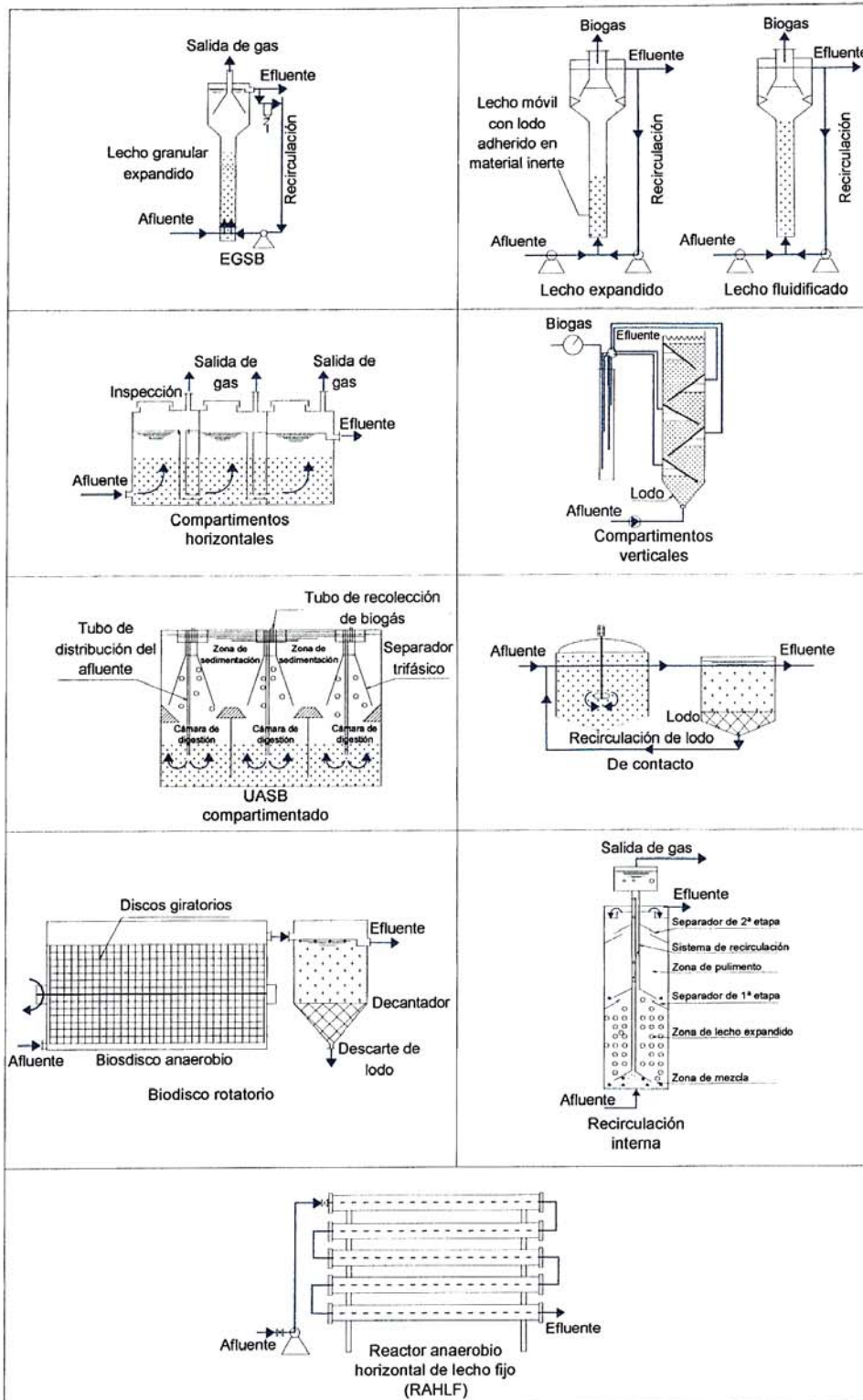


Figura 2.15: Otras configuraciones de reactores anaerobios.<sup>11</sup>

<sup>11</sup> Fuente: Red Cooperativa de Investigaciones, "Tratamiento de Esgotos Sanitarios por Proceso Anaeróbico e Disposición Controlada no Solo", 1999.

## **II.4.- REACTOR ANAEROBIO DE FLUJO ASCENDENTE DE LA PTAR UNI-TRAR**

### **II.4.1.- BREVE DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO UNI-TRAR**

La planta de tratamiento de aguas residuales UNI-TRAR, fue construida entre los años 1994 y 1995. Fue diseñada para tratar el agua de las zonas “El Ángel” y “El Milagro” (aledañas a la UNI). Tiene un área de 4.5 Ha y cuenta con tres etapas de tratamiento:

- Pre-tratamiento:
  - 1) Captación
  - 2) Cámara de rejas
  - 3) Desarenador
  - 4) Medidor de caudal
- Tratamiento biológico:
  - 1) RAFA
  - 2) Lagunas de estabilización
- Aprovechamiento
  - 1) Lecho de secado
  - 2) Estanque de peces
  - 3) Vivero forestal

#### **II.4.2.- DESCRIPCIÓN DEL RAFA DE UNI-TRAR<sup>12</sup>**

El Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente con manto de lodos (RAFA o reactor UASB) de la Planta de Tratamiento "UNI-TRAR", es una unidad de tratamiento constituida por un digestor, un sedimentador y una cámara de gas. El agua residual a ser tratada se distribuye uniformemente en el fondo del reactor. Posteriormente fluye a través de una capa o manto de lodos que ocupa cerca de la mitad del volumen del reactor. Esta capa transforma o degrada la materia orgánica mediante su digestión.

El gas formado se acumula en las cámaras correspondientes, y, para evitar que pase a la zona de sedimentación, se ha previsto el uso de deflectores de gas (separadores de fases).

El agua asciende hacia la cámara de sedimentación y de allí va hacia las canaletas recolectoras, obteniéndose un efluente clarificado que va posteriormente a las lagunas de estabilización.

Esta unidad de tratamiento cuenta con dispositivos de muestreo y evacuación de lodos; de este último se derivarán los lodos hacia el lecho de secado.

#### **II.4.3.- COMPONENTES**

##### **II.4.3.1.- Sistema de alimentación**

Desde el desarenador se extiende una tubería de PVC pesado de 8" de diámetro, a un repartidor de caudal, con dos vertederos de tipo triangular, idéntico e instalado en paralelo. De este repartidor salen dos tuberías de PVC pesado de 6", que conducirán el caudal afluente a dos distribuidores ubicados en la parte superior del reactor. Cada distribuidor es una estructura rectangular de 0.9 m de largo x 0.6 m de

---

<sup>12</sup> J. Sanhueza, G. León, "Manual de arranque, operación y mantenimiento de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Nacional de Ingeniería"- CEPIS, 1995.

ancho y 0.7 m de altura para permitir una distribución uniforme del caudal.

#### II.4.3.2.- Reactor

Es una estructura de hormigón armado de 11.4 m de largo x 8.4 m de ancho y 6 m de altura. Esta última dimensión se compone de 4 m de altura de digestor, 1.5 m de altura de sedimentación y 0.5 m de altura de borde libre. La abertura entre el sedimentador y el separador de fases es de 20 cm. En cuanto al dispositivo de extracción de exceso de lodos, el reactor cuenta con un sifón de PVC de 8", ubicado a 1.5m del fondo que permite la evacuación de lodos. Se han previsto 4 salidas de lodos, también mediante sistemas de sifones de PVC de 4", para la toma de muestras de lodo ubicadas a 1 m, 1.5 m, 2 m y 2.5 m del nivel del fondo.

#### II.4.3.3.- Cámara de gases

Se ubica en la parte superior del RAFA, tiene una altura de 30 cm, una longitud de 11.4 m y un ancho de 2.2 m. Esta cámara cuenta con una salida de gas de 4", para luego ser quemado.



Figura 2.16: Vista del RAFA de la Planta UNI-TRAR.

#### II.4.3.4.- Sistemas de recolección de agua tratada

Se ubican en la parte superior de los sedimentadores y consisten, en dos canaletas laterales de sección triangular, ubicadas en la parte interna del RAFA, y, dos canaletas laterales de sección rectangular

ubicadas en la parte lateral del RAFA. Cada canaleta cuenta con vertederos colocados en toda su longitud. El desagüe de dichas canaletas, desemboca en un repartidor de caudal con tres vertederos triangulares, dividiendo el caudal en tres partes iguales. De este repartidor salen tres tuberías de PVC de 6", que alimentan posteriormente la laguna secundaria.



Figura 2.17: Vista del sistema de recolección de agua tratada y de la salida de lodos.

## **II.5.- LIXIVIADO**

### **II.5.1.- DEFINICIÓN**

El lixiviado es el efluente de la percolación del líquido que pasa a través de la masa de residuos, que se produce por la descomposición de los residuos sólidos en el relleno sanitario. El lixiviado, al igual que el biogás, es un subproducto de la digestión anaerobia que ocurre en el interior del relleno; de una composición fisicoquímica, variable en el tiempo, que depende de la edad del relleno, características de la zona de ubicación, características del residuo depositado, etc.

Una propiedad que se observa en los lixiviados en general, son los elevados valores de DQO (Demanda Química de Oxígeno) y DBO (Demanda Bioquímica de Oxígeno) que presentan, además de la presencia de trazas de metales pesados, producto de la lixiviación que ocurre en el interior del relleno sanitario.

### **II.5.2.- COMPOSICIÓN DEL LIXIVIADO**

#### **II.5.2.1.- Líquido del lixiviado**

En la mayoría de los rellenos sanitarios, el lixiviado está compuesto básicamente, por el líquido que percola la masa de residuos enterrada, siendo el líquido, el resultado de la remoción de compuestos solubles, por la percolación intermitente y no uniforme.

El líquido proviene de fuentes externas, tales como sistemas de drenaje superficial, clima, manto freático, nacientes, y, fuentes internas como la descomposición de la materia orgánica.<sup>13</sup>

---

<sup>13</sup> Desempenho de um reator UASB em escala Piloto para o tratamento anaeróbio de líquidos percolados de resíduos sólidos urbanos; Fabio Rita; febrero 2002.

### **II.5.2.2.- Compuestos orgánicos e inorgánicos**

La descomposición del lixiviado, en un relleno sanitario, está afectada principalmente por el estado de descomposición del residuo depositado (Park et al., 1999).

De forma general, gran parte de los contaminantes orgánicos presentes en el lixiviado está compuesta por los AGV (ácidos grasos volátiles), haciendo del 40 al 90% de la materia orgánica (Albaiges et al., 1986): De esos ácidos, el ácido acético acostumbra a ser el predominante.

Según Iglesias et al., (2000), los ácidos orgánicos volátiles son los mayores contribuyentes iniciales, para la elevada concentración de DQO en el lixiviado de un relleno Sanitario. De forma general, muchos compuestos aromáticos provienen del metabolismo de las proteínas, y de las ligninas, como los ácidos fenil-acético, fenil propiónico, benzoico, p-hidroxibenzoico entre otros compuestos alicíclicos, alifáticos, terpenos y solventes órgano-clorados, pueden estar presentes en los rellenos sanitarios o botaderos, precisamente en el lixiviado (Venkataramani et al., 1984).

Park et. al., (1999), relata que la fase de acidificación de un relleno, lleva a la disminución del pH, lo que origina un valor en torno a 4, elevando así la concentración de los iones metálicos como cobre, cadmio, plomo, mercurio, zinc, hierro, entre otros en el lixiviado.

Ya en la fase metanogénica, las bacterias metanogénicas comienzan a descomponer el material orgánico de bajo peso molecular, elevando el pH del mismo a 7 (Park, 1997).

En cuanto a los componentes inorgánicos más abundantes, presentes en el lixiviado, tenemos al sodio, calcio, amonio y potasio.

La tabla de POHLAND and HARPER (1986), presentada a continuación, muestra los valores encontrados en la literatura para la caracterización



del lixiviado, en función de la fase de degradación del residuo en el relleno. Además es importante recalcar la gran variabilidad de esos valores ya mencionados anteriormente.

Tabla 2.17: Rangos de composición de un lixiviado, en función del estado de descomposición de la materia orgánica en el relleno sanitario.

Parámetros (mg/L)	Fases del relleno sanitario				Todas las Fases
	Transición	Acidificación	Metanogénesis	Final	
DBO <sub>5</sub>	100 - 10900	1000 - 57700	600 - 3400	4 - 120	4 - 57700
DQO	480 - 18000	1500 - 71100	580 - 9760	31 - 900	31 - 71100
COT*	100 - 3000	500 - 27700	300 - 2230	70 - 260	70 - 27700
AOV**	100 - 3000	3000 - 18800	250 - 4000	0	0 - 18800
DBO <sub>5</sub> /DQO	0.23 - 0.87	0.4 - 0.8	0.17 - 0.64	0.02 - 0.13	0.02 - 0.87
TKN	180 - 860	14 - 1970	25 - 82	7 - 490	7 - 1970
NH <sub>3</sub> - N	120 - 125	2 - 1030	6 - 430	6 - 430	2 - 1030
PO <sub>4</sub> -P	0.6 - 1.7	0.2 - 120	0.7 - 14	0.2 - 14	0.2 - 120
Alc. Total	200 - 2500	140 - 9650	760 - 5050	200 - 3520	140 - 9650
ST	2450 - 2050	4120 - 55300	2090 - 6410	1460 - 4640	1460 - 55300
pH	6.7	4.7 - 7.7	6.3 - 8.8	7.1 - 8.8	4.7 - 8.8
Cu	0.085 - 0.39	0.005 - 2.2	0.03 - 0.18	0.02 - 0.56	0.005 - 2.2
Fe	68 - 312	90 - 2200	115 - 336	4 - 20	4 - 2200
Pb	0.001 - 0.004	0.01 - 1.44	0.01 - 1.0	0.01 - 0.1	0.001 - 1.44
Mg	66 - 96	3 - 1140	81 - 505	81 - 190	3 - 1140
Mn	0.6	0.6 - 41	0.6	0.6	0.6 - 41
Ni	0.02 - 1.55	0.03 - 79	0.01 - 1.0	0.07	0.01 - 79
K <sup>+</sup>	35 - 2300	35 - 2300	35 - 2300	35 - 2300	35 - 2300
Na <sup>+</sup>	20 - 7600				20 - 7600
Zn	0.06 - 21	0.65 - 220	0.4 - 0.6	0.4	0.06 - 220
Cd	190 - 490	70 - 3900	76 - 490	76 - 254	70 - 3900
Cr	0.023 - 0.28	0.06 - 18	0.05	0.05	0.023 - 18

\* Carbono orgánico total

\*\* Ácidos orgánicos volátiles

Fuente: Pohland and Harper (1986).

### II.5.2.3.- Variabilidad de la composición de lixiviados

Se observan grandes variaciones en los resultados de los análisis de los lixiviados provenientes de los rellenos sanitarios o botaderos (ver Tabla 2.18). Las razones de ello están relacionadas a las siguientes características:

- a) Características de la población generadora del residuo. (Nivel de vida y características socio económicas y culturales).
- b) Topografía y geografía local del área de disposición final.
- c) Formas de coleccionar los residuos (con o sin segregación previa)
- d) Técnicas utilizadas en la construcción y operación de los rellenos.
- e) Grado de compactación, tipo y características del material de cobertura.
- f) Calidad y cantidad del tipo de residuo dispuesto.
- g) Edad del relleno y características hidrológicas y climáticas de la región.

Para observar la variación y similitud de los lixiviados, se recopiló información sobre los valores de los parámetros DBO (demanda biológica de oxígeno) y DQO, (demanda química de Oxígeno) de algunos rellenos sanitarios de América del Sur y México, de lo cual se observó que los valores que presenta el relleno sanitario Portillo Grande, tanto en su valor promedio como en el máximo y el mínimo esta dentro de los rangos de los demás rellenos sanitarios, tal como se indica en la Tabla 2.18.

Tabla 2.18: Cuadro Comparativo de los Parámetros DBO, DQO en rellenos sanitarios de Sudamérica.

RR. SS.	RS Bordo Poniente	RS La Glorita	RS Montevideo	RS Portillo Grande	RS Bordo Poniente	RS La Glorita	RS Montevideo	RS Portillo Grande	RS Bordo Poniente	RS La Glorita	RS Montevideo	RS Portillo Grande
	Mínimo				Promedio				Máximo			
DBO	668	402.0	3400	1166.7	12590	430.8	10510	12300	19500	459.6	16800	14320.0
DQO	1050	5417.5	3400	7416.4	8000	8629.2	18550	18921.6	17000	11840.8	36500	21896.4

- RS Bordo Poniente : caracterización y tratabilidad de lixiviados de la etapa IV , Bordo Poniente ;Torres, Vela ,Orta ; México,

- RS "La Glorita" : Evaluación de tratabilidad de los lixiviados en el relleno sanitario de Pereira mediante filtros anaerobios de flujo ascendente a escala piloto; Chavarro, Garces,Guerrero,Salas ,2006,

- RS de Montevideo : comparación de tratamientos aerobios y anaerobios aplicados a lixiviados de Relleno sanitarios ; Universidad de la Republica , Uruguay,

- RS Portillo Grande: Monitoreo de Gases y lixiviados en el RS Portillo Grande años 2005 al 2007.

#### **II.5.2.4.- Sustancias Peligrosas**

Según un estudio realizado en Suecia (febrero 2008), sobre sustancias peligrosas presentes en los lixiviados de los rellenos sanitarios, se detectó la presencia de 55 compuestos orgánicos y metal-orgánicos.

Se puede esperar la presencia de un amplio número de compuestos peligrosos en los lixiviados de los rellenos sanitarios, mucho de los cuales todavía no han sido identificados. Por eso, este estudio analizó muestras provenientes de 12 rellenos sanitarios de municipios de Suecia, para 400 parámetros y compuestos. El estudio detectó más de 90 compuestos orgánicos y metal-orgánicos y 50 elementos inorgánicos, algunos de los cuales parece ser no habían sido detectados anteriormente.

Entre los compuestos detectados, hay compuestos alifáticos halogenados, benceno y alquilbencenos, fenol y alquilfenoles, etoxilatos, compuestos aromáticos policíclicos, ésteres, bencenos clorados, fenoles clorados, PBC, dioxinas cloradas y furanos clorados, retardantes de llama bromados, pesticidas, estaño orgánico, metilmercurio y metales pesados<sup>14</sup>.

#### **II.5.3.- RECIRCULACIÓN DE LIXIVIADOS**

La recirculación de lixiviado en el relleno, promueve la aceleración del proceso tanto aerobio como anaerobio dentro del relleno, teniendo inicio en la década del 70 donde se usaban trincheras horizontales para la recirculación del mismo (REIRHART and AL-YOUSFI, 1996).

Según Pholand (1980), Reinhart y Al-Yousfi, (1996), la recirculación de lixiviados en un relleno es un proceso efectivo de disposición, donde dentro

---

<sup>14</sup> Caracterización de lixiviados de rellenos sanitarios, ORG No A La Incineración, Febrero 2008.

de las ventajas, incluye la aceleración de la estabilidad del residuo, costos reducidos comparados con otros procesos de disposición, distribución de nutrientes y enzimas, aceleración de la producción de biogás, y, el reciclo y distribución de la flora metanogénica a lo largo de las celdas del relleno.

Pholand y Gould (1984), observaron que la recirculación del lixiviado, aumenta el contacto entre los sólidos, acelera la estabilización y disminuye los niveles de concentración de metales pesados. Probablemente la presencia de sustancias húmicas generadas de la degradación de la celulosa sea la responsable por la formación de sustancias complejas (metal-humatos) que inmovilizarían los iones metálicos.

Pholand (1980), relata que el recirculado del lixiviado no es aceptado como alternativa de tratamiento en muchos lugares, evidenciando algunos problemas en su utilización como única forma de tratamiento, de los que destaca, que el lixiviado recirculado, podría alcanzar concentraciones de compuestos tóxicos al proceso biológico encima de los límites tolerables, causando retardo, o, hasta la interrupción de la degradación del residuo.

#### **II.5.4.- TRANSFORMACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS QUE OCURREN EN EL INTERIOR DEL RELLENO SANITARIO**

Además de las transformaciones físicas y químicas que ocurren, el lixiviado generado también sufre transformaciones biológicas en el interior de un relleno, a veces con carga contaminante mayor que el desagüe doméstico (El fadel et al, 1997; Hamada, 1997; Neto y Mota ,1999).

Los procesos predominantes, que ocurren en los rellenos sanitarios, son los anaerobios, semejantes a los que ocurren en los bio-digestores anaerobios (Vazoller, 1999).

De forma generalizada, un relleno sanitario funciona como un gran reactor anaerobio en régimen discontinuo. Sin embargo, Park et al. 1999, dividen el estado de descomposición de un relleno en dos fases: la fase de

descomposición aerobia, de corta duración, y la fase de descomposición anaerobia.

La materia orgánica compleja, es degradada a través de una serie de operaciones consecutivas, siendo primero transformada en varios productos intermedios, como ácidos orgánicos volátiles, alcohol y posteriormente transformada en biogás ( Park et al 1999).

Pholand y Harper (1986), definen 5 fases que ocurren, durante la descomposición de la materia orgánica en un relleno sanitario, que están descritas a seguir.

#### **II.5.4.1.- Fase 01: Ajuste inicial**

- 1) Disposición inicial del residuo y acumulación de humedad.
- 2) Cierre de cada área del relleno y asentamiento inicial del terreno.
- 3) Los primeros cambios en los parámetros ambientales son detectados, revelando el inicio del proceso de estabilización.

#### **II.5.4.2.- Fase 02: Transición**

- 1) Formación del lixiviado.
- 2) Transición de la condición aerobia a anaerobia.
- 3) Receptor primario de electrones pasa de oxígeno para nitratos y sulfatos.
- 4) El potencial redox decrece, en el sentido de establecer condiciones reductoras.
- 5) Aparecen productos metabólicos intermediarios, ácidos orgánicos volátiles en el lixiviado.

#### **II.5.4.3.- Fase 03: Acidificación**

- 1) Los ácidos orgánicos volátiles AOV, se tornan predominantes con la continua hidrólisis y fermentación de los residuos orgánicos.
- 2) Disminución del PH, causando movilización y posible formación de complejos de metales pesados.
- 3) Liberación y asimilación de nutrientes importantes como nitrógeno y fósforo.
- 4) Aparición de  $H_2$ , que va a controlar la naturaleza de los metabólicos intermediarios.

#### **II.5.4.4.- Fase 04: Metanogénesis**

- 1) Consumo de los productos intermedios para la formación de metano y dióxido de carbono (biogás).
- 2) Estabilización del pH, en un valor controlado por el tampón bicarbonato y la concentración de AOV.
- 3) El potencial redox se encuentra en el valor mínimo.
- 4) Consumo continuo de nutrientes.
- 5) Formación de complejos de metales pesados y la precipitación de los mismos.
- 6) La concentración de la fracción orgánica descrece debido a la conversión a biogás.

### II.5.4.5.- Fase 05: Maduración final

- 1) Relativa quietud de la actividad biológica, comparada con la intensa actividad anterior de la estabilización de los constituyentes más biodegradables.
- 2) Los nutrientes se pueden tornar limitantes.
- 3) Disminución o cese de la producción de biogás.
- 4) Aumento del potencial redox y reaparición del oxígeno y de las especies oxigenadas.
- 5) Conversión de los compuestos orgánicos mas biorrecalcitrantes y producción de sustancias húmicas capaces de complejar y removilizar metales pesados.<sup>15</sup>

El gráfico presentado a continuación, muestra las diversas fases de estabilización, descritas líneas arriba, observadas en un relleno experimental a escala piloto, que recibió lixiviado recirculado para acelerar el proceso (Pholand and Harper, 1986).

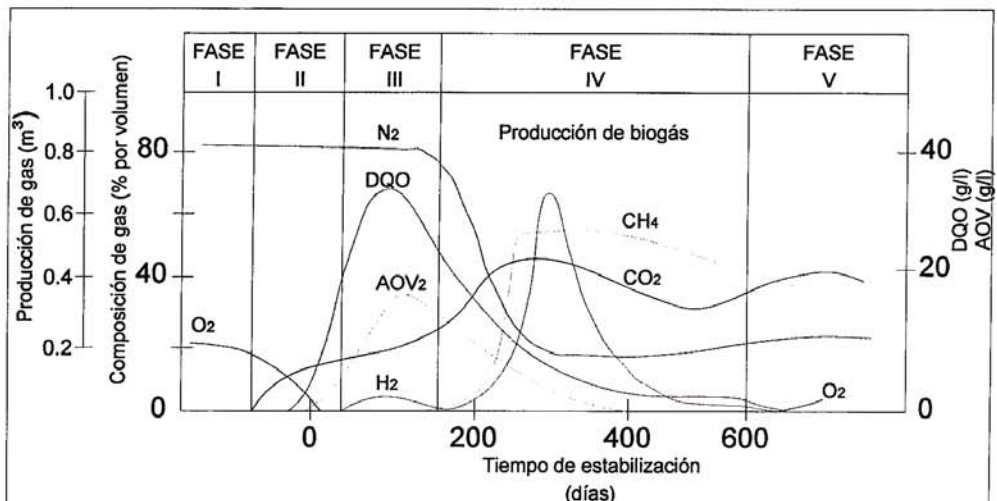


Figura 2.18: Fases de estabilización del lixiviado en un relleno sanitario. Fuente: Pholand et. al., (1985).

<sup>15</sup> Desempenho de um reator UASB em escala Piloto para o tratamento anaeróbio de líquidos percolados de resíduos sólidos urbanos; Fabio Rita; febrero 2002.



Es importante mencionar, que este modelo encuentra limitaciones prácticas en la aplicación de rellenos sanitarios reales, ya que el tiempo para completar la capacidad total del relleno es muy largo. En la práctica, ocurren las cinco fases simultáneamente en diferentes sectores del relleno sanitario; el lixiviado recolectado puede ser de una zona específica, del mismo, o de la mezcla de diferentes lixiviados en diferentes fases, obteniendo así una composición variable, según el porcentaje aportado de cada fase de estabilización.

El lixiviado en un relleno sanitario, es la resultante de todas las fases presentadas; esto debido a que los residuos sólidos se confinan por etapas en el relleno, formando celdas que con el tiempo se van superponiendo.

## **II.6.- RELLENO SANITARIO PORTILLO GRANDE**

### **II.6.1.- UBICACIÓN**

El relleno sanitario "Portillo Grande", se emplaza en la quebrada "La Leña", al sur-este de la quebrada "Pucará", (margen izquierda del río Lurín) en las faldas de los cerros "Conejo" y "Portillo Grande", jurisdicción del distrito de Lurín, provincia y departamento de Lima. El acceso es a través de la vía afirmada en dirección este, de aproximadamente 11.5 km, que se inicia a la altura del Km 39 de la antigua carretera Panamericana Sur.

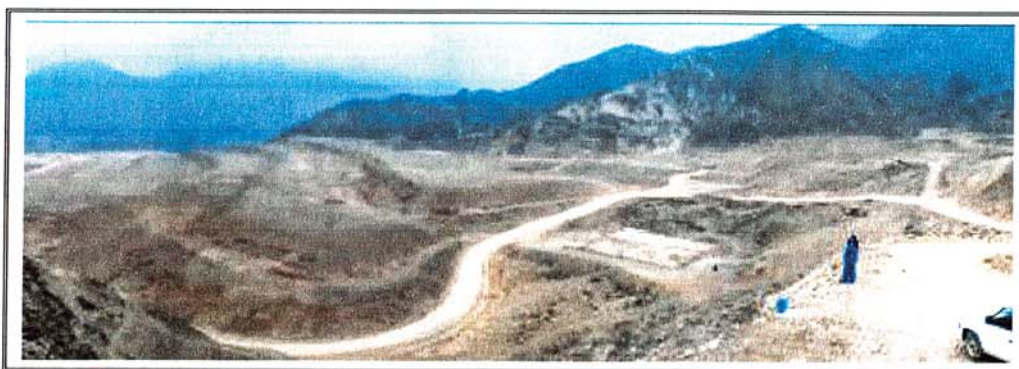


Figura 2.19: Vista panorámica del relleno sanitario Portillo Grande.

### **II.6.2.- RESIDUOS NO PELIGROSOS**

#### **II.6.2.1.- Distribución de Plataformas**

El proyecto de la primera etapa del relleno sanitario, y, su ampliación, constan de 12 y 14 plataformas respectivamente. Las plataformas de la primera etapa, tienen diferencias de altura de 4 m, y separaciones horizontales entre 48 y 50 m. En lo que respecta a la ampliación, esta consta de 14 plataformas, con diferencias de nivel de 5.0 m. y separaciones horizontales de 40 m.

### II.6.2.2.- Toneladas Dispuestas

El relleno sanitario Portillo Grande, recibe en promedio 33900 toneladas por mes de residuos no peligrosos<sup>16</sup>. En la Tabla 2.19, se muestra la cantidad de toneladas dispuestas en el Relleno Sanitario.

Tabla 2.19: Residuos no peligrosos - Relleno Sanitario Portillo Grande.

MES	TONELADAS
Ene-08	41297.38
Feb-08	41152.99
Mar-08	43141.05
Abr-08	36280.46
May-08	34981.01
Jun-08	32015.48
Jul-08	35233.67
Ago-08	34457.13

Periodo: Enero – Agosto 2008

### II.6.3.- LIXIVIADO

#### II.6.3.1.- Líquido del lixiviado

En el caso del Relleno Sanitario Portillo Grande, la fuente de líquido, es básicamente originada por la degradación de la materia orgánica.

Las fuentes externas, como las condiciones climáticas y condiciones hidrogeológicas, son propicias para la ubicación del relleno sanitario, ya que no hay presencia de manto freático en toda la zona destinada a este, y el nivel de precipitación es muy bajo; de igual modo, no hay fuentes de agua superficial, que generen filtración o cursos de agua por la zona del relleno.

<sup>16</sup> Promedio del Trimestre Junio- Agosto 2008

### II.6.3.2.- Drenaje de Lixiviados

El proyecto de la primera etapa, del relleno sanitario y su ampliación, contemplan drenes perimetrales de captación, y drenes a pie de talud de las plataformas, cuyo objetivo es captar y conducir los lixiviados hacia una zona de almacenamiento para la recirculación.

### II.6.3.3.- Recirculación de Lixiviados en el relleno sanitario Portillo Grande

La disposición de lixiviados en el relleno sanitario Portillo Grande, se realiza a través de un camión cisterna (denominado Asper-vac), el cual realiza la succión de los lixiviados en la poza que se ubica al pie de las plataformas. El líquido, es transportado a las plataformas altas del relleno, a fin de ser descargadas para su recirculación (Ver Figura 2.20).



Figura 2.20: Vista de la secuencia del proceso de recirculación de lixiviados, en el Relleno Sanitario Portillo Grande.

Fuente: Archivo fotográfico del Dpto. de Planta de Transferencia y Relleno sanitario.

#### **II.6.3.4.- Volumen de Lixiviado**

El volumen de lixiviado generado en el relleno sanitario Portillo Grande, varía en función del tiempo y del tipo de residuo depositado. El método para registrar los volúmenes producidos, está en función del número de viajes internos, que se realiza el camión cisterna en el relleno, para la recirculación, desde la poza hasta las plataformas superiores. Dicha unidad, tiene una capacidad de 6 m<sup>3</sup>. En la siguiente página (Figura 2.21) se presenta una grafica de los caudales generados en el relleno sanitario Potillo Grande.

#### **II.6.3.5.- Propiedades organolépticas**

El lixiviado del relleno sanitario Portillo Grande, presenta ciertas características organolépticas que se aprecian en las cámaras de inspección y la poza de lixiviados.

##### **II.6.3.5.1.- Color**

El color que presenta el lixiviado es rojizo oscuro, en pequeñas cantidades, y en la poza de lixiviados el color que se observa es negro.

##### **II.6.3.5.2.- Espumas**

El lixiviado, si se agita, presenta formación de espumas; ello se observa en la recirculación del mismo.

##### **II.6.3.5.3.- Olor**

El lixiviado presenta un olor característico, que tiene la propiedad de impregnarse en la ropa y en la piel con solo con estar cerca de este, por un determinado tiempo. Dicha característica se debe a los gases que emana el líquido, quedando por verificar que tipo de gases aromáticos expele.

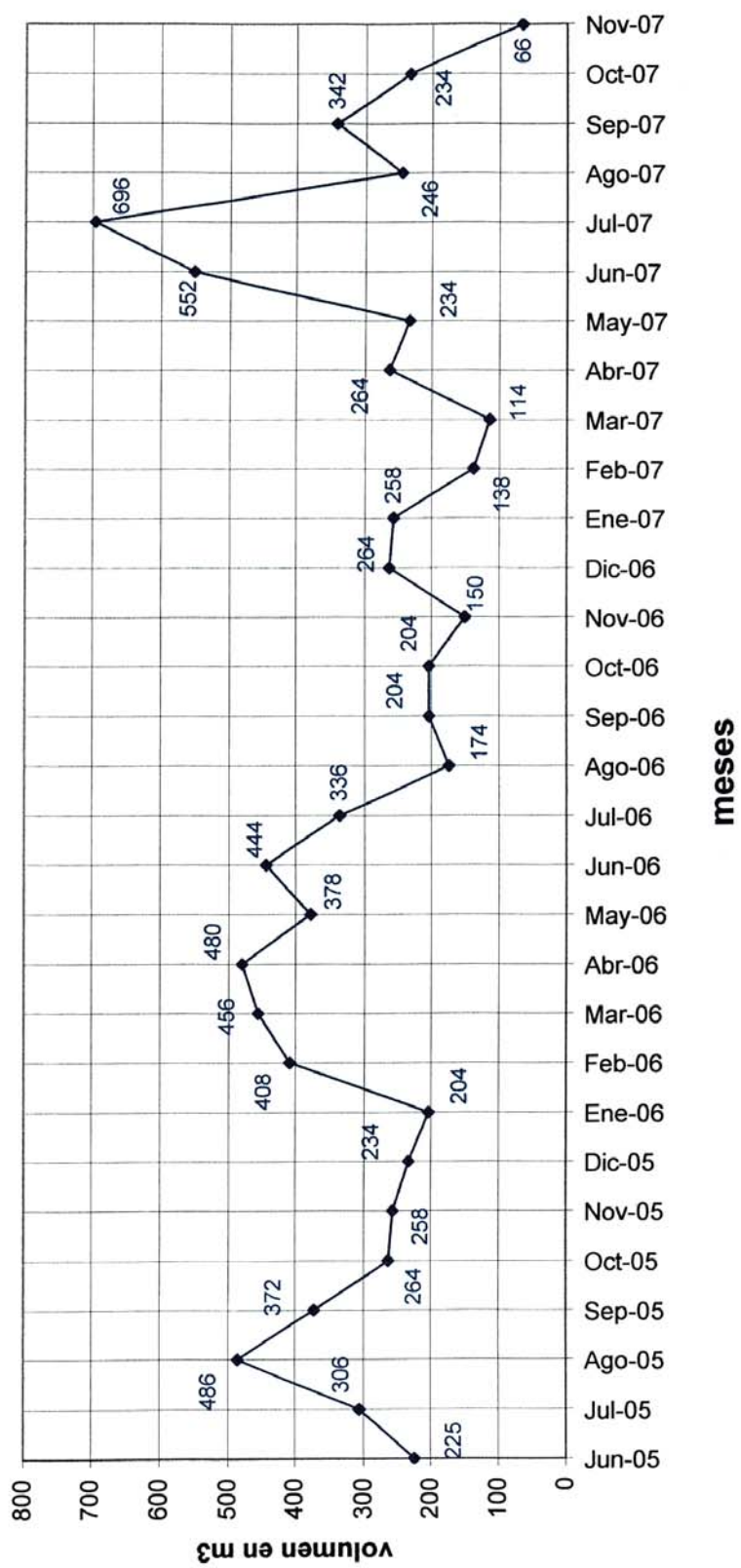


Figura 2.21: Gráfica histórica de la producción de lixiviados en el Relleno Sanitario Portillo Grande.  
Fuente: Cuaderno de Control del Relleno Sanitario Portillo Grande.



Figura 2.22: Vista de las características del lixiviado, en el Relleno Sanitario Portillo Grande.

Fuente: Archivo fotográfico del Dpto. de Planta de Transferencia y Relleno sanitario.

#### II.6.3.5.4.- Acción corrosiva

De lo observado en el sistema de captación de lixiviados (tapas de inspección de concreto), y, en la poza de captación (malla metálica de protección), se pudo apreciar el poder corrosivo de que tiene el lixiviado.

El concreto es atacado por los gases que emanan del lixiviado, produciendo un descascaramiento en forma de burbujas.



Figura 2.23: Vista de los efectos agresivos del lixiviado al concreto.  
Fuente: Archivo fotográfico del Dpto. de Planta de Transferencia y Relleno sanitario.



### II.6.3.6.- Muestreo de Lixiviado

El muestreo de los lixiviados en el relleno sanitario Portillo Grande, se realiza en la poza de lixiviados que se encuentra en el punto mas bajo de la ampliación de la primera etapa.

Los equipos y materiales utilizados para el muestreo son: frascos para toma de muestras, termómetro, cooler y preservantes según el tipo de parámetro a medir.

Las muestras tomadas en campo, se preservan, se rotulan, y son llevadas a un laboratorio para los respectivos análisis, los cuales quedan a cargo de una consultora externa: Cinyde SAC. El periodo de muestreo (anual), está en función a la exigencia del PAMA del relleno sanitario Portillo Grande. Los métodos de análisis empleados por el laboratorio se presentan en la Tabla 2.20:

Tabla 2.20: Métodos de análisis químicos de efluentes líquidos.

Parámetro	Nombre del Método	Método	Limite de Cuantificación
Aceites y grasas	Gravimétrico (extracción)	EPA 1664	5.0 mg/l
Sólidos suspendidos	Gravimétrico	SM 2540 – D	5.0 mg/l
DBO <sub>5</sub>	Gravimétrico	EPA 405.1	2.0 mg/l
DQO	Gravimétrico	EPA 410.1	20.0 mg/l
Cd	Absorción Atómica	EPA 213.1	0.003 mg/l
Coliformes Totales	Gravimétrico	APHA 1998 – 9221 B	2 NMP/100ml
Cr	Gravimétrico	SM 3030 - G	0.05 mg/l
Pb	Absorción Atómica	EPA 239.1	0.025 mg/l
Ni	Absorción Atómica	EPA 249.1	0.03 mg/l
Zn	Absorción Atómica	EPA 289.1	0.003 mg/l
Hg	Absorción Atómica	EPA 245.1	0.0003 mg/l
N.Total	Absorción Atómica	EPA 351.3	-----
P	Colorimétrico	EPA 365.3	0.01 mg/l



Figura 2.24: Vista del muestreo de lixiviados del relleno sanitario Portillo Grande, realizados por la consultora Cinyde SAC, en Junio del 2007.

Los Valores históricos de los análisis físicos-químicos realizados al lixiviado del relleno sanitario Portillo Grande, se presentan a continuación, en la Tabla 2.21.

Tabla 2.21: Caracterización de lixiviados en el relleno sanitario Portillo Grande.

Parametro	Unidad de medida	AÑO						
		2001	2003	2004	2005	2006	2007	
pH		8.50	8.34	8.13	8.34	8.15	8.3	
Temperatura	°C	25.00	24.00	25.00	26.00	16.10	24	
Aceites y Grasas	mg/l	4.00	50.00	0.60	< 5	23.90	5.8	
SST	mg/l	650.00	4.00	340.00	215.70	650.00	1163	
DBO5	mg/l	1,860.00	4,625.00	1,338.00	1,166.70	12,300.00	14320	
DQO	mg/l	3,945.00	6,940.00	14,866.70	7,416.40	18,921.60	21896.4	
Coliformes Totales	UFC/100ml	12,000.00	40,000.00	7,500.00	8x10*	50x100*	90x 10 <sup>3</sup>	
Metales pesados	Cd	mg/l	0.02	0.03	0.00	0.05	< 0,003	< 0,003
	Cr	mg/l	0.72	1.66	0.77	1.60	0.97	0.82
	Pb	mg/l	0.01	0.01	0.01	0.50	< 0,025	< 0,025
	Ni	mg/l	0.30	0.00	0.00	0.68	0.58	0.44
	Zn	mg/l	0.44	1.70	0.76	0.54	0.41	0.298
	Hg	mg/l	0.08	0.00	0.00	< 0,0003	< 0,0003	< 0,0003
No metales	N	mg/l	11.90	194.88	279.16	3,787.00	< 0,06	3526
	P	mg/l	8.36	30.41	3.97	27.57	26.62	2.0

Obs.: a partir del año 2005, se cambio la unidad de medida de UFC a NMP.

## **II.7.- GRANULACIÓN DEL LODO ANAEROBIO**

### **II.7.1.- INTRODUCCIÓN**

La formación de lodos granulares anaerobios, puede considerarse como la razón principal para una introducción exitosa al concepto del reactor anaerobio de flujo ascendente con manto de lodo (UASB = Upflow Anaerobic Sludge Bed), para el tratamiento anaerobio de efluentes industriales. Este proceso de granulación, permite que las tasas de carga en los reactores UASB, sean mucho más altas que las comunes cargas aplicadas hasta la fecha, en los procesos convencionales de lodo activo; lo que resulta en la reducción en el tamaño del reactor, y área requerida para el tratamiento, conduciendo a menores costos de inversión, además de la reducción de los costos operativos debido a la falta de aireación.

Dos factores principales que hicieron posible estas altas tasas de carga, son:

- a) Las características superiores de sedimentación del lodo granular. Velocidades de sedimentación aproximadas de 60 m/h son comunes en el lodo granular, mientras que las velocidades superficiales ascensionales en reactores UASB, suelen mantenerse por debajo de los 2 m/h, en la práctica. Esto permite una extrema separación entre el tiempo de retención hidráulica, respecto al tiempo de retención de sólidos (o edad de lodos). Tiempos de retención de sólidos de más de 200 días, se pueden lograr con tiempos de retención hidráulica de sólo 6 horas.
- b) La elevada actividad metanogénica específica del lodo granular. Esto puede ser demostrado, ya que con rangos altos de carga volumétrica, por encima de los 50 kg DQO/(m<sup>3</sup>.d), se puede acomodar bien bajo condiciones mesofílicas, con actividades metanogénicas específicas de más de 2kg DQO/(kg SSV.d). Estudios sobre micro-morfología de los gránulos, demostraron que las colonias de bacterias acetogénicas están estrechamente vinculadas con micro-colonias de archaeas

metanogénicas hidrogenotróficas, permitiendo una eficiente transferencia de hidrógeno entre especies, y como resultado, altas tasas de degradación.

Los Gránulos ya habían sido observado en filtros anaerobios por Young y McCarty, y, con los clarigestores de Dorr'Oliver en Sudáfrica en 1979. (Lettinga, comunicación personal). Los claridigestores, son clarificadores que transformaron la parte interior de los digestores anaerobios, los cuales se utilizaron para el tratamiento de efluentes agro-industriales, operados en modo de flujo ascendente. Sin embargo se prestó una poca atención a este tipo de lodo.

En Holanda, el lodo granular fue descubierto en 1976, en una planta piloto de 6m<sup>3</sup> de la fábrica de azúcar CSM, en Breda. Debido a este lodo, los resultados obtenidos en la planta piloto fueron superiores a los resultados de los estudios previos en el laboratorio de la Universidad de Wageningen. En el informe del estudio de la planta piloto, la importancia de la granulación fue muy apreciada, pero también se mencionó el poco entendimiento del proceso de granulación que existía en ese momento, y, a partir de allí, fue de gran necesidad el estudio más a fondo sobre este tema.

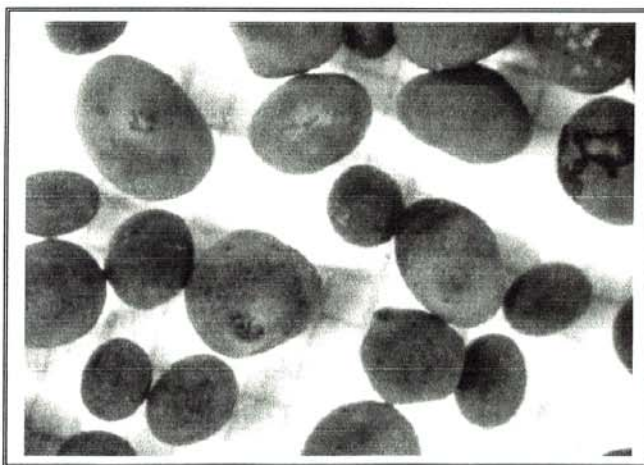


Figura 2.25: Gránulos anaerobios de un reactor UASB de la Papierfabriek Roemond.

Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres))

Hoy, luego de más de 25 años, numerosos investigadores de todo el mundo han estudiado el proceso de la granulación. Sin embargo, todavía no existe un consenso acerca de la determinación del mecanismo de activación de la granulación. Aquí realizaremos una revisión general, de las diferentes teorías de granulación y de los factores que la promueven.

Un organismo clave en la granulación anaerobia de lodos es la *Methanosaeta concilii*. La mayoría de los estudios citados usan como sinónimo *Methanothrix soehngenii*. Sin embargo este nombre más tarde fue considerado ilegítimo, ya que el organismo aislado no fue puro. En esta revisión, los nombres mencionados en los estudios no se han modificado, lo cual significa que, mayormente, se ha utilizado el nombre de *Methanothrix soehngenii*.

#### **II.7.2.- TEORÍAS SOBRE LA GRANULACIÓN**

Las teorías examinadas sobre la granulación anaerobia de lodos (de acuerdo al artículo fuente del que se extrajo: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, "Anaerobic sludge granulation", [www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres)), están organizadas en tres grupos:

- Enfoque Físico,
- Enfoque Microbiológico, y
- Enfoque Termodinámico,

Estos son considerados como el principal factor responsable para la formación del gránulo (Tabla 2.22). Sin embargo, esta división no esta completamente ajustada, ya que algunas teorías tienen características que podrían encajar también en otra clasificación.

Tabla 2.22: Revisión de las diferentes teorías sobre la granulación del lodo anaerobio.

Enfoque	Referencias	Nombre de la teoría	
Físico	Hulshoff Pol et al.	Selección de la presión	
	Pereboom	Crecimiento de los sólidos suspendidos colonizados	
Microbiológico	Fisiológico	Dolfing	—
		Sam-Soon et al.	Hipótesis de Ciudad del Cabo
	Crecimiento	Wiegant	Teoría del Spaghetti
		Chen and Lun	—
	Ecológico	Dubourgier et al.	Puenteamiento de microflocs
		Morgan et al.	Cúmulos de metanotrix
		De Zeeuw (1980)	Tres tipos de gránulos degradantes de AGV
		McLeod et al.	—
		Vanderhaegen et al.	—
		Ahn	—
Wu et al. (1996)	Granulación anaerobia con especies definidas		
Termodinámico	Zhu et al. (1997)	Formación del núcleo cristalizado	
	Thaveesri et al.	Modelo de la tensión superficial	
	Schmidt and Ahring	—	
	Tay et al.	Translocación – deshidratación protónica	

Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres))

### II.7.2.1.- Teorías Físicas

En este enfoque de granulación, el fenómeno es explicado en términos de las condiciones físicas imperantes en el reactor. Velocidades ascendentes del líquido y el gas, los sólidos suspendidos en el efluente

o en lodo de inóculo, y, el desgaste y la remoción del exceso de lodo del reactor, son considerados como los factores responsables para la granulación.

#### **II.7.2.1.1.- Teoría de la selección de la presión (1983)**

En esta teoría, la esencia del proceso de granulación en un reactor UASB, es la creencia que la selección continua de las partículas del lodo, se produce en el reactor. La selección de presión puede considerarse como la suma de la tasa de carga hidráulica, y la tasa de carga de gas (dependiendo de la tasa de carga de lodo). Ambos factores son importantes en la selección de los componentes del lodo, con diferentes características de sedimentación.

Bajo condiciones de alta selección de presión, el lodo ligero y disperso será lavado hacia el exterior, mientras que los componentes mas pesados pueden ser retenidos en el reactor. Por los tanto, el crecimiento del lodo fino disperso se minimiza, y el crecimiento bacteriano es delegado a un número limitado de núcleos de crecimiento, que puede consistir en materiales de transporte inertes, orgánicos e inorgánicos, o pequeños agregados de bacterias, presentes en los lodos de inóculo.

Estos núcleos de crecimiento aumentan de tamaño, hasta un cierto valor máximo, luego del cual el gránulo separara en partes, produciendo una nueva generación de núcleos de crecimiento, y así sucesivamente. La primera generación se compone relativamente de agregados voluminosos, pero gradualmente se vuelven más densos, debido al crecimiento bacteriano al interior y exterior de los agregados. Además, el crecimiento bacteriano es estimulado en los agregados más voluminosos, ya que el sustrato puede penetrar más profundamente en los agregados, debido a una menor limitación en la difusión, y, a la menor actividad bacteriana volumétrica dentro de los agregados, en comparación con los agregados densos. Los gránulos filamentosos, que existen en las



etapas iniciales del proceso de granulación, pueden adensarse, debido al proceso de envejecimiento.

En condiciones de baja selección de presión, el crecimiento tendrá lugar principalmente como una biomasa dispersa, lo cual incrementará la formación de un tipo de bulking (abultamiento) del lodo. En los reactores anaerobios, el organismo predominante es el *Methanothrix*, que puede formar filamentos muy largos (200 -- 300  $\mu\text{m}$ ). Cuando estos organismos crecen, sin adherirse a una partícula sólida de soporte, se obtiene una estructura de filamentos poco entrelazados, con características muy pobres de sedimentación. Sin embargo, a través del atrapamiento de burbujas de gas a estas estructuras de filamentos, flojamente entrelazados entre sí, el lodo tiende a flotar.

#### **II.7.2.1.2.- Crecimiento de los sólidos suspendidos colonizados (1994)**

Pereboom, plantea que los gránulos se originan de los finos formados por el desgaste, y de la colonización de los sólidos en suspensión del afluente (Fig. 2.26). Además, según este autor, el incremento del tamaño del granulo es debido sólo al crecimiento, y, por tanto, las capas concéntricas observadas en laminas de gránulos, están relacionadas a pequeñas fluctuaciones en las condiciones de crecimiento.

Pereboom (1994), reportó que el proceso más importante que limita el tamaño máximo del gránulo en condiciones normales de operación es la descarga regular de la biomasa excedente.

La turbulencia del reactor y la producción interna de gas parecen no tener influencia sobre la distribución del tamaño. Estas fuerzas de corte, no son responsables por la ruptura o desintegración de los gránulos, y solo causan desgaste de pequeñas partículas de estos.

No se espera que esto último, sea importante para la eliminación de grandes gránulos.

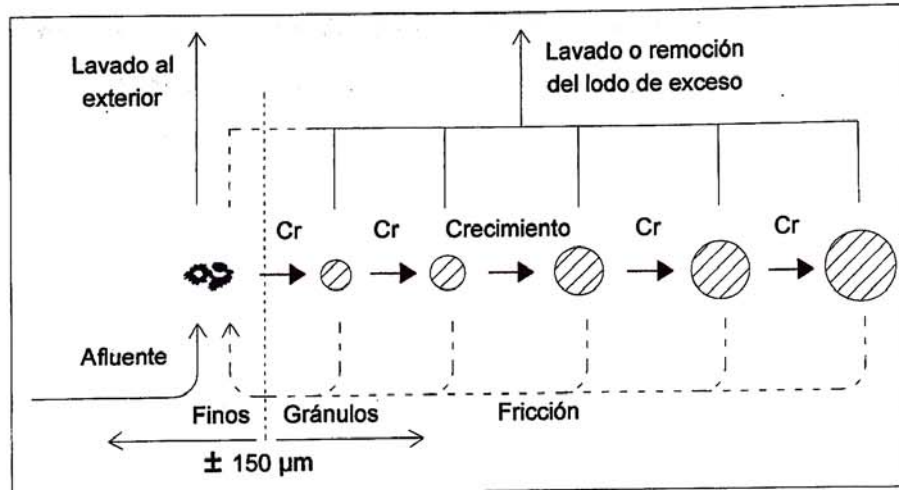


Figura 2.26: Modelo de distribución de tamaño para gránulos metanogénicos.

Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres))

Según el mismo autor, la distribución del tamaño del granulo en los reactores UASB, parece ser el resultado del crecimiento de pequeñas partículas (siendo lavadas dentro del reactor, o desarrolladas en el mismo reactor por rozamiento) contenidas en gránulos más grandes, y la remoción de cantidades representativas de todos los tamaños de gránulos por la descarga de lodos (Fig. 2.26). Por otra parte, las aguas residuales con una alta concentración de sólidos suspendidos, da por resultado una menor distribución de tamaños, mientras que las aguas residuales sin, o, con pocos sólidos en suspensión en el afluente, conduce a una amplia distribución de tamaños.

### II.7.2.2.- Teorías Microbianas

Las teorías agrupadas en esta sección, explican que la granulación del lodo se basa principalmente en las características de ciertos microorganismos. En este enfoque, los factores físicos presentados

anteriormente, son a menudo también integrados. La observación de características granulares, es decir, la estructura del gránulo y su correspondiente microbiología, junto a las condiciones que prevalecen en el reactor (hidrodinámica, perfiles de concentración de sustrato y productos intermedios a lo largo del reactor, etc.), son la base de las teorías presentadas.

#### **II.7.2.2.1.- Enfoque Fisiológico**

La producción de polímeros extracelulares de algunos microorganismos, en determinadas condiciones, está considerada por varios autores, después de Dolfing (1987), como el factor responsable del fenómeno de granulación anaerobia.

##### **A.- Hipótesis de Ciudad del Cabo (1987)**

De acuerdo con Sam Soon et. al. (1987), la granulación depende del *Methanobacterium* clase AZ, un organismo que utiliza  $H_2$  como su única fuente de energía, y puede producir todos sus aminoácidos, excepto la cisteína. Cuando este microorganismo se encuentra en un ambiente de alta presión parcial de  $H_2$ , es decir, un exceso de sustrato, el crecimiento celular y la producción de aminoácidos serán estimulados. Sin embargo, como el *Methanobacterium* clase AZ no puede producir el aminoácido esencial cisteína, la síntesis celular se verá limitada por la tasa de suministro de cisteína. Adicionalmente, si se dispone de amonio, habrá una alta de producción de los otros aminoácidos, que el *Methanobacterium* clase AZ segrega como polipéptido extracelular, uniendo al *Methanobacterium* clase AZ y otras bacterias para formar gránulos. Sin embargo, los autores admiten la posibilidad que otras bacterias anaerobias pueden tener características similares al *Methanobacterium* clase AZ y, por tanto, contribuir también a la formación del gránulo.

Esta hipótesis fue propuesta siguiendo el análisis en función de la altura de un reactor UASB, tratando un substrato compuesto principalmente de azúcares, con un insignificante contenido en nitrógeno, y, con los nutrientes adecuados y trazas de elementos para el crecimiento.

Observaciones que apoyaron esta hipótesis, fueron:

- que la producción de neta de lodos por unidad de masa de DQO, fue excepcionalmente alta en la zona de alta presión parcial de  $H_2$ , mucho más alto que el rendimiento normalmente esperado en sistemas anaerobios, y,
- que el crecimiento de la masa de lodos se limitó a la zona de alta presión parcial de  $H_2$ .

Por otro lado, la generación de nitrógeno orgánico soluble, en la zona de alta presión parcial de  $H_2$ , junto con la disminución de amonio (Fig. 2.27), no podría atribuirse al crecimiento o muerte celular. De hecho, la disminución de amonio fue mucho más que el rendimiento máximo de crecimiento experimental, lo cual significa que sólo una parte del amonio podría haber sido utilizado para la síntesis del protoplasma. De otro lado, si la generación de nitrógeno orgánico hubiera sido el resultado de la muerte de organismos, la tasa de mortalidad debería haber superado ampliamente la tasa de crecimiento celular. Esto significa que la muerte de los microorganismos, no puede explicar la observación referente a la generación de nitrógeno orgánico en esta zona de baja actividad. Por consiguiente, una explicación aceptable para el comportamiento de este nitrógeno, es que la generación de nitrógeno orgánico se debió a la secreción de aminoácidos del *Methanobacterium* clase AZ, dentro de una alta presión parcial de  $H_2$ , en un medio con déficit de cisteína y con un adecuado suministro de  $NH_4^+$ -N.

Según esta hipótesis, las condiciones que favorecen la granulación, son las siguientes:

- Un medio ambiente con una elevada presión parcial de H<sub>2</sub>;
- Flujo pistón o semi-pistón en el reactor (con el fin de lograr la separación de las fases), con un pH casi neutro;
- No limitar la fuente de nitrógeno, en forma de amonio;
- Una cantidad limitada de cisteína.

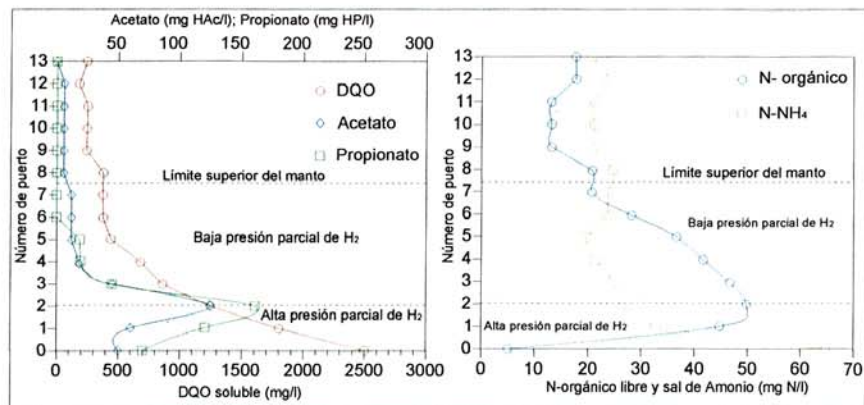


Figura 2.27: Perfiles de concentración observados en un UASB. Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres))

Debido a esto, es muy probable que la granulación se produzca durante la conversión de sustratos de hidratos de carbono, dentro de un sistema a flujo pistón. El H<sub>2</sub> es liberado durante la conversión de los carbohidratos a ácidos grasos volátiles (AGV). En virtud de las altas condiciones de carga, la tasa de absorción del H<sub>2</sub> utilizado por los organismos, es menor que la tasa de producción de H<sub>2</sub>, y, la región de alta presión parcial de H<sub>2</sub> se desarrolla. Esta zona de alta presión parcial de H<sub>2</sub>, puede ser mantenida en un sistema de flujo pistón, proporcionando así las condiciones para la desarrollo del Methanobacterium clase AZ.

Según la "Hipótesis de Ciudad del Cabo", las situaciones en las cuales es poco probable que ocurra la granulación, son las siguientes:

- Sistemas en los que el sustrato no rinda  $H_2$  en el proceso de fermentación (por ejemplo, acetato), o que sólo puede ser degradado en condiciones de baja presión parcial de  $H_2$  (por ejemplo: propionato y lípidos);
- Sistemas completamente mixtos, debido a la "dilución" de la presión parcial elevada de  $H_2$ .

Sin embargo, la granulación se ha observado en reactores UASB tratando acetato (Chen et. al., 1993; Ahring BK, et. al., 1993; Morvai et. al., 1992), indicando que la teoría no se sostiene. Además, el comportamiento hidrodinámico en los reactores UASB, usualmente se enfoca en un régimen completamente mixto, lo que significa que no habrá una pendiente en el perfil de hidrógeno, a lo largo de la altura del reactor.

Moosbrugger et al. (1990), reportó también que con sustratos que contienen proteínas (caseína), la granulación en un reactor UASB fue fácil de lograr y que el comportamiento del sistema, fue muy similar al sistema de tratamiento de sustratos de hidratos de carbono.

#### **II.7.2.2.2.- Crecimiento del núcleo microbiano**

##### **A.- La “Teoría del Spaghetti” (1987)**

Wiegant (1987) propuso la “Teoría del Spaghetti” en la granulación de lodos en reactores UASB, tratando aguas residuales acidificadas, soluciones de acetato, o, mezclas de AGV con predominio de la bacteria *Methanothrix*. Aunque hay reactores con predominio de la especie *Methanosarcina*, que pueden realizar una granulación espontánea; este tipo de gránulos tiene menos importancia práctica en los reactores UASB, ya que presentan problemas operacionales (Wiegant, 1987). Por lo tanto, cuando la concentración relativa de bacterias *Methanothrix* no es suficientemente alta, una gran selección hacia estas bacterias es impuesta. Esto puede ser hecho, usando bajas concentraciones de acetato durante la fase de arranque (puesta en marcha); como el *Methanothrix* tiene una mayor afinidad por el sustrato de acetato, comparado con la *Methanosarcina* (De Zeeuw, 1984).

Wiegant (1987), divide la formación del gránulo en dos fases:

1. formación de precursores,
2. crecimiento actual de los gránulos de estos precursores.

El primer paso es considerado la parte más crucial de la formación del gránulo. Inicialmente, las bacterias *Methanothrix* forman muy pequeños agregados, debido a la turbulencia generada por la producción de gas, o se atribuye a la materia finamente dispersa. La concentración de sólidos suspendidos no deben ser muy alta, de lo contrario, el aumento de tamaño de la agregados será demasiado lento. La selección de los agregados es realizada por la imposición de un aumento de la velocidad ascendente.

Una vez que los precursores están formados, y una rutina adecuada en la fase de arranque es realizada, la granulación es inevitable. El crecimiento de bacterias individuales y el entrapamiento de las bacterias no adheridas, conducen al crecimiento de partículas precursoras para la formación de gránulos, las cuales, debido a las fuerzas de corte hidráulicas producidas por la corriente ascendente del biogás, adquieren una forma esférica. Los gránulos en esta fase, aún presentan una apariencia filamentosa, como una bola de espagueti, formada por filamentos muy largos de *Methanothrix*, de los cuales, una parte están sueltos y otra parte amontonada. Con el tiempo, se forman gránulos tipo alargados a partir de estos gránulos filamentosos, con un tiempo de retención de biomasa alto, debido al aumento en la densidad del crecimiento bacteriano.

Al igual que Wiegant (1987), Chen y Lun (1993) formularon una hipótesis para la granulación anaerobia del lodo en un UASB, alimentado con alcohol fermentado, dividido en dos etapas:

1. formación de núcleos,
2. crecimiento del núcleo dentro del gránulo.

Ambos, *Methanothrix* y *Methanosarcina*, son considerados como los organismos responsables para la formación del núcleo. El primero, debido a su buena capacidad de adherencia, y este último, por su capacidad de crecimiento en macizos por la excreción de polímeros extracelulares (ECP), en los que el *Methanothrix* puede adherir.

A pesar de la turbulencia generada por la producción de gas, no se considera tanto, por no cumplir un rol importante como en la "Teoría del Spaghetti"; además la "selección de la



presión" y la concentración de ácido acético, son las fuerzas impulsoras para la formación de núcleo.

Durante la segunda etapa, en la que el núcleo se desarrolla dentro de un gránulo, diversas bacterias con las cuales las metanogénicas deben crecer en forma sintrófica, juegan un rol muy importante, especialmente con los substratos complejos. En gránulos maduros, los metanogénicos no predominan en la superficie pero, en cambio, se mezclan con una variedad de otras bacterias (Chen y Lun, 1993).

#### **II.7.2.2.3.- Enfoque Ecológico**

##### **A.- Formación de puentes de microflocs por filamentos de Methanothrix (1987)**

Del examen microscópico y mediciones, Dubourgier et al. (1987), sugieren que el mecanismo de granulación se inicia por la cobertura de los filamentosos de Methanothrix, con colonias de cocos o bacilos (bacterias acidogénicas), formando microflocs de 10-50  $\mu\text{m}$ .

A continuación, los filamentos de Methanothrix, debido a su morfología particular y propiedades superficiales, podría establecer puentes entre varios microflocs formando grandes gránulos (>200  $\mu\text{m}$ ). El posterior desarrollo de bacterias acidogénicas sintróficas, favorece el crecimiento de los gránulos. Por consiguiente, estos autores apoyan la idea de que el Methanothrix desempeña un papel importante en la firmeza de un gránulo, por la formación de una red que estabiliza la estructura general, pero también destacan el rol de los polímeros extracelulares y las paredes celulares.

### **B.- Cúmulos de Methanothrix rodeados por polímeros extracelulares (ECP) (1991)**

Morgan et al. (1991), sugirieron un posible mecanismo envuelto en el crecimiento de gránulos anaerobios, basado en la examinación de gránulos tratando efluentes de una industria papelera, y efluentes de una refinería de azúcar. En su opinión, los gránulos se desarrollan a partir de un precursor, que se compone de un pequeño agregado de Methanothrix y otras bacterias.

El crecimiento de los filamentos de Methanothrix forma abultamientos característicos, separados por una matriz envolvente, en la cual otras bacterias metanogénicas y no-metanogénicas son embebidas.

Como los cúmulos aumentan de tamaño, la matriz envolvente es conducida hacia el centro del gránulo, la que consiste exclusivamente de filamentos compactos de Methanothrix y en donde los cúmulos discretos no se distinguen. Así, estos autores respaldan las sugerencias anteriores sobre la importancia del Methanothrix, y los polímeros bacterianos en el crecimiento de los gránulos.

### **C.- Tres tipos de gránulos degradantes de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) (1980)**

En esta teoría de granulación, dos géneros bacterianos, están propuestos como de suma importancia en la formación del gránulo: el Methanothrix y la Methanosarcina. De la investigación desarrollada en 1980, DE ZEEUW explica la formación de los distintos tipos de gránulos desarrollados en laboratorio, en un experimento de puesta en marcha de un reactor UASB, con lodo digerido como material de inóculo y ácidos grasos volátiles (AGV) como substrato.

Las características de los gránulos formados fueron las siguientes:

- a) Gránulos esféricos y compactos, principalmente compuestos de bacterias alargadas, parecidas al *Methanothrix soehngenii*, en cadenas cortas o células individuales (gránulos alargados) (Fig. 2.28-a).
- b) Gránulos más o menos esféricos, que consisten principalmente de bacterias filamentosas débilmente entrelazadas, adheridas a partículas inertes (gránulos filamentosos) (Fig. 2.28-b). La bacteria prevaeciente se asemejaba al *Methanothrix soehngenii*.
- c) Gránulos compactos y esféricos, compuestos predominantemente de bacterias tipo *Methanosarcina* (Fig. 2.29).

El desarrollo de cada tipo de lodo granular, fue explicado, sobre la base de la selección del lodo de inóculo, la erosión y expansión de la cama de lodos, y, las consiguientes diferencias en la selección de la presión, y, el tiempo medio de residencia del lodo. Los gránulos de *Methanosarcina*, se desarrollan debido a la capacidad de estos géneros para producir macizos de bacterias, independientemente de la selección de la presión.

Los macizos pueden alcanzar dimensiones macroscópicas y mostrar cavidades, que pueden ser habitadas por otras especies (Bochem et. al., 1982).

Sin embargo, este tipo de gránulos solo se encontró en experimentos, en los que la concentración de acetato, como único substrato, se mantuvo por encima de 1 kg COD/m<sup>3</sup>, lo que significa que la *Methanosarcina* podría quedar fuera de competencia por el *Methanothrix* (De Zeeuw, 1984).



a) Vista de filamentos largos, con su respectiva ampliación.

b) Vista de cadenas cortas, con su respectiva ampliación.

Figura 2.28: Microscopía de Barrido Electrónico (SEM) de células crecientes de *Methanothrix*. (Hulshoff Pol LW. The phenomenon of granulation of anaerobic sludge. Ph. D. Thesis, Agricultural University Wageningen, The Netherlands, 1989).  
Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres))

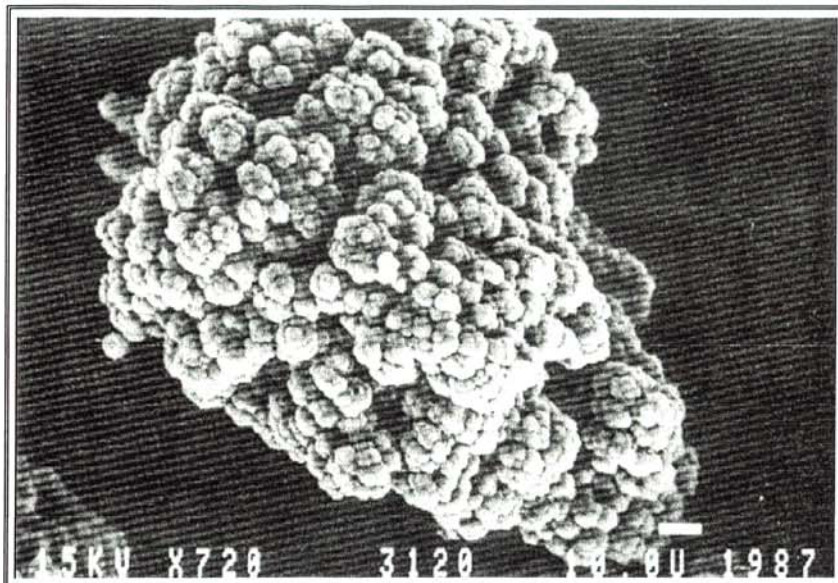


Figura 2.29: Agregado de *Methanosarcina*, presente en el fondo de un reactor UASB. (Hulshoff Pol LW. The phenomenon of granulation of anaerobic sludge. Ph. D. Thesis, Agricultural University Wageningen, The Netherlands, 1989).  
Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres))

En rangos de baja carga (baja selección de presión) aplicado durante la fase inicial, de la puesta en marcha de un reactor UASB, los filamentos de *Methanothrix* crecerán dentro y sobre los pequeños flocs, presentes en el lodo de inóculo, conllevando a la formación de un bulking del lodo anaerobio.

Cuando una alta selección de presión es aplicada, el *Methanothrix*, que tiene una alta afinidad para adherirse a toda clase de superficies (Van den Berg et al., 1981), se adhiere para arrastrar materiales provenientes del lodo de inóculo, o de las aguas residuales, formando de esta manera gránulos filamentosos (del tipo del ítem b).

Los gránulos mas compactos de *Methanothrix* (gránulos alargados, (del tipo del ítem a), se pensaba que estaban formado por la colonización de las cavidades centrales de los cúmulos de *Methanosarcina* por la bacteria *Methanothrix*, la cual tiene una mayor afinidad al acetato, eventualmente conduciendo a la pérdida de la capa exterior de *Methanothrix*.

Otra explicación para este tipo de gránulos alargados, puede ser el relleno de los gránulos filamentosos con más bacterias, conllevando a un granulo más compacto de *Methanothrix*.

El desarrollo de gránulos de los tipos descritos en los ítems "a)" y "b)", está relacionado con el tiempo medio de retención de biomasa, que tienen lugar en el proceso de la puesta en marcha. Cuando el tiempo medio de retención de biomasa es demasiado corto, los gránulos bacteriales compactos compuesto casi exclusivamente de materia bacterial, no tienen la oportunidad de ser formados. Esto significa que los grandes conglomerados de bacterias, sólo pueden ser formados por adherencia a partículas inertes de soporte, que son lo

suficientemente pesadas como para ser retenidas más tiempo en el reactor (del tipo del ítem b). Sólo en el caso que el tiempo medio de retención de biomasa sea lo suficientemente grande, los gránulos compactos de bacterias pueden ser formados (del tipo del ítem a).

**D.- Gránulos de capas múltiples con agregados de Methanothrix, como centros de formación de núcleo (1990)**

McLeod et al. (1990), trabajando con un reactor híbrido filtro-UASB, sugirió una hipótesis en la que los agregados de Methanothrix, funcionan como centros formadores de núcleo, dando inicio al desarrollo de gránulos (Fig. 2.30) degradantes de sacarosa. Los productores de acetato, incluyendo los acetogénicos productores de H<sub>2</sub>, podrían entonces unirse a este armazón, proporcionando el sustrato para el Methanothrix, y, junto con los organismos que consumen H<sub>2</sub>, formar una segunda capa alrededor del núcleo de Methanothrix.

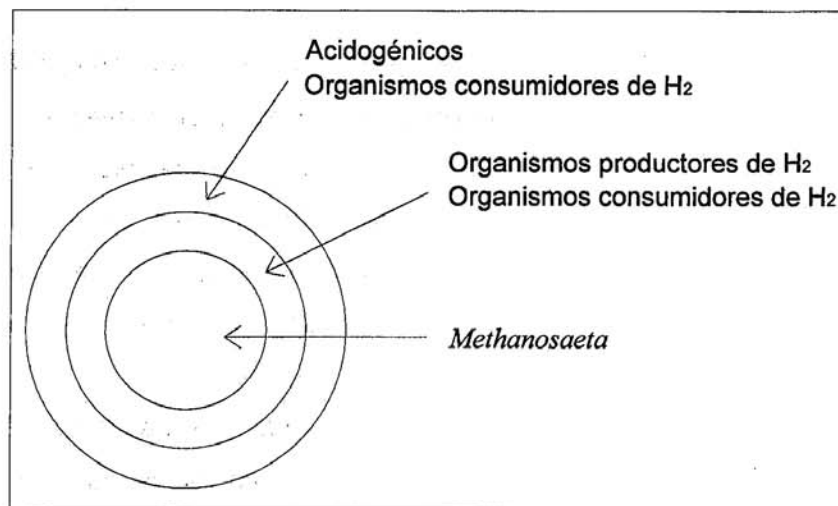


Figura 2.30: Perfiles de concentración observados en un UASB. Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres))

Consecutivamente, las bacterias fermentativas se adhieren a este pequeño agregado, formando la capa exterior del gránulo,

donde están en contacto con sus sustratos, presentes en la mayor parte de la solución. Los productos de las bacterias fermentativas, podrían entonces servir como sustratos para la subyacente acetogénesis. Además, el hecho de que también organismos similares a los metanogénicos fueran encontrados en la capa exterior, conduce a la idea de que estos organismos consumidores de  $H_2$  podrían consumir cualquier  $H_2$  libre, evitando su difusión en la segunda capa, donde otros organismos consumidores de  $H_2$ , podrían quedar disponibles para remover el  $H_2$  remanente producido por los acetogénicos. Así, la disposición espacial de los diferentes grupos tróficos, garantiza un alto nivel de actividad acetogénica.


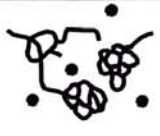
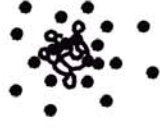
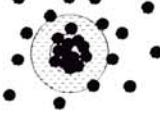

Fang (2000), también establece que los gránulos no se desarrollan por la adición aleatoria de las bacterias suspendidas, pero estas buscan posiciones estratégicas para el abastecimiento de sustratos y para la remoción de productos, como la microestructura de capas de ciertos gránulos.

Una vez que un núcleo está formado, las bacterias comienzan a proliferar, llevando a un crecimiento en el tamaño del gránulo, que sólo se detiene, cuando el área interfacial entre las bacterias y el licor mezclado, se reduce a un nivel crítico en relación con la hidrólisis o fermentación inicial, que tiene lugar en la superficie del gránulo.

Vanderhaegen et al. (1992), a pesar que apoya la estructura del gránulo por capas múltiples propuesta por McLeod et al. (1990), plantea que la acidogénesis fermentativa del azúcar, forma suficiente biomasa y polímeros para actuar como centros formadores de núcleos, en los que el resto de las asociaciones metanogénicas pueden desarrollarse.

Ahn (2000), propuso un modelo de granulación similar al presentado en la Tabla 2.23.

Tabla 2.23: Modelo propuesto por Ahn's (2000) para la granulación del lodo anaerobio.

Apariencia	Etapas	Diámetro	Aproximación de la condición de $P_{H_2}$ (log $P_{H_2}$ , atm)
	(A) Crecimiento de filamentosos (acetoclásticos) metanogénicos y otros microorganismos en condiciones de baja presión parcial de hidrogeno.	Filamento	Nivel Bajo ( $\approx -6$ )
	(B) Formación de puentes y efectos de rodadura en el crecimiento de los metanogénicos filamentosos.	< 100 $\mu$ m	↓
	(C) Crecimiento de pequeños conglomerados como un núcleo suelto, acetogénicos sintróficos amontonados alrededor de la superficie del núcleo.	< 1 mm	
	(D) Crecimiento de pequeños gránulos con un núcleo denso, hidrogenotróficos sintróficos amontonados y acidogénicos alrededor de la superficie de un pequeño granulo.	1-2 mm	
	(E) Crecimiento de un gránulo grande con una estructura de capas múltiples, debido a la acumulación de polímeros extracelulares por los hidrogenotróficos	2-5 mm	Nivel Alto (-2.7 ~ -3.7)

Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres)).

En la etapa inicial de la granulación, los metanogénicos acetoclásticos (filamentosos) y otros organismos, crecen dispersos en el medio. Por efectos de formación de puentes (entre microorganismos) y rodadura, debido al comportamiento hidrodinámico del reactor UASB, pequeños conglomerados sueltos, compuestos principalmente de los metanogénicos filamentosos, son eventualmente formados. Continuando con el proceso, los acetogénicos se adhieren a este conglomerado, en una relación sintrófica con los metanogénicos



acetoclásticos, formando así un pequeño gránulo con un núcleo denso. Entonces los acidogénicos e hidrogenotróficos, en una relación sintrófica con los acetogénicos, se adhieren al pequeño gránulo, y, debido a la excreción de polímeros extracelulares de los organismos hidrogenotróficos, el gránulo es permitido crecer.

### **II.7.2.3.- Teorías Termodinámicas**

Algunos autores han analizado el mecanismo de granulación, en términos de la energía involucrada en la adherencia propiamente dicha, debido a las interacciones físico-químicas, entre paredes celulares, o, entre paredes celulares y superficies extrañas. Aspectos como la hidrofobicidad y la movilidad electroforética son objetivamente tomadas en cuenta. También la influencia de la actividad de traslocación protónica, sobre de la superficie de las membranas bacterianas que causan su energización, se añade a los factores responsables para la granulación.

#### **II.7.2.3.1.- Modelo de 4 pasos para la formación del gránulo y el biofilm (1996)**

Schmidt y Ahring (1996) sugieren que el proceso de granulación en reactores UASB, sigue los bien descritos cuatro pasos de la formación del biofilm (Costerton et. al., 1987; Verrier et. al., 1988):

- 1) Transporte de células a la superficie de un material inerte no colonizado u otras células (sustrato).
- 2) Adsorción reversible inicial por fuerzas fisicoquímicas hacia el sustrato.
- 3) Adhesión irreversible de las células hacia el sustrato por de apéndices microbianos y/o los polímeros.
- 4) Multiplicación de las células y desarrollo de los gránulos.

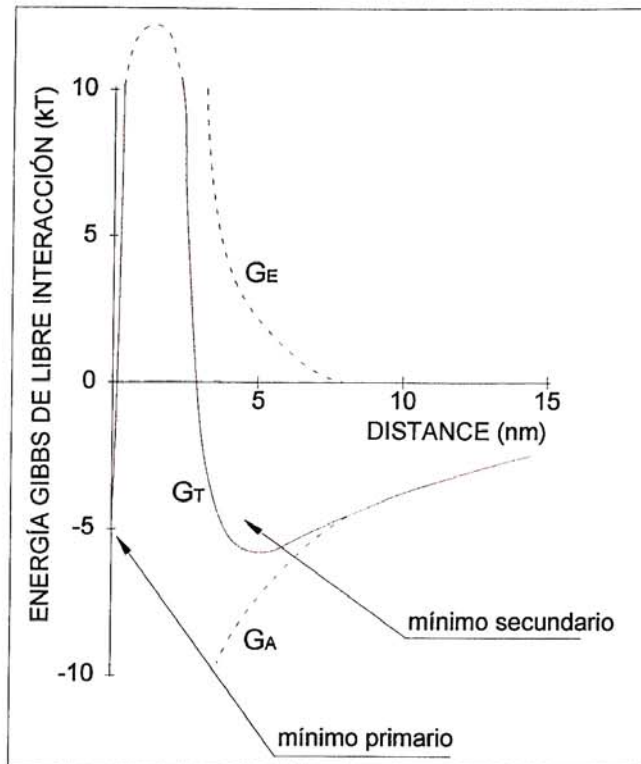


Figura 2.31: Energía Gibbs de Interacción Total. [G<sub>T</sub>, es una sumatoria de G<sub>A</sub> (Energía libre de las Fuerzas Van der Waals) y G<sub>E</sub> (Energía Libre de la Interacción Electrostática) como una función de la distancia entre una bacteria y una superficie de carga negativa (Rouxhet y Mozes, 1990)].  
Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres)).

En un reactor UASB, las células son transportadas por una o, por una combinación de los siguientes mecanismos:

- difusión (movimiento browniano),
- mecanismo advectivo (convectivo), transporte por el flujo de fluidos, la flotación de gas o sedimentación.

El sustrato puede ser otras células o agregados bacterianos presentes en el lodo, o, también materiales orgánicos o inorgánicos, que puedan funcionar como núcleos de crecimiento (Schmidt et al., 1990).

La adsorción inicial, puede ser descrita, en forma aproximada, por la teoría "DLVO", presentada por Derjaguin, Landau, Verwey Overbeek, entre 1940 y 1950, con su acierto en la explicación de la estabilidad coloidal. Esta teoría puede explicar y/o predecir la adhesión microbiana, usando los cálculos de los cambios de la energía libre de adhesión. Usando esta teoría, se asume que las bacterias se comportan como partículas inertes y, que la adhesión bacteriana puede ser entendida con un enfoque físico-químico. La teoría "DLVO", postula que la amplitud total del rango de interacción sobre una distancia mayor a 1nm, es una suma de las interacciones (electrostáticas) de Van Der Waals y de Coulomb. De acuerdo a esta teoría, pueden ocurrir tres situaciones diferentes (ver Fig. 2.31):

- 1) una repulsión, cuando dominan las interacciones electrostáticas,
- 2) una fuerte atracción irreversible, cuando las fuerzas de Van der Waals son dominantes (mínimo primario),
- 3) una débil atracción reversible, cuando las células se encuentran a una cierta distancia una de la otra (mínimo secundario).

La adhesión inicial, toma lugar predominantemente en el mínimo secundario de de la curva de energía libre DLVO. La fuerza de la adsorción, depende de diferentes fuerzas físico-químicas, como iónicas, dipolares, enlaces de hidrógeno, o interacciones hidrofóbicas. El mínimo secundario, no suele alcanzar grandes valores negativos, y, las partículas capturadas en este mínimo, generalmente muestran una adhesión reversible. En este caso, hay una distancia de separación entre la bacteria adherente, y unas finas películas de agua remanentes, presentes entre las superficies interactivas. Sin embargo, si una bacteria puede llegar al mínimo

primario, las fuerzas de interacción de rango corto, se vuelven efectivas y puede ocurrir una adhesión irreversible.

La adhesión irreversible, puede ocurrir debido a características bacteriales específicas, como apéndices, estructuras de la superficie celular, o polímeros (Schmidt et. al., 1996; Van Loosdrecht y Zehnder, 1990). Sin embargo, no está claro si las bacterias primero se adhieren en forma reversible y, a continuación producen ECP (polímeros extra-celulares), o, si estas primero producen ECP y, a continuación, se adhieran irreversiblemente (Schmidt y Ahring, 1996).

Cuando la bacteria está adherida, la colonización ha comenzado. Las células inmovilizadas comienzan a dividirse dentro de la matriz de ECP, de modo que las células son atrapadas dentro de la estructura del biofilm. Esto resulta en la formación de microcolonias de células idénticas. El proceso de granulación depende de la división celular, y del reclutamiento de nuevas bacterias provenientes de la fase líquida. La matriz granular también puede contener atrapadas moléculas extrañas, por ejemplo, precipitados (Costerton et. al., 1990).

La organización de las bacterias en los gránulos puede facilitar la transferencia de sustratos y productos. El arreglo puede depender de la hidrofobicidad local, la presencia local de los polímeros o, de la geometría de las células (Schmidt y Ahring, 1996).

#### **II.7.2.3.2.- Modelo de la tensión superficial (1995)**

Thaveesri et al., (1995), relacionaron la adhesión de las bacterias anaerobias, involucradas en el consorcio anaerobio de reactores UASB, a la superficie termodinámica.

Ellos encontraron que las bacterias, sólo puede obtener la máxima Energía Libre de Adherencia ( $\Delta G_{adh}$ ) posible, cuando la tensión superficial del líquido ( $\gamma_{LV}$ ) está suficientemente alta o baja, como se indica en el Figura 2.32. En la región de alta  $\gamma_{LV}$  (zona B), bacterias de baja energía superficial (baja tensión superficial bacteriana ( $\gamma_{BV}$ ) o bacteria hidrofóbica), pueden adherirse a fin de obtener un mínimo de energía, mientras que en la región de baja  $\gamma_{LV}$  (zona A), bacterias de alta energía superficial (alta  $\gamma_{BV}$  o bacteria hidrofílica) presentan una gran disminución de la energía libre a la agregación y, por tanto, son seleccionados para componer los agregados. Una tercera zona es arbitrariamente definida entre valores de  $\gamma_{LV}$  de 50 y 55 mN/m, y en esta zona, la agregación de las células hidrofóbicas ni hidrofílicas es favorecida (baja  $\Delta G_{adh}$  potencial).

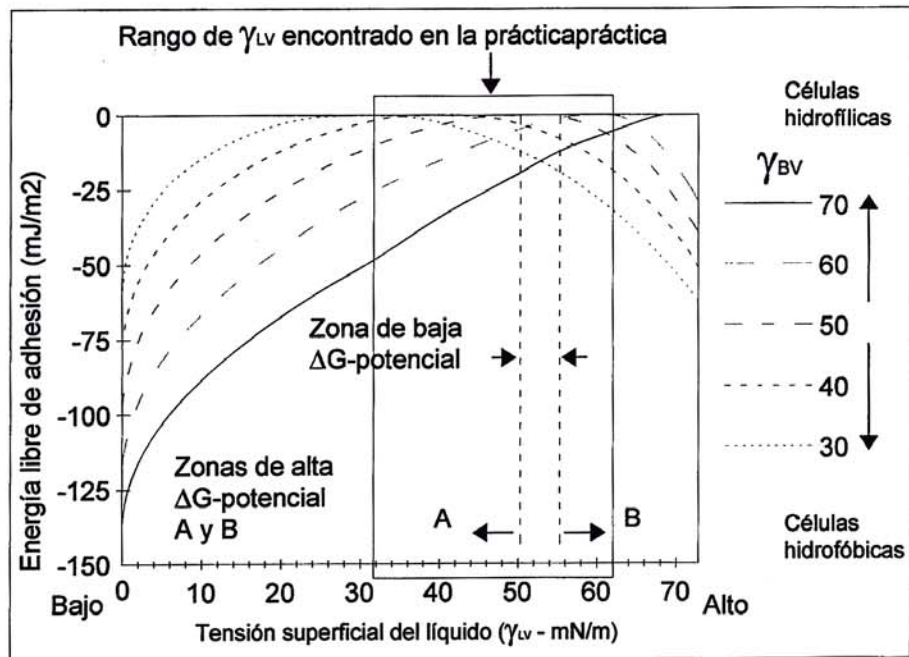


Figura 2.32: Energías libres de adhesión ( $\Delta G_{adh}$ ), para bacterias con diferentes  $\gamma_{BV}$ , evaluadas como una función de  $\gamma_{LV}$  (Thaveesri et. al., 1995).

Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres)).

Daffonchio et al. (1995) utilizaron la técnica del ángulo de contacto, para evaluar la hidrofobicidad de cultivos de células mixtas, de las bacterias involucradas en la digestión anaerobia. Ellos demostraron que la mayoría de las acidogénicas, son hidrofílicas (ángulo de contacto  $< 45^\circ$ ), pero la mayoría de las acetogénicas y metanogénicas, aisladas de lodos granulares, son hidrofóbicas (ángulo de contacto  $> 45^\circ$ ). Por lo tanto, operando un sistema a una alta  $\gamma_{LV}$ , debería favorecer la agregación de (bastantes) bacterias hidrofóbicas, y operando un sistema a una baja  $\gamma_{LV}$ , debería favorecer la agregación de (bastantes) bacterias hidrofílicas (Thaveesri et. al., 1995).

De acuerdo a estos autores, los gránulos formados a una baja  $\gamma_{LV}$ , con acidogénicos como emulsionantes de fase sólida, alrededor de una asociación metanogénica, permite un desempeño más estable del reactor, ya que son menos susceptibles de adhesión a las burbujas de gas, y su consecuente lavado al exterior del reactor. La formación de estos tipos de gránulos se muestra en la Figura 2.33.

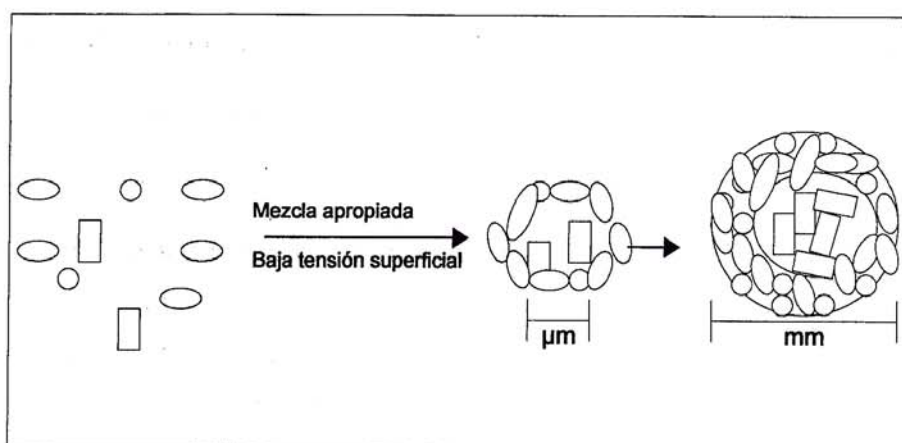


Figura 2.33: Esquema de la formación del gránulo, de acuerdo a Thaveesri et al.

(Thaveesri J, Daffonchio D, Liessens B, Vandermeren P, Verstraete W. Granulation and sludge bed stability in upflow anaerobic sludge bed reactors in relation to surface thermodynamics).

Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres)).

Conglomerados acidogénicos (células redondas), por medio de la formación de polímeros extracelulares (ECP), encierran a algunos metanogénicos (células rectangulares), mientras que las células dispersas son lavadas hacia el exterior, conduciendo a la formación de un gránulo con una capa exterior elástica e hidrofílica, formada por acidogénicos, ricos en ECP, y un núcleo interno de metanogénicos hidrofóbicos (Kalogo y Verstrate, 2001).

#### **II.7.2.3.3.- Teoría de la translocación-deshidratación del protón (2000)**

Tay et al. (2000), propusieron una teoría para el mecanismo (molecular) de granulación del lodo, basada en la actividad de translocación del protón en la superficie de la membrana bacteriana. En esta teoría, el proceso de granulación del lodo se consideró en los siguientes cuatro pasos (Figura 2.34):

- a) deshidratación de la superficie bacteriana,
- b) formación de un gránulo embrionario,
- c) maduración del gránulo,
- d) post maduración.

#### **A.- Deshidratación de las superficies bacterianas**

La interacción hidrófoba entre las superficies bacterianas es considerada como la base para el inicio de la adhesión bacteriana (Mahoney et. al., 1987; Van Loosdrecht et. al., 1987). Sin embargo, con la disminución de las distancias de separación de las superficies entre dos células bacterianas, existe una fuerte repulsión en las interacciones de hidratación entre dos bacterias cuando se aproximan, debido a la energía necesaria para la eliminación del agua adherida fuertemente a la superficie bacteriana. De hecho, bajo condiciones fisiológicas

normales, una superficie bacteriana tiene una alta carga negativa que facilita la unión del hidrógeno con las moléculas de agua, resultando en una red de agua envolvente a la superficie bacteriana (Smith y Wood, 1991), es decir, una capa de hidratación. Sin embargo, la repulsión de hidratación, normalmente no afecta el paso inicial de la etapa de adhesión bacteriana reversible, a una escala significativa.

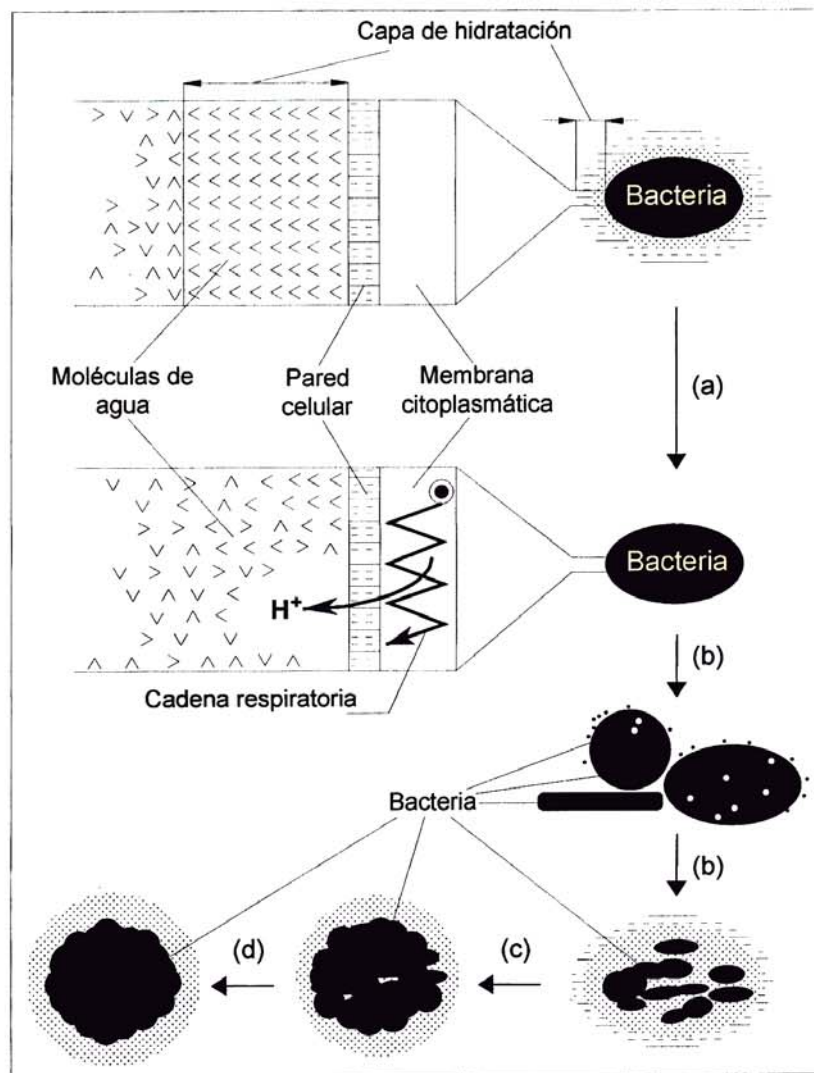


Figura 2.34: Representación esquemática del modelo de translocación-deshidratación del protón para la granulación del lodo: (a) deshidratación de las superficies bacterianas, (b) formación del gránulo embrionario, (c) maduración del gránulo y (d) post maduración (Tay JH, Xu HL, Teo KC., Molecular mechanism of granulation.I:  $H^+$  translocation-dehydration theory. (2000)

Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres)).



Los autores argumentan que la bacteria acidogénica, durante la acidificación de los substratos, lanza protones del lado citoplasmático de la membrana hacia la superficie exterior de la membrana. Esta actividad de translocación del protón, energiza la superficie y puede inducir el rompimiento de los enlaces de hidrógeno entre los grupos negativamente cargados y las moléculas de agua. Debido a esto, ocurre una neutralización parcial de las cargas negativas sobre sus superficies, causando la deshidratación de las superficies celulares.

### **B.- Formación del gránulo embrionario**

Acidogénicos, acetogénicos y metanogénicos, pueden adherirse entre sí, formando gránulos de embriones, como una consecuencia de la fuerza hidráulica ascendente, de esta debilitada repulsión de hidratación, y de la naturaleza hidrofóbica de las células. Además, debido a la transferencia de metabolitos entre las células, una deshidratación adicional de las superficies bacterianas se lleva a cabo, conduciendo a un fortalecimiento de los gránulos iniciales. En esta etapa de desarrollo, el nuevo ambiente fisiológico comienza a inducir la excreción de ECP, a las superficies de los gránulos embrionarios.

### **C.- Maduración del gránulo**

En esta etapa, las colonias bacterianas originales siguen creciendo, mientras que otras bacterias dispersadas, otras bacterias dispersas pueden adherirse a los gránulos embrionarios. La transferencia de productos intermedios, determina la distribución de micro-colonias dentro del gránulo, eventualmente conllevando a unos agregados bacterianos bien estructurados, como gránulos maduros. De otro lado, la multiplicación de las células bacterianas está controlada debido

a la restricción del espacio. Además, el polímero extracelular (ECP) se produce en grandes cantidades, provocando la hidratación de las superficies del gránulo y, protegiéndolo contra las fuerzas de corte y la adhesión a burbujas de gas, con la consiguiente pérdida de biomasa por flotación, como el ECP es altamente hidrofílico y las burbujas de biogás son altamente hidrofóbicas.

#### **D.- Post-maduración**

En la etapa post-maduración, la actividad de translocación del protón, mantiene las superficies bacterianas en un estado relativamente hidrofóbico, y es la principal responsable del mantenimiento de la estructura de los gránulos maduros. Por otro lado, la capa exterior de ECP de un gránulo, causa la hidratación de la superficie del mismo, protegiéndolo de la adhesión a las burbujas de gas y de las fuerzas de corte en el reactor UASB (Liu et. al., 2003).

Los autores sostienen que algunos fenómenos de la granulación del lodo, como la recomendable alimentación con carbohidratos de alta energía durante el período de puesta en marcha de un reactor UASB, el lavado al exterior del lodo granular cuando se cambia la fuente de carbono, la existencia de gránulos uniformes y con capas, y, la influencia del ECP en el proceso de granulación, pueden ser adecuadamente explicados por esta teoría de translocación-deshidratación del protón.

### **II.7.3.- MEJORAMIENTO DE LA GRANULACIÓN POR LOS NÚCLEOS DE CRECIMIENTO**

Uno de los factores que contribuyen al desarrollo de gránulos del lodo suspendido, es la presencia de núcleos o bio-soportes para la adherencia de microorganismos (Imai et al., 1997; Teo et al., 2000). La adherencia de células a estas partículas, se ha propuesto como la iniciación del primer paso para la granulación. Desde que el segundo paso fue la formación de un biofilm denso y espeso en el grupo de los portadores inertes (medios de soporte), este paso podría ser considerado como la formación del biofilm. En otras palabras, una vez que los agregados iniciales están formados, subsecuentemente la granulación podría ser considerada como un simple fenómeno del incremento del espesor del biofilm. Por eso, el proceso de granulación del lodo en los reactores UASB con partículas inertes adicionadas, podría ser interpretado como un fenómeno de formación de biofilm (Yu et al., 1999).

Varios investigadores han estudiado el efecto de partículas inertes en la granulación. Hulshoff Pol (1989), demostró la importancia de las partículas inertes de soporte en el proceso de granulación. Cuando las partículas inertes (40-100  $\mu\text{m}$  de tamaño) fueron removidas del lodo de agua residual inoculado, la granulación no fue observada en el período de tiempo requerido para la granulación de los lodos dispersos, comparado con la no remoción de las partículas inertes de soporte en el lodo de siembra.

La Tabla 2.24, muestra que los materiales inertes pueden acelerar el la granulación del lodo.

Yu et al. (1999), propusieron las siguientes directrices para una cuidadosa elección de materiales inertes a ser usados con el fin de mejorar la granulación del lodo:

- alta superficie específica;
- peso específico similar al del lodo anaerobio;

- buena hidrofobicidad;
- forma esférica.

Lettinga et al., (1980), declararon que la arcilla y otras partículas inorgánicas parecían ser perjudiciales para la formación del lodo granular. También Hickey et al. (1991), no encontraron alguna diferencia en la granulación termofílica con o sin la adición de arena (50-10  $\mu\text{m}$  de tamaño) en lodos digeridos inoculados, a pesar que los gránulos formados incluyeron partículas de arena (Hickey et al., 1991). Esto puede atribuirse a la mayor gravedad específica de algunas partículas inertes, como partículas de arena, en relación a la biomasa. Más biomasa podría acumularse en la parte superior del reactor, mientras que las partículas de arena tienden a acumularse en el fondo. Por lo tanto, la posibilidad de contacto entre las partículas y la biomasa, que es beneficiosa para la adherencia microbiana, podría reducirse de forma significativa, lo que se traduce en un aumento no significativo de la granulación (Imai et al., 1997).

Una alta concentración de materia suspendida, floculante y de mala calidad en el agua residual, es perjudicial para el desarrollo del lodo granular (Lettinga et al., 1980). También Hulshoff Pol et al. (1983), reportaron que en los desechos líquidos con una elevada fracción de sólidos suspendidos finos dispersos, la adhesión de bacterias a las partículas dispersas, puede conducir al lavado hacia el exterior de bacterias viables. Según Hulshoff Pol et al. (1987), una alta concentración de sólidos inertes dispersos es perjudicial para el proceso de granulación, porque en el caso de que el área de la superficie ofrecida, para el crecimiento, es muy grande para las bacterias disponibles, el crecimiento concentrado será limitado. Como la granulación depende en gran medida del crecimiento bacteriano, un crecimiento reducido conduce a una desaceleración del proceso de granulación.

Tabla 2.24: Influencia de la adición de varios materiales inertes en la granulación del lodo.

Material inerte	Lodo de inóculo	Reactor	Tamaño medio (mm)	Substrato	Tiempo de granulación reducido (d)	Tamaño de granulos (mm)	Bacteria predominante	Referencia
Espuma	Floculento	Cama compacta 85 y 200 ml	5.0	Propionato	—	7.8-8.0	Methamothrix	Fukuzaki et al. (1990)
Zeolita	Biofilm fino anaerobio en las partículas de zeolita, crecimiento sobre una mezcla de AGV	MCB 9.41	0.1	AGV	20	1.0-2.0	Methamothrix	Yoda et al. (1989)
		MCB 4.01		Glucosa				
Hidro-antracita		—	0.1	AGV	14	2.0	Methamothrix	Hulshoff Pol (1989)
Polímero absorbente del agua	Lodo digerido anaerobio no granular	UASB 1.31	0.1-0.2	Glucosa	20	1.8-1.9	Methamothrix tipo alargado	Imai et al. (1997)
				AGV	Granulación estimulada*	2.1-2.3	Methamothrix tipo Filamentoso	
		UASB 101			10	—		
Carbón activado granular		UASB 0.751	0.32	Sacarosa	—	0.4	Methamothrix	Morgan et al. (1991)
Carbón activado granular		UASB 7.31	0.4	Glucosa + peptona + extracto de carne	35	2.0-4.0	Methamothrix	Yu et al. (1999)
Carbón activado en polvo			0.2		30	2.0-4.0	Methamothrix	

Fuente: L.W. Hulshoff Pol, S.I. de Castro Lopes, G. Lettinga, P.N.L. Lens, Anaerobic sludge granulation ([www.elsevier.com/locate/watres](http://www.elsevier.com/locate/watres)).

### **II.7.3.1.- Carbón Activado**

Ross (1984), reportó que la presencia del carbón activado usado, mejoró la sedimentabilidad de un lodo usado en el tratamiento de efluentes del procesamiento de maíz. El carbono proporciona un área superficial adicional para la adherencia y crecimiento de las bacterias, lo que aumenta la densidad de la biomasa resultante, con la consiguiente mejora de la sedimentación.

También de acuerdo a Morgan et al. (1991), la adición de suplementos a un inóculo no granular, durante la puesta en marcha de reactores UASB, parece ser beneficiosa. La adición del carbón activado granular (GAC), ofrece dos ventajas:

- protege los nichos ecológicos que mejoran la adherencia biológica y,
- por lo tanto, inicia la formación del gránulo y, posiblemente, la capacidad de adsorción de contaminantes, que pueden ser degradados en estado inmovilizado.

Sin embargo, esta última característica resulta en que sólo puede ser descrita como una fase de retraso. Las partículas de carbón activado incrementan el desarrollo de un biofilm adherido y, como tal, actúan como un núcleo para la formación del gránulo.

Yu et al. (1999), estudiaron los efectos del carbón activado en polvo (PAC) y el carbón activado granular (GAC), en la granulación de un lodo durante la puesta en marcha de un reactor UASB.

Los resultados mostraron que la adición del carbón activado en polvo y el carbón activado granular, claramente mejoran el proceso de granulación, y la aceleración de la puesta en marcha del proceso (fase de arranque del UASB). La granulación del lodo, definida como el momento en que el 10% de los gránulos son más mayores de 2,0 mm,

tomó aproximadamente 95 días para ser alcanzada en el reactor, sin adición de materiales inertes, y fue reducida en 25 y 35 días, en los reactores en los que se usó carbón activado en polvo y carbón activado granular respectivamente. Además, la adición de carbón activado en polvo y carbón activado granular, provocó una mayor concentración de biomasa durante todo el experimento, la temprana observación de gránulos visibles, y, mejoró la capacidad de remoción de la DQO. Además, la adición de carbón activado granular, mostró ligeramente más efectos benéficos para la puesta en marcha de reactores UASB, que el carbón activado en polvo. La granulación, mejorada por la adición de carbón activado en polvo o carbón activado granular, se atribuyó a una mejor adhesión de las bacterias filamentosas en el carbón activado. Sin embargo, en el estudio en mención, las características del carbón activado en polvo y carbón activado granular, no fueron examinadas a detalle. Las diferentes características son probablemente responsables de la menor diferencia entre los reactores con carbón activado de cada tipo añadido.

#### **II.7.3.2.- Polímero absorbente del agua**

Imai et al. (1997), estudiaron los efectos de la adición de partículas de polímeros absorbentes de agua (WAP), en el lodo inoculado. El WAP, es una resina principalmente de componentes acrílicos, y, muestra una compleja estructura de red con una alta superficie específica para la adherencia microbiana. Por otra parte, muestra una baja densidad (densidad húmeda de 1,0 g/ml), lo que significa que el contacto entre las partículas y la biomasa mejora, comparado con la arena y otros materiales. Aunque no influyen en el tamaño promedio del gránulo, la adición del WAP, claramente mejora la granulación en los reactores UASB a escala de laboratorio y a escala piloto, usando la glucosa o AGV como substratos (Tabla 2.24), actuando como un bio-portadores para permitir que una mayor biomasa se adhiera a ellos. Después que los gránulos fueron formados, el WAP fue lentamente descompuesto por la bacteria anaerobia, lo que provocó que los gránulos se dividieran

en varios fragmentos pequeños, que crecen de nuevo hasta formar más gránulos maduros.

Eventualmente, todas las partículas fueron digeridas, y los gránulos formados no contenían más partículas visibles de WAP.

Basados en los experimentos realizados, los autores recomendaron una dosis de WAP de aproximadamente 750 mg/l del volumen del reactor para la mejora de la granulación.



## **II.8.- MEDIOS DE SOPORTE**

Los medios de soporte, son descritos en el marco teórico como un método para el desarrollo de la granulación del lodo anaerobio, siendo su objetivo el de propiciar un medio para la colonización y crecimiento de los diferentes grupos de microorganismos presentes en la digestión anaerobia.

Mozes et al. (1987) estudiaron la inmovilización de *Acetobacter* por adhesión en varios medios de soporte, como plásticos, vidrio, o metales. Las propiedades de la superficie celular se caracterizaron previamente mediante un índice de hidrofobicidad y potencial zeta (movilidad electroforetica). La adhesión la estudiaron utilizando microscopia electrónica de barrido, observando la densidad y homogeneidad de la distribución celular. Las células estudiadas no se adherían a ningún tipo de soporte si este no se había tratado previamente con una solución de sal férrica, para reducir la repulsión electrostática. Aun así, la adhesión tenía lugar cuando el pH se ajustaba a 3.5.

De los métodos de inmovilización, el atrapamiento y la encapsulación, difieren de otros métodos en que las moléculas del biocatalizador se encuentran libres en solución, pero con el movimiento restringido por el enrejado de la estructura de un gel: atrapamiento en geles, o, por una membrana semipermeable (colágeno, nylon, poliéster, silicona, etc.): atrapamiento en membrana. La porosidad de ambos se controla para asegurar que la estructura sea lo suficientemente cerrada o ajustada, para prevenir el escape del biocatalizador y al mismo tiempo permitir el libre movimiento del sustrato y producto.

Entre los métodos de atrapamiento en membrana, podemos distinguir los "reactores de membrana semipermeables", que pueden adoptar distintas geometrías, y "la micro-encapsulación", en la cual la membrana forma pequeñas esferas huecas en cuyo interior quedan encerradas las células.

El atrapamiento en geles puede ser considerado el método más popular para la inmovilización de células microbianas, animales y vegetales. Se mezcla la masa

de células con un polímero, y este se entrelaza, para formar una estructura enrejada que atrapa al biocatalizador. Este método es el más usado y existe un gran número de monómeros acrílicos, utilizados para la formación de copolímeros hidrófilos. El tamaño de poro del gel y sus propiedades mecánicas, están determinados por las cantidades relativas de monómeros y agentes de entrecruzamiento. Por lo tanto, es posible variar estas concentraciones para influir en la estructura de la red.<sup>17</sup>

El atrapamiento en geles, puede llevarse a cabo con geles sintéticos (poliacrilamida, poliuretano, polivinilo) o naturales (agar, azarosa, alginato, carrageno, quitosano, gelatina). Estos últimos son los más utilizados, ya que son los más económicos y no presentan la toxicidad de los sintéticos. La técnica consiste en la incorporación de las células en una red polimérica que se consigue por gelificación térmica (agar, azarosa), ionotrópica (alginato, quitosano) o termo ionotrópica ( carrageno). Estos polímeros son generalmente extraídos de algas marinas, y tienen naturaleza polisacárida. Sin embargo, también presentan algunos inconvenientes; por ejemplo: en los polímeros de gelificación térmica, los microorganismos se ven sometidos aunque sea por tiempos cortos, a altas temperaturas; los de gelificación ionotrópica pueden ser destruidos por agentes quelantes, que secuestran los cationes que conforman la estructura polimérica de la red. La geometría más comúnmente empleada para el atrapamiento en geles son perlas, aunque también puede usarse la disposición en fibras.

## **II.8.1.- INMOVILIZACIÓN DE CÉLULAS EN BIO-PARTÍCULAS**

### **II.8.1.1.- Perlas de Alginato**

El alginato, es una sustancia química purificada obtenida de algas marinas pardas. Estas sales corresponden a polímeros orgánicos derivados del ácido algínico<sup>18</sup>.

---

<sup>17</sup> Microbiología enológica: Fundamentos de vinificación autor: J.A Suarez Lepe, Baldomero Iñigo Leal, publicado por Mundi prensa Libros, 2004.

<sup>18</sup> Definición del alginato, pagina Wikipedia (<http://es.wikipedia.org/wiki/Alginato>)

El atrapamiento en alginato, es con mucha diferencia, la técnica más desarrollada en los últimos años (Smidsrod y Skjak-Brack, 1990; Gerbsh y buchholz, 1995). Se trata de un polímero de ácido manurónico y gulutónico extraído de algas marinas. La inmovilización en perlas de alginato, se lleva a cabo mezclando la suspensión biológica correspondiente con un volumen igual de alginato sodico 2-4 % (p/v) y haciéndola gotear sobre una solución de  $\text{CaCl}_2$  100 mM, en frío. La estructura tridimensional del gel es bioquímicamente inerte, y el biocatalizador queda atrapado en sus espacios intersticiales, presentando cierto grado de porosidad, que depende del ion metálico utilizado para formar el gel ( $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Ba}^{+2}$ ,  $\text{Sr}^{+2}$ ) y del tipo de alginato.

Respecto a la permeabilidad, lo mismo para el sustrato que para el producto, depende de la densidad y la viscosidad de la solución del alginato utilizado, así como el tamaño molecular sustrato-producto. La ventaja de usar esta matriz radica en su bajo precio, su aceptación como aditivo en la industria alimentaria como agente espesante, la aceptabilidad mecánica, física y química de las perlas, porosidad, alta retención, y, posibilidad de preparar las perlas de tamaño y viscosidad definidos (Galván, 1994). Su principal inconveniente, es la pérdida de la estabilidad mecánica en presencia de agentes quelantes, como EDTA, fosfato y citrato (Galvan y De la Rosa, 1996).<sup>19</sup>

#### **II.8.1.2.- Perlas de Quitosano**

Después de la celulosa, la quitina es el segundo polímero más abundante en el planeta. La quitina es un polímero (polisacárido), donde sus moléculas son fibrosas, y logran un material de gran resistencia química y mecánica.

Un polisacárido, es un polímero formado por moléculas más pequeñas que las del azúcar, encadenadas juntas, de manera que su estructura

---

<sup>19</sup> Suarez J.; Iñigo B.; Microbiología enológica: Fundamentos de vinificación; 3era edición; Mundi-Prensa Libros; 2004.

química es muy parecida a la celulosa, salvo que el grupo oxidrilo de la celulosa es sustituido por un grupo acetilamina en la quitina. Esto permite un incremento de los enlaces de hidrógeno con los polímeros adyacentes, dándole al material una mayor resistencia

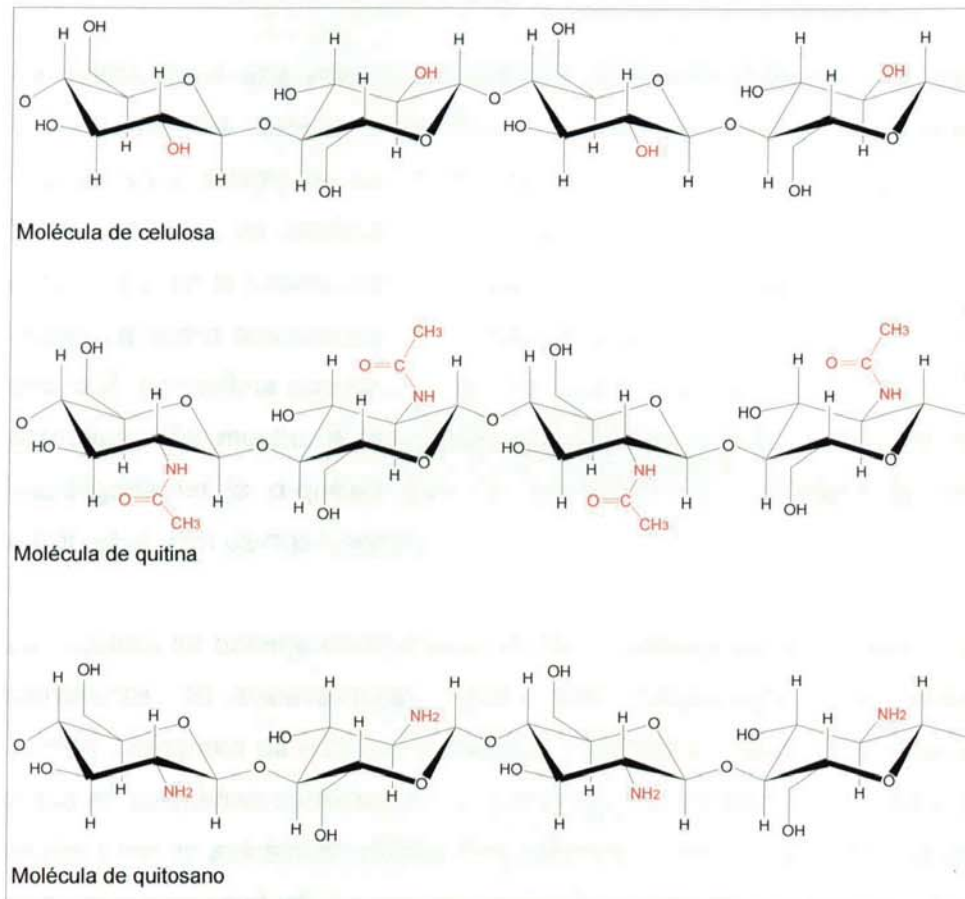


Figura 2.35: Moléculas de celulosa, quitina y quitosano.  
Fuente: Ronny Flores, Trabajo propio publicado el 22/02/2008 en <http://es.wikipedia.org/wiki/imagen:quitosana>

La quitina es uno de los componentes principales de las paredes celulares de los hongos, del resistente exoesqueleto de los artrópodos (arácnidos, crustáceos, insectos), y algunos otros animales. La primera persona que consiguió describir correctamente su estructura química fue Albert Hofmann.

La quitina fue aislada por primera vez en 1811, por Braconnot de algunos hongos superiores, como una fracción resistente al álcali, y lo

llamo fungina. En 1823, Odier aisló un residuo insoluble a soluciones de KOH del elítro de un escarabajo, y le dio el nombre de quitina, del griego chiton, túnica o cobertura. Odier identificó quitina en el caparazón desmineralizado del cangrejo y sugirió que es el material base del exoesqueleto de todos los insectos.

La quitina tiene una estructura cristalina altamente ordenada. Se han encontrado tres formas polimórficas,  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -quitina, las cuales difieren en el arreglo de las cadenas dentro de las regiones cristalinas. En la  $\alpha$ -quitina las cadenas están antiparalelas, en la  $\beta$ -quitina están paralelas y, en la  $\gamma$ -quitina dos cadenas están hacia arriba por una hacia abajo. La forma que parece ser la más estable es la  $\alpha$ -quitina, toda vez que la  $\beta$ - y  $\gamma$ -quitina pueden convertirse a la forma  $\alpha$  por un tratamiento apropiado. Por mucho, la forma más abundante y la más extensamente investigada es la  $\alpha$ -quitina que se encuentra en la cutícula de los artrópodos y en ciertos hongos.

La  $\alpha$ -quitina se obtiene comercialmente del exoesqueleto de cangrejos y camarones. El exoesqueleto tiene como componentes principales quitina, carbonato de calcio y proteínas. También contiene pigmentos y grasa en pequeñas cantidades. La quitina es muy estable a los ácidos y álcalis y no es soluble en disolventes ordinarios. Por lo tanto, se puede aislar como un producto, que permanece después de la descomposición con ácido y álcali, de las otras sustancias presentes en el exoesqueleto.<sup>20</sup>

Debido a que el quitosán se obtiene de la deacetilación (DAC) de la quitina, el término DAC se utiliza para caracterizarlo. Este valor, da la proporción de unidades monoméricas de grupos acetyl que se han eliminado, indicando la proporción de grupos de aminas libres en el polímero. El DAC del quitosán varía entre el 70 y el 100%, dependiendo del método de fabricación usado. Este parámetro es importante ya que

---

<sup>20</sup> Definición de quitina – pagina wikipedia.( <http://es.wikipedia.org/wiki/Quitina>)

indica la carga catiónica de la molécula después de la disolución en un ácido débil.

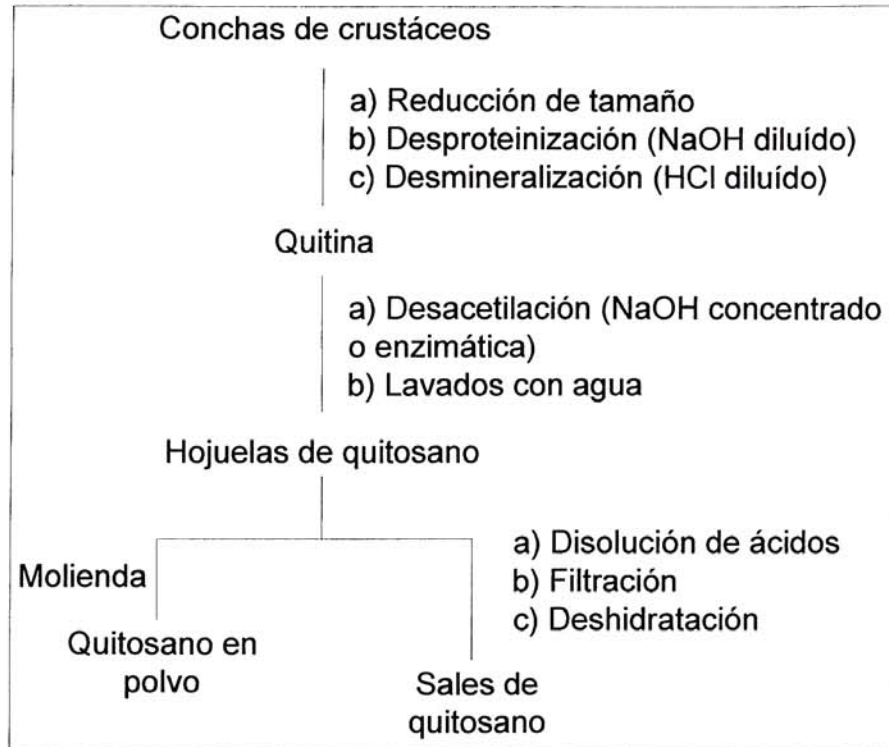


Figura 2.36: Esquema simplificado para la obtención de quitina y quitosano a partir de conchas de crustáceos.<sup>21</sup>

Finalmente la pureza del producto es vital, particularmente para usos en el área biomédica, o cosmética, o tratamiento de agua residuales. Esta pureza se cuantifica como las cenizas restantes, proteínas, sustancias insolubles, y también en la bio-carga (microbios, levaduras y endotoxinas).

De hecho, existe abundancia de literatura y procedimientos que documentan las múltiples aplicaciones del quitosán, pero para fines prácticos, se pueden clasificar principalmente en tres categorías, de acuerdo con su pureza:

- Grado técnico para agricultura y tratamiento de aguas.

<sup>21</sup> Quitina y quitosano, Cristina Larés , facultad de ciencias Universidad Los Andes Venezuela.2006

- Grado puro para alimentos y cosméticos.
- Grado ultra-puro para uso biofarmacéutico<sup>22</sup>

### **II.8.2.- CARBÓN ACTIVADO**

El carbón activado, se fabrica a partir de diversas sustancias carbonosas de origen animal, vegetal o mineral. Frecuentemente, se emplea antracita, carbones grasos o bituminosos, coque de petróleo, turba de madera, cáscara de nuez, coco o almendra, huesos, así como otros productos de naturaleza lignocelulósica. La materia de partida es amorfa, y la estructura porosa se produce durante la activación. Las propiedades del carbón activo dependen, tanto de la materia prima, como del método de activación empleado; por ejemplo, los carbones obtenidos de la cáscara de coco, tienen mayor densidad y presentan distribución de tamaño de poro mas estrecha, lo que hace que estos carbones sean muy adecuados para la absorción de moléculas pequeñas.

En la preparación se aplican procesos térmicos, que implican la deshidratación del material y la calefacción en ausencia de aire (carbonización), seguidos por el tratamiento oxidante a alta temperatura (200 a 1000°C), que desarrolla una estructura porosa en el carbón y se crea una gran superficie interna. La activación consiste esencialmente en una oxidación selectiva de hidrocarburos residuales en el sólido, que se realiza con anhídrido carbónico, vapor de agua, aire u otro agente oxidante; también se puede utilizar un tratamiento químico húmedo, a bajas temperaturas, mediante agentes tales como el ácido fosfórico, hidróxido potásico o el cloruro de zinc.

El carbón activado, se puede considerar constituido por un aglomerado de micro-cristales, cada uno de los cuales está formado por una pila de planos

---

<sup>22</sup> Ambienteplastico.com ,Las promesas de la quitina , Mónica Conde  
(<http://www.ambienteplastico.com>)

gráficos. Cada átomo, dentro de un determinado plano, está unido a cuatro átomos de carbono adyacentes. Así, los átomos de carbono en los bordes de los planos presentan una alta actividad disponible. En estos sitios, que consisten en una serie compleja de planos de base y bordes de microcristalitos, tiene lugar la adsorción. A medida que los sitios se van llenando, se va alcanzando el equilibrio de la adsorción y la calidad del efluente va disminuyendo.

El carbón activado, se utiliza en forma de gránulos y de pastillas, o en polvo. El diámetro de las partículas del carbón en polvo, es generalmente inferior a 0.1 mm, siendo normales, los carbonos en polvo con partículas comprendidas entre 10 a 50 micras, mientras que en los carbonos granulados comerciales, el tamaño medio de la partícula varía usualmente entre 0.2 y 1.7 mm.<sup>23</sup>

Tabla 2.25: Valores típicos de algunos grados populares de carbonos CARBOCHEM.

Grado	Densidad aparente (gr/cc)	Granulometría	Aplicación
GS-75	0.44	4 mm	Recuperación de solventes
GL-80	0.46	4 x 10	Fase vapor
VP-20	0.40	6 x 16	Hidrocarburos
HP-50	0.50	6 x 16	Adsorción a presión oscilante
DC-50	0.48	12 x 40	Lavado con ácido
DC-40	0.48	12 x 40	Decoloración
LQ-900	0.50	8 x 30	Decoloración
LQ-1000	0.50	12 x 40	Tratamiento de agua
LQ-900S	0.50	8 x 30	Tratamiento de agua
LQ-1240	0.50	12 x 40	Tratamiento de agua
CA-10	0.30	<325	Decoloración

Fuente: Carbones Activados CARBOCHEM ([www.carbochem.com](http://www.carbochem.com))

### II.8.3.- ZEOLITA

La zeolita es un mineral volcánico natural, con un gran número de características que la hacen única. Las zeolitas se forman, cuando la ceniza volcánica se depositó en lagos antiguos alcalinos. La interacción de la ceniza volcánica con las sales del agua de los lagos, produjo la alteración de la ceniza, produciendo distintos tipos de materiales de zeolita.

<sup>23</sup> El carbón activo como adsorbente; pagina: [textoscientificos.com](http://textoscientificos.com); citado el: 25.06.2006; disponible en: [www.textoscientificos.com/quimica/carbon-activo/adsorbente](http://www.textoscientificos.com/quimica/carbon-activo/adsorbente)



En 1756, el mineralogista sueco Axel Fredrick Cronstedt, descubrió que la estibita, un mineral natural, perdía el agua al calentarse de manera visible, y llamo esta clase de materiales como zeolitas, por el nombre griego clásico, que significa "ebullición piedras". Las zeolitas se consideraron un grupo extraño de minerales, de propiedades únicas durante más de 200 años.<sup>24</sup>

Las zeolitas son una familia de minerales de aluminio-silicatos cristalinos. Actualmente se conocen unas cincuenta zeolitas naturales, y más de ciento cincuenta se sintetizan para aplicaciones específicas, como la catálisis industrial, o como carga en la fabricación de detergentes.<sup>25</sup>

Las zeolitas tienen una estructura cristalina inusual y una habilidad extraordinaria de intercambiar iones. En su estructura, existe una gran cantidad de canales. Estos canales son normalmente de diámetros que oscilan entre 0.5 a 0.7 nm; esto es solo un poco mas grande que el diámetro de las moléculas de agua. Esta propiedad se denomina micro-porosidad. Además de esto, existe un número de poros más grande, denominado meso-porosidad.

Los iones positivos están presentes en estos canales, que pueden ser intercambiados por otros iones. La sustitución de iones, permite la absorción de ciertos elementos contaminantes del suelo, agua y aire. Por ejemplo, se puede utilizar la zeolita para la extracción de calcio en agua dura. Las zeolitas, intercambian los iones de sodio por iones de calcio, produciendo agua blanda. Las zeolitas, además, tienen una gran afinidad por ciertos metales pesados, dañinos como el plomo, cromo, níquel y zinc.

En los mesoporos de zeolita, se pueden retener partículas en suspensión o coloidales. En estos poros, moléculas orgánicas disueltas son igualmente adsorbidas.

---

<sup>24</sup> Texto extraído de : <http://www.lenntech.com/espanol/zeolitas.htm>

<sup>25</sup> <http://www.zeolitanatural.com/html/spanish/queeszeolita.htm>



Figura 2.37: Vista de la zeolita.

Considerando todas estas propiedades y habilidades, las zeolitas tienen una infinidad de aplicaciones comerciales y ambientales. Por ejemplo, se puede utilizar las zeolitas en sitios industriales, o de disposición de residuos, para evitar la liberación de contaminantes en el medio ambiente.<sup>26</sup>

La clinoptilolita es una zeolita natural, formada por la desvitrificación de ceniza volcánica en lagos o aguas marinas, hace millones de años. Este tipo es la más estudiada y considerada la de mayor utilidad. La clinoptilolita, como otras zeolitas, tiene una estructura similar a una jaula, consistiendo en tetraedros de  $\text{SiO}_4$  y  $\text{AlO}_4$ , unidos por átomos de oxígeno compartidos.

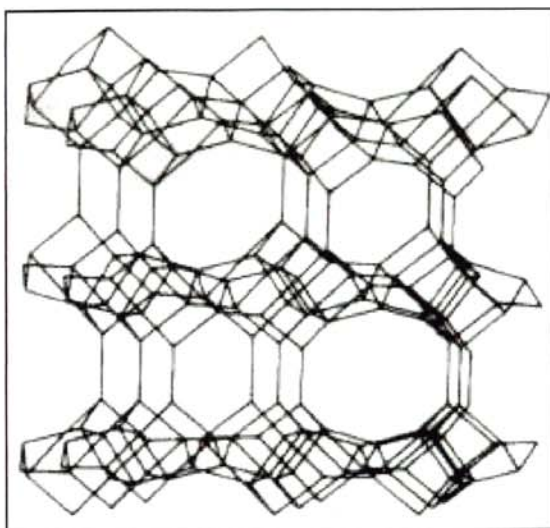


Figura 2.38: Estructura de la clinoptilolita.

<sup>26</sup> Texto extraído de : <http://www.lenntech.com/espanol/zeolitas.htm>

Las cargas negativas de las unidades de  $\text{AlO}_4$ , se equilibran con la presencia de cationes intercambiables, notablemente calcio, magnesio, sodio, potasio y hierro. Estos iones pueden ser desplazados por otras sustancias, por ejemplo metales pesados e iones de amoníaco. A este fenómeno se le conoce como intercambio catiónico, y es esta capacidad de la clinoptilolita lo que le da las útiles propiedades. La clinoptilolita se conoce también como “adsorbente de ciertos gases”, como el sulfito de hidrógeno y el dióxido de azufre.

Debido al origen natural, la composición precisa de la clinoptilolita está sujeta a variación. Sin embargo podemos darle la fórmula empírica de  $(\text{Ca,Fe,K,Mg,Na})_{3-6}\text{Si}_{30}\text{Al}_6\text{O}_{72}\cdot 24\text{H}_2\text{O}$ .<sup>27</sup>

### **II.8.3.1.- Aplicaciones de la Zeolita**

#### **II.8.3.1.1.- Catálisis**

Las zeolitas son extremadamente útiles como catalizadores, para muchas reacciones importantes con moléculas orgánicas. Las más importantes son craqueo, isomerización y síntesis de hidrocarburos. Las zeolitas pueden promover una serie de reacciones catalíticas, incluyendo ácido-base, y, reacciones de metal inducido. Las zeolitas también pueden ser catalizadores de ácidos, y pueden usarse como soporte para metales activos o reactivos.

Las zeolitas pueden ser catalizadores selectivos, en cuanto a la forma, tanto por la selectividad del estado de transición o por exclusión de reactivos competidores en base al diámetro de la molécula. También se han utilizado como catalizadores de oxidación. Las reacciones tienen lugar dentro de los poros de la zeolita, que permite un mayor grado de control del producto.

---

<sup>27</sup> ¿Qué es zeolita natural?; pagina :ZeoCat, Importadores de zeolita natural; disponible en: [www.zeolitanatural.com/html/queeszeolita.html](http://www.zeolitanatural.com/html/queeszeolita.html)

Las principales aplicaciones industriales son: refinamiento del petróleo, producción de combustible, e industria petroquímica. Las zeolitas sintéticas son los catalizadores más importantes en las refinerías petroquímicas.

#### **II.8.3.1.2.- Absorción**

Las zeolitas se usan para la absorción de una gran variedad de materiales. Esto incluye aplicaciones en secado, purificación y separación. Pueden remover agua a presiones parciales muy bajas, y son unos desinfectantes muy efectivos, con capacidad de más de un 25% en peso con agua. Pueden extraer químicos orgánicos volátiles de las corrientes de aire, separar isómeros y mezclar gases.

Una propiedad de las zeolitas, es su capacidad para la separación de gases. La estructura porosa de las zeolitas, puede utilizarse como "tamiz" para moléculas con un cierto tamaño, permitiendo su entrada en los poros. Esta propiedad puede cambiarse variando la estructura y así cambiando el tamaño y el número de cationes alrededor de los poros.

Otras aplicaciones que pueden tener lugar dentro del poro, incluye la polimerización de materiales semi-conductores y polímeros conductores, para producir materiales con propiedades físicas y eléctricas extraordinarias.

#### **II.8.3.1.3.- Intercambio de iones**

Cationes hidratados dentro de los poros de la zeolita, están unidos débilmente, y preparados para intercambiarse con otros cationes, cuando se encuentran en un medio acuoso. Esta propiedad, permite su aplicación como ablandadores de agua, y el uso de zeolitas en detergentes y jabones. Los mayores volúmenes de uso

de zeolitas, se dan en la formulación de detergentes, donde se reemplazan fosfatos como agentes ablandadores del agua. Esto se realiza mediante el intercambio de sodio en la zeolita por Calcio y Magnesio presente en el agua. Es incluso posible remover iones reactivos del agua contaminada.<sup>28</sup>

---

<sup>28</sup> Texto extraído de Aplicaciones de las zeolitas: <http://www.lenntech.com/espanol/zeolitas-aplicaciones.htm>

## CAPÍTULO III: OBJETIVOS

---

### III.1.- OBJETIVO N° 1

Granular el lodo anaerobio del RAFA de la planta de tratamiento UNI-TRAR, empleando lixiviado como sustrato, en un digestor batch.

#### III.1.1.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS - 1

- ➔ Verificar la formación de un biofilm alrededor de las partículas empleadas como medio de soporte.
- ➔ Determinar la presencia de microorganismos anaerobios al interior de los medios de soporte.

### III.2.- OBJETIVO N° 2

Comparar las propiedades físicas de los medios de soporte, relacionadas al tratamiento de aguas residuales.

### **III.2.1.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS - 2**

- Comparar las velocidades de sedimentación de los medios de soporte utilizados.
- Comparar las porosidades, en cuanto a tamaño y forma, de los medios de soporte utilizados.

## **CAPÍTULO IV: MATERIALES Y MÉTODOS**

---

### **IV.1.- DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO**

La parte experimental del presente estudio, se llevó a cabo en 4 etapas. La primera de ellas, fue la “caracterización del lodo anaerobio” del RAFA de la planta de tratamiento UNI-TRAR. En la segunda etapa, se procedió a la “operación de los digestores batch”, la cual incluyó el llenado de los mismos con lixiviado (diluido) proveniente del relleno sanitario Portillo Grande, y, la inoculación del lodo anaerobio, con la finalidad que este último se aclimate al lixiviado como sustrato. En esta etapa se dio inicio a los ensayos del Test de AME, para la determinación de la actividad metanogénica del lodo y, a la estimación de la producción de biogás de cada uno de los digestores, así como el monitoreo de los parámetros físico-químicos del lodo de cada digestor. La tercera etapa consistió en la inoculación de los medios de soporte a sus respectivos digestores, continuando de igual modo con el monitoreo respectivo de cada digestor y los ensayos de AME. La cuarta y última etapa, consistió en la determinación de la presencia de microorganismos anaerobios al interior de los medios de soporte, para verificar que el fenómeno de granulación se ha llevado a cabo.



## IV.2.- HIPÓTESIS

- H<sub>1</sub>: El lodo anaerobio del RAFA de la planta de tratamiento UNI-TRAR, empleando lixiviado como sustrato y **alginato** como medio de soporte, granula.
- H<sub>2</sub>: El lodo anaerobio del RAFA de la planta de tratamiento UNI-TRAR, empleando lixiviado como sustrato y **carbón activado** como medio de soporte, granula.
- H<sub>3</sub>: El lodo anaerobio del RAFA de la planta de tratamiento UNI-TRAR, empleando lixiviado como sustrato y **zeolita** como medio de soporte, granula.
- H<sub>4</sub>: El lodo anaerobio del RAFA de la planta de tratamiento UNI-TRAR, empleando lixiviado como sustrato y **quitosano** como medio de soporte, granula.

### IV.3.- EQUIPOS EMPLEADOS

Los equipos empleados en este estudio de investigación, fueron los siguientes:

- 04 digestores Bacht,
- 04 gasómetros - Tanques de Mariotte,
- 01 respirómetro anaerobio.

#### IV.3.1.- DIGESTORES BACHT

Los digestores bacht están conformados por los siguientes componentes:

- Cilindros plásticos de 200 litros de capacidad.
- Un sistema de agitación manual.
- Un sistema para el suministro de lixiviado y aditivos.
- Un sistema de extracción de muestras
- Un sistema de extracción de biogás.



Figura 4.1: Vista panorámica del sistema "Digestor-Tanque de Mariotte".

#### IV.3.1.1.- Cilindro Plástico de 200 litros

El cual sirve como recipiente para realizar la digestión del licor lodo-lixiviado, y, es donde se desarrollará el proceso de granulación.

El cilindro tiene un diámetro de 56 cm, una altura de 90 cm y un espesor de pared de 2 mm aproximadamente. Adicionalmente cuenta con una tapa plástica, un sello de jebes y un anillo metálico de presión, del mismo diámetro que el cilindro.



Figura 4.2: Cilindro de 200 l empleado como digestor Batch.



Figura 4.3: Base interior y exterior del cilindro de 200 l.

#### **IV.3.1.2.- Sistema de agitación manual**

El sistema tiene por finalidad homogenizar la mezcla lodo- lixiviado (para lograr una mezcla completa al momento de agitar).

Consta de un eje vertical de fierro de  $\varnothing=3/4"$ , al cual se le han soldado 6 paletas del mismo material, distribuidas en pares y colocadas una opuesta a la otra diametralmente. Las paletas fueron hechas con laminas de fierro de  $\varnothing=3/16"$ . Su forma es recta en el eje de la paleta y curva en el extremo; el radio de curvatura es de 7.5 cm. en la parte cóncava y 15 cm. en la parte convexa. El diseño fue realizado con la finalidad de elevar el lodo sedimentado en el fondo del digestor, realizando una espiral ascendente con el liquido a la hora de la agitación.

Para poder realizar el giro de las paletas, en la parte superior, fuera del cilindro, se ha soldado un volante de fierro de 20 cm. de diámetro, y  $\varnothing= 3/8"$ .

Para asegurar el giro del sistema, el eje pasa a través de un anillo de bronce dentro de una bocina de 12.9 cm de altura y un diámetro interno  $\varnothing 3/4"$ ; este conjunto esta anclado a unas platinas circulares de espesor  $1/8"$  y 25 cm de diámetro, que se encuentran al interior y exterior de la tapa. Adicionalmente, para hermetizar el sistema y, evitar la fuga del biogás, dentro de esta bocina se ha colocado un O'ring de jebe.

El sistema del eje de las paletas, descansa sobre una platina circular de  $e = 1/8"$  y  $\varnothing=15$  cm en la parte inferior del cilindro, rodeado por una bocina de fierro, en cuyo interior hay un anillo de bronce de 4 cm de alto, concéntrico al eje; a su vez, la bocina y el eje descansan empernados al fondo.

Para evitar la corrosión de la paletas y el contacto del oxido en la mezcla, se revistió las paletas con caucho (material inerte), de acuerdo

a la forma de las paletas y el eje hasta unos 10 cm. por encima de la altura máxima útil del digestor.



Figura 4.4: Vista del sistema de agitación manual.

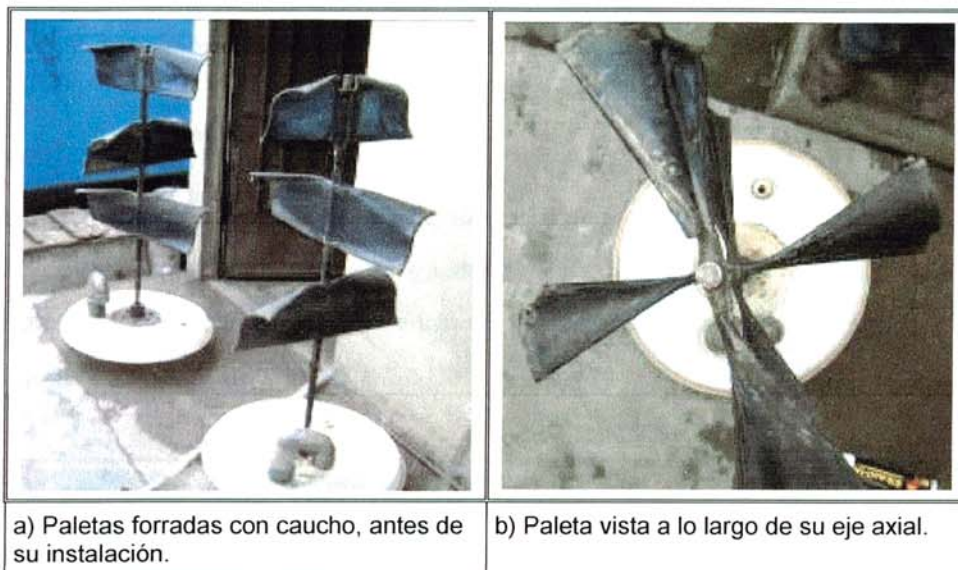


Figura 4.5: Vista de las paletas metálicas forradas con caucho.

#### IV.3.1.3.- Sistema para el suministro de lixiviado y aditivos

La adición de los aditivos y el lixiviado, se realizó por un orificio de  $\varnothing=2''$ , ubicado en la tapa del cilindro (lo cual ya vino de fábrica). Al orificio se le adaptó un niple roscado de PVC de  $\varnothing=2''$ , para enroscar un tapón hembra de PVC, que servirá como tapa externa, y, en la parte interior del cilindro, una trampa tipo "P" de  $\varnothing=2''$  de PVC, para generar una especie de sello de agua con el lixiviado y, aislar el sistema anaerobio del ambiente externo.

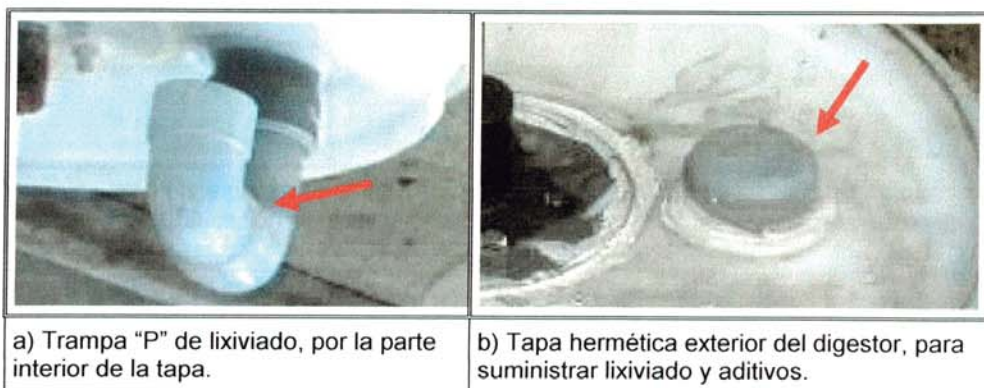


Figura 4.6: Vista del sistema para el suministro de lixiviado y aditivos.

#### IV.3.1.4.- Sistema de extracción de muestras

Se colocó una llave plástica ensamblada de  $\varnothing=1\frac{1}{2}''$ , para la toma de muestras del lodo; el eje de la válvula se colocó a 5 cm. del fondo del digestor y a 2.5 cm. del extremo de la paleta.



Figura 4.7: Vista del sistema de extracción de muestras.

#### IV.3.1.5.- Sistema de extracción de biogás

La tapa del cilindro, tenía un orificio roscado de  $\varnothing=1"$ , al cual se le adaptó una reducción de fierro, para colocarle una boquilla (pitón) de bronce como adaptador de la manguera, la que a su vez conduce el biogás hacia los tanques de Mariotte.



Figura 4.8: Vista del sistema de extracción de biogás.

#### IV.3.2.- GASÓMETROS (TANQUES DE MARIOTTE)

##### IV.3.2.1.- Principio de funcionamiento

El "Gasómetro" o "Tanque de Mariotte", es un equipo que mide de manera indirecta la cantidad de gas (en volumen) que ingresa a este, mediante el desplazamiento del agua contenida en el mismo tanque, bajo condiciones ambientales.

En caso que el sistema esté cerrado de forma hermética, la subpresión interna del tanque, generada por el desplazamiento del agua, hace que el caudal de salida comience a disminuir hasta llegar al equilibrio, es decir, que la gota de agua al extremo de la manguera, se mantiene estática por el equilibrio de presiones (subpresión interna del tanque + presión de la columna de agua de la manguera = presión externa equivalente a la presión atmosférica).

El principio del fenómeno se basa en el teorema de Bernoulli, de la conservación de la energía:

Ecuación de Bernulli:

$$\rho g h_1 + \frac{1}{2} \rho v_1^2 + P_1 = \rho g h_2 + \frac{1}{2} \rho v_2^2 + P_2$$

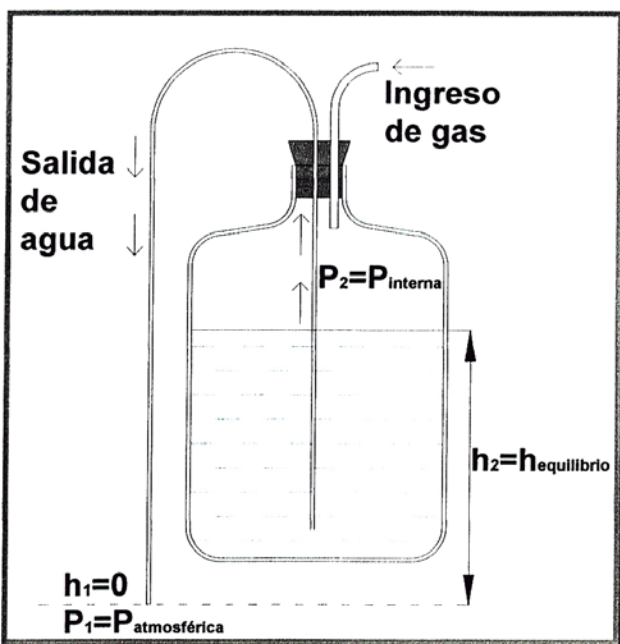


Figura 4.9: Esquema del gasómetro (tanque de Mariotte).

Tomando como nivel de referencia el nivel de salida del agua de la manguera se considera  $h_1 = 0$

Considerando:

- ➔ Punto (1): tomado como nivel de referencia al extremo final de la manguera de descarga de líquido.
- ➔ Punto (2): nivel de agua dentro del tanque de Mariotte en un tiempo "t".

$$\rho g h_1 + \frac{1}{2} \rho v_1^2 + P_1 = \rho g h_2 + \frac{1}{2} \rho v_2^2 + P_2$$



$$\rho g h_1 + \frac{1}{2} \rho v_1^2 + P_{atm} = \rho g h_2 + \frac{1}{2} \rho v_2^2 + P_{interna}$$

$$\frac{1}{2} \rho v_1^2 + P_{atm} = \rho g h_2 + P_{interna}$$

Considerando que el sistema se mantiene hermético y llega al equilibrio, la velocidad de salida será cero.

$$P_{atm} = \rho g h_{equi} + P_{interna\ equi}$$

Con lo cual se grafica el nivel de presiones en los equilibrios del tanque de Mariotte.

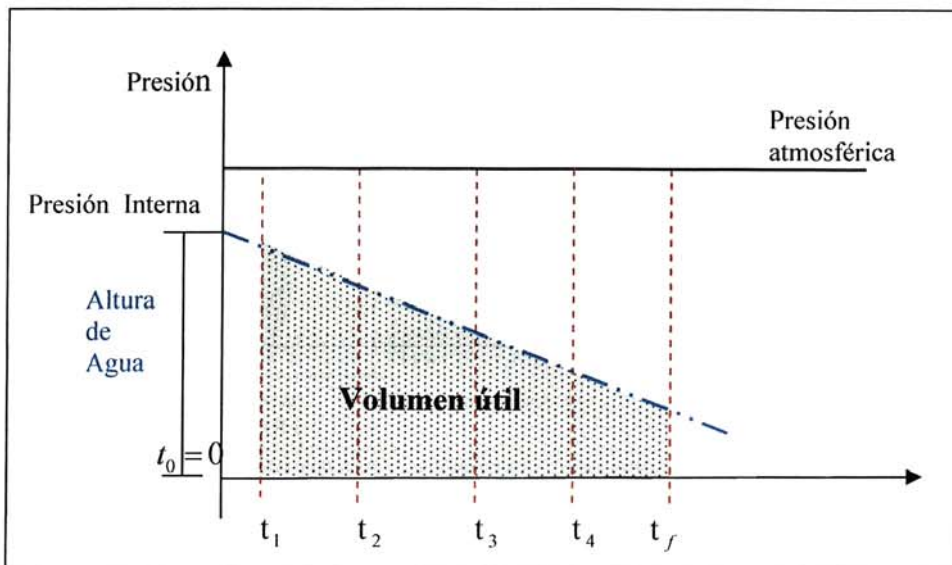


Figura 4.10: Curva de la Presión interna vs. tiempo de operación del gasómetro (tanque de Mariotte).

Como se puede apreciar en la Figura 4.9, el equilibrio está directamente afectado por la presión interna del tanque de Mariotte. En caso que el tanque esté expuesto al sol, el agua del interior generará vapor que incrementará la presión interna desequilibrando el sistema.

De igual modo, si el equilibrio se da a una temperatura mayor y luego la temperatura disminuye, ocurre lo contrario, retornando el agua dentro de la manguera de salida dentro del tanque.

#### IV.3.2.2.- Descripción del equipo

##### IV.3.2.2.1.- Tanque de agua

Los "Tanques de Mariotte", 4 en total, fueron construidos a partir de bidones de plástico de agua de mesa de 20 l de capacidad. Luego se les hermetizó con un tapón de jebe (sellado con silicona), a cada cual se le hizo 3 orificios para pasar las respectivas mangueras.



Figura 4.11: Vista de los gasómetros (tanques de Mariotte).

##### IV.3.2.2.2.- Manguera para el ingreso del biogás

Es aquella que conecta el digestor Batch al tanque de Mariotte. Para el ingreso de la manguera al tanque, se utilizó un tubo de vidrio de  $\varnothing=3/8$ " con una longitud de 20 cm aprox. A su vez, la manguera se conecta con un sistema de 3 válvulas de paso, para poderlo asilar cuando se calibra.

#### IV.3.2.2.3.- Manguera para el desplazamiento de agua

Es aquella que tiene por función conducir el agua desplazada hacia el exterior, por acción del gas. Tiene 0.6 cm de diámetro externo, un espesor de 0.1 cm, una longitud aproximada de 145 cm, y está separada a 1 cm del fondo del bidón. Para mantenerla vertical dentro del tanque, se le colocó un alambre como soporte.

#### IV.3.2.2.4.- Manguera para la recarga de agua

Es aquella por la cual se realiza la recarga del agua, cuando el cilindro se vacíe. Al extremo final de la manguera se le ha colocado una válvula de paso para poder hermetizar el sistema.

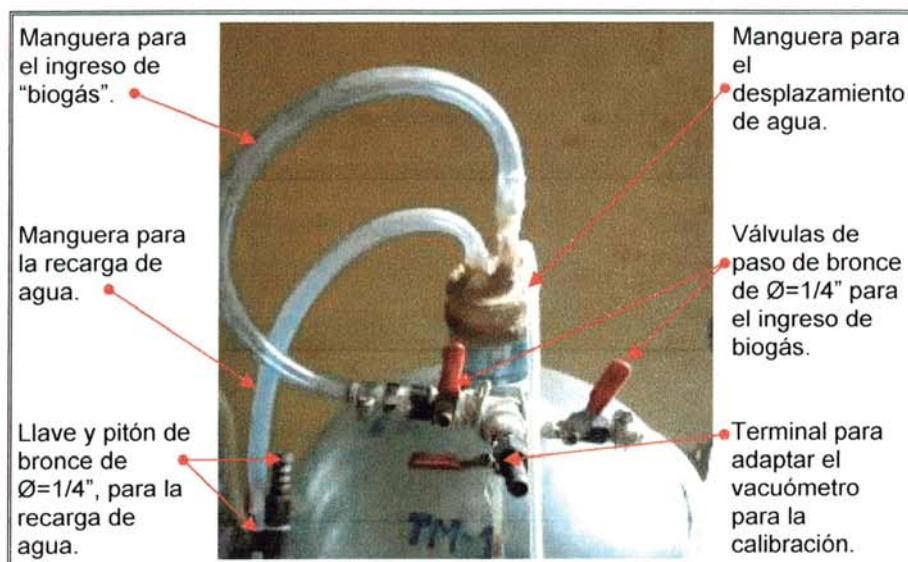


Figura 4.12: Accesorios de un gasómetro (tanque de Mariotte).

#### IV.3.2.2.5.- Vacuómetro

Finalmente, a la manguera que conecta el digester Batch con el tanque de Mariotte, se le colocó un accesorio para poder montar y desmontar con facilidad un vacuómetro para medir la presión manométrica negativa al momento de la calibración.



Figura 4.13: Vista del vacuómetro.

### IV.3.3.- RESPIRÓMETRO ANAEROBIO (PARA EL TEST DE AME)

#### IV.3.3.1.- Principio de funcionamiento

Diversos equipos de laboratorio fueron propuestos para la medición de la **Actividad Metanogénica Específica (AME)**: desde sistemas que emplean frascos sellados (Hungate 1968; dolfig e Bloemen, 1985; Specce, 1998), sistemas empleando desplazamiento de agua para la medición del volumen de gas producido (De Zeeuv, 1984), o, sistemas automatizados utilizando válvulas solenoides y sensores de presión (Van Den Berg et al 1974, Roíz , 1983).<sup>29</sup>

Dolfing y Bloemen (1985) verificaron que, en experimentos preliminares con muestras de lodos anaerobios, acetato, propinato e hidrógeno, fueron estequiometricamente convertidos a metano sin productos intermediarios. Ellos concluyeron que la producción de metano es una medida adecuada para expresar la capacidad de conversión de sustratos metanogénicos, y que la determinación de cantidades crecientes de metano es más fácil y más cuidadosa que la medida de la concentración decreciente de sustrato.

<sup>29</sup> Proposta de metodologia para avaliacao do parametro " Actividade Metanogenica Especifica"; Luis Olinto Monteiggia

El equipo construido para el test de actividad metanogénica específica (AME), consiste en un sistema que propicia la digestión anaerobia de los lodos a temperatura controlada, un sistema de recolección y transporte del biogás, lavado y medición por desplazamiento de líquido del gas generado.

La determinación de la Actividad Metanogénica Específica, es usualmente realizada por un Test de laboratorio, bajo condiciones ambientales controladas. El resultado es calculado a partir de la medición directa de la tasa de producción de metano o consumo de sustrato, por unidad de biomasa (Sólidos Volátiles) y unidad de tiempo. En la actividad metanogénica específica se considera que a 35°C, 395 ml de gas metano producido corresponde a 1 gr de DQO consumida (Speece, 1996).

Para el equipo de laboratorio, se deben tener en cuenta los siguientes aspectos:

- 1) La garantía de un ambiente anaerobio que contenga las condiciones necesarias (temperatura, pH, potencial redox) y nutrientes (macro nutrientes, micro nutrientes y elementos traza), para la obtención de la actividad biológica máxima.
- 2) La utilización de la adecuada población de microorganismos (SSV) y alimento suficiente (sustrato del test), encima de la concentración limitante para la obtención de la tasa máxima de remoción de sustrato.
- 3) El uso de un equipo de laboratorio capaz de monitorear los cambios de la actividad metabólica (producción de gas), o, consumo de sustrato realizado con precisión satisfactoria durante el periodo del test.

Las características del equipo utilizado en el laboratorio, depende del tipo de cálculo para la determinación de la **Actividad Metanogénica Específica**, es decir, si la AME es calculada a partir de la tasa de

producción de metano o si es calculada a partir del consumo de sustrato utilizado como precursor del metano.

#### IV.3.3.2.- Descripción del equipo

El equipo es armado en el laboratorio de Bio-rremediación de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Para armar el respirómetro anaerobio, se utilizaron los siguientes equipos e instrumentos: baño maría, frascos para la digestión, frascos para el lavado de biogás, gasómetros (tanques de Mariotte), y un balón de Nitrógeno.

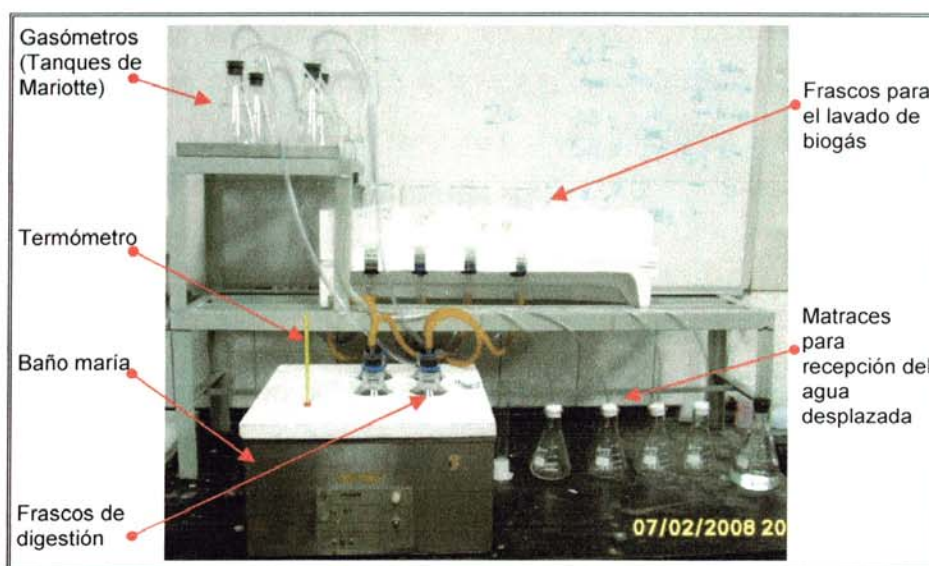


Figura 4.14: Vista panorámica del respirómetro anaerobio.

##### IV.3.3.2.1.- Baño maría

Este equipo, es de propiedad del laboratorio de Biorremediación de la Universidad Agraria La Molina. La marca es Fisher Versa Bath.

#### **IV.3.3.2.2.- Frascos para la digestión**

Dentro del baño maría, se colocaron 4 frascos de 1 litro, de marca Boeco, que servirían como digestores del licor lodo-lixiviado a una temperatura controlada de 37° Celsius.

Los frascos se hermetizan con unos tapones de jebe y son sellados con silicona. Dichos tapones tienen un solo orificio por donde se colecta el biogás generado, el cual pasa por unas mangueras a unos frascos de lavado de gas.

#### **IV.3.3.2.3.- Frascos para el lavado de biogás**

El biogás ingresa por un orificio en el tapón del frasco de lavado a través de una aguja, el cual burbujea en la solución de NaOH al 10%, que atrapa el CO<sub>2</sub>, para luego ser recolectado por la parte superior y ser transportado por unas mangueras al sistema de Mariotte.

#### **IV.3.3.2.4.- Gasómetros (Tanques de Mariotte)**

Para la medición del biogás producido, se aplica el mismo principio de los tanques de Mariotte, descritos anteriormente.

En este caso se emplean los siguientes instrumentos:

- 1) 04 matraces de Erlenmeyer de 500 ml, los que harán la función de tanque de agua.
- 2) 04 mangueras de 0.6 cm de diámetro externo, un espesor de 0.1 cm, que conducirán el agua desplazada por el biogás.
- 3) 04 matraces de Erlenmeyer de 250ml, los que harán la función de receptor de agua desplazada para medir el volumen de biogás generado.

#### IV.3.3.2.5.- Balón de Nitrógeno

Para el desplazamiento del aire (oxígeno) del sistema de digestión anaerobio, se empleó gas de Nitrógeno, aplicado a los frascos digestores.



Figura 4.15: Vista del balón de Nitrógeno.



#### **IV.4.- MÉTODOS ANALÍTICOS**

##### **IV.4.1.- SÓLIDOS TOTALES (ST)**

La determinación de los “sólidos totales”, fue realizada en el Laboratorio N° 20, de la Facultad de Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional de Ingeniería, de acuerdo con el método 2540-G Sólidos totales fijos y volátiles en muestras sólidas y semisólidas, de los “Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales” de la APHA AWWA, 17<sup>va</sup> edición, 1992.

##### **IV.4.2.- SÓLIDOS TOTALES VOLÁTILES (STV)**

La determinación de los “sólidos totales volátiles”, fue realizada en el Laboratorio N° 20, de la Facultad de Ingeniería Ambiental de la Universidad Nacional de Ingeniería, de acuerdo con el método 2540-G Sólidos totales fijos y volátiles en muestras sólidas y semisólidas, de los “Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales” de la APHA AWWA, 17<sup>va</sup> edición, 1992.

##### **IV.4.3.- SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES (SST)**

La determinación de los “sólidos suspendidos totales”, fue realizada por el laboratorio externo Inspectorate Services Perú S.A.C., de acuerdo con el método 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105°C, de la APHA AWWA WEF 21<sup>th</sup> Edition, 2005 (Pag 2-58 a 2-59).

##### **IV.4.4.- SÓLIDOS SUSPENDIDOS VOLÁTILES (SSV)**

La determinación de los “sólidos suspendidos volátiles”, fue realizada por el laboratorio externo Inspectorate Services Perú S.A.C., de acuerdo con el método EPA 160.4: Residue Volatile Gravimetric Ignition at 550°C del “Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999”

#### **IV.4.5.- DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO5)**

La determinación de la “demanda bioquímica de oxígeno”, fue realizada por el laboratorio externo Inspectorate Services Perú S.A.C., de acuerdo con el método EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; del “Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999”

#### **IV.4.6.- DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)**

La determinación de la “demanda química de oxígeno”, fue realizada por el laboratorio externo Inspectorate Services Perú S.A.C., de acuerdo con el método EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level del “Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999”

#### **IV.4.7.- pH**

La medición del pH, fue realizada con un medidor de pH/conductividad eléctrica de electrodo, marca Jenway, modelo 430 pH/conductividad meter, con una precisión de 0.01.

#### **IV.4.8.- CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA**

La medición de la conductividad eléctrica, fue realizada con el mismo medidor de pH/conductividad eléctrica de electrodo, marca Jenway, modelo 430 pH/conductividad meter. Este parámetro se expresó en mS/cm<sup>2</sup>.

## IV.5.- PROCEDIMIENTO

### IV.5.1.- CARACTERIZACIÓN DEL LODO ANAEROBIO

La caracterización de los lodos anaerobios, permite conocer diversos parámetros del lodo de inóculo a ser utilizado en los digestores batch. Entre los parámetros a evaluar, tenemos la actividad metanogénica específica (AME), los sólidos suspendidos volátiles (SSV), etc. El lodo elegido para este estudio fue el del RAFA de la planta UNI-TRAR.

#### IV.5.1.1.- Elección de la altura de lodo del RAFA

Para la elección de la altura de lodo, se tomó como criterio el cuadro adjunto, donde se evalúan la velocidad de sedimentación y el porcentaje de sólidos volátiles a cada altura del reactor.

Tabla 4.1: Selección de la altura de lodo - RAFA - UNI

PUNTOS DE MUESTRO	VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN (m/h)	% SÓLIDOS VOLÁTILES
1 m	0,6	49,34
<b>1,5 m</b>	<b>0,79</b>	<b>51,39</b>
2 m	0,71	51,21
2,5 m	0,71	49,24

Fuente: Tratamiento anaerobio de lixiviados provenientes de rellenos sanitarios - MSc. Rosa Elena Yaya Beas -Universidad Nacional de Ingeniería.



Figura 4.16: Vista del RAFA de UNI-TRAR.

La altura del manto de lodo elegida para determinar la caracterización fue de 1.50 m, ya que presenta mejores características según lo indicado<sup>30</sup>.



Figura 4.17: Toma de muestra de lodo del RAFA de UNI-TRAR (07-03-08).

#### IV.5.1.2.- Caracterización del lodo del RAFA de UNI-TRAR

De los análisis realizados al lodo extraído del RAFA, se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 5.1 (del Capítulo V: Resultados).

<sup>30</sup> “Tratamiento anaerobio de lixiviados provenientes de rellenos sanitarios” - MSc. Rosa Elena Yaya Beas - Universidad Nacional de Ingeniería.

## IV.5.2.- OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES BATCH

### IV.5.2.1.- Ubicación del sistema

Los digestores batch están ubicados en la Planta de tratamiento de aguas residuales UNI-TRAR. Son cuatro en total: uno que sirve como blanco, y, otros tres donde se aplicaron los aditivos. Se colocaron en una losa de concreto, al costado del RAFA.



Figura 4.18: Vista de la ubicación de los digestores batch.



Figura 4.19: Vista del sistema Digestor – Tanque de Mariotte.

Los digestores (cilindros plásticos de 200lt de capacidad), se conectan con los tanques de Mariotte por medio de mangueras y válvulas de paso. El sistema digestor – Mariotte, se ubicó allí, debido a que existe una caseta de material noble que le proporciona sombra a los tanques de Mariotte, lo cual ayuda a evitar errores en las lecturas de

desplazamiento de agua del tanque por el ingreso de biogás. Dichos errores de lectura son generados por el incremento de la temperatura en el tanque debido a la exposición solar (ya que genera vapor de agua y aumenta la presión interna del tanque, originando la inestabilidad del equilibrio hidráulico).

Los análisis fisicoquímicos y los test realizados, para monitorear la evolución del lodo y el proceso de digestión, están distribuidos como sigue:

- a) Laboratorio de BSI Inspectorate Services Perú S.A.C (acreditado por INDECOP):
  - Sólidos Suspendidos Totales (SST)
  - Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)
  - Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>)
  - Demanda Química de Oxígeno (DQO)
- b) Laboratorio N° 20 de la Facultad de Ingeniería Ambiental – UNI
  - Sólidos Totales (ST)
  - Sólidos Totales Volátiles (SSV)
- c) Laboratorio de Bio-remediación de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM)
  - Test de Actividad Metanogénica Específica (AME).

#### **IV.5.2.2.- Pruebas de hermeticidad del sistema**

Antes de iniciar la fase de digestión, se debe comprobar la hermeticidad del sistema (Mariotte – Digestor) en el lugar definitivo de permanencia, para los meses que demore el estudio.

Para ello, se procede de la siguiente manera:

- 1) Se llenan los cilindros con agua;
- 2) Se sellan la tapa y el cilindro con silicona;
- 3) Los tanques de Mariotte se conectan a los digestores, asegurando todas las uniones y/o empalmes de las mangueras con silicona;
- 4) Después se procede a succionar el aire del sistema (generar presión negativa con ayuda de una aspiradora), y equilibrarlo con ayuda de un vacuómetro. Se considera equilibrado cuando el desplazamiento del líquido en el Mariotte queda estático.



Figura 4.20: Vista de trabajos de hermeticidad de un digestor.



Figura 4.21: Vista del sistema Digestor –Mariotte hermetizado.  
Pta. De Transferencia de San Juan de Miraflores (23-12-07).

Dicha prueba se ha realizado para tener una mayor confiabilidad en los datos generados por la producción del biogás del digestor (volumen de biogás generado = volumen de líquido desplazado, lo cual no se cumpliría si el sistema no fuera hermético).

#### IV.5.2.3.- Inoculación del lodo anaerobio

Para la determinación del volumen de lodo, se tomó como criterio de diseño la carga inicial que será aplicada a los digestores bacht (la carga aplicada en Kg. de DQO del lixiviado / Kg. de SSV del lodo anaerobio).

La dilución del lixiviado con la que inicia la aclimatación del lodo, será del 25% de la concentración máxima de DQO.

El volumen de lodo anaerobio que será ingresado al sistema, es de 50 l, valor suficiente considerando que:

- La producción de lodos durante la fase de monitoreo sea cero.
- El volumen de lodo acumulado que sea extraído en toda la fase de monitoreo, sea menor al volumen inoculado.



Figura 4.22: Inoculación del digestor con lodo del RAFA.



Tabla 4.2: Cálculo del volumen del licor mezclado lodo-lixiviado.

CÁLCULO DEL VOLUMEN DEL LICOR MEZCLADO LODO - LIXIVIADO			
DQO lixiviado (aplicada al 25 %)	=	5.4725	gr/l
Concentración de lodo al inicio de la primera tanda	=	88.99	gr de SSV / l
Carga aplicada	=	0.05	Kg de DQO / Kg de SSV
Volumen inicial del lodo en el reactor	=	50	litros
<b><u>Lodo anaerobio :</u></b>			
88.99 gr SSV	→	1 lt	} X = 4449.5 gr SSV
X gr SSV	→	50 lt	
<b><u>Carga:</u></b>			
0.05 Kg DQO	→	1 Kg SSV	} X = 0.2225 Kg DQO
X Kg DQO	→	4.4495 Kg SSV	
<b><u>Lixiviado :</u></b>			
5.4725 gr DQO	→	1 lt	} X = 40.7 litros de lixiviado al 25 %
222.5 gr DQO	→	X lt	
<b><u>Agua para diluir el lixiviado al 25% :</u></b>			
DQO (lix. al 100%)	=	21.89	gr/l
Sea: A	=	Vol de lixiviado en lt (al 100%)	
Si:	[C1]	x	V1 = [C2] x V2
	21.89	x	A = 5.5 x 41
A	=	10.18	litros de lixiviado al 100%
H <sub>2</sub> O dilución	=	30.52	litros
Volumen total (lodo-lixiv) = 40.7 lts + 50 lodo = 90.7 lts			

De los cálculos realizados, el volumen total de lodo y lixiviado a utilizar son los siguientes:

- 1) 50 litros de lodo x 4 digestores = **200** litros de lodo anaerobio del RAFA.
- 2) 10.18 litros de lixiviado con una DQO 21890 mg / l x 4 digestores = **40.72** litros de lixiviado del RR. SS. Portillo Grande.



Figura 4.23: Llenado del digestor con lixiviado.



Figura 4.24: Aplicación del agua de dilución.

#### IV.5.2.4.- Operación de los digestores

La operación de los digestores batch anaerobios, se inició el 01 de abril del 2008, con la inoculación del lodo y la puesta en marcha. La aclimatación del licor lodo - lixiviado fue monitoreada a diario durante los primeros 30 días, donde se observó el comportamiento de la producción de biogás y de los parámetros fisicoquímicos.

Durante los primeros días de operación, los reactores presentaron una alta producción de biogás, demostrando así una buena respuesta del lodo- lixiviado. El volumen de biogás producido, fue verificado cerrando la salida de gas del digestor; esto generó que los digestores se hincharan (en la pared lateral y en la tapa), demostrando que estos eran totalmente herméticos.

Cabe mencionar que durante la primera quincena del mes de abril, el clima todavía era cálido, presentando temperaturas alrededor de los 23°C durante el día, siendo esta una temperatura óptima dentro del rango psicrófilico (rango dentro del cual se desarrolla toda la fase del proyecto). Esta condición climática, facilitó un buen arranque de la operación de los digestores anaerobios.

Los primeros análisis realizados, ayudaron a afinar el sistema y método de muestreo, tanto para el biogás (manejo del mariotte), para el test AME, y para la frecuencia de agitación de las paletas de los digestores. En base a esto, se determinó lo siguiente:

- a) Calibrar el Sistema digestor - Mariotte al inicio del día, debido a que cada tanque de Mariotte tiene una capacidad de monitoreo de un día de operación (por el volumen de agua que puede almacenar: 18 lt), esta capacidad se calculó según el caudal promedio de producción de biogás.
- b) Que la mezcla del licor lodo – lixiviado, se realice manualmente, a intervalos aproximados de 2 horas durante la jornada diaria de operación. Esta se debe realizar girando el sistema de paletas en sentido horario, a una velocidad de 20 rpm.
- c) Registrar la temperatura ambiental en cada monitoreo del caudal de biogás, para observar el efecto de la temperatura en los datos generados.
- d) Solo usar 0.25lt de lodo para la determinación del test de AME.

#### **IV.5.3.- PREPARACIÓN E INOCULACIÓN DE LOS MEDIOS DE SOPORTE**

Luego del periodo de aclimatación del lodo, se procedió a inocular los medios de soporte para probar la teoría de *“Mejoramiento de la Granulación*

por los *Núcleos de Crecimiento*”, descrita en el ítem II.7.3 del marco teórico, como último tema de la “Teoría de Granulación Anaerobia”.

Los núcleos de crecimiento, deben cumplir ciertas características descritas en la literatura, como:

- a) alta superficie específica;
- b) peso específico similar a los lodos;
- c) buena hidrofobicidad, y,
- d) forma esférica.

La forma esférica se aplica cuando los medios de soporte van a trabajar en un RAFA, por lo que no aplica para el presente estudio.

Los núcleos de crecimiento utilizados, se dividen en dos grupos:

- a) Núcleos de crecimiento utilizando bio-partículas (alginato – quitosano)
- b) Núcleos de crecimiento utilizando partículas minerales (zeolita – carbón activado)

Los núcleos de crecimiento por bio- partículas, fueron desarrollados en el laboratorio. Los que usan partículas minerales, fueron comprados en el mercado, y luego, tamizados para su uso.

La distribución de los medios de soporte en los digestores anaerobios, se realizó de acuerdo a la Tabla 4.3.

Tabla 4.3: Distribución de los medios de soporte inoculados a los digestores anaerobios.

DIGESTOR	MEDIO DE SOPORTE
C-1	Blanco
C-2	Zeolita (Aluminisilicato)
C-3	Carbón activado
C-4	Alginato / Quitosano

### IV.5.3.1.- Perlas de Alginato

#### IV.5.3.1.1.- Método de preparación /Obtención

##### A.- Materiales y reactivos

- Alginato sódico al 2% (peso/volumen)
- $\text{CaCl}_2$  (0.5 M)

##### B.- Proceso de Inmovilización microbiana en alginato

- 1) Preparar 500 ml de la disolución de alginato de sodio al 2%. Para lograr la disolución completa del alginato en agua, se debe calentar la mezcla a una temperatura de  $80^\circ\text{C}$  aproximadamente, con agitación constante, luego enfriar la disolución hasta una temperatura de  $40^\circ\text{C}$ .



Figura 4.25: Preparación de la disolución de Alginato sódico.

- 2) Para preparar la solución de inóculo, se filtró 170 ml de la muestra del lodo anaerobio, extraído del digester C-4, para obtener un licor con bacterias anaerobias.

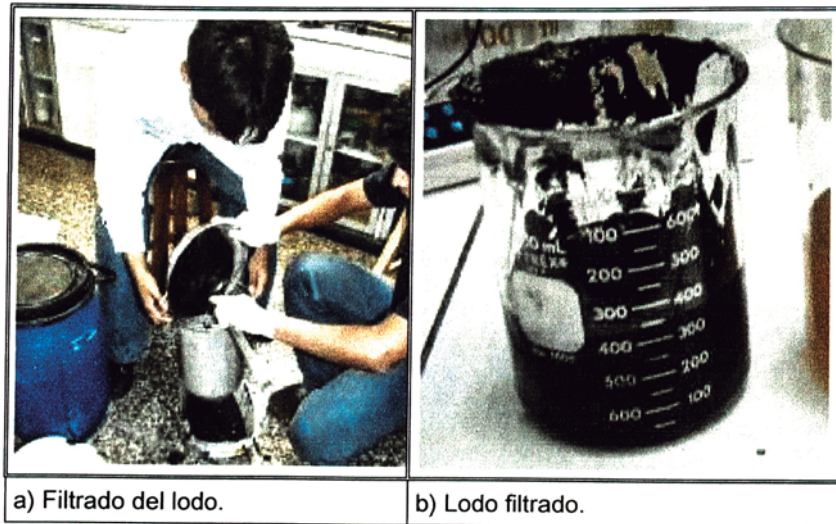


Figura 4.26: Preparación del lodo para la mezcla con alginato.

- 3) Se mezcla el lodo filtrado con la disolución de alginato, con agitación constante.

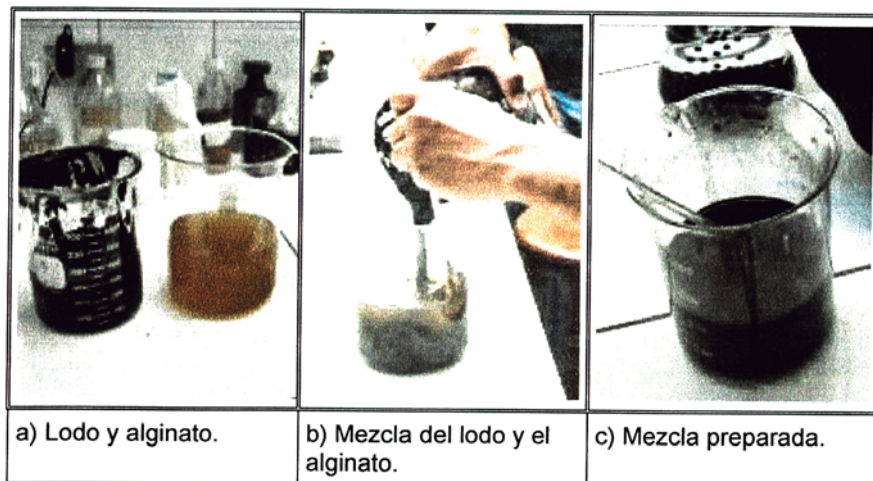


Figura 4.27: Mezcla del lodo con el alginato.

- 4) Extruir la mezcla anterior a través de una jeringa de 20 ml. La extrusión de la disolución del alginato debe llevarse a cabo "gota a gota" y de forma continua.

- 5) Recoger la mezcla extruída en forma de gotas (perlas) en un vaso de precipitado o matr az de 250 ml., que contenga la solución de cloruro de calcio 0.5 M.

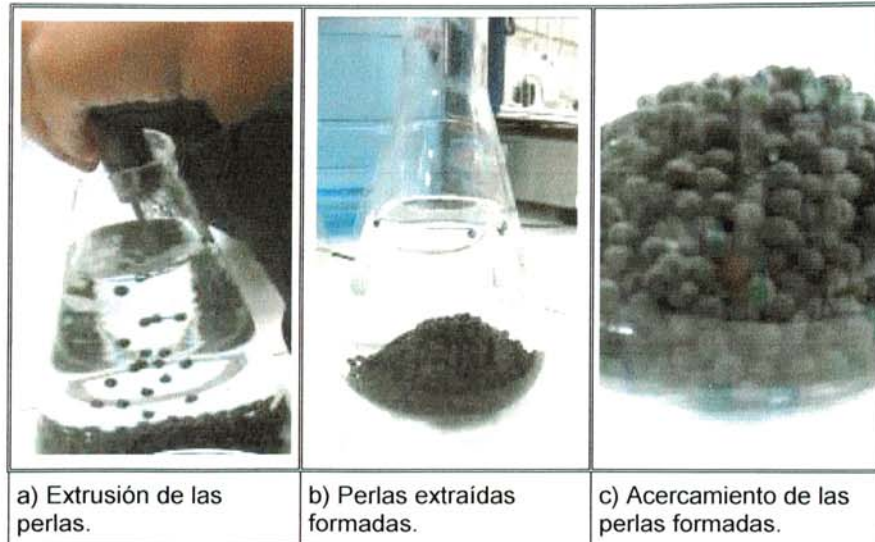


Figura 4.28: Preparación de perlas de alginato.

- 6) Lavar las perlas gelificadas con agua y colocarlas en una solución amortiguadora, para su uso posterior, en la inoculación en el digestor C-4.



Figura 4.29: Tratamiento final de las perlas de alginato.

- 7) Al terminar el proceso, se procedió a tomar muestras de las perlas de alginato para determinar su diámetro y peso promedio. Estos datos se muestran en los resultados.

#### IV.5.3.1.2.- Inoculación

Las perlas formadas y preparadas en el laboratorio de Bioremediación de la Universidad Nacional Agraria La Molina, fueron trasladadas a los digestores ubicados en la planta UNI-TRAR, para la inoculación del digestor C-4, el 10-05-08, siendo el primer medio de soporte inoculado.



Figura 4.30: Inoculación de las perlas de alginato.



#### **IV.5.3.2.- Perlas de quitosano**

Las perlas de quitosano fueron desarrolladas como segunda opción, en la utilización de una bio-partícula como medio de soporte, debido a la falla del alginato. Por tal motivo, el quitosano será inoculado en el digestor C-4.

Las perlas de quitosano, a diferencia de las perlas de alginato, presentan resistencia a medios con una alta concentración de sales.

##### **IV.5.3.2.1.- Método de preparación /Obtención**

###### **A.- Materiales y reactivos**

- Quitosano (Presentación en escamas de grado técnico)
- NaOH (2.5 N)
- Ácido Acético (4% v/v)

###### **B.- Proceso de elaboración de medios de soporte <sup>31</sup>**

- 1) Se tomó 4 ml de ácido acético (grado reactivo) y se prepararon 100ml de solución al 4%.
- 2) Se adicionó 4gr de quitosano en escamas a la solución acida. Para lograr su completa disolución, se procedió a mezclar agitando por 30 min aprox.

---

<sup>31</sup> Procedimiento extraído de: Adsorción de Cu (II) por quitosano en polvo y perlas de gel, Rev. Soc. Quím. Perú, 2005, 71, N° 1, (17-25)



Figura 4.31: Vista de las escamas de quitosano.

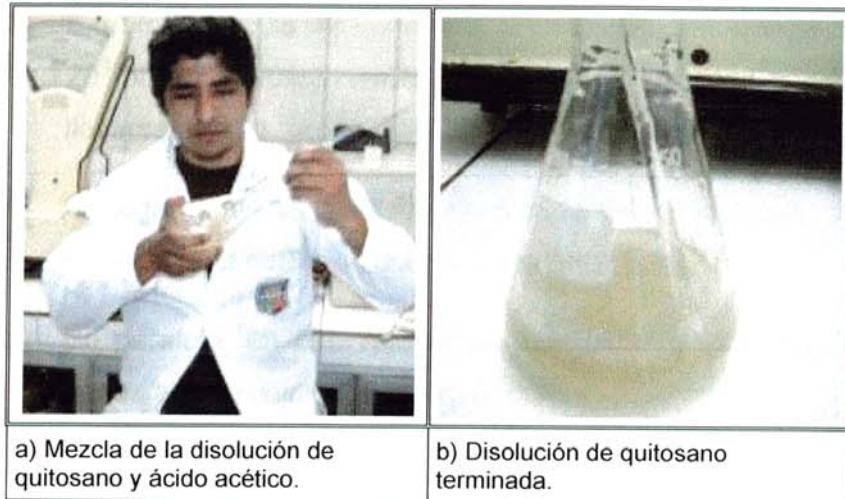


Figura 4.32: Preparación de la disolución de quitosano.

- 3) Se prepara 50 gr. de NaOH en 500 ml (2.5 N).
- 4) Se prepara otra solución de NaOH al 50% (para comparación con la solución 2.5 N).

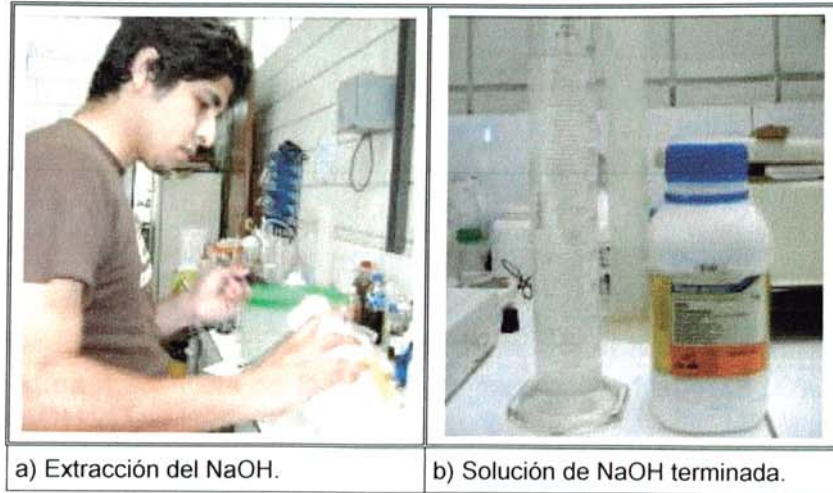


Figura 4.33: Preparación de la solución de NaOH.

- 5) Extruir la mezcla de quitosano a través de una jeringa de 20 ml. La extrusión de la disolución del quitosano, debe llevarse a cabo "gota a gota" y de forma continuada.
- 6) Recoger la mezcla extruida en forma de gotas (perlas), en un recipiente con la solución de NaOH 2.5 N.
- 7) En paralelo, en otro recipiente, agregar otra cantidad de perlas a la solución de NaOH al 50%.

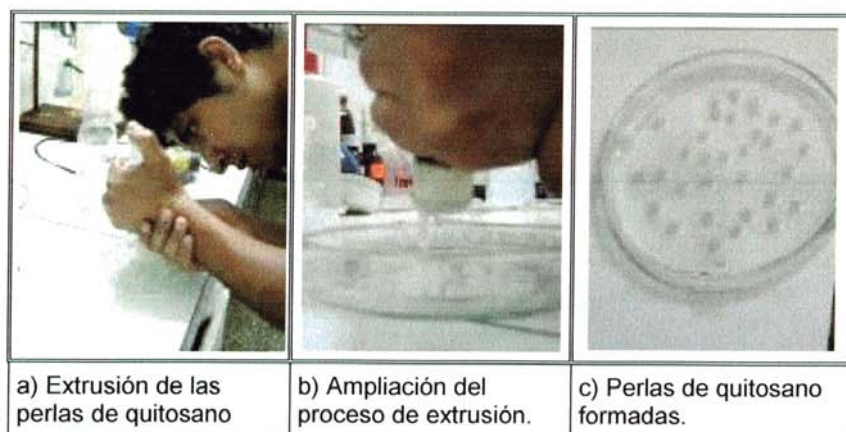


Figura 4.34: Formación de las perlas de quitosano.

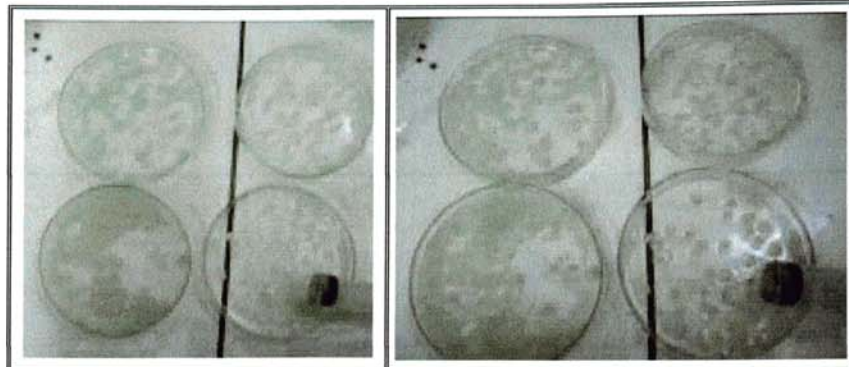


Figura 4.35: Vista de las perlas formadas con NaOH al 50% y NaOH 2.5N.

- 8) Luego que las perlas están gelificadas, agitar en la solución por 12 horas.
- 9) Luego, se procede al lavado de las perlas en agua destilada, para llevarlas a rangos neutros de pH.
- 10) Finalmente, se procedió a tomar muestras de las perlas para determinar su diámetro y peso promedio. Estos datos se muestran en los resultados.

**Observación:** la inmovilización se realizó en dos medios:

- a) se inmovilizó en una solución de NaOH al 2.5N.
- b) se inmovilizó en otra solución de NaOH al 50 %.



a) Lavado de las perlas.

b) Perlas lavadas.

Figura 4.36: Neutralización del pH y lavado de las perlas de quitosano.

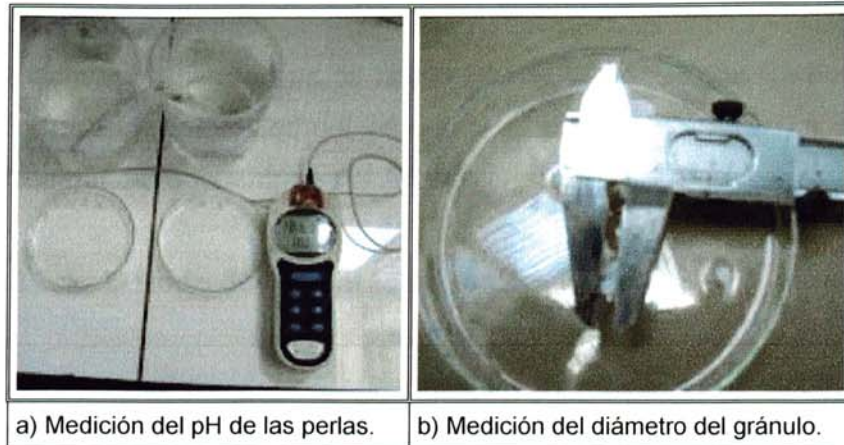


Figura 4.37: Determinación del pH y medición del gránulo.

#### IV.5.3.2.2.- Inoculación

La preparación se realizó los días 21 y 22 de Agosto del 2008, en el laboratorio de Biorremediación de la UNALM. Las perlas formadas fueron trasladadas a UNI-TRAR, donde se realizó inoculación el día 22-08-08, en el digestor C-4.

#### IV.5.3.3.- Carbón Activado

El carbón activado utilizado es de la Marca CALGON (Calgon Carbon Corporation); las propiedades del producto se pueden observar en la ficha técnica que se encuentra en el Anexo 4.

##### IV.5.3.3.1.- Método de Preparación /obtención

###### A.- Tamizado

El carbón activado a utilizarse es el que queda retenido en la malla N° 08 (diámetros entre 2.36 a 3.00 mm). Para ello se tamizo en el laboratorio N° 20 de la FIA tal como se muestra en las siguientes fotos.



Figura 4.38: Clasificación por diámetro del carbón activado.

###### IV.5.3.3.2.- Inoculación

La inoculación del digestor C-3 se realizó el 14 de Julio de 2008, empleando carbón activado de la marca CALGON, siendo el diámetro de los gránulos usados 2.36 a 3.00 mm, diámetros que quedan retenidos en la malla N° 08 según norma ASTM.

Para la inoculación se utilizaron 400 ml de carbón activado, siendo su peso total de 242.2 gr. (densidad seca 0.61 gr /ml.)

Las propiedades del carbón activado utilizado, se presentan en la ficha técnica del producto que se detalla en el Anexo 4.



Figura 4.39: Vista de la inoculación del carbón activado.

#### **IV.5.3.4.- Zeolita**

Debido a que la zeolita en estado mineral solo se consigue en canteras, donde la ceniza volcánica se deposita en lagos, y que esta particularidad no se da en todos los países, la adquisición de este material en estado puro fue difícil.

En el Perú no se vende este mineral, y sumando el hecho que algunas empresas lo importan en sacos no menores a 50 Kg para sus procesos industriales, se buscó obtener el mineral a través de productos procesados.

Es por ello que se compró un producto llamando "Absorsol", fabricado por Sol Minerales S.A. El producto contiene aluminosilicato de calcio y magnesio (zeolita); dicho mineral se vende en forma de gránulos, y, no contiene químicos o aromatizantes que podrían afectar la calidad del producto.

El producto se utiliza en el mercado como "cama para el orin de mascotas", y, comercialmente se le conoce como "cama de gatos", debido: al gran porcentaje de retención de líquidos, a que no pierde consistencia con la humedad, y, absorbe los olores, etc.

La composición del Absorsol así como sus propiedades están indicadas en la ficha técnica del producto (ver Anexo 5).

##### **IV.5.3.4.1.- Método de Preparación /obtención**

###### **A.- Tamizado**

Debido a que la granulometría del Absorsol es variable, se procedió a tamizar el contenido para poder inocular una muestra de diámetro homogéneo. Esto se realizó en el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Ingeniería Civil de la UNI, utilizándose para la inoculación, partículas de 2.36 a 3.00 mm, diámetros que quedan retenidos en la malla N° 08.





Figura 4.40: Vista del absorsol sin tamizar.

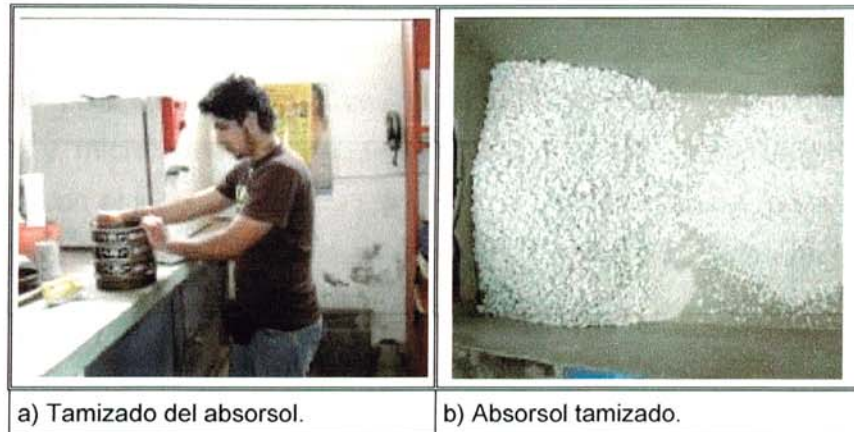


Figura 4.41: Vista de la tamización del absorsol.



Figura 4.42: Vista del absorsol tamizado a emplear (malla N°8).

#### IV.5.3.4.2.- Inoculación

La inoculación de la zeolita en el digestor C-2, se realizó el 12 de Julio de 2008, en la Planta de tratamiento UNI-TRAR, utilizándose para ello la zeolita extraída del producto Absorsol (las propiedades del producto se pueden ver en la ficha técnica del absorsol que se encuentra en el Anexo 5).

Para la inoculación se utilizó partículas de 2.36 a 3.00 mm, diámetros que quedan retenidos en el tamiz de malla N° 08.

Se adicionó 190.6 gramos de *Absorsol* tamizado (densidad seca 0.47 gr/ ml).

De las propiedades de la zeolita, como absorción, intercambio iónico, y, micro y meso poros, se espera que la inoculación de este mineral en el lodo anaerobio, sirva como medio de soporte para el crecimiento de microorganismos y que dicho medio, sirva como precursor para la posterior formación del granulo.

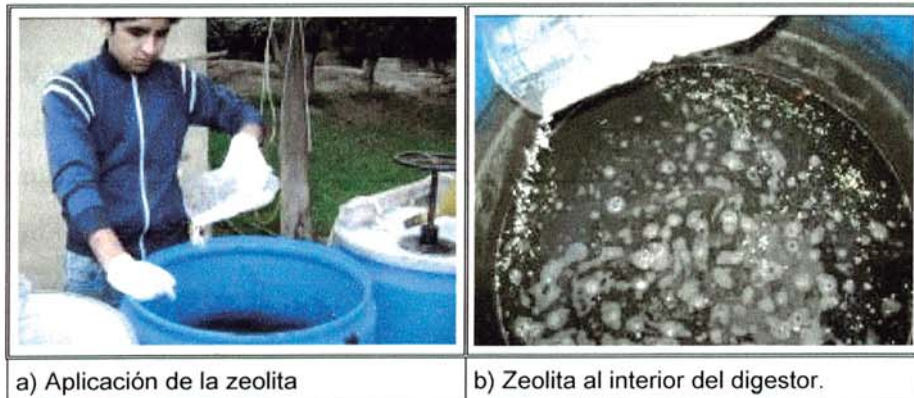


Figura 4.43: Vista de la inoculación de la zeolita (Absorsol).

#### IV.5.4.- TEST DE ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA (AME)

##### IV.5.4.1.- Principio del Test

Según Dolfig e Bloemen, (1985), la aceptación del test de actividad metanogénica específica, como un método confiable para la evaluación de la capacidad máxima de generación de metano, requiere que la tasa de producción de metano debe ser dependiente de la cantidad de lodo biológico en una amplia faja de valores de SSV, o sea, sin la limitación de alimento o nutrientes, la tasa de producción de metano, debe ser linealmente proporcional al número de organismos responsables por la conversión de acetato ó  $H_2 + CO_2$  a metano.

Para ello el test utiliza una concentración de 5 gr SSV/ l por cada 5.0 gr DQO/l en ácidos orgánicos, relación 1:1.

##### IV.5.4.2.- Preparación de soluciones y reactivos necesarios

La preparación del sustrato, consiste en preparar soluciones stock de los nutrientes necesarios.

##### IV.5.4.2.1.- Soluciones Stock de nutrientes

La preparación de las soluciones stock de macronutrientes, micronutrientes, y, medio reductor, se resumen en las siguientes tablas:

Tabla 4.4: Solución de Macro nutrientes.

<b>SOLUCIÓN 1: MACRONUTRIENTES</b>			
NH <sub>4</sub> Cl	170 g/l	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	11.5 g/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	37 g/l	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	8 g/l

Tabla 4.5: Solución de Micro nutrientes.

<b>SOLUCIÓN 2: MICRONUTRIENTES</b>			
FeCl <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O	2000 mg/l	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	90 mg/l
CoCl <sub>3</sub>	1088 mg/l	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	100 mg/l
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	500 mg/l	NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	50 mg/l
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	38 mg/l	EDTA	1000 mg/l
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	106 mg/l	HCl 36%	1 ml/l
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	50 mg/l	Rezazurina	500 mg/l

Tabla 4.6: Medio Reductor.

<b>SOLUCIÓN 3: MEDIO REDUCTOR</b>	
Na <sub>2</sub> S.9H <sub>2</sub> O	100 mg/l

#### IV.5.4.2.2.- Solucion Stock de ácidos orgánicos

La preparación de la solución stock de los ácidos orgánicos se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 4.7: Solución de ácidos orgánicos.

<b>ÁCIDOS ORGÁNICOS</b>	<b>g/l</b>	<b>DQO (g/l)</b>
Acético	28	29.78
Propiónico	28	41.96
Butírico	28	50.40

La mezcla de los ácidos, tendrá una concentración de 122.14 g DQO/l. Luego, para lograr la concentración deseada de 5 g DQO/l, se diluye una alícuota de 6.2 ml de la mezcla obtenida de los ácidos en 150 ml.

#### **IV.5.4.3.- Desarrollo del test de AME**

Antes de iniciar el test de AME, se debe conocer la concentración de STV de la muestra de lodo a utilizarse.

Luego se procede de la siguiente manera:

- 1) Se tomó una muestra de lodo en un vaso Bécker de tamaño apropiado, cuyo volumen contenía el equivalente a 0.75 g de STV del lodo.
- 2) Al lodo, se agregó 2.0 ml de la solución de macro nutrientes, 0.25 ml de la solución de micronutrientes, 0.1 ml de la solución del medio reductor al 10 %, y agua destilada hasta completar un volumen de 144 ml.
- 3) Se pasó el contenido a un frasco de digestión (botellas de 1 l), se agregó 6.2 ml de la mezcla de ácidos para completar los 150 ml del lodo y los medios en el frasco.
- 4) Se introdujo un flujo de gas Nitrógeno al 100% durante 10 minutos, para desplazar el aire.
- 5) Los frascos, con sus respectivos tapones, fueron sellados con silicona.
- 6) Se calibró el baño María a una temperatura de 35 °C.
- 7) Luego, los frascos digestores fueron conectados por mangueras a los frascos de lavado de gas (los cuales estaban llenos con una solución de NaOH al 5%), para retener el CO<sub>2</sub> producido en el sistema. El ingreso del gas a cada frasco de lavado, se hizo por medio de agujas insertadas a través del tapón de jebe. La salida del gas lavado, se hizo por medio de un tubo de vidrio.
- 8) Luego el gas lavado pasó a un gasómetro para medir la producción del metano, midiendo el volumen de agua desplazada.

- 9) Se descarta las primeras lecturas de desplazamiento de líquido, ya que se están equilibrando las presiones que se dan dentro del sistema por el nitrógeno inyectado.

La actividad metanogénica específica fue calculada conforme la ecuación descrita por Soares e Hirata (1997). La ecuación utilizada, considera que a 35°C, 395 ml de gas metano producido corresponde a 1 gr de DQO consumida (Speece, 1996),

$$AME_{\max} = \frac{r_{\max} \times 24}{V \times SV} \left( \frac{\text{gr DQO} - CH_4}{\text{gr SV} \times \text{dia}} \right)$$

Donde:

r = velocidad máxima de producción de metano en gr DQO-CH<sub>4</sub> / hora.

24 = 24 horas/día

V= Volumen del medio utilizado en litros.

STV = concentración de lodo en gr STV/l

#### **IV.5.5.- DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN LOS MEDIOS DE SOPORTE**

El fenómeno de granulación con núcleos de crecimiento, podría considerarse como un simple fenómeno de incremento del espesor del biofilm. Por lo tanto, el proceso de granulación de lodos, en los reactores UASB, con adición de partículas inertes, podría interpretarse como el fenómeno de la formación de biofilm, de acuerdo a lo expuesto en el ítem “II.7.3: *mejoramiento de la granulación por los núcleos de crecimiento*”, en el capítulo III.

Para demostrar la formación del granulo, es necesario determinar la presencia de microorganismos anaerobios en los poros, y en la superficie de los medios de soporte, para lo cual se procedió de acuerdo a los tres métodos siguientes:

- a) Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, sin tratamiento previo de lavado de la muestra.
- b) Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, con tratamiento previo de lavado de la muestra.
- c) Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, empleando técnicas histológicas de cortes micrométricos.

#### IV.5.5.1.- Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, sin tratamiento previo de lavado de la muestra

Para la determinación de la presencia de microorganismos bajo este método, a continuación se detalla el procedimiento aplicado para cada uno de los tres medios de soporte a analizar.

##### IV.5.5.1.1.- Perlas de quitosano sin previo lavado

El procedimiento se describe a continuación:

- 1) Se extrajo una cierta cantidad de perlas de una pequeña muestra de lodo.

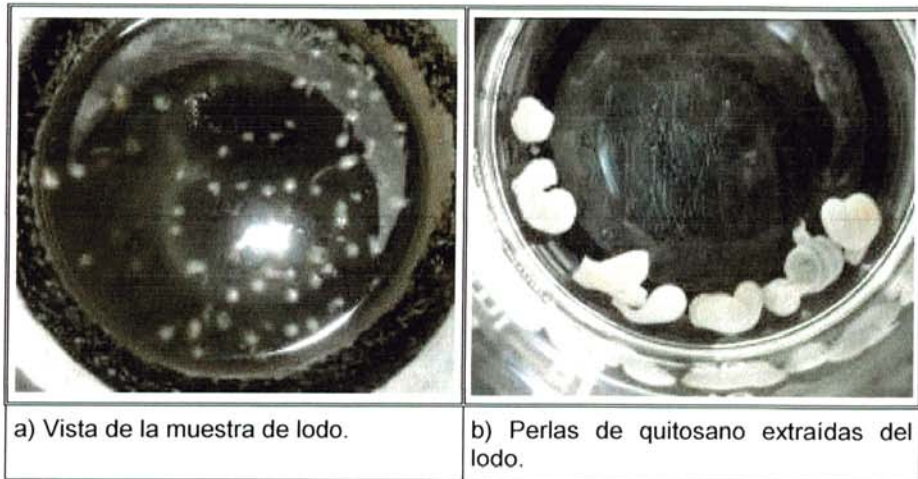


Figura 4.44: Vista de la muestra de perlas de quitosano.

- 2) Se separó una perla de quitosano y se cortó por la mitad.



Figura 4.45: Vista del corte de perlas de quitosano.



- 3) Luego se extrajo una pequeña porción de la parte central de la perla, se frotó y esparció en un portaobjeto.
- 4) Finalmente se fijó con calor y se le realizó la tinción de Gram.

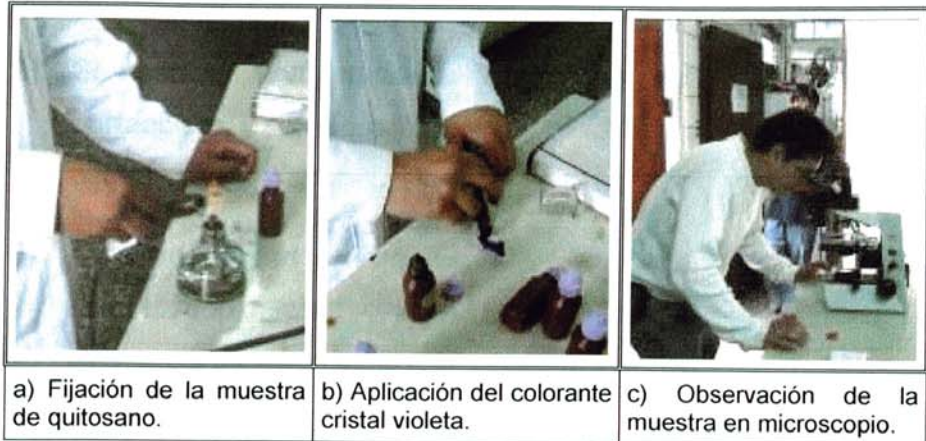


Figura 4.46: Coloración Gram de perla de quitosano sin previo lavado.

- 5) La determinación de la presencia de los microorganismos, se hizo por observación en el microscopio (ver en el capítulo V: resultados, ítem V.2.1)

#### IV.5.5.1.2.- Carbón activado sin previo lavado

El procedimiento se describe a continuación:

- 1) Se extrajo una cierta cantidad de partículas de carbón activado de una pequeña muestra de lodo.
- 2) Se separó una partícula de carbón activado sobre un portaobjeto, y se fragmentó en trozos, con ayuda de dos agujas esterilizadas.
- 3) Los trozos en su portaobjeto, fueron llevados a un estereoscopio, para observar su morfología y determinar la existencia de algún biofilm en el borde exterior.

Cabe resaltar que por la dificultad de fragmentar las partículas, ya no fue posible aplicar la tinción de gram, tanto al carbón activado como a la zeolita.



Figura 4.47: Fragmentación de una partícula de carbón activado.

#### **IV.5.5.2.- Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, con tratamiento previo de lavado de la muestra**

La determinación de la presencia de microorganismos bajo este método, sólo fue aplicada a la muestra que contenía como medio de soporte las perlas de quitosano. A continuación se detalla el procedimiento.

##### **IV.5.5.2.1.- Perlas de quitosano con previo lavado**

El procedimiento se describe a continuación:

- 1) Se extrajo una cierta cantidad de perlas de una pequeña muestra de lodo.
- 2) Se enjuagaron tres veces con agua destilada en un vaso de precipitación.
- 3) Luego se lavó por espacio de dos minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 0.016%.



Figura 4.48: Perlas de quitosano, luego de ser lavadas.

- 4) Se separó una perla de quitosano y se cortó por la mitad.
- 5) Luego se extrajo una pequeña porción de la parte central de la perla, se frotó y esparció en un portaobjeto.
- 6) Finalmente se fijó con calor y se le realizó la tinción de Gram.
- 7) La determinación de la presencia de los microorganismos, se hizo por observación en el microscopio (ver en resultados).

#### **IV.5.5.3.- Determinación de la presencia de microorganismos en el medio de soporte, empleando técnicas histológicas de cortes micrométricos**

La determinación de la presencia de microorganismos bajo este método, se realiza a través de la observación en microscopio, de las tinciones realizadas a los cortes micrométricos de los medios de soporte usados (quitosano, carbón activado y zeolita).

El desarrollo de la identificación se inicia con la preparación de los cortes micrométricos (metodología que varía según el medio de soporte a procesar).

Para los medios de soporte relativamente duros, como el carbón activado y la zeolita, se realiza un previo proceso de ablandamiento. Una vez obtenidos los cortes micrométricos (cortes de 3 a 4  $\mu\text{m}$ ), se realizan las tinciones respectivas para determinar la presencia de los microorganismos. Las tinciones utilizadas fueron:

- Tinción HE (Hematoxilina–Eosina), para la identificación de la estructura de los microorganismos.
- Tinción Gram: para la identificación del tipo de Gram al que pertenecen.

Los procedimientos utilizados para la identificación de microorganismos (preparación de cortes y métodos de tinción), fueron realizados por un tecnólogo médico, especialista en cortes histológicos.

Para poder entender e interpretar los resultados de las tinciones, es necesario conocer los procedimientos desarrollados para la determinación de la presencia de microorganismos, los cuales se detallan a continuación.

#### **IV.5.5.3.1.- Procedimiento para realizar los cortes micrométricos**

A continuación, se describe el procedimiento empleado para realizar los cortes micrométricos ultrafinos, de 3 a 4  $\mu\text{m}$ :

- 1) Se extrajo una muestra de lodo que contenía el medio de soporte, se envolvió en papel y se puso a fijar en formol al 10%, por 12 horas, a una temperatura de 60° C.
- 2) Se fijó la muestra por deshidratación, para poder embeberla en un medio de inclusión no hidrosoluble. Para ello, se deshidrató la muestra empleando una gradación ascendente de alcoholes (75°, 80°, 95°, y 100 por 100 -grado absoluto).
- 3) Luego se procedió al aclaramiento o desalcoholización, para sustituir el agente deshidratante por una sustancia miscible con el medio de inclusión, utilizándose Xileno I, Xileno II y xileno III.
- 4) Se procedió a infiltrar la muestra con parafina; el proceso radica en la ocupación completa de los espacios intra y extracelulares disponibles.
- 5) De la infiltración con parafina, se obtiene un bloque sólido (muestra mas el medio de inclusión).



Figura 4.49: Vista de los bloques de parafina con los medios de soporte incluidos.

- 6) Luego, se procedió a realizar los respectivos cortes micrométricos en un micrótopo de rotación tipo Minot.

- 7) La sección cortada, pasó por un baño de agua con alcohol, en un baño Maria a 53°C, para desparafinar e hidratar.
- 8) La sección cortada, se recogió en un portaobjetos y se dejó secar.
- 9) La muestra ya preparada, quedó lista para realizar la tinción respectiva.



Figura 4.50: Vista de la muestra de los cortes micrométricos listos.



Figura 4.51: Vista del micrótopo empleado  
(De rotación, tipo Minot, marca American Optical).

#### **IV.5.5.3.2.- Tinciones**

Se utilizaron dos tipos de tinciones para la identificación de los microorganismos:

- la tinción HE (Hematoxilina - Eosina), para la identificación de estructuras, y
- la tinción Gram para identificar a que grupo pertenecen y su morfología.

#### **A.- Procedimiento para la tinción HE (Hematoxilina – Eosina)**

- 1) Se tiñó la muestra con hematoxilina de Harris durante 2 minutos.
- 2) Luego se lavó en agua corriente.
- 3) Se diferenció en alcohol ácido al 1 por 100, por un lapso de 5 a 30 segundos.
- 4) Luego se procedió a azular en agua corriente (también pudo ser cualquier otro agente de azulamiento) durante 5 minutos.
- 5) Se tiñó con eosina durante 2 minutos.
- 6) Se lavó en agua corriente (en caso de eosina alcohólica, lavar y diferenciar en etanol al 70 por 100).
- 7) Se deshidrató y aclaró (el término aclarar, no necesariamente significa hacer transparente el tejido, sino, se trata de la sustitución del agente deshidratante por una sustancia miscible con el medio de inclusión).

### **B.- Procedimiento para la tinción Gram**

- 1) Se colocaron las placas preparadas con los cortes micrométricos.
- 2) Se agregó cristal violeta sobre la muestra, esperando por 2 minutos.
- 3) Se enjuagó con agua.
- 4) Se agregó lugol, esperando por 2 minutos.
- 5) Se enjuagó con agua.
- 6) Se agregó alcohol cetona y se esperó 15 segundos.
- 7) Se enjuagó con agua.
- 8) Se agregó safranina, esperando por 1 minuto.
- 9) Finalmente, se enjuagó con agua.



#### **IV.5.6.- DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN DE LOS MEDIOS DE SOPORTE**

Para todos los casos de los medios de soporte aplicados, las partículas sometidas a la prueba de sedimentación, fueron consideradas como discretas, debido a que al sedimentar no varían sus características (forma, densidad, tamaño).

Para la determinación de la velocidad de sedimentación promedio de cada uno de los medios de soporte (perla de quitosano, partícula de carbón activado y partícula de zeolita), se procedió de la misma manera para los tres casos. A continuación se detalla el procedimiento:

1. Se llenó una probeta con agua de caño.
2. Se marcó la probeta 10 cm por debajo del nivel de agua, y otra marca a 30 cm por debajo de la primera.
3. Se aislaron en un frasco cuatro partículas del medio de soporte a analizar.
4. Se soltó una partícula por vez, encendiendo el cronómetro al momento en que esta pase al nivel de la primera marca.
5. Luego se detuvo el cronómetro, cuando la partícula pasó por la segunda marca, 30 cm abajo de la primera.
6. El proceso se repitió tres veces más (haciendo un total de cuatro veces) con otras tres partículas del mismo medio de soporte.
7. Luego se procedió a calcular la velocidad promedio de sedimentación del medio de soporte en análisis.

Este proceso se repitió para cada uno de los medios de soporte.

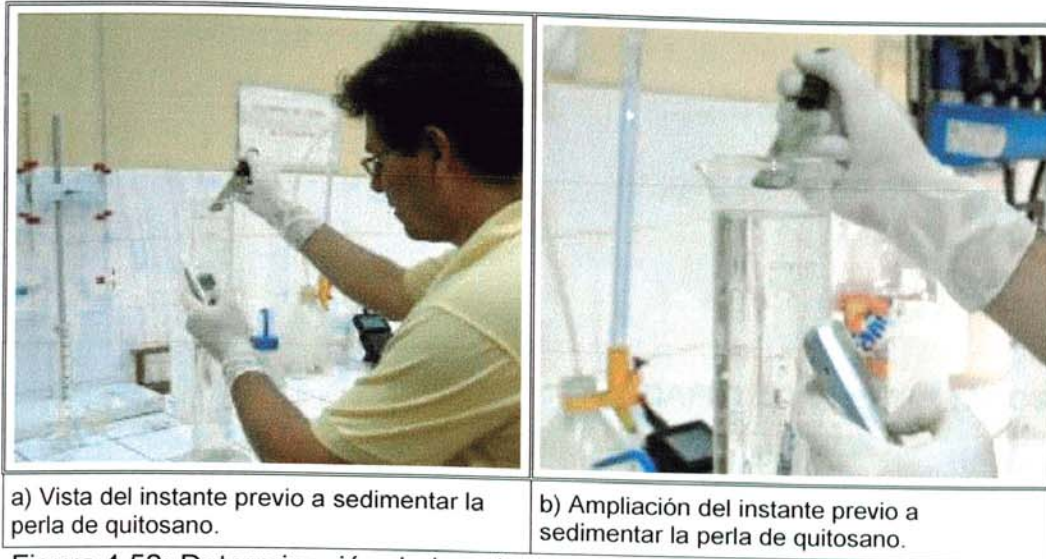


Figura 4.52: Determinación de la velocidad de sedimentación.

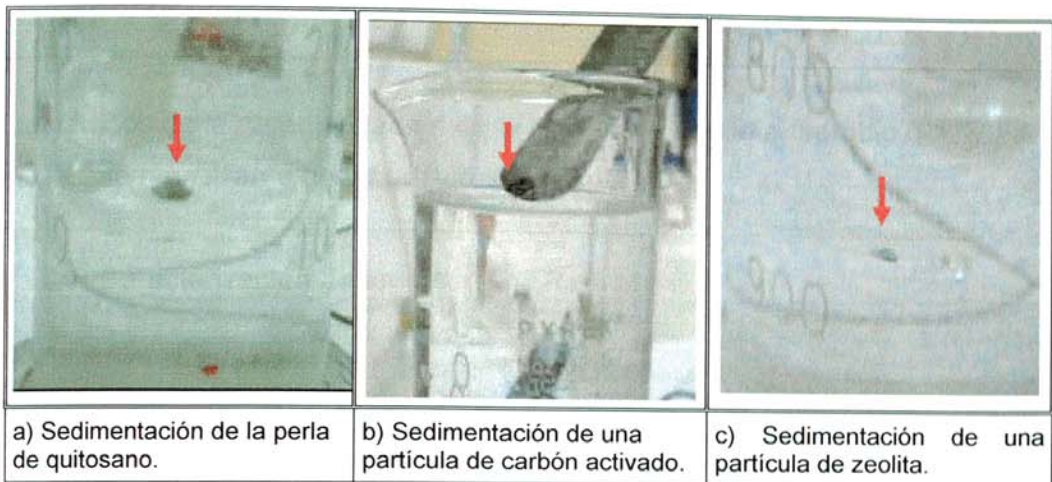


Figura 4.53: Vista de la sedimentación de los tres medios de soporte.

## CAPÍTULO V: RESULTADOS

### V.1.- RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DEL LODO ANAEROBIO

Los resultados de la caracterización de la muestra del lodo anaerobio del RAFA de la UNI, se muestran a continuación, en la Tabla 5.1:

Tabla 5.1: Caracterización de lodo del RAFA de UNI-TRAR

Nº	Ph	T (°C)	Sólidos Totales			DQO (mg/l)	AME (gr CH <sub>4</sub> -DQO/gr SSV.d)
			ST (g/l)	SV (g/l)	SF (g/l)		
1	7.10	24.00	100.83	48.50	52.33	139400.00	4.320
2	7.10	24.00	102.22	49.50	52.71	139400.00	4.208
<b>Prom</b>	<b>7.10</b>	<b>24.00</b>	<b>101.53</b>	<b>49.00</b>	<b>52.52</b>	<b>139400.00</b>	<b>4.264</b>

Fecha de elaboración: 07/03/08 – Laboratorio FIA-UNI.

## **V.2.- RESULTADOS DE LA OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES**

### **V.2.1.- COMPORTAMIENTO DE LOS PARÁMETROS AMBIENTALES Y DE CONTROL**

#### **RESPECTO AL ALGINATO:**

La DBO<sub>5</sub> para el digestor C-4, en todo el periodo de operación, tuvo un leve incremento, al igual que los demás digestores, indicando de esta manera que la inoculación de las perlas y su posterior deshidratación no afectaron el parámetro.

La DQO del digestor C-4, antes de la inoculación del alginato, era de 23.59 gr/l; luego de 9 días de la inoculación, presentó un valor de 79.31 gr/l (valor pico máximo), para luego descender a 45.45 gr/l, valor alcanzado a los 13 días de inoculadas las perlas. Este valor pico sólo se observó en el digestor C-4, ya que los demás digestores, para el mismo período, presentaron valores de DQO que variaron desde  $26.28 \pm 5.62$  gr/l, antes de la inoculación, hasta  $42.71 \pm 2.73$  gr/l a los 13 días de inoculado el alginato.

El %SSV/SST se incrementó a los 2 días de haber sido inoculado el alginato, registrando un valor del 61%, para luego descender en forma constante hasta 45% (al 13<sup>vo</sup> día de su inoculación).

La DBO, antes de la inoculación, era de 19.06 gr/l. Luego, a los 9 días de inocular el alginato, se incrementó a 35.83 gr/l, para luego descender hasta 30.18 gr/l (valor obtenido a los 13 días de inoculado). Luego de esto, no se registró un aumento significativo.

La temperatura del lodo incrementó en 1.6 °C (de 19.5 °C, antes de la fecha de inoculación, hasta 21.1 °C, a los 9 días de inoculado), para luego descender en forma constante hasta 16.9 °C. (valor obtenido a los 13 días de inoculado).

Luego de 13 días de inoculado el alginato, el pH se mantuvo casi constante, registrando un valor promedio de  $7.73 \pm 0.18$ .

La conductividad del lodo del digestor C-4 fue de  $7.54 \text{ mS/cm}^2$ .

Desde la fecha de inoculación, hasta 43 días después, no se registró alguna variación significativa en la actividad metanogénica específica de lodo (AME), para el digestor C-4.

#### **RESPECTO AL QUITOSANO:**

Luego de la inoculación del Quitosano, el digestor C-4, mostró un incremento sostenido de la DQO, en el periodo comprendido del 13<sup>avo</sup> al 25<sup>avo</sup> día de inoculado, alcanzando un valor máximo de  $46.01 \text{ gr/l}$ , para luego descender a  $30 \text{ g/l}$  a los 40 días de inoculado.

En la curva %DBO/DQO, se observa un incremento sostenido de dicho valor, a partir del 13<sup>avo</sup> día de inoculado el quitosano, hasta el término del estudio.

El %SSV/SST, registró una disminución en 11.28%, medido desde 1 día antes de la inoculación (51.64 %), hasta el 25<sup>avo</sup> día después de inoculado (40.36%). Luego mostró una recuperación, llegando hasta 63.23%, valor registrado a los 40 días de inoculado el quitosano.

La  $\text{DBO}_5$  disminuyó, llegando a  $913.4 \text{ mg/l}$  a los 13 días de la inoculación. Luego se recuperó, llegando hasta  $3140 \text{ mg/l}$ , valor registrado a los 25 días de inoculado el quitosano.

La temperatura del lodo, llegó a  $16.5 \text{ }^\circ\text{C}$  como valor mínimo, a los 12 días de inoculado el quitosano, para luego incrementarse en forma continua hasta el final de estudio.

El pH, se mantuvo casi constante luego de inoculado el quitosano, registrando un valor promedio de  $7.7 \pm 0.2$ , hasta el final del periodo de estudio.

#### **RESPECTO AL CARBÓN ACTIVADO GRANULAR:**

La DBO, presentó un comportamiento oscilatorio luego de la inoculación, alcanzando un valor promedio de  $2608.9 \pm 538.8$  mg/l.

La DQO, también tiene un comportamiento oscilante, desde los 33 días hasta los 71 días de inoculado el carbón, presentando un valor promedio de  $30686.7 \pm 1526.4$  mg/l. Luego el valor de la DQO se incrementó, llegando a su valor pico de  $51447.8$  mg/l, a los 83 días de inoculado, para descender luego a  $26319.3$  mg/l a los 108 días.

El %SSV/SST presentó un valor de 50.67% a los tres días de inoculado, incrementándose levemente hasta 52.74%, a los 51 de inoculado.

El comportamiento del %DBO/DQO, presentó durante todo el proceso, luego de inoculado el Carbón Activado Granular, un valor promedio de  $8.09\% \pm 3.22\%$ .

La temperatura del lodo, fluctuó alrededor de  $17.13 \pm 0.37$  °C, desde la inoculación, hasta 50 días después, para luego incrementarse al final del estudio.

El comportamiento del pH, estuvo alrededor de  $7.61 \pm 0.19$  durante todo el período desde que se inoculó hasta el final.

#### **RESPECTO A LA ZEOLITA:**

El %SSV/SST, mostró luego de la inoculación, un valor promedio de  $50.12\% \pm 0.72$ . A partir del día 39 de haber sido inoculado, se observa un

incremento de 12.39%, llegando al valor de 62.06%, a los 80 días de inoculado.

El %DBO/DQO, se mantiene sin variación hasta el día 65 de inoculado, registrando un valor promedio de  $6.41\% \pm 1.13\%$ , para luego disminuir en 3.27%.

La  $DBO_5$ , registra un promedio de  $2588.2 \pm 415.2$  mg/l durante todo el periodo, luego de inoculado.

La DQO, presenta un comportamiento oscilante, mostrando un valor pico de 56.86 gr/l a los 12 días de inoculado, para luego descender a 33.63 gr/l a los 65 días de inoculado, mostrando una recuperación al final del estudio.

La temperatura, registra un valor promedio de  $17.25 \pm 0.45^\circ$  C, durante el periodo comprendido entre los días 5 y 52 de inoculada la zeolita, para luego incrementarse a  $19^\circ$  C al final del periodo de estudio.

El pH durante todo el proceso de inoculación se mantuvo dentro del rango  $7.65 \pm 0.15$ .

Las gráficas mostradas a continuación, muestran el comportamiento de los siguientes parámetros: SST, SSV,  $DBO_5$ , DQO, ph, temperatura, %SSV/SST, % $DBO_5$ /DQO,  $DBO_5$ /SSV, y producción mensual de biogás.

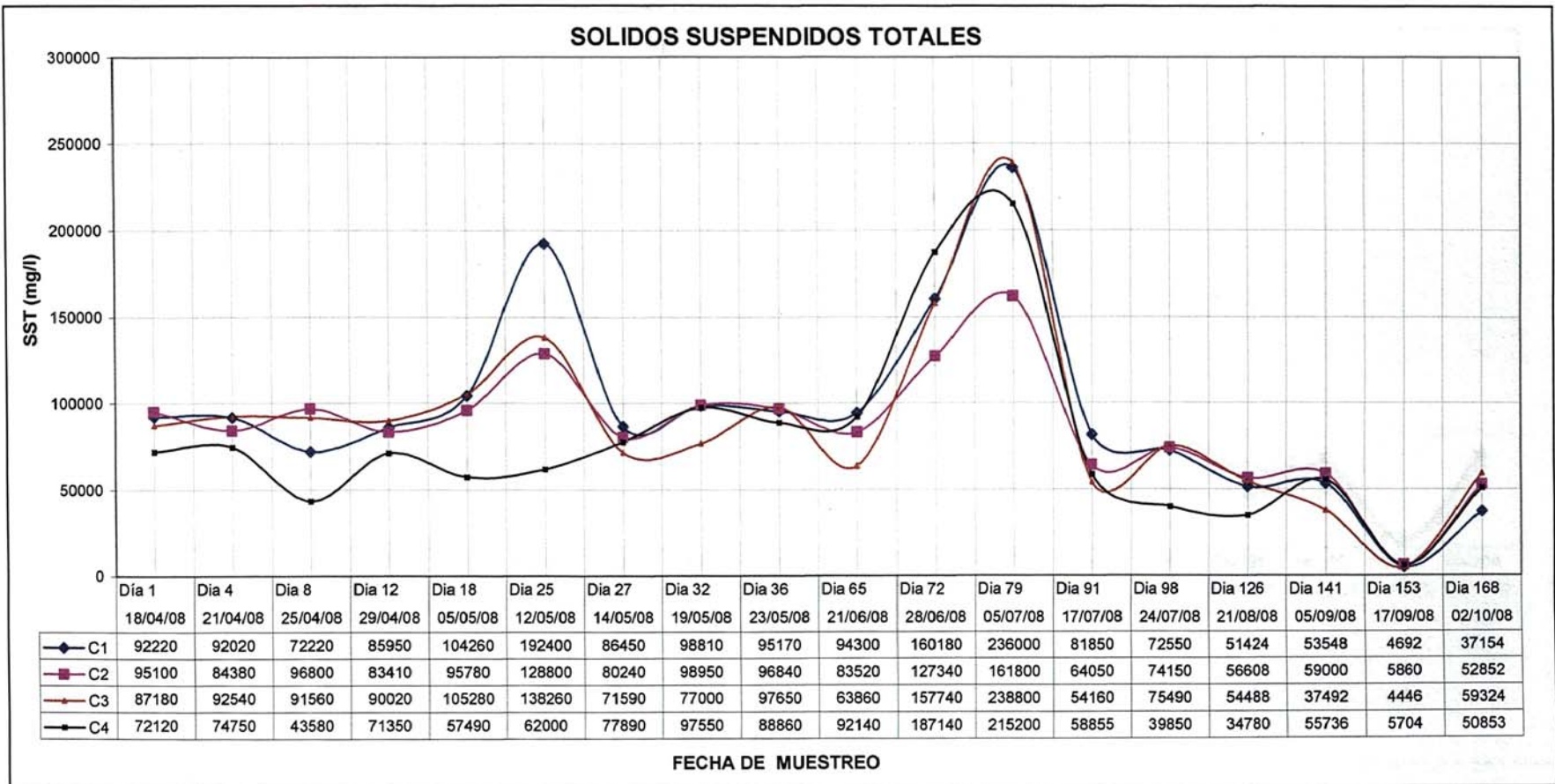


Figura 5.1: Gráfica del comportamiento de los SST.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).



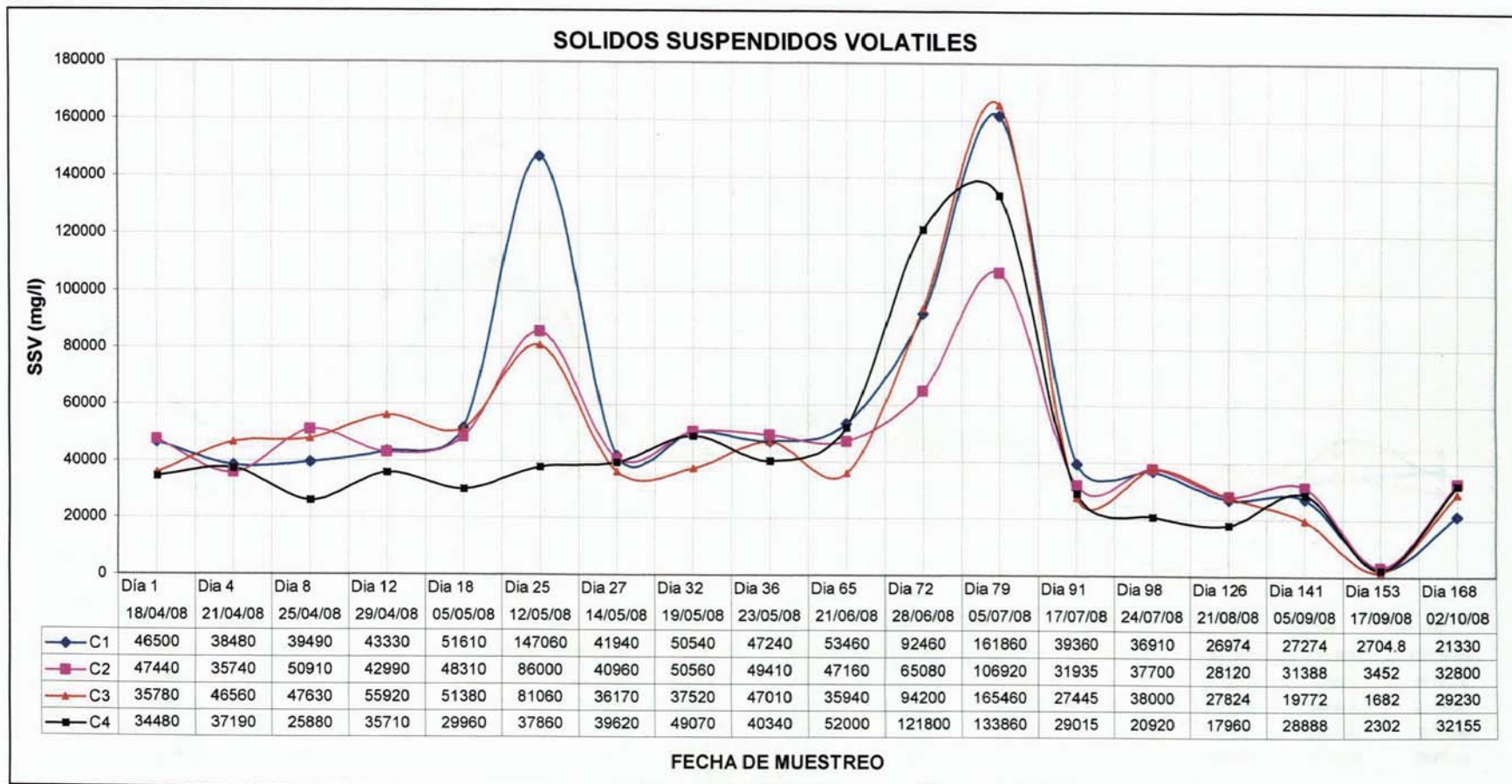


Figura 5.2: Gráfica del comportamiento de los SSV.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

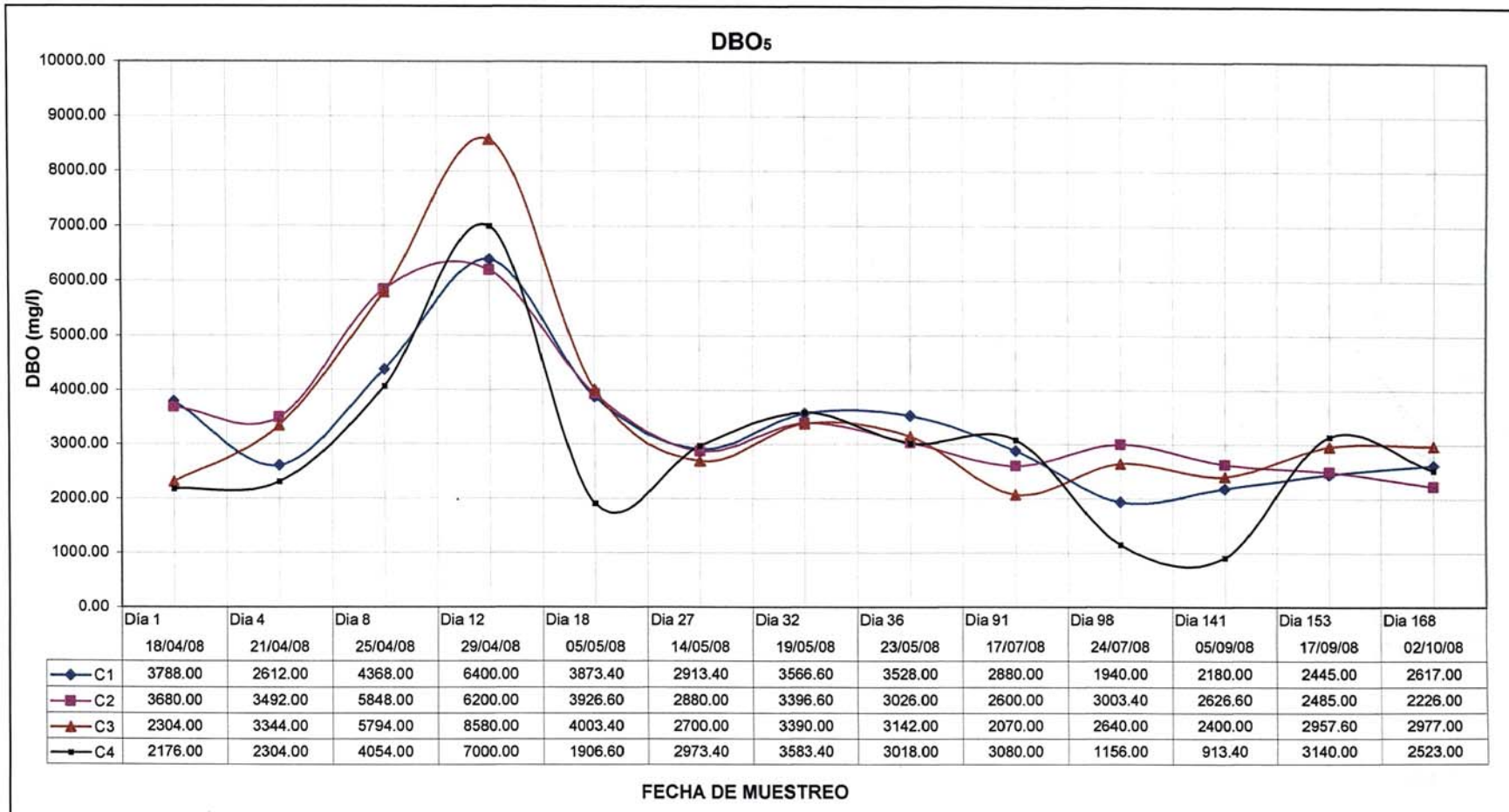


Figura 5.3: Gráfica del comportamiento de la DBO<sub>5</sub>.  
 C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

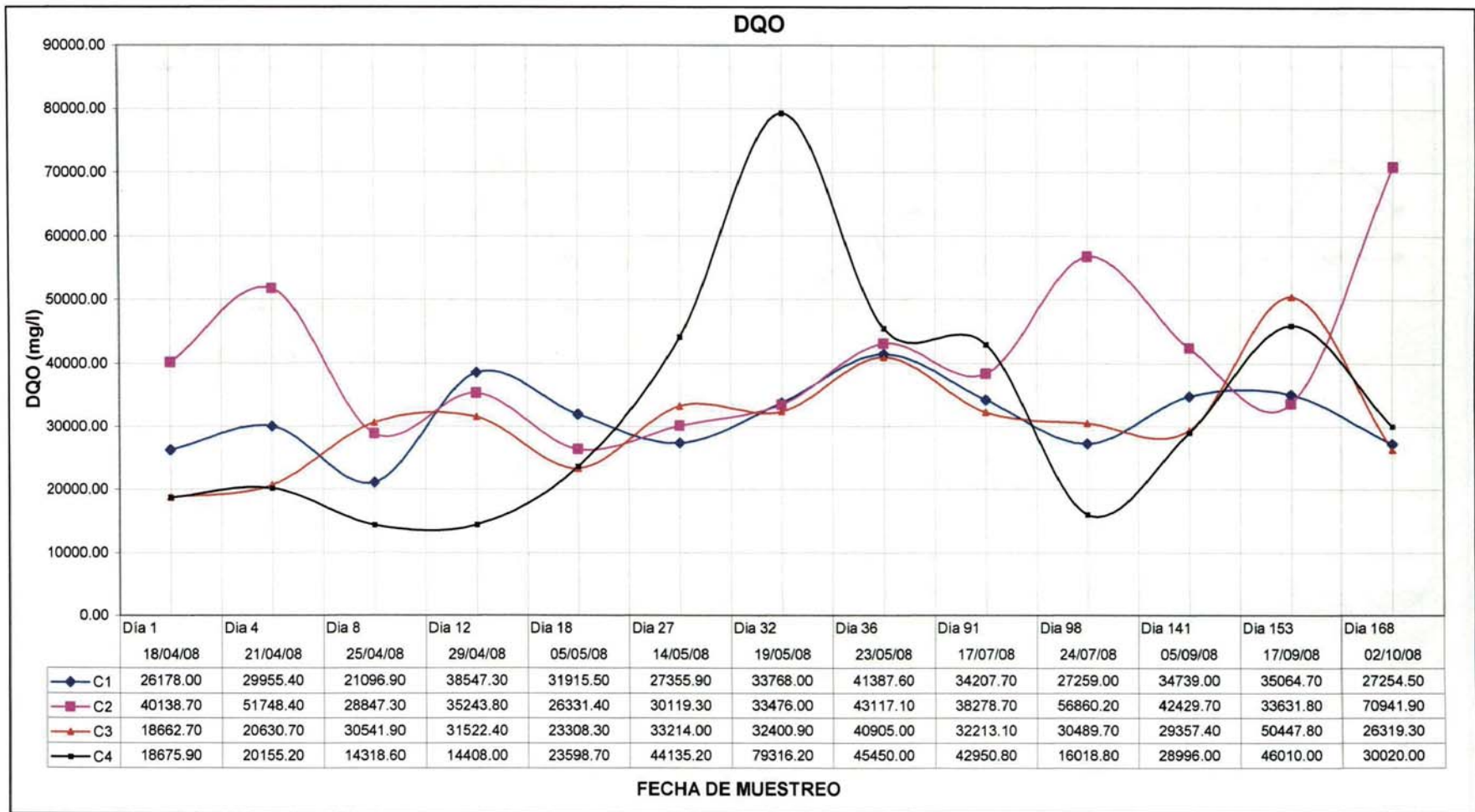


Figura 5.4: Gráfica del comportamiento de la DQO.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosaño).

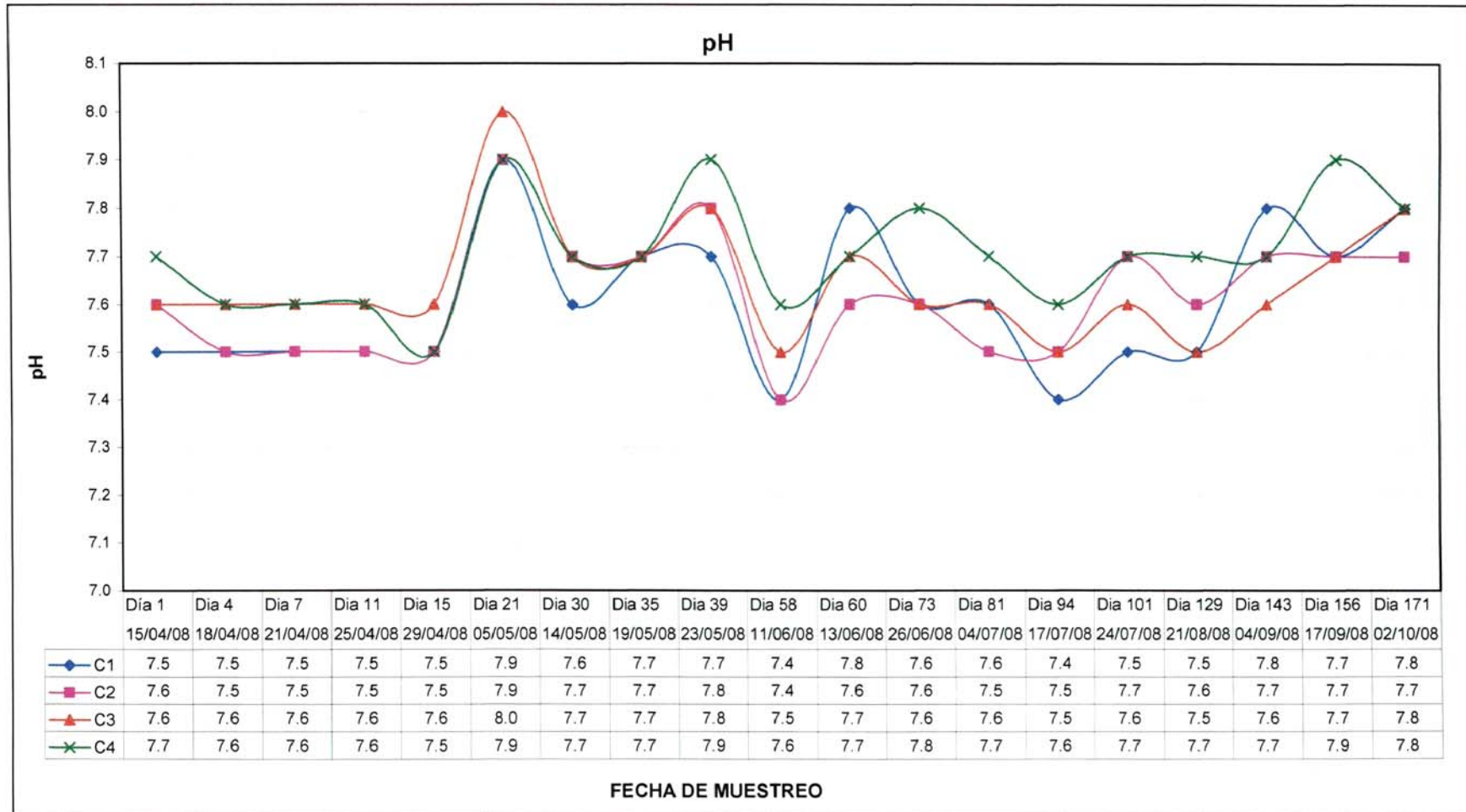


Figura 5.5: Gráfica del comportamiento del pH.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

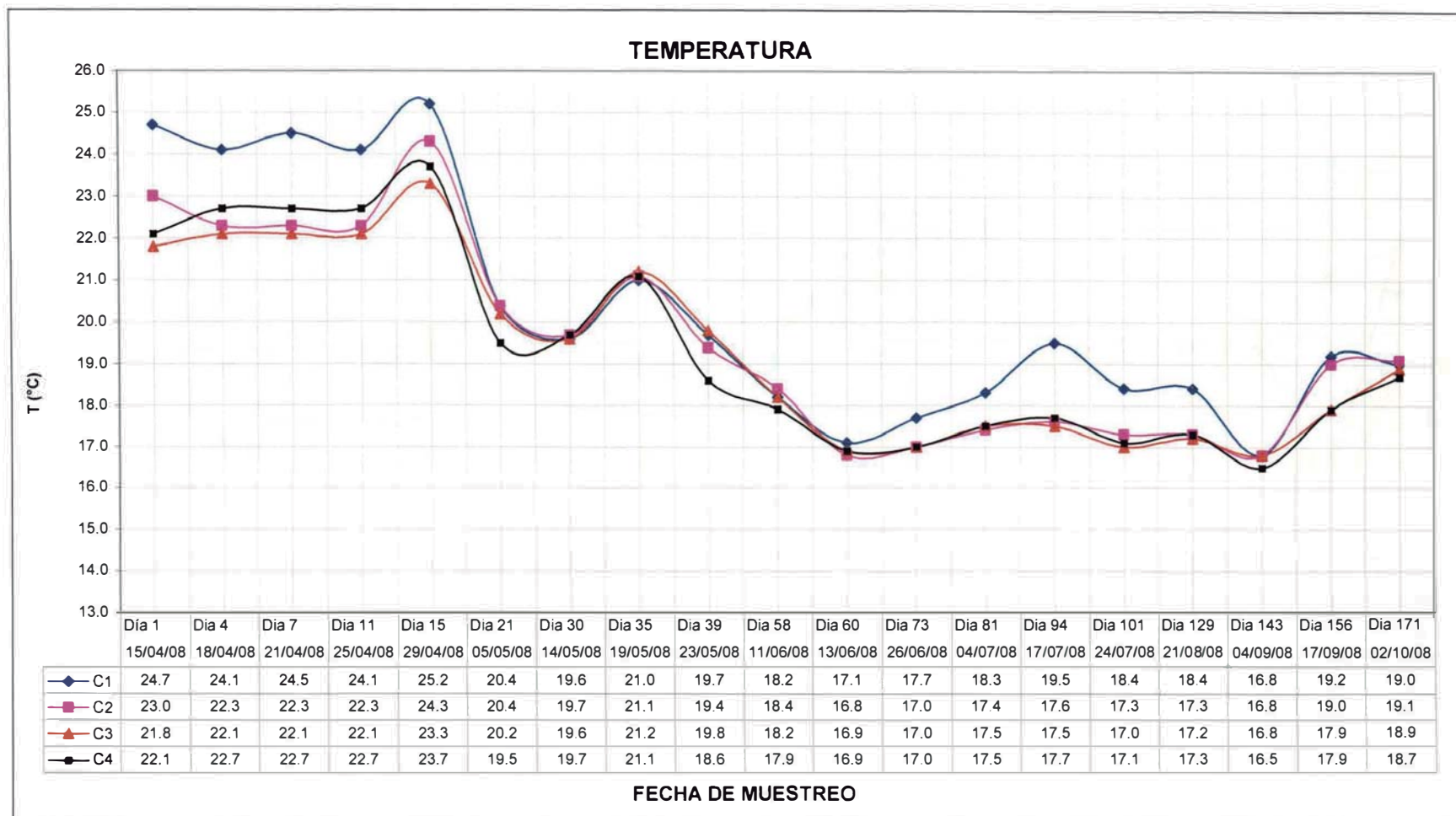


Figura 5.6: Gráfica del comportamiento de la Temperatura.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

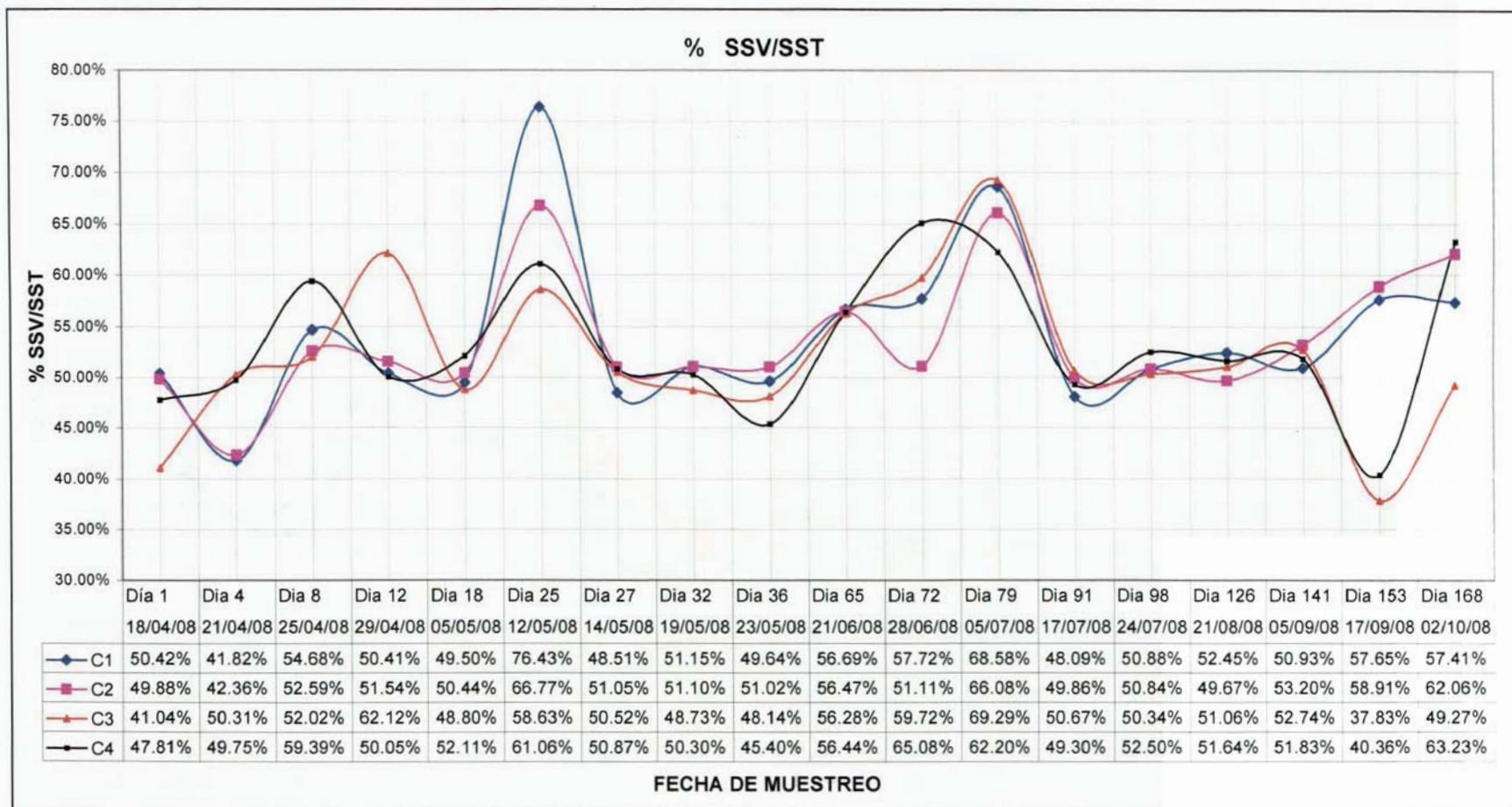


Figura 5.7: Gráfica del %SSV/SST.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

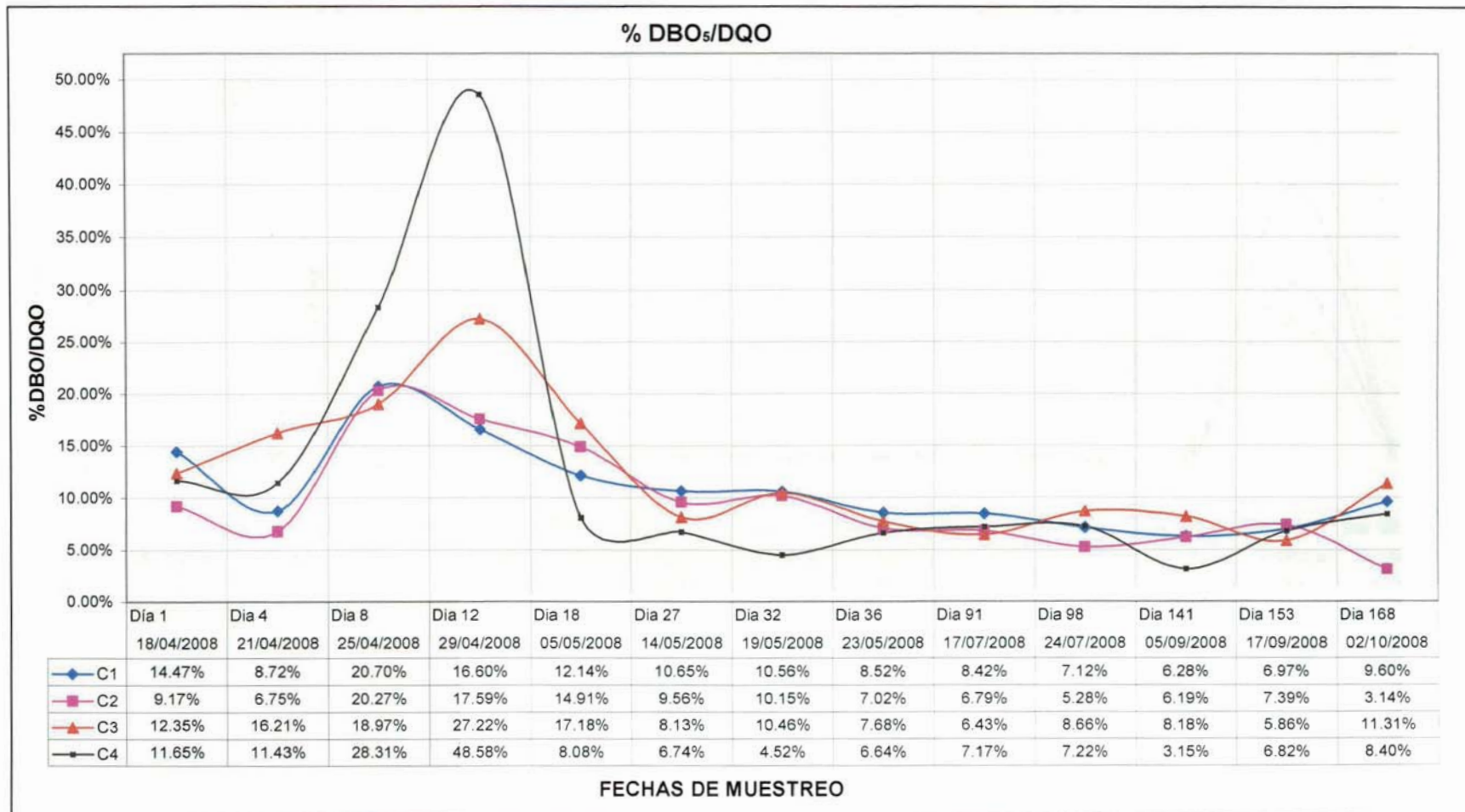


Figura 5.8: Gráfica del %DBO<sub>5</sub>/DQO.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

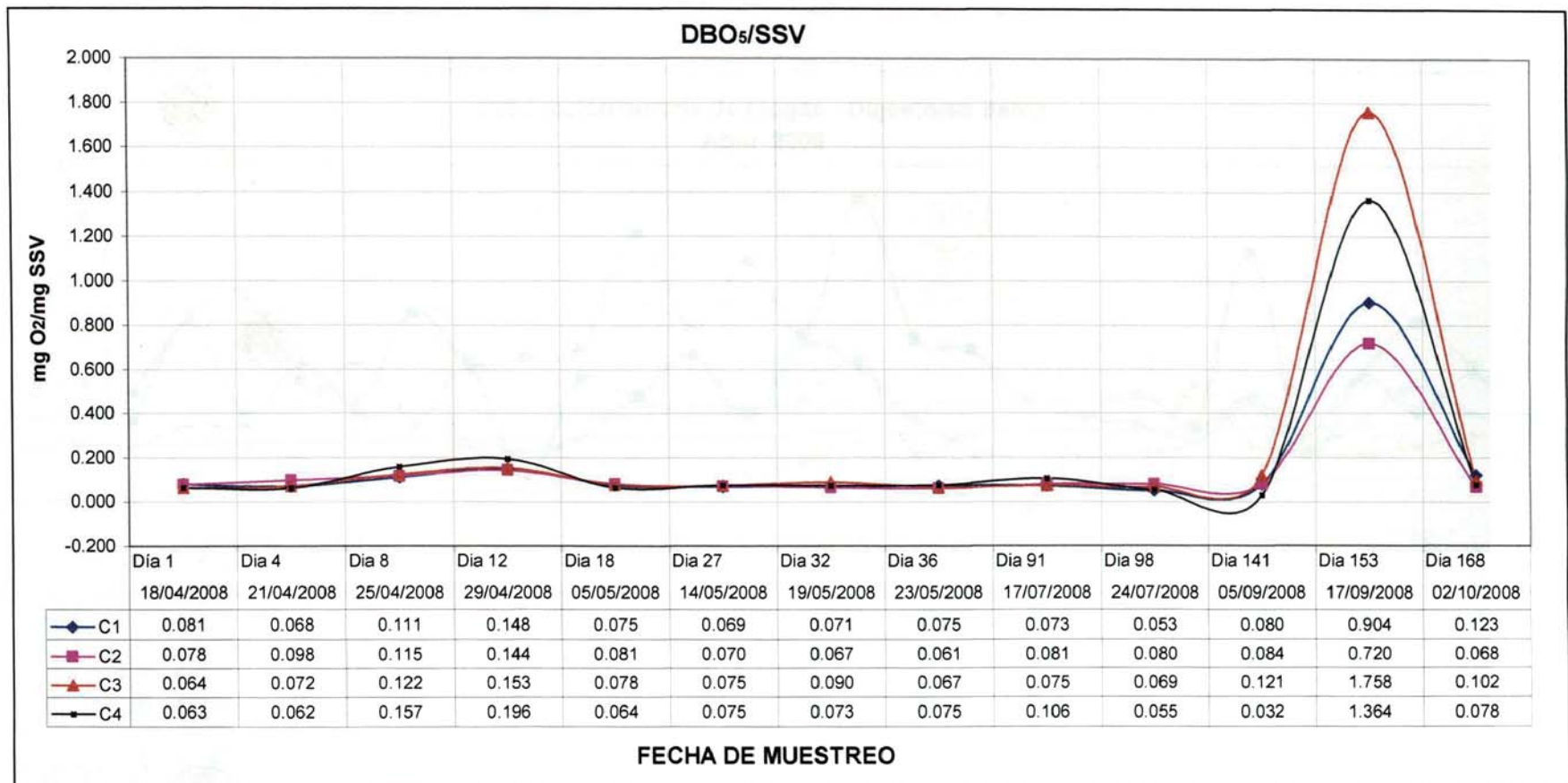


Figura 5.9: Gráfica de la DBO<sub>5</sub>/SSV.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).



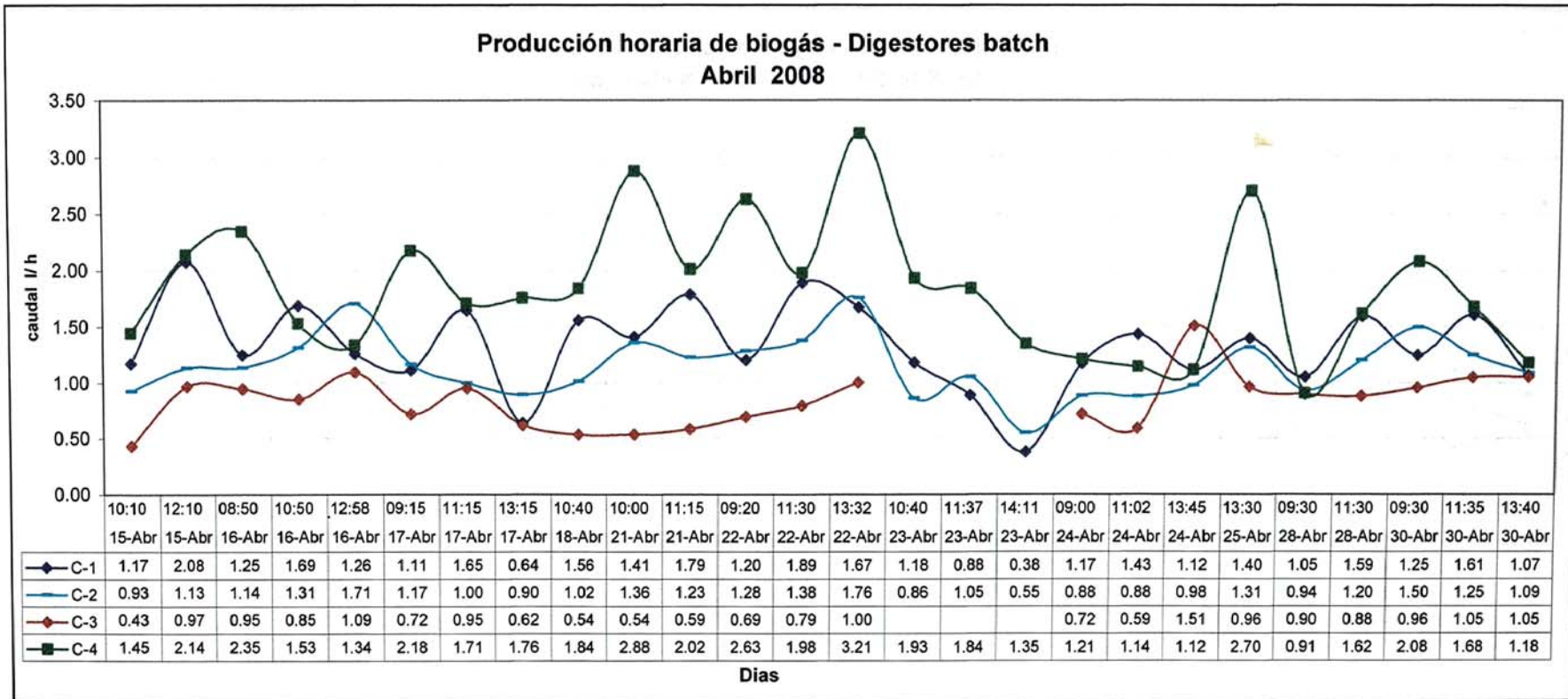


Figura 5.10: Gráfica de la producción horaria de biogás – Abril 2008.

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

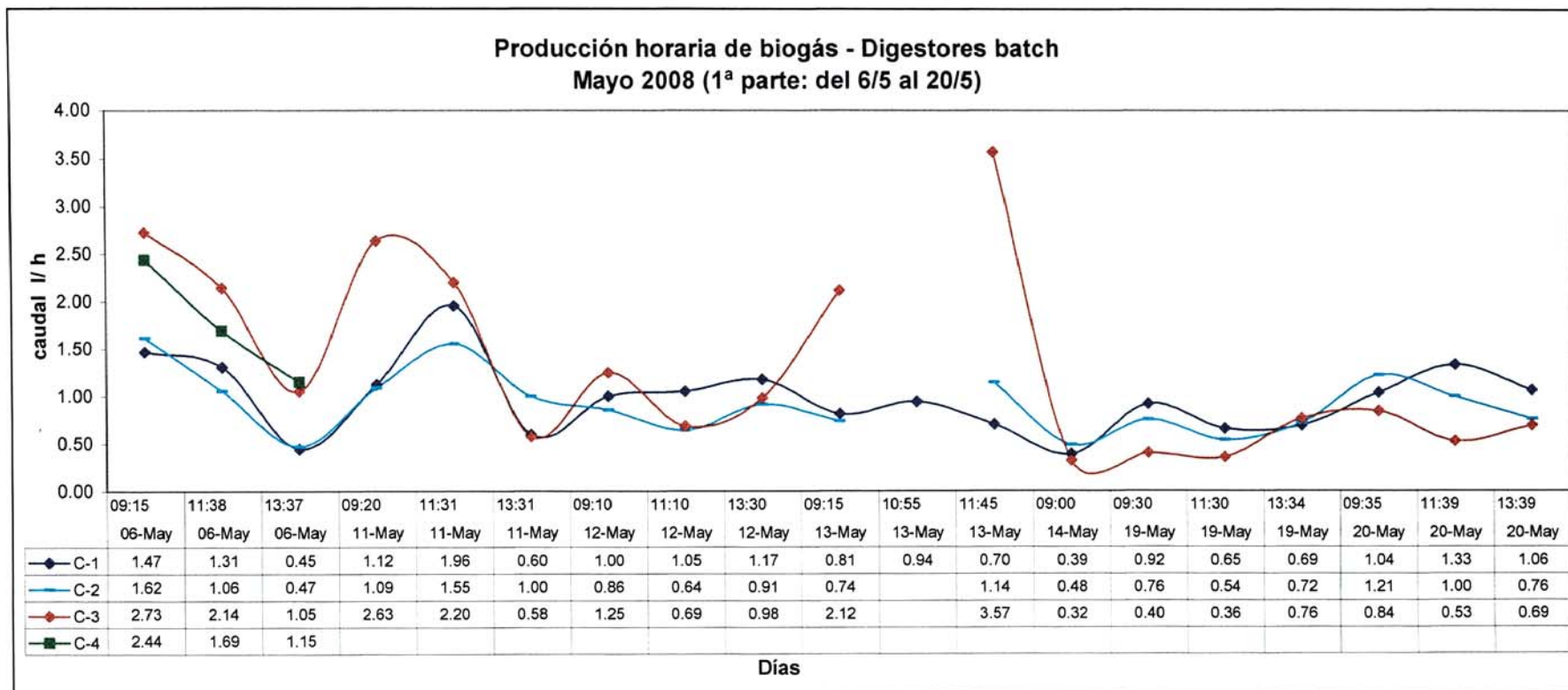


Figura 5.11: Gráfica de la producción horaria de biogás – Mayo 2008 (1ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

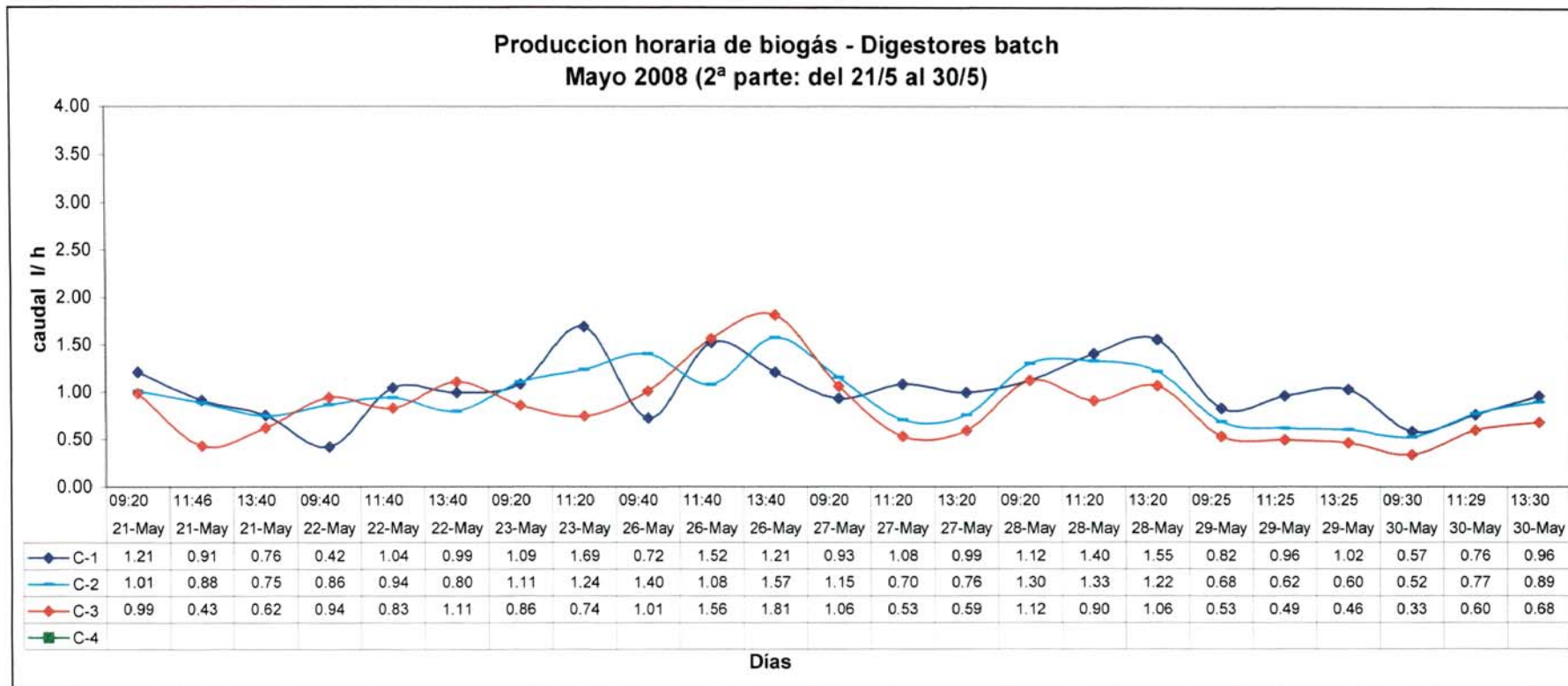


Figura 5.12: Gráfica de la producción horaria de biogás – Mayo 2008 (2ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

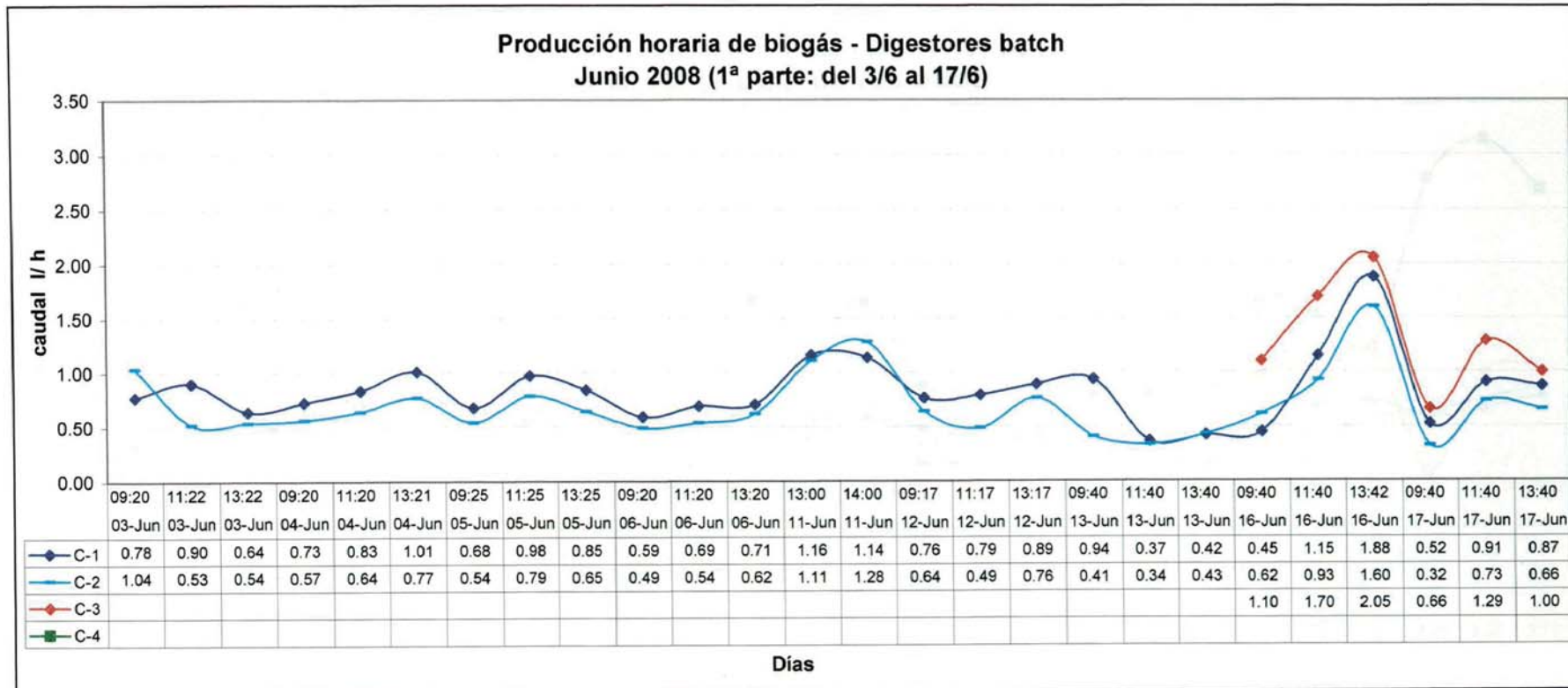


Figura 5.13: Gráfica de la producción horaria de biogás – Junio 2008 (1ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

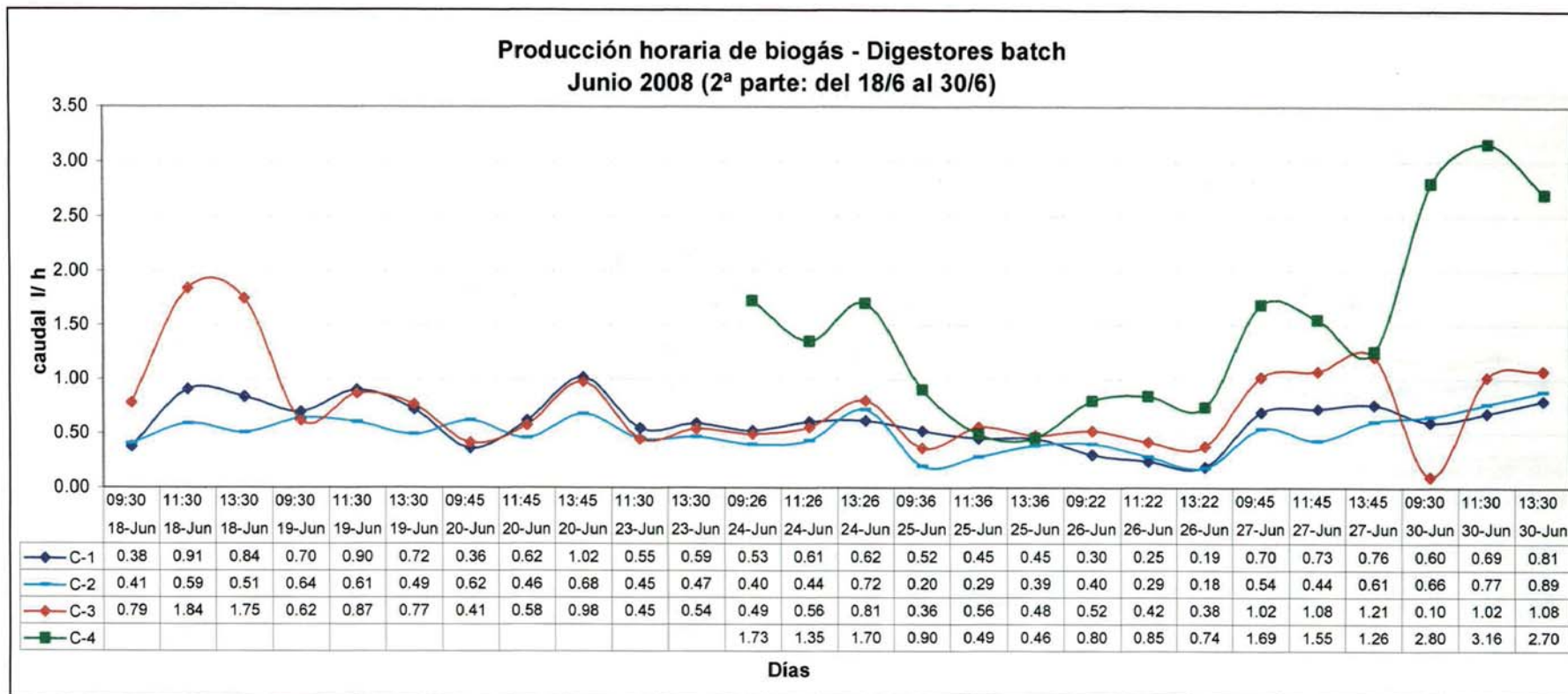


Figura 5.14: Gráfica de la producción horaria de biogás – Junio 2008 (2ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosa).

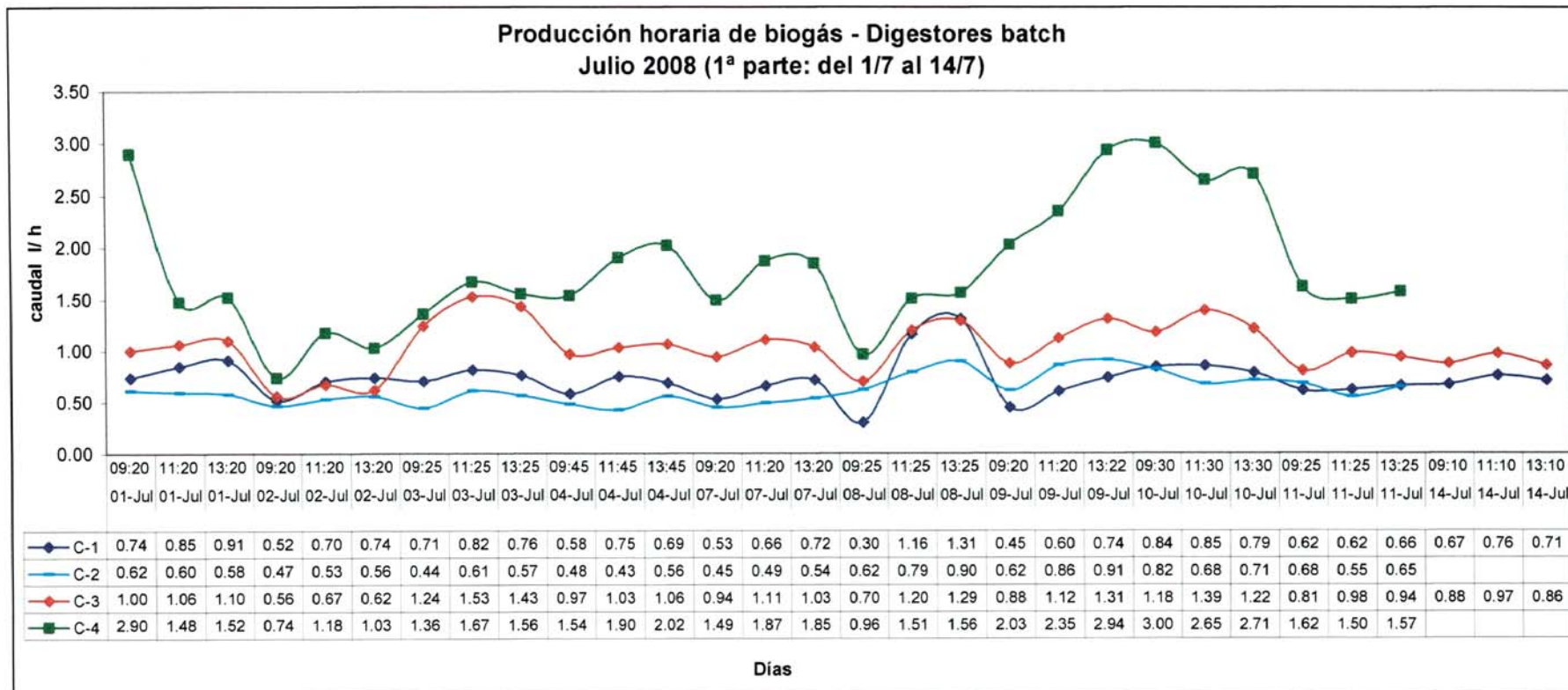


Figura 5.15: Gráfica de la producción horaria de biogás – Julio 2008 (1ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

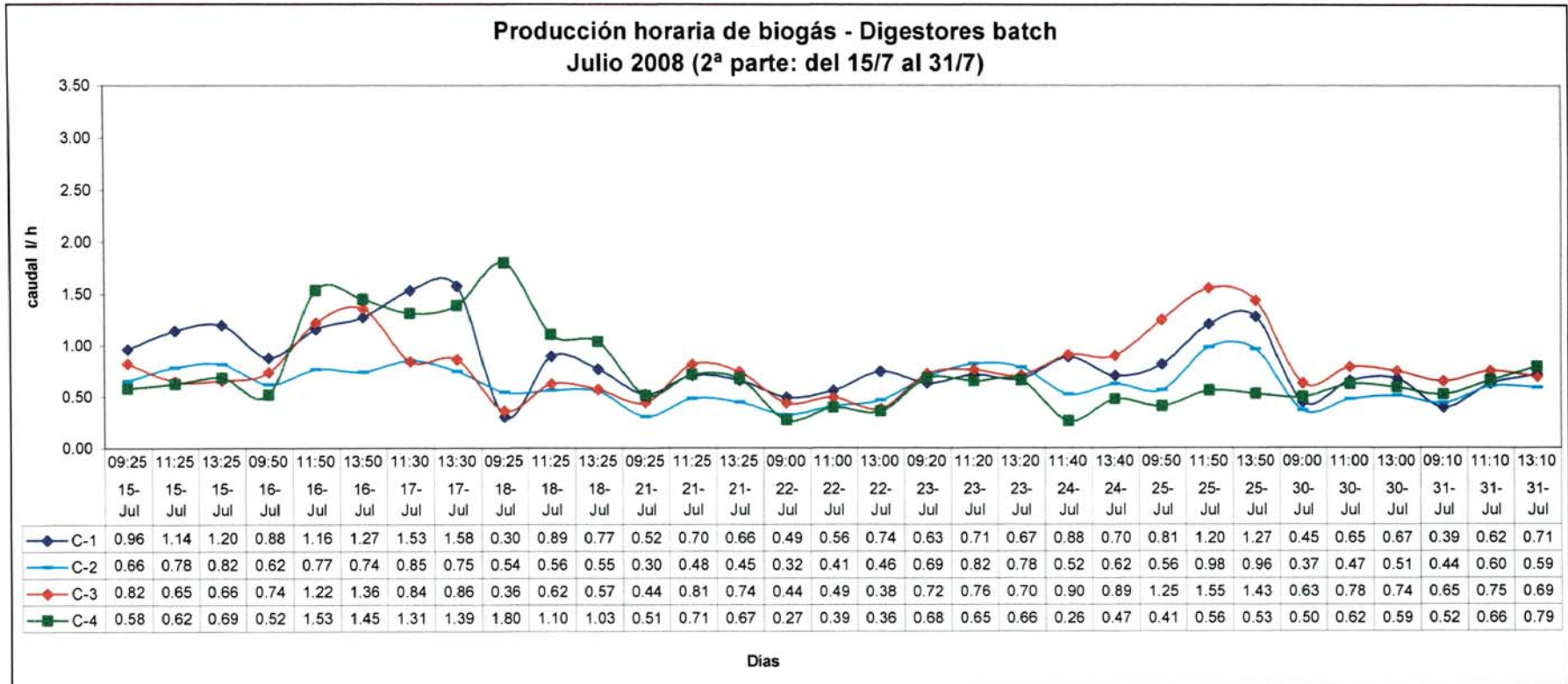


Figura 5.16: Gráfica de la producción horaria de biogás – Julio 2008 (2ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

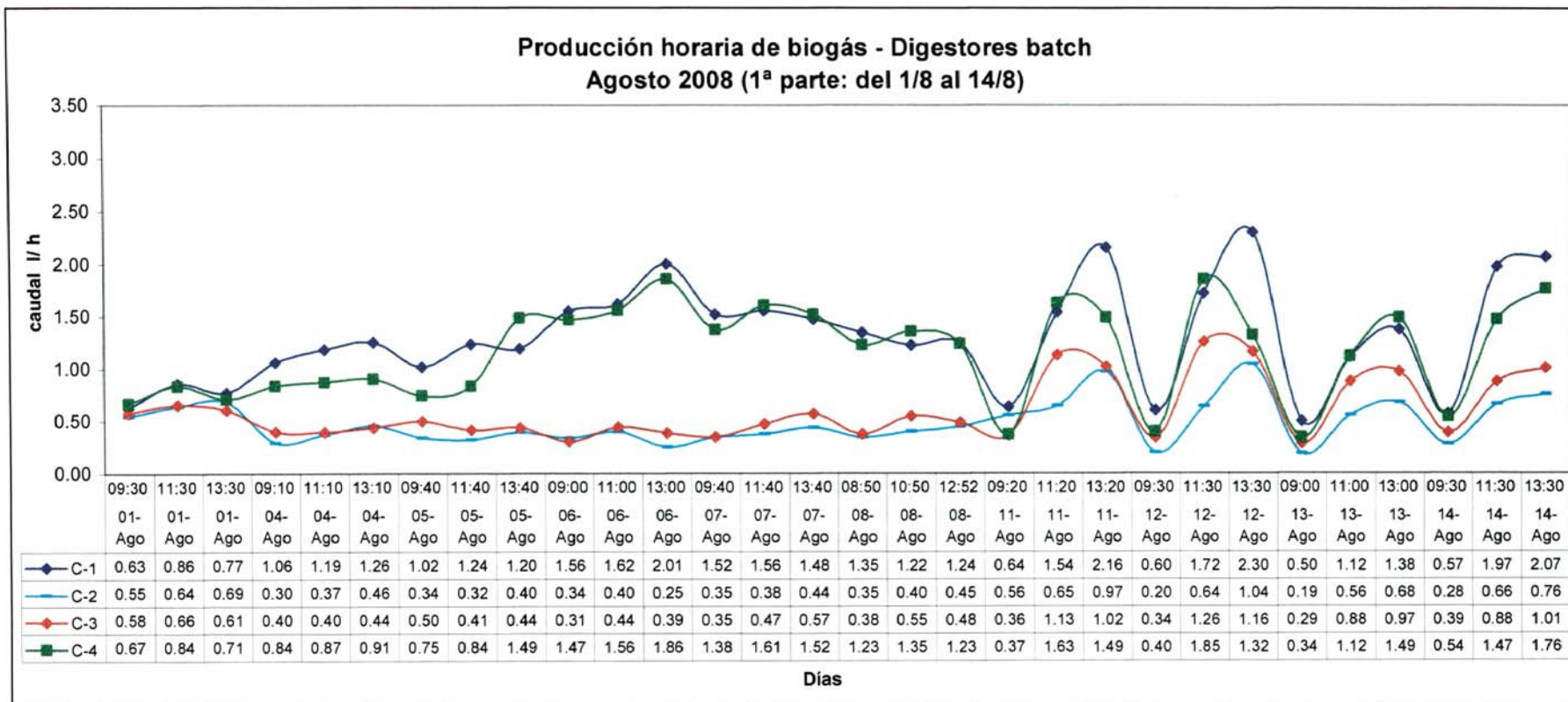


Figura 5.17: Gráfica de la producción horaria de biogás – Agosto 2008 (1ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).



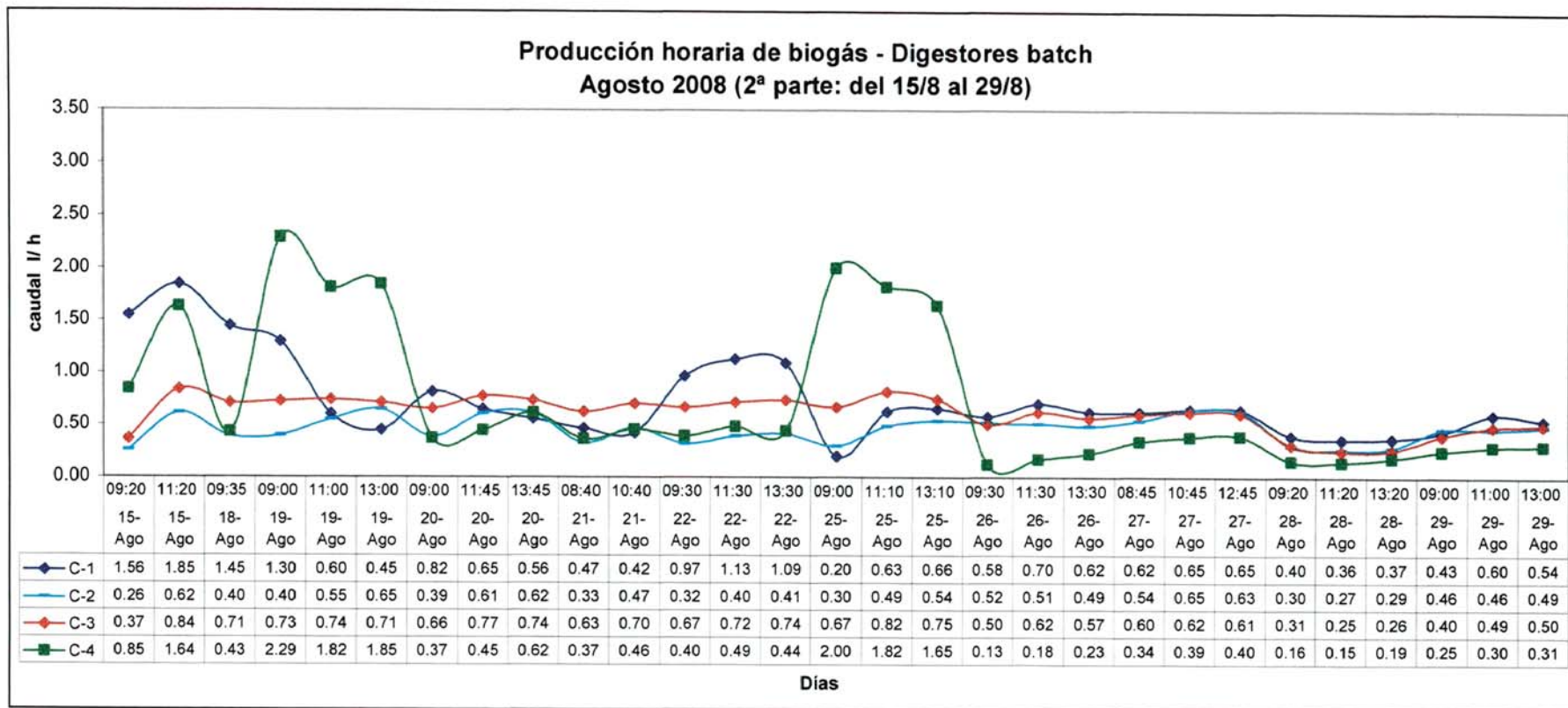


Figura 5.18: Gráfica de la producción horaria de biogás – Agosto 2008 (2ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

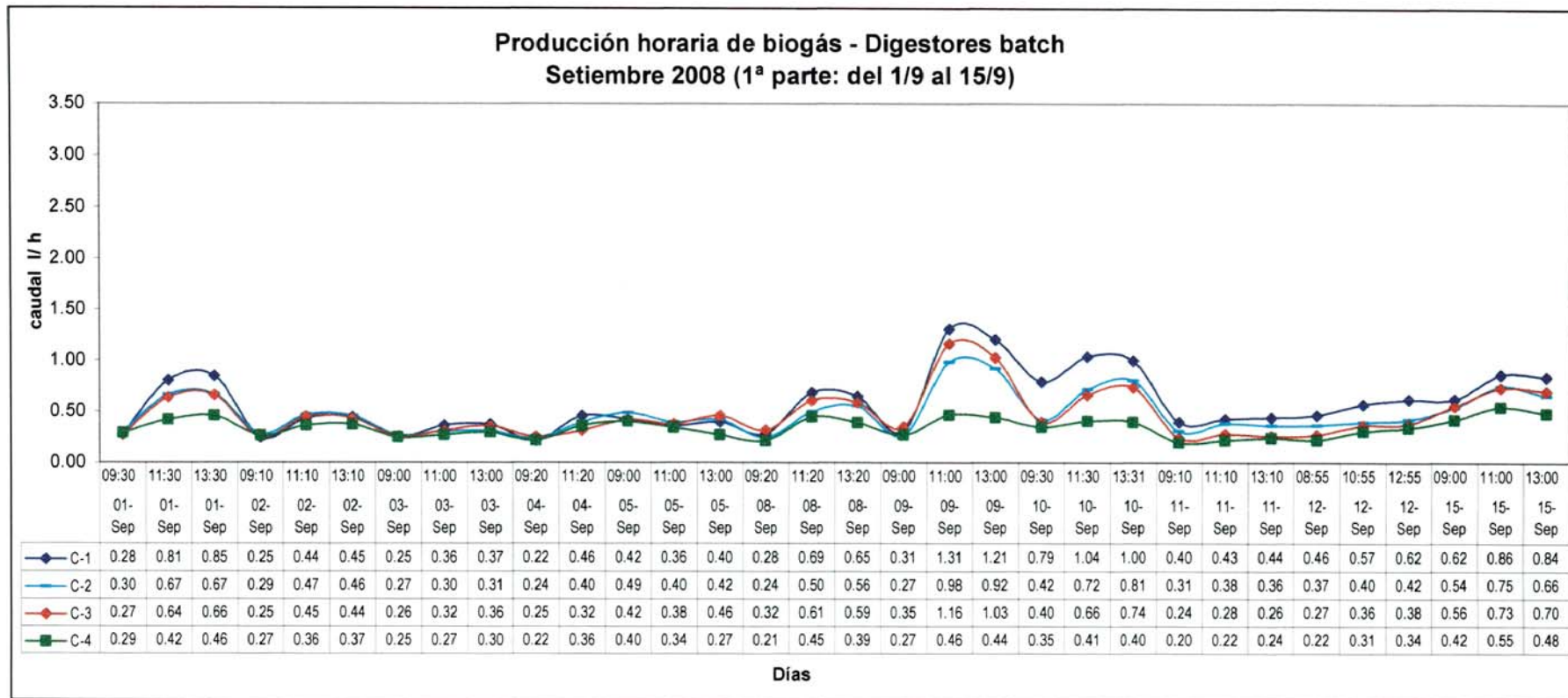


Figura 5.19: Gráfica de la producción horaria de biogás – Setiembre 2008 (1ª parte).

C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitosano).

Producción horaria de biogás - Digestores batch  
Setiembre 2008 (2ª parte: del 16/9 al 30/9)

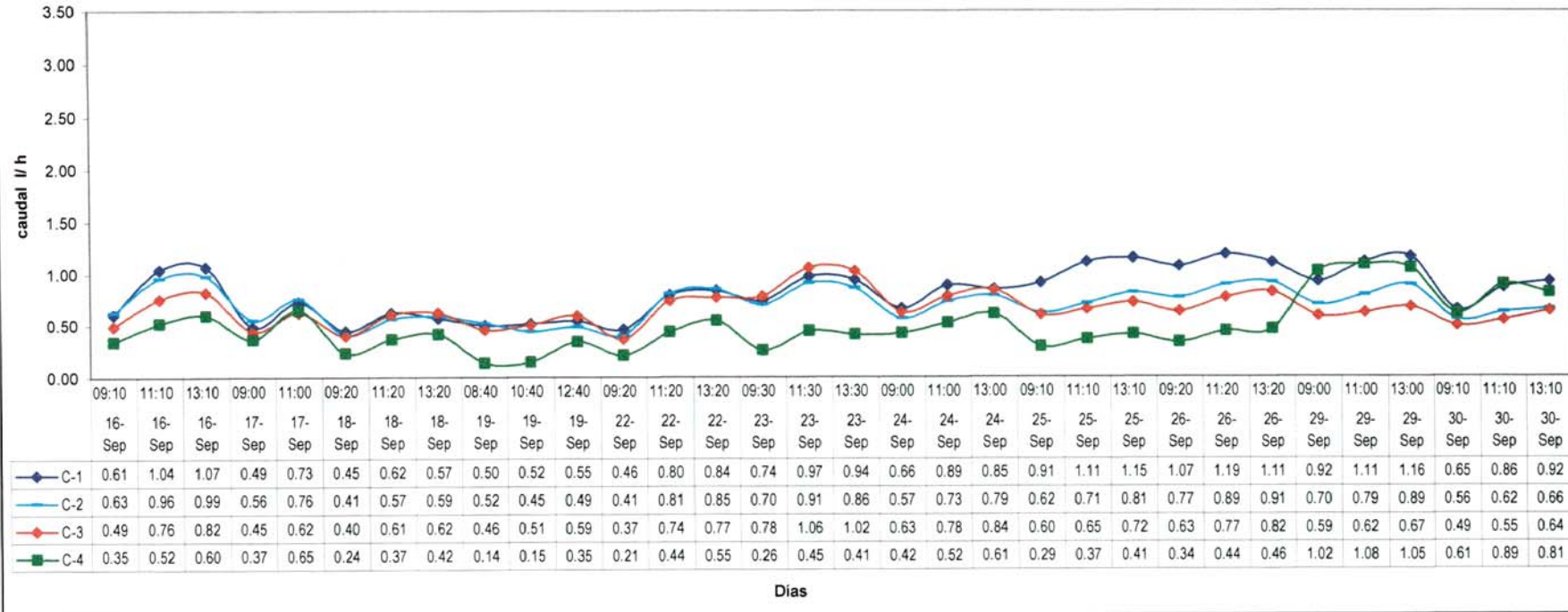


Figura 5.20: Gráfica de la producción horaria de biogás – Setiembre 2008 (2ª parte).  
C-1: Digestor batch 1 (Blanco); C-2: Digestor batch 2 (Zeolita); C-3: Digestor batch 3 (Carbón Activado); C-4: Digestor batch 4 (Alginato/Quitano).

### **V.3.- RESULTADOS DE LA PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE SOPORTE EMPLEANDO BIOPARTÍCULAS**

#### **V.3.1.- CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS PERLAS DE ALGINATO**

En la siguiente tabla se muestran las características físicas de las perlas de alginato, en cuanto a diámetro, peso y densidad.

Tabla 5.2: Características físicas de las perlas de alginato.

<b>Muestras</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>Promedio</b>
Ø (cm)	0.40	0.50	0.45	0.55	0.49	0.48
Peso (gr)	0.02	0.03	0.03	0.04	0.03	0.03
Densidad (gr/cm <sup>3</sup> )	0.60	0.46	0.63	0.46	0.49	0.53

Luego de inoculadas en el digestor C-4, al cabo de 57 días, las perlas de alginato se deshidrataron, disminuyendo notoriamente su tamaño. El diámetro inicial que presentaron (al final de la preparación), era de 0.48 cm, de acuerdo a la Tabla 5.2. Al final de dicho período, presentaron diámetros promedios de 0.0724 cm, lo cual representa una pérdida de volumen del 97.7 %.

#### **V.3.2.- CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS PERLAS DE QUITOSANO**

En la siguiente tabla se muestran las características físicas de las perlas de quitosano, en cuanto a diámetro, peso y densidad.

Tabla 5.3: Características físicas de las perlas de quitosano - NaOH al 2.5N.

<b>Muestras</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>Promedio</b>
Ø (cm)	0.85	0.9	0.9	0.85	0.85	0.92	<b>0.88</b>
Peso en gr.	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	<b>0.05</b>
Densidad (gr/cm <sup>3</sup> )	0.16	0.13	0.13	0.14	0.16	0.15	<b>0.14</b>

Solución NaOH al 2.5N, pH: 7.60.

Fecha de muestreo: 22-08-08

Tabla 5.4: Características físicas de las perlas de quitosano - NaOH al 50%.

<b>Muestras</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>Promedio</b>
Ø (cm)	0.85	0.95	1.10	0.85	1.05	<b>0.96</b>
Peso en gr.	0.09	0.06	0.11	0.04	0.09	<b>0.08</b>
Densidad (gr/cm <sup>3</sup> )	0.28	0.13	0.16	0.12	0.15	<b>0.17</b>

Solución NaOH al 50%, pH: 7.66.

Fecha de muestreo: 22-08-08

El día 22/08/2008, se encontró que las perlas formadas en la solución de NaOH al 50%, tuvieron una mayor consistencia que las formadas en la solución de NaOH 2.5N.

Luego del primer lavado, el pH de la solución al 50% era 12, y, para las perlas formadas en la solución al 2.5 N era de 12.26.

Luego de varios lavados, el pH final para la solución al 50% era 6.78, y, para la solución al 2.5 N era 6.25.

#### V.4.- RESULTADOS DEL TEST DE AME

A continuación, en el siguiente gráfico, se presenta el comportamiento de la Actividad Metanogénica Específica, respecto a su variación en el tiempo.

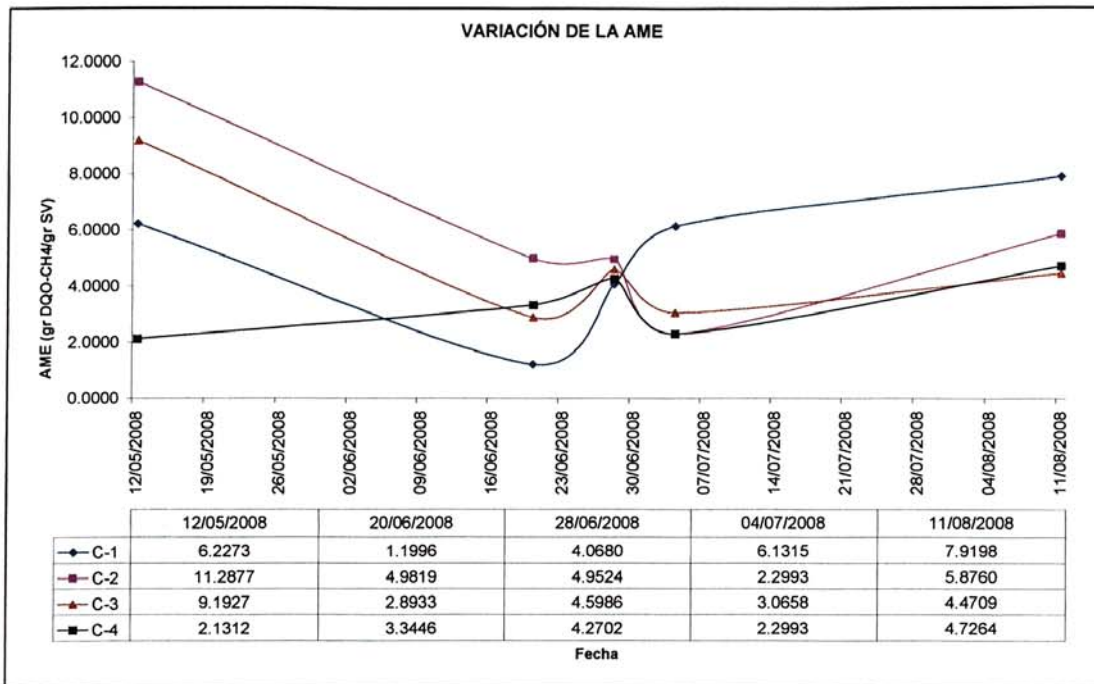


Figura 5.21: Gráfica de la variación de la AME.

C-1: Digestor batch 1; C-2: Digestor batch 2; C-3: Digestor batch 3; C-4: Digestor batch 4

Seguidamente, se presentarán los resultados de los 5 test de actividad metanogénica específica, realizados en el laboratorio de Biología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, durante la fase de operación de los digestores.

### V.4.1.- TEST DE AME N° 1

#### V.4.1.1.- Desarrollo del test de AME N° 1 para el digestor batch C-1

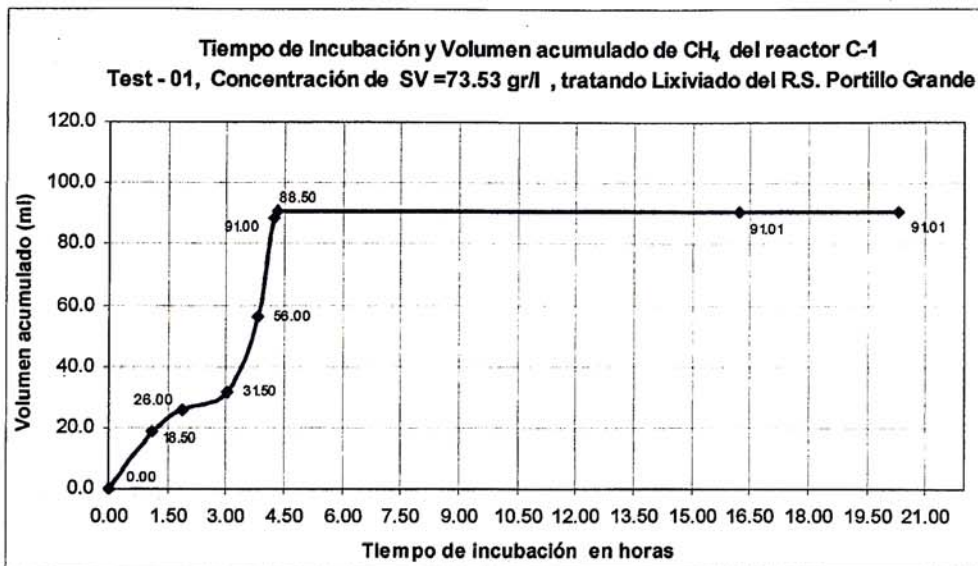


Figura 5.22: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°1-C-1.

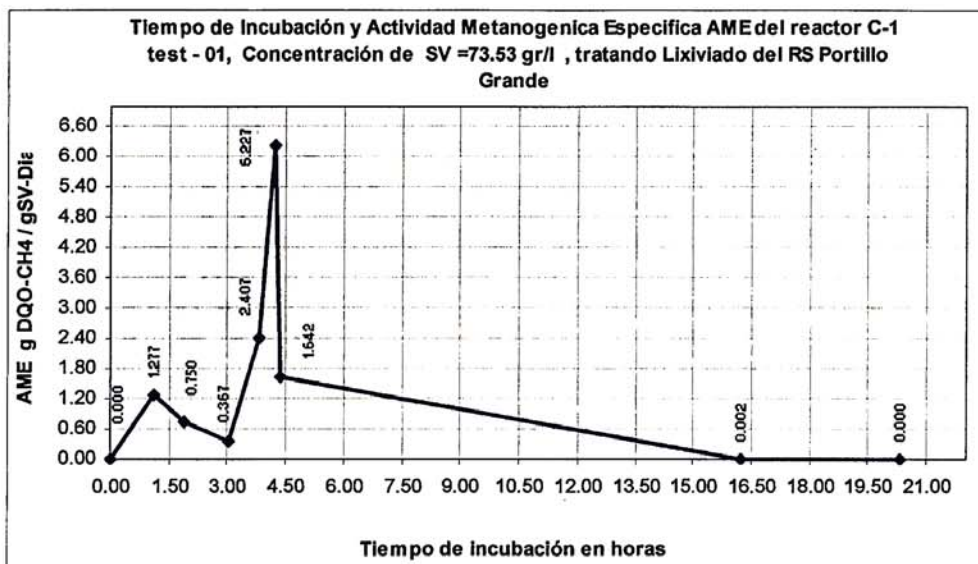


Figura 5.23: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°1-C-1.

### V.4.1.2.- Desarrollo del test de AME N° 1 para el digester batch C-2

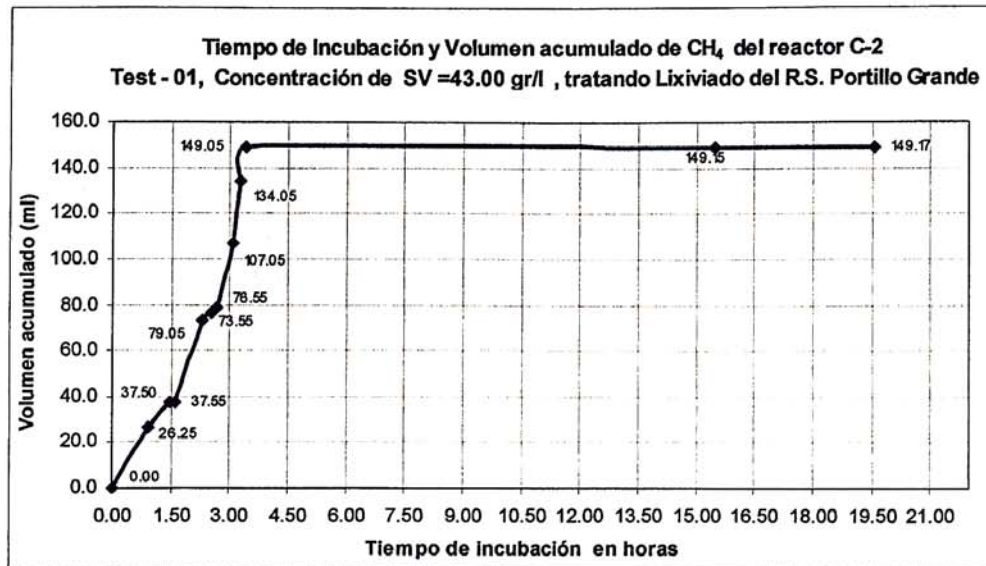


Figura 5.24: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°1-C-2.

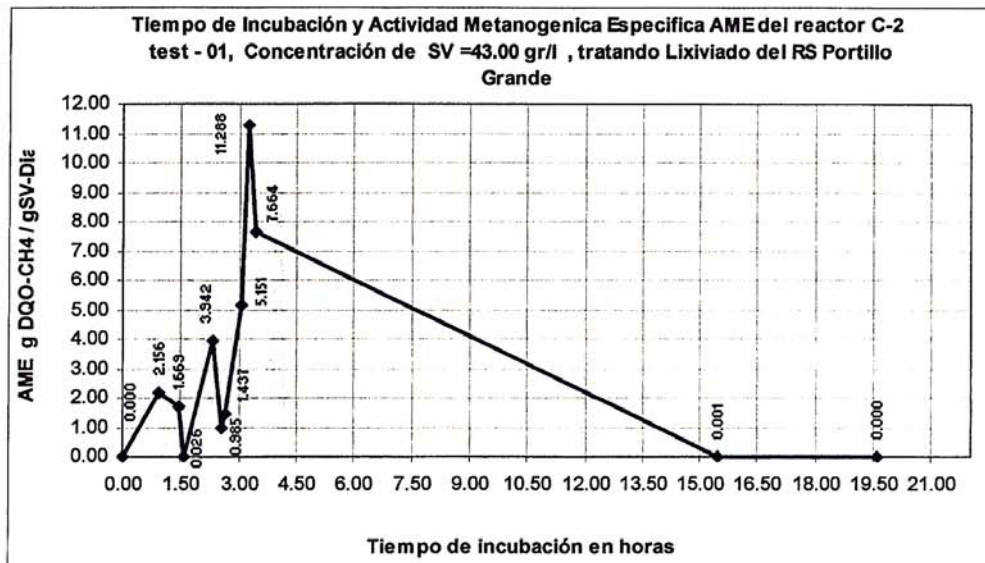


Figura 5.25: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°1-C-2.



### V.4.1.3.- Desarrollo del test de AME N° 1 para el digestor batch C-3

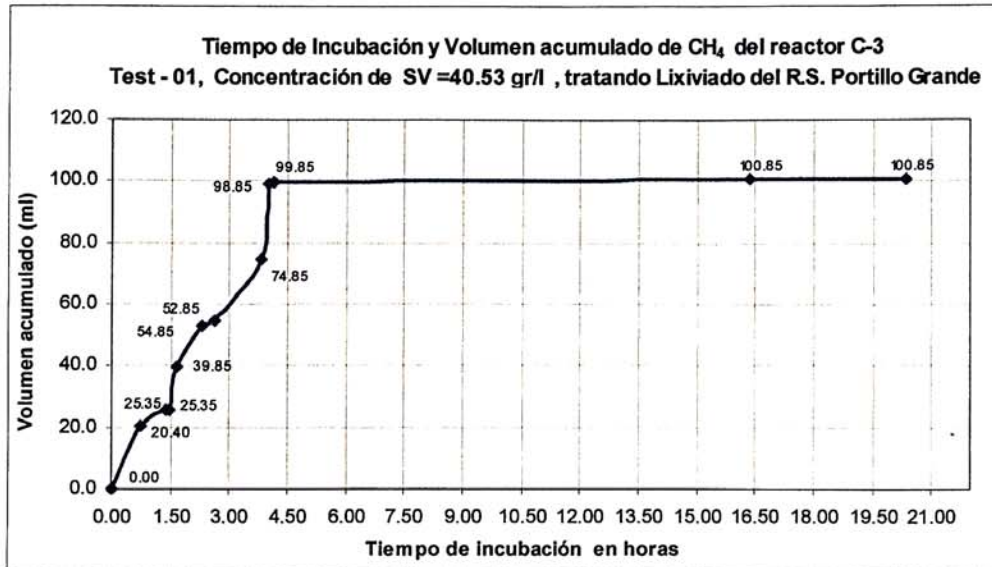


Figura 5.26: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°1-C-3.

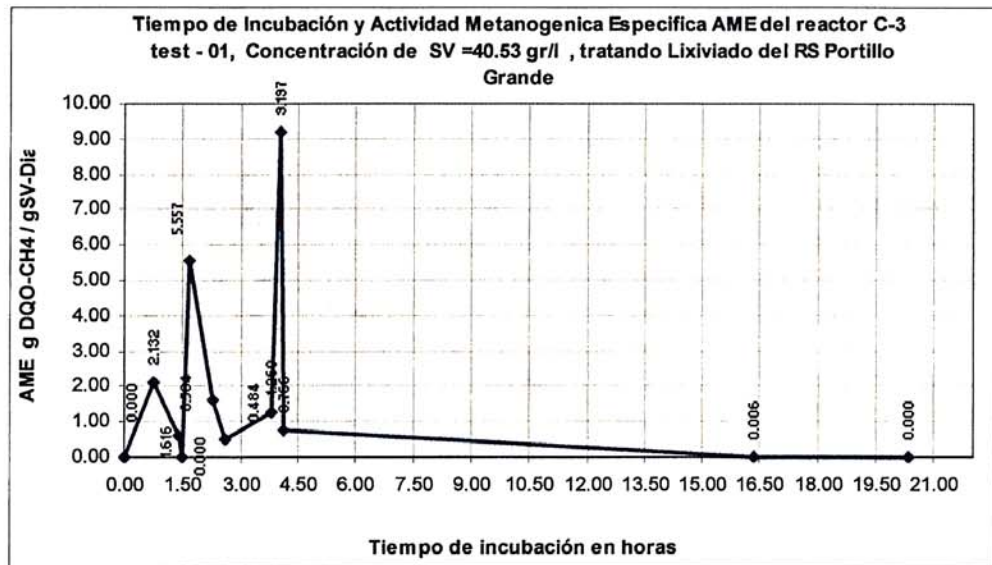


Figura 5.27: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°1-C-3.

### V.4.1.4.- Desarrollo del test de AME N° 1 para el digester batch C-4

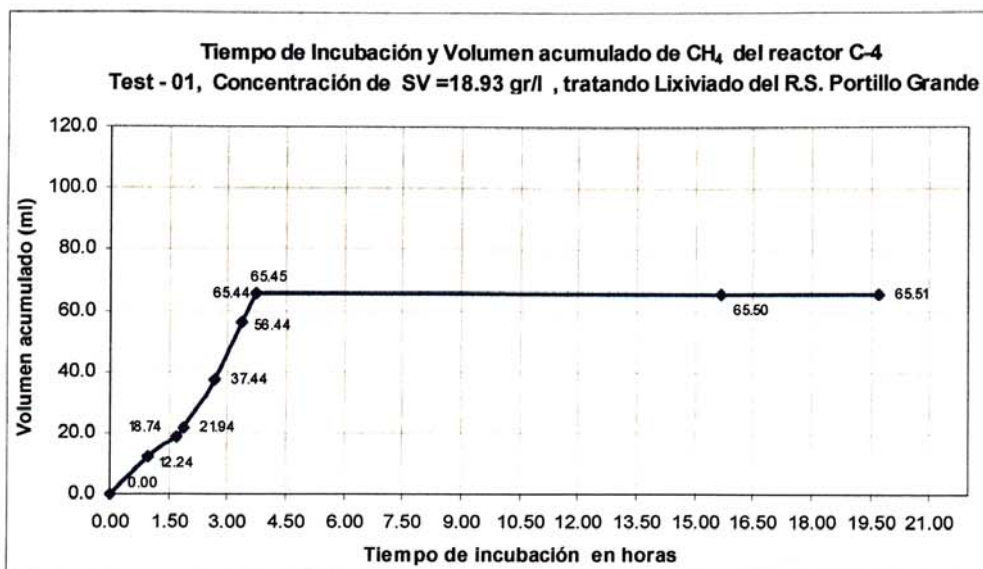


Figura 5.28: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°1-C-4.

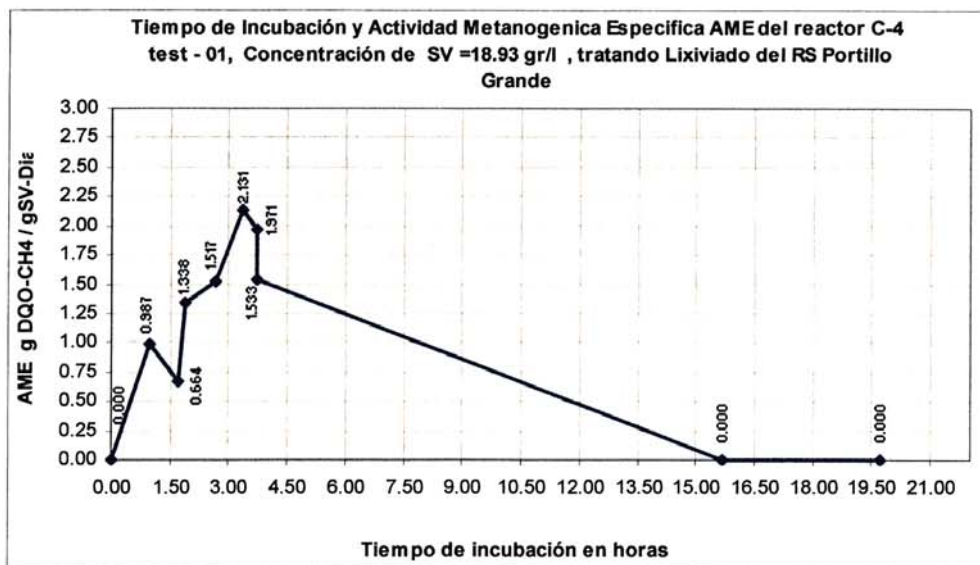


Figura 5.29: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°1-C-4.

### V.4.2.- TEST DE AME N° 2

#### V.4.2.1.- Desarrollo del test de AME N° 2 para el digester batch C-1

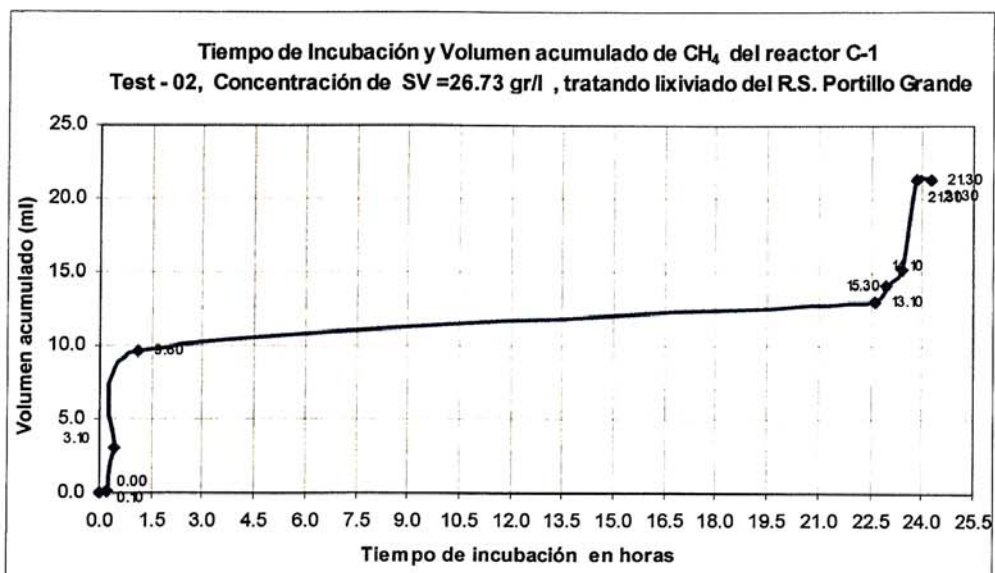


Figura 5.30: Gráfica del volumen acumulado de  $CH_4$  producido-Test N°2-C-1.

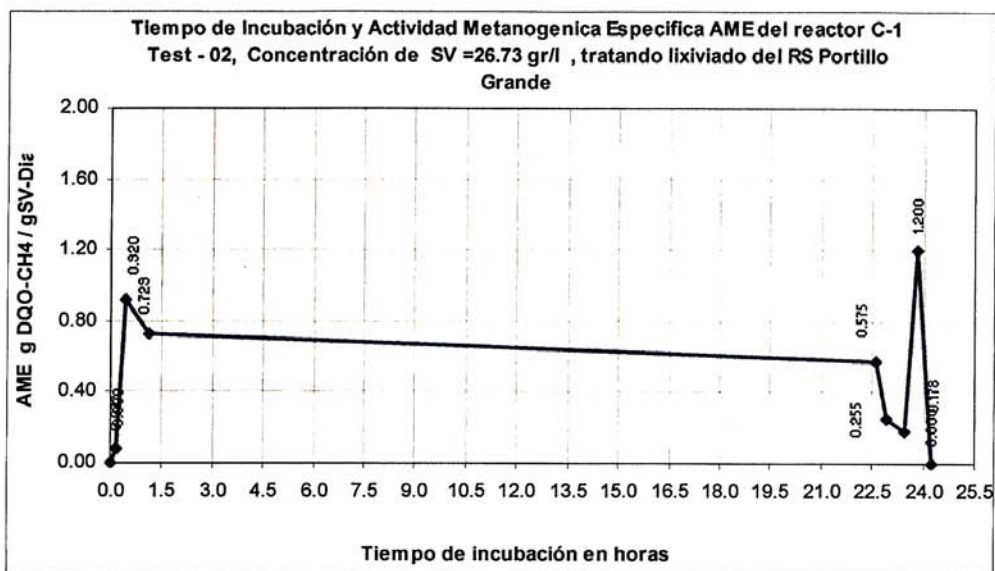


Figura 5.31: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°2-C-1.

### V.4.2.2.- Desarrollo del test de AME N° 2 para el digestor batch C-2

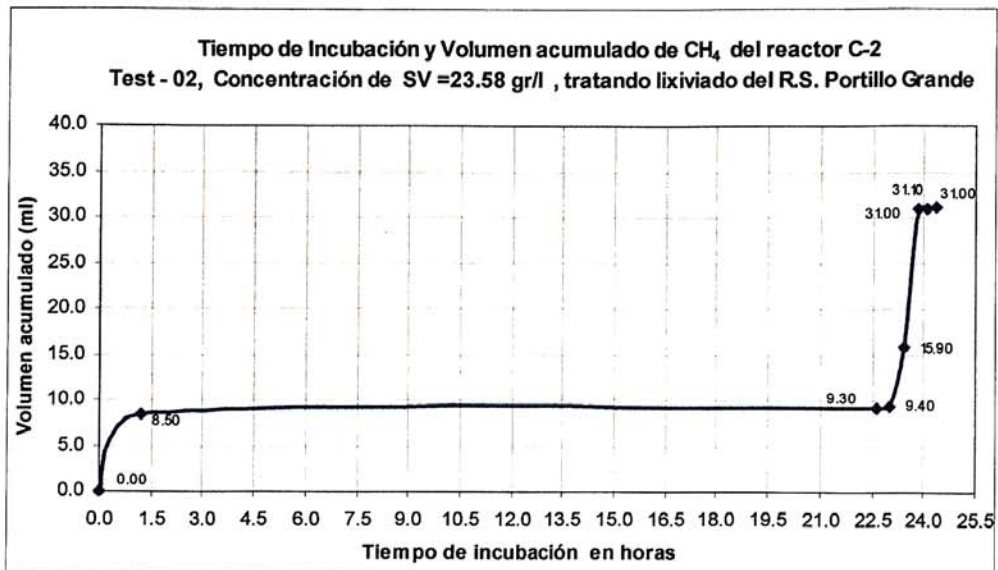


Figura 5.32: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°2-C-2.

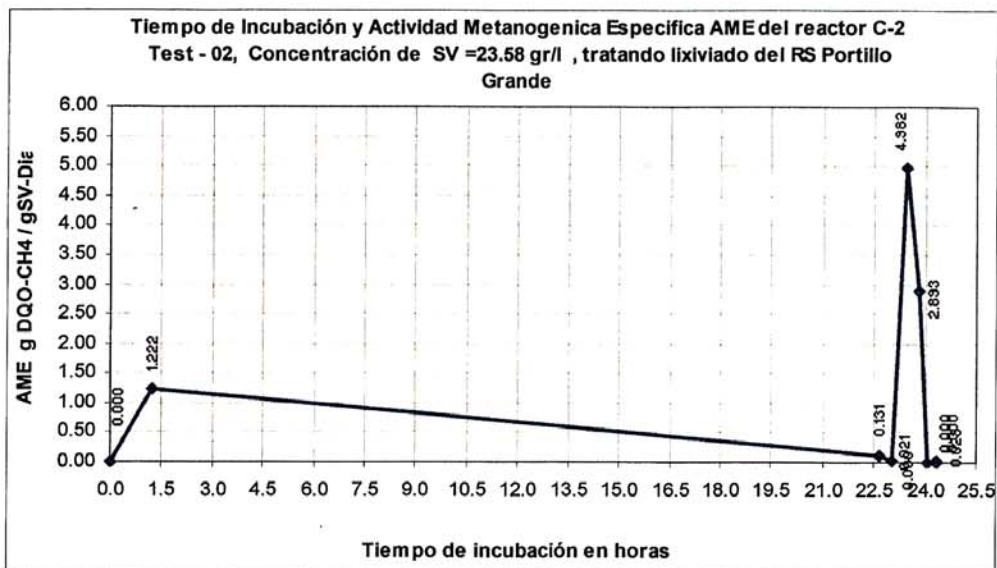


Figura 5.33: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°2-C-2.

### V.4.2.3.- Desarrollo del test de AME N° 2 para el digestor batch C-3

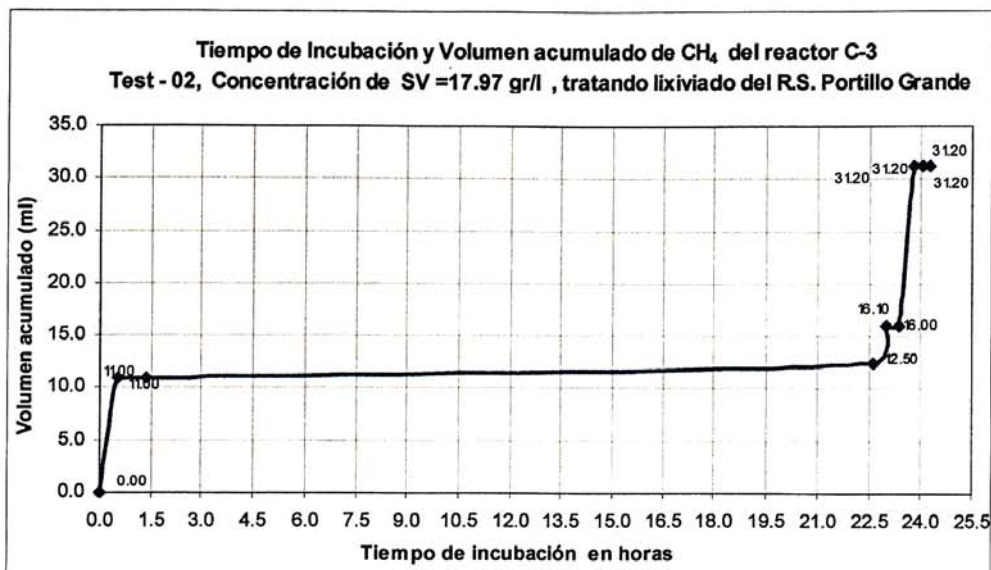


Figura 5.34: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°2-C-3.

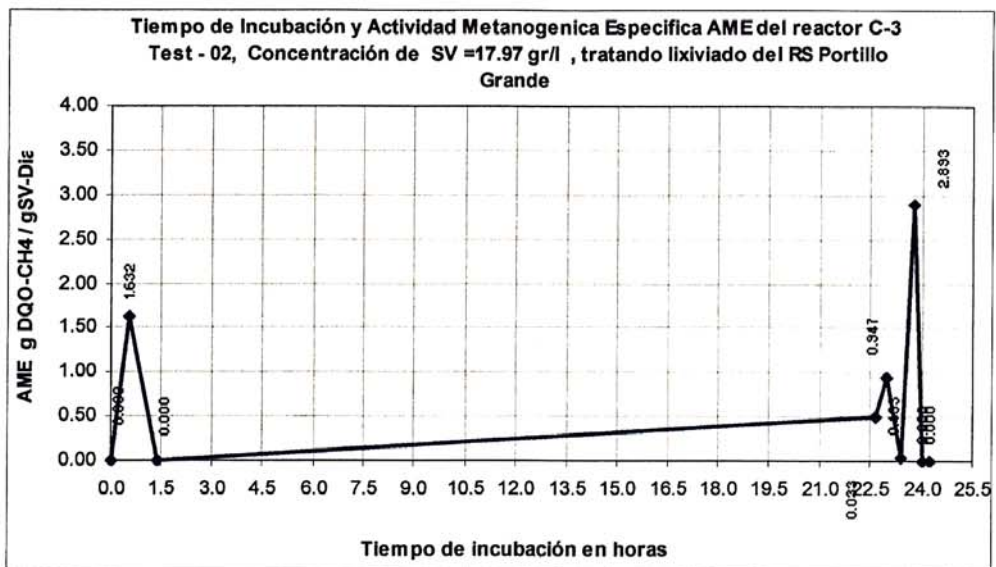


Figura 5.35: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°2-C-3.

### V.4.2.4.- Desarrollo del test de AME N° 2 para el digester batch C-4

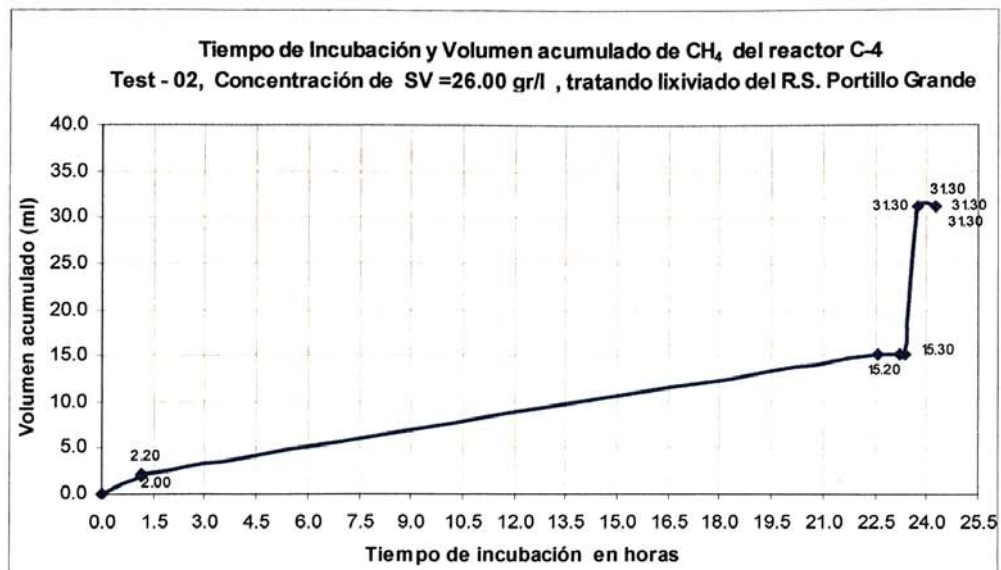


Figura 5.36: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°2-C-4.

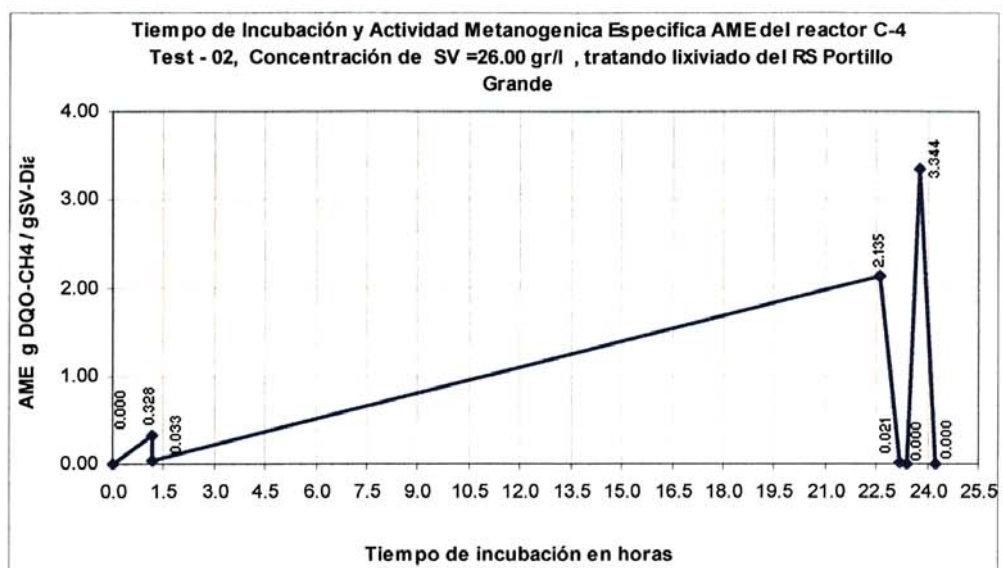


Figura 5.37: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°2-C-4.

### V.4.3.- TEST DE AME N° 3

#### V.4.3.1.- Desarrollo del test de AME N° 3 para el digestor batch C-1

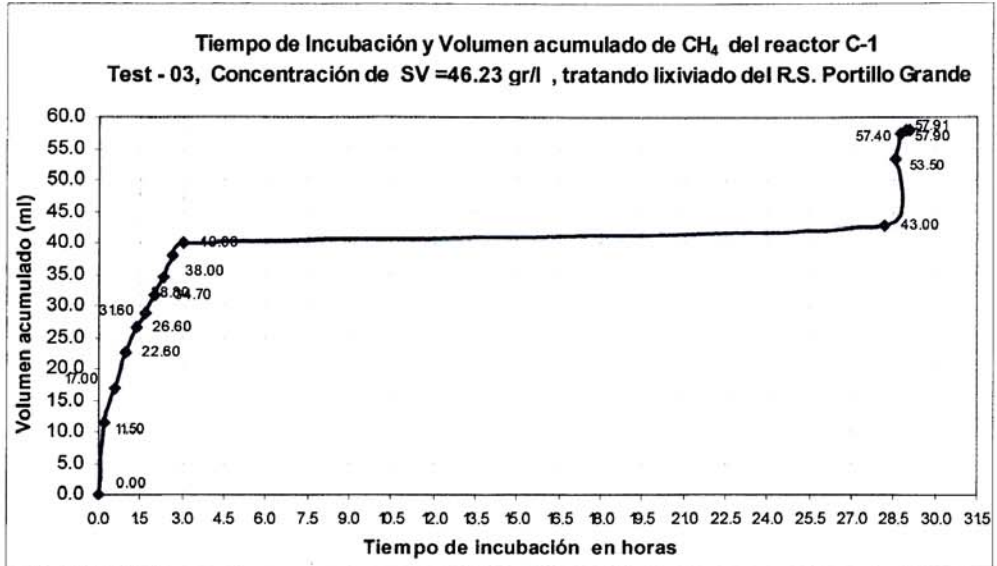


Figura 5.38: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°3-C-1.

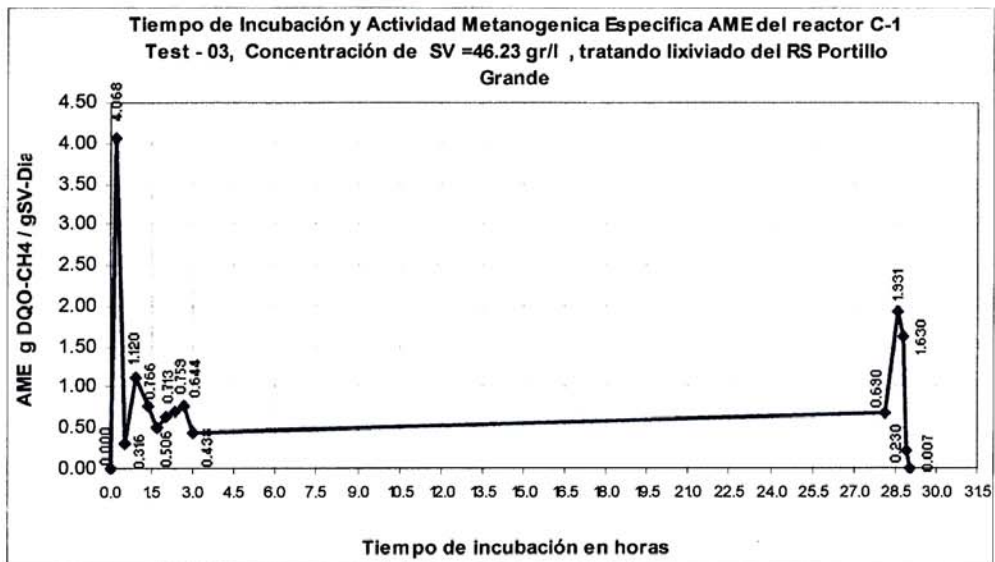


Figura 5.39: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°3-C-1.

### V.4.3.2.- Desarrollo del test de AME N° 3 para el digester batch C-2

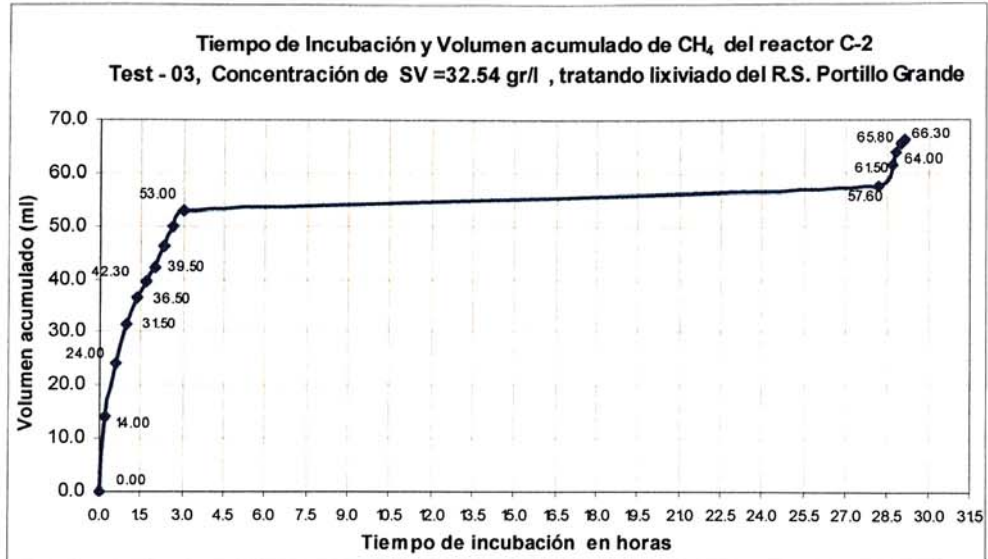


Figura 5.40: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°3-C-2.

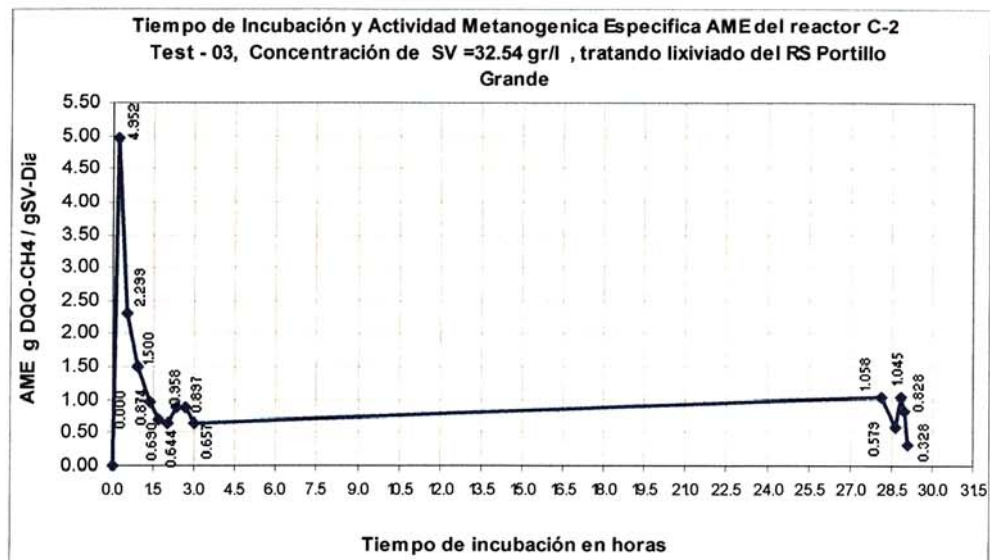


Figura 5.41: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°3-C-2.



### V.4.3.3.- Desarrollo del test de AME N° 3 para el digester batch C-3

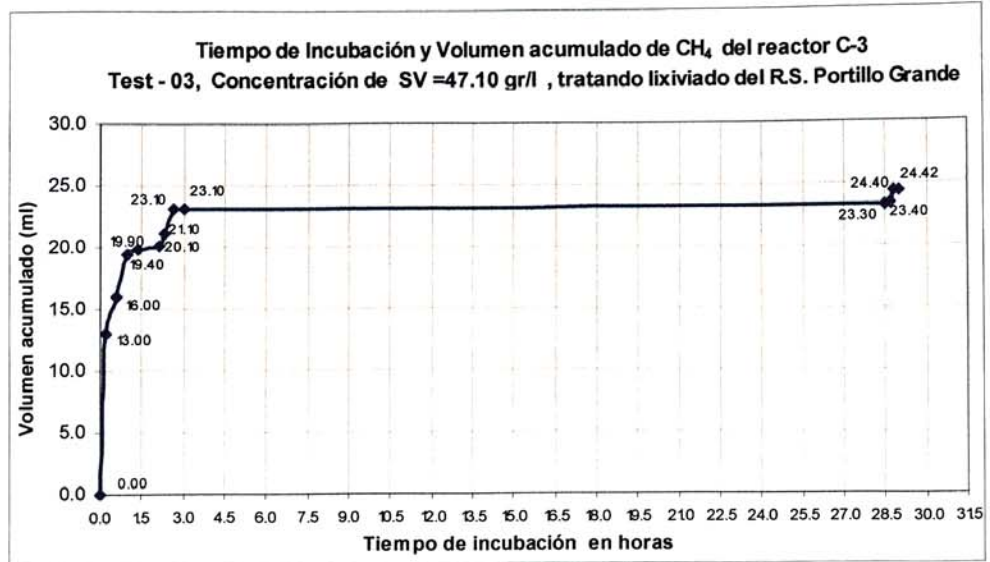


Figura 5.42: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°3-C-3.

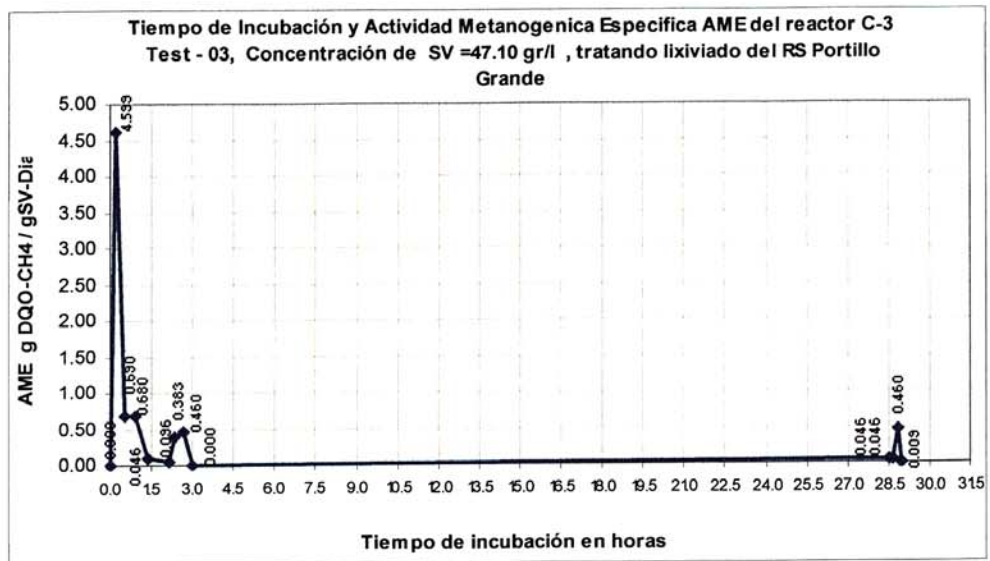


Figura 5.43: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°3-C-3.

#### V.4.3.4.- Desarrollo del test de AME N° 3 para el digestor batch C-4

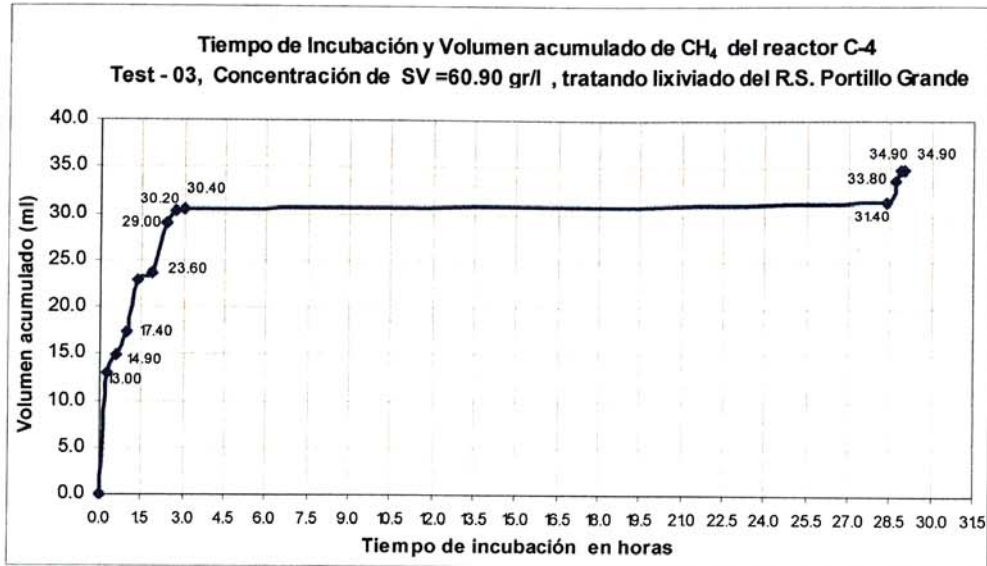


Figura 5.44: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°3-C-4.

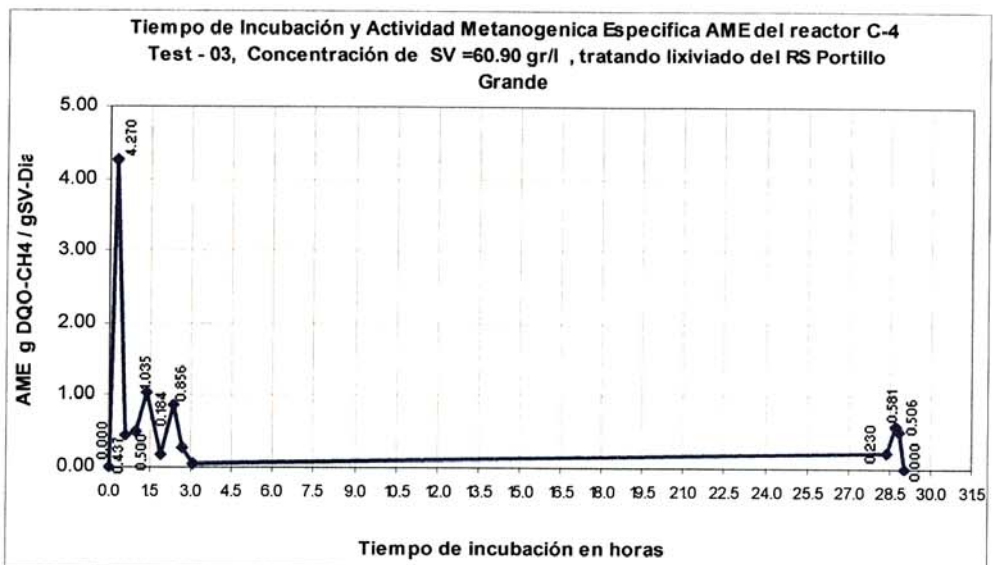


Figura 5.45: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°3-C-4.

### V.4.4.- TEST DE AME N° 4

#### V.4.4.1.- Desarrollo del test de AME N° 4 para el digester batch C-1

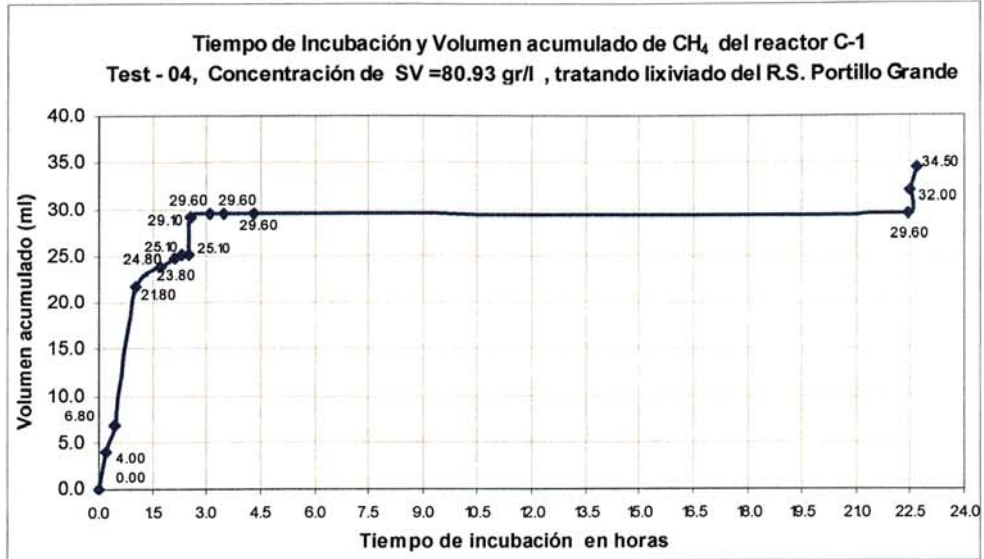


Figura 5.46: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°4-C-1.

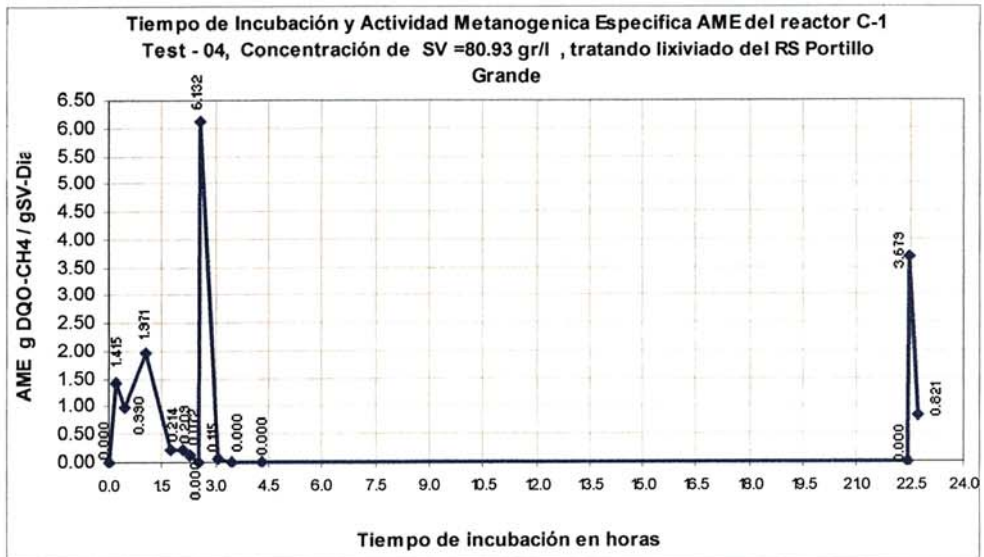


Figura 5.47: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°4-C-1.

### V.4.4.2.- Desarrollo del test de AME N° 4 para el digester batch C-2

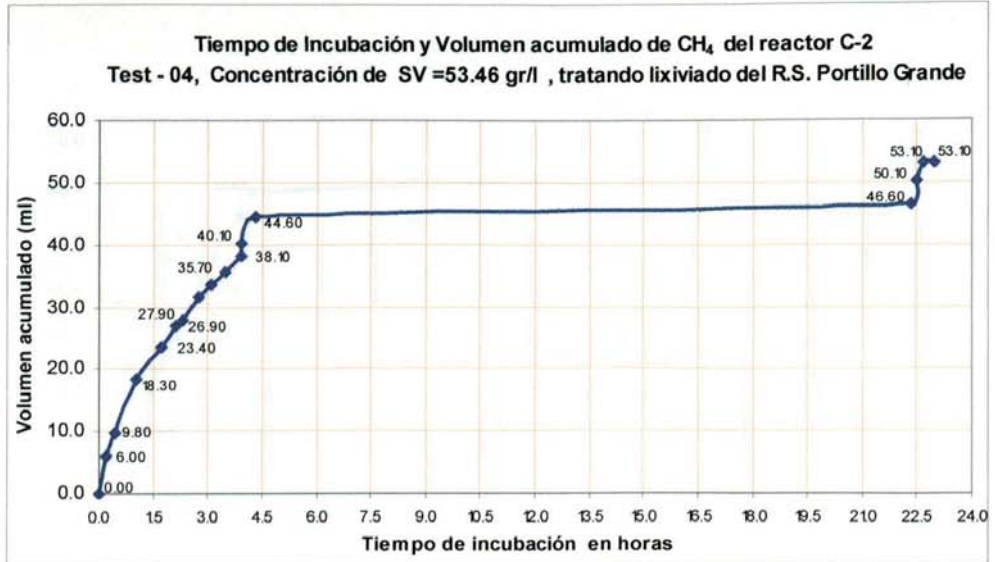


Figura 5.48: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°4-C-2.

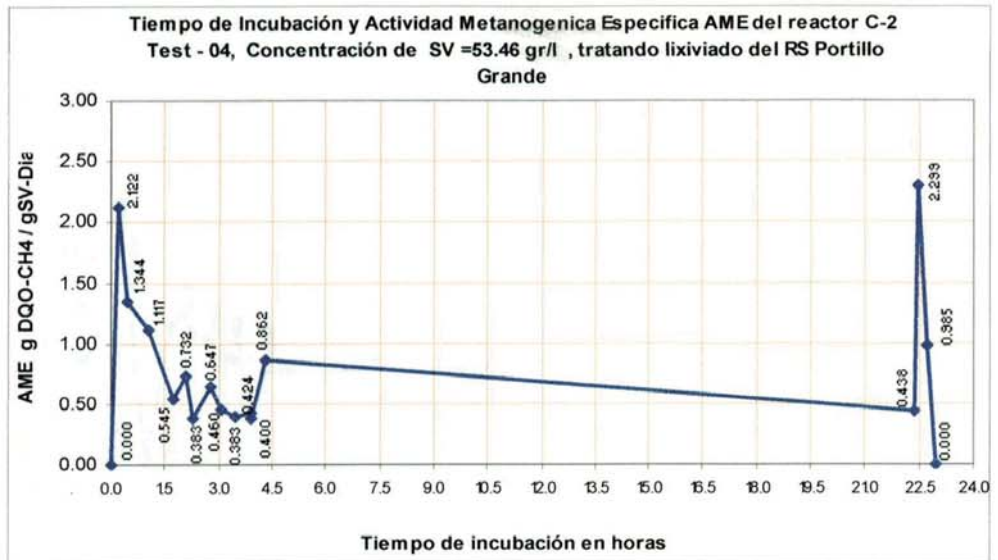


Figura 5.49: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°4-C-2.

### V.4.4.3.- Desarrollo del test de AME N° 4 para el digester batch C-3

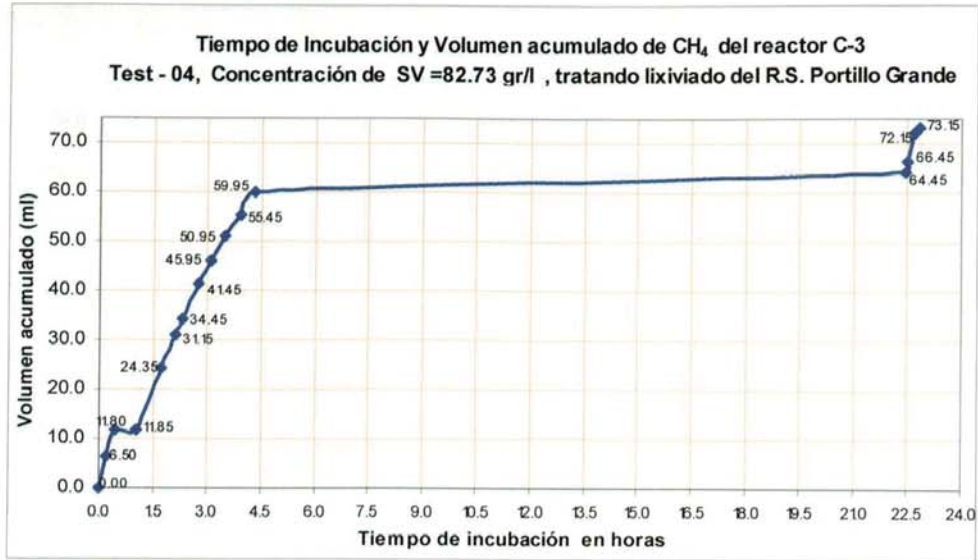


Figura 5.50: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°4-C-3.

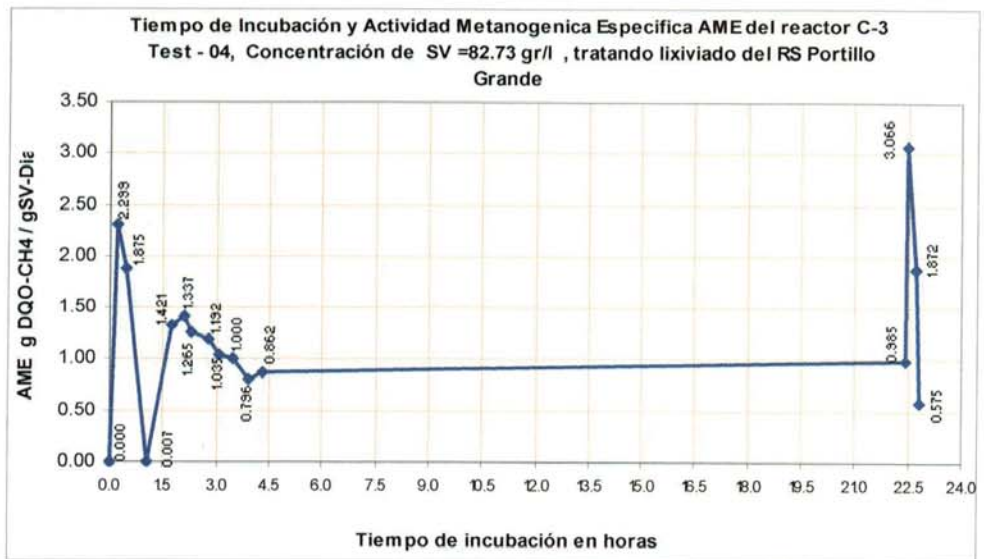


Figura 5.51: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°4-C-3.

#### V.4.4.4.- Desarrollo del test de AME N° 4 para el digester batch C-4

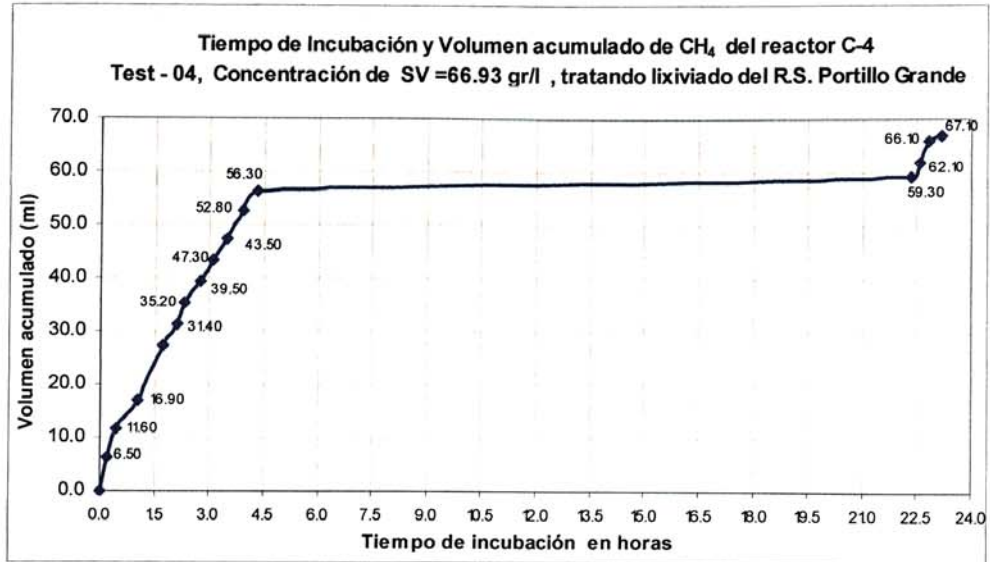


Figura 5.52: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°4-C-4.

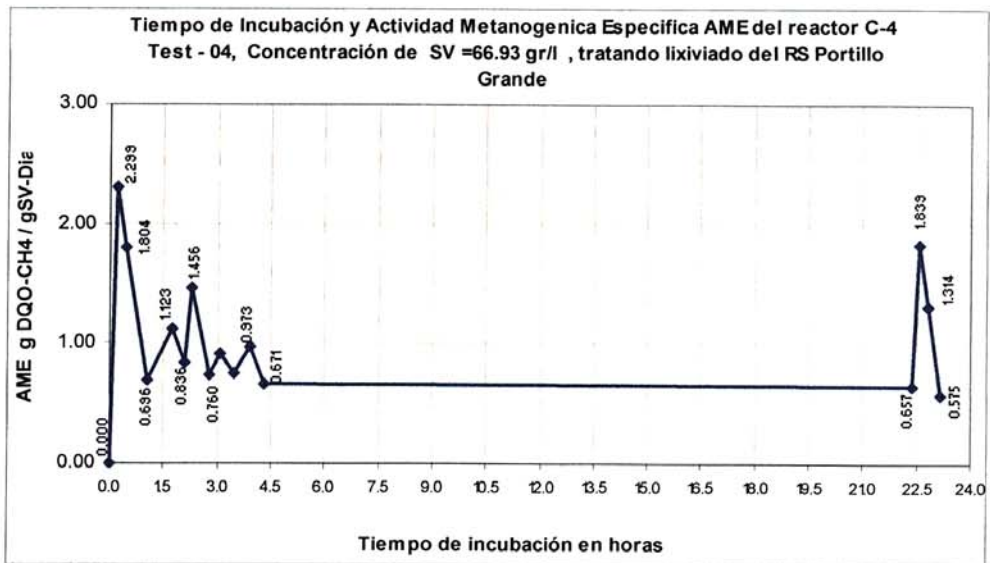


Figura 5.53: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°4-C-4.

### V.4.5.- TEST DE AME N° 5

#### V.4.5.1.- Desarrollo del test de AME N° 5 para el digester batch C-1

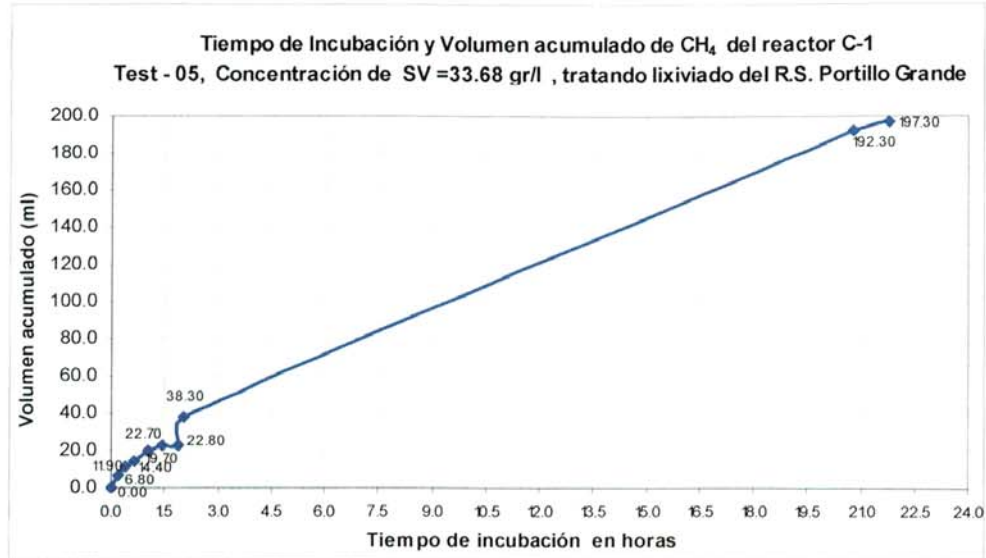


Figura 5.54: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°5-C-1.

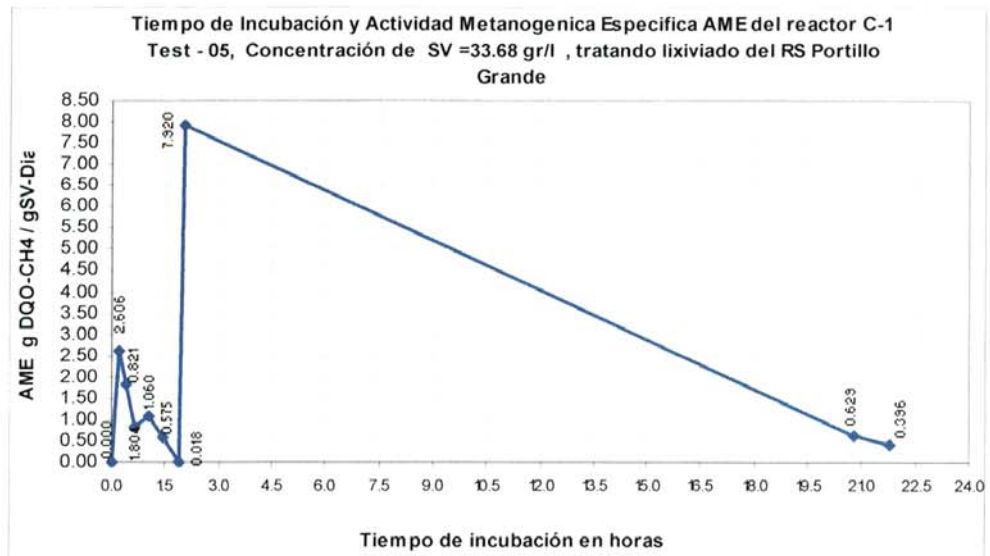


Figura 5.55: Gráfica de la Actividad Metanogénica Especifica-Test N°5-C-1.

### V.4.5.2.- Desarrollo del test de AME N° 5 para el digester batch C-2

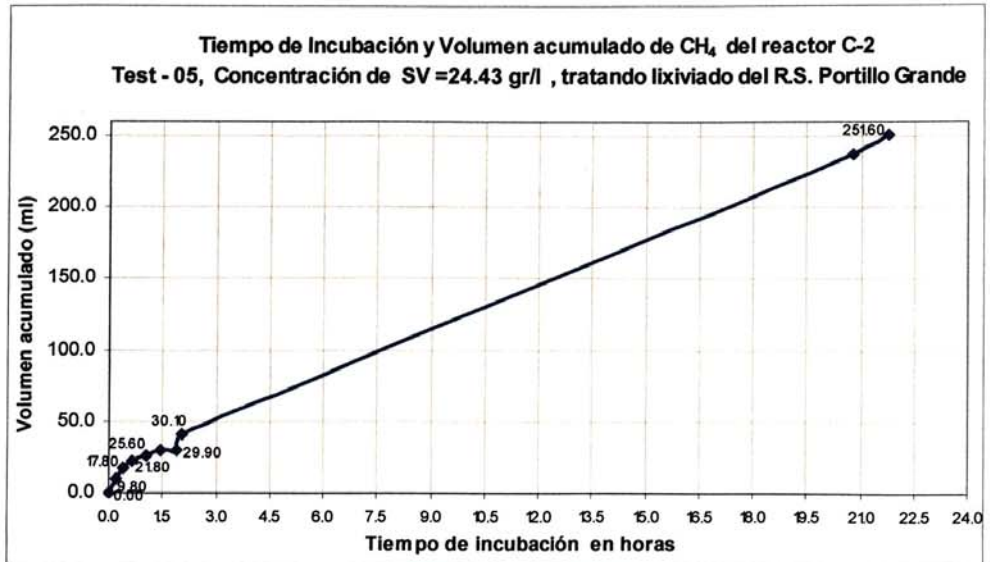


Figura 5.56: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°5-C-2.

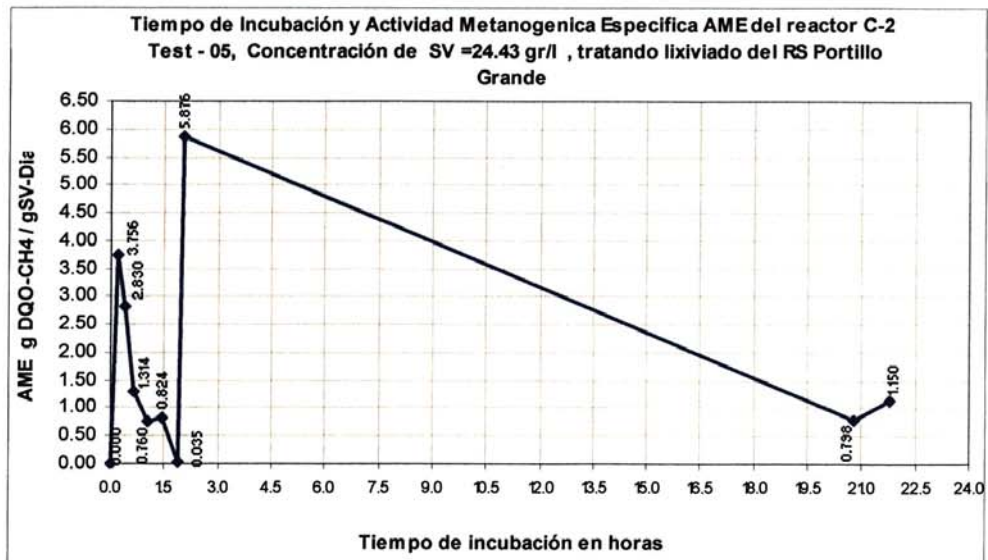


Figura 5.57: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°5-C-2.



### V.4.5.3.- Desarrollo del test de AME N° 5 para el digester batch C-3

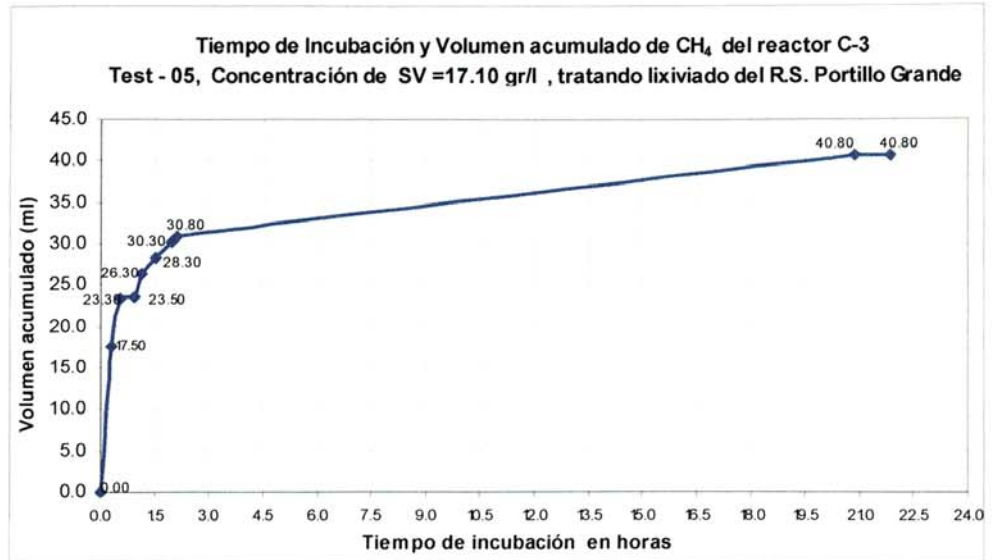


Figura 5.58: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°5-C-3.

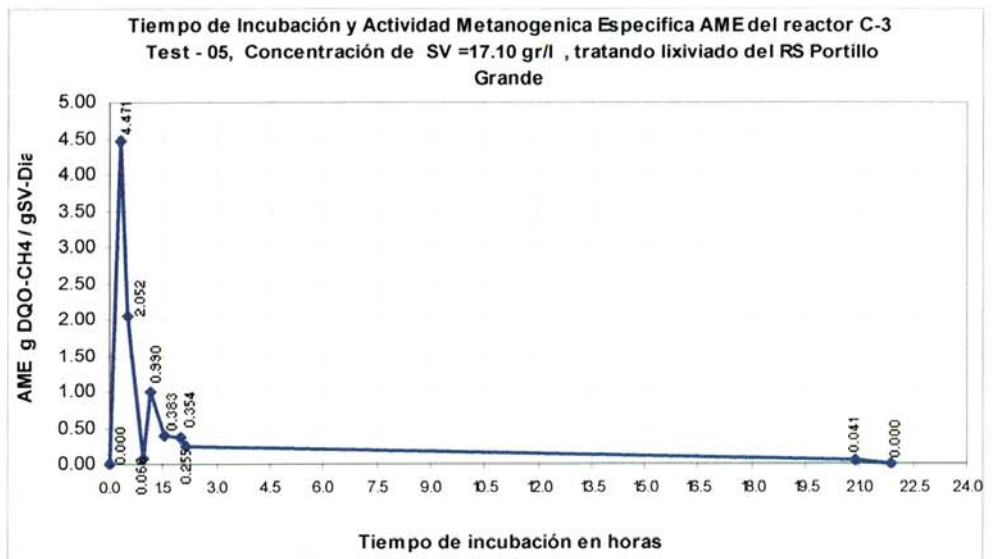


Figura 5.59: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°5-C-3.

V.4.5.4.- Desarrollo del test de AME N° 5 para el digester batch C-4

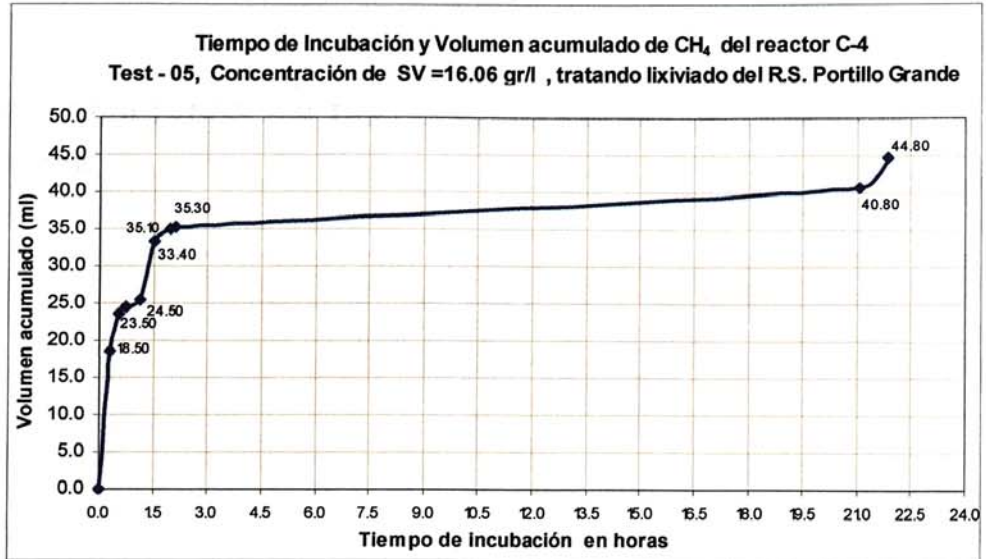


Figura 5.60: Gráfica del volumen acumulado de CH<sub>4</sub> producido-Test N°5-C-4.

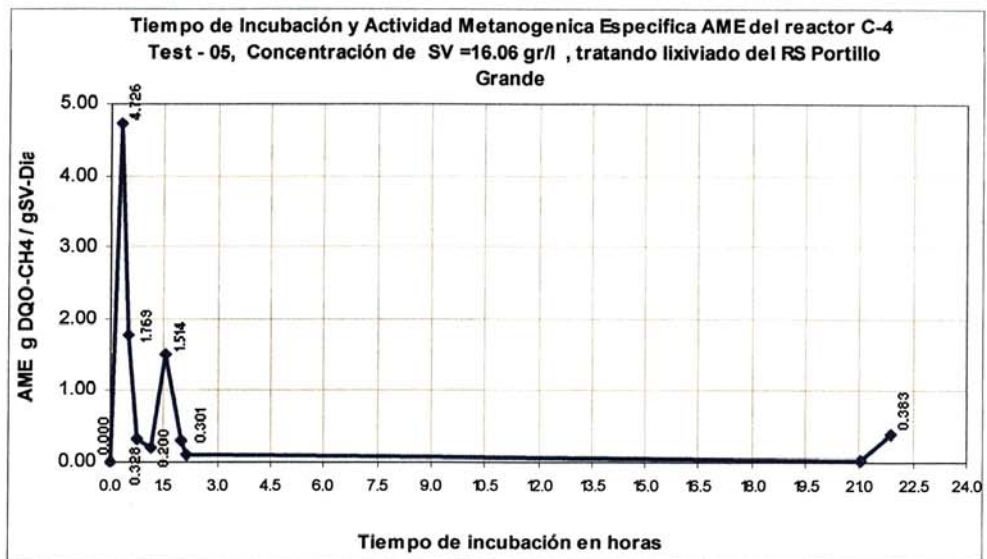


Figura 5.61: Gráfica de la Actividad Metanogénica Específica-Test N°5-C-4.

## V.5.- RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE MICROORGANISMOS EN LOS MEDIOS DE SOPORTE

### V.5.1.- RESULTADOS SIN TRATAMIENTO PREVIO DE LAVADO DE LA MUESTRA

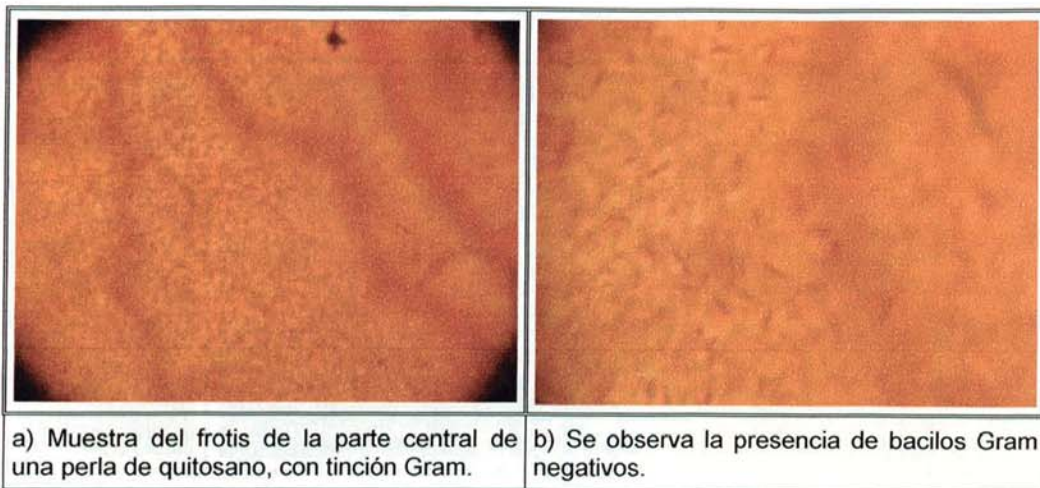


Figura 5.62: Bacterias presentes en muestra de quitosano sin previo lavado.

En la figura 5.62, se aprecian abundantes bacterias Gram negativas, de una muestra obtenida de la parte central de una perla de quitosano.

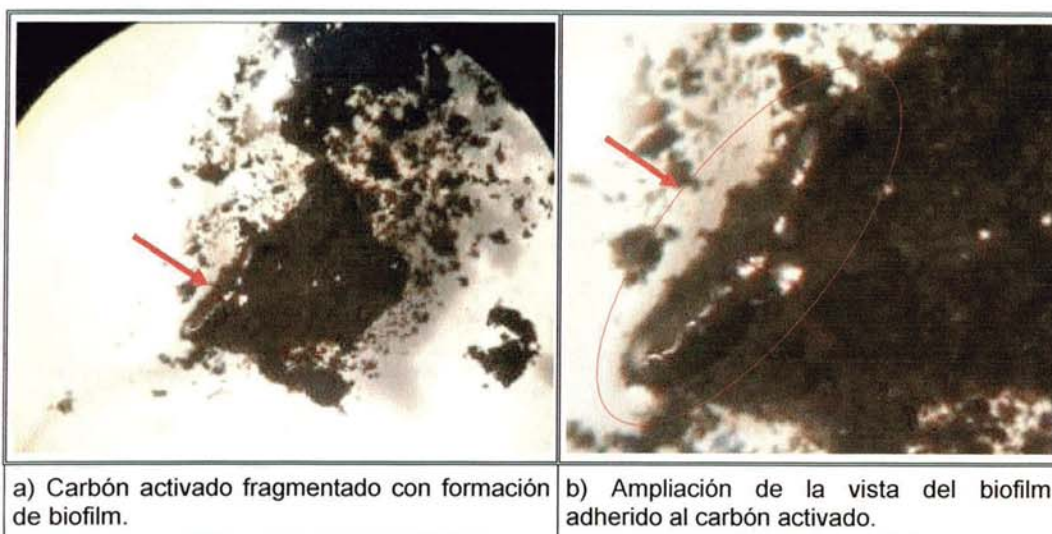


Figura 5.63: Carbón activado fragmentado con formación de biofilm.

En la Figura 5.63, se muestra la formación de un biofilm adherido al carbón activado granular (CAG), observado en un estereoscopio, lo cual demuestra el inicio de la granulación en este medio de soporte.

### V.5.2.- RESULTADOS CON TRATAMIENTO PREVIO DE LAVADO DE LA MUESTRA

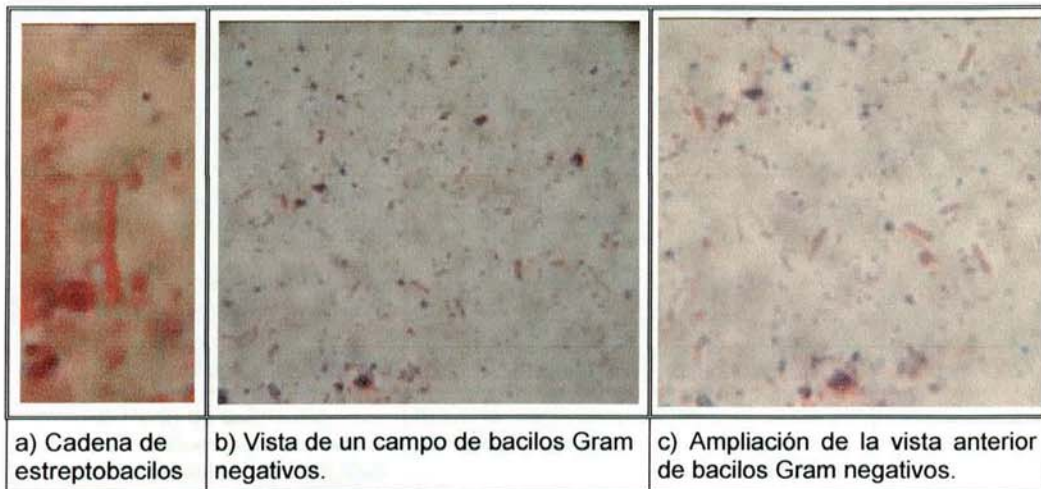


Figura 5.64: Bacterias presentes en muestra de quitosano con previo lavado.

La figura 5.64, evidencia la presencia de bacterias Gram negativas, de una muestra obtenida de la parte central de una perla de quitosano.

### V.5.3.- RESULTADOS EMPLEANDO TÉCNICAS HISTOLÓGICAS DE CORTES MICROMÉTRICOS

#### V.5.3.1.- Presencia de microorganismos y tamaño de poros en perlas de quitosano

La Figura 5.65, muestra los poros de una de las perlas de quitosano, donde se alojaron las bacterias anaerobias.

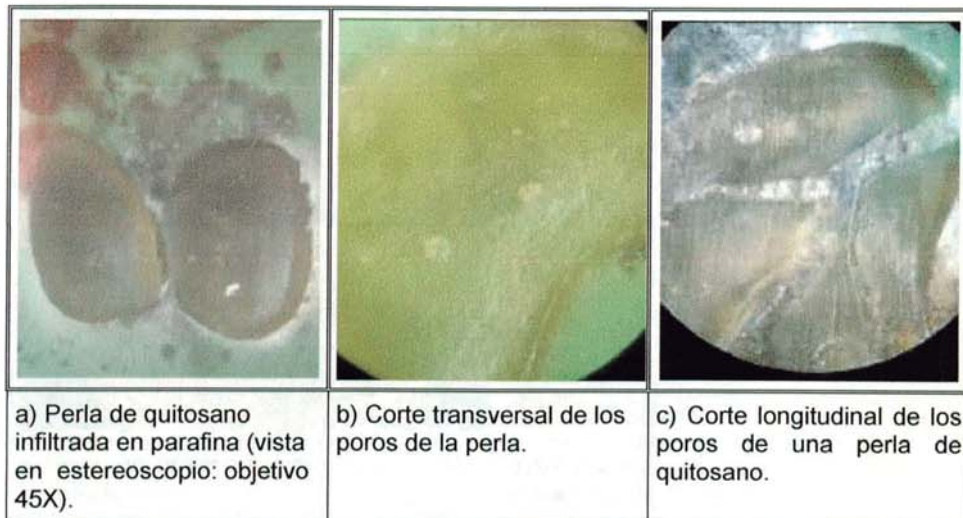


Figura 5.65: Vista de los poros de una perla de quitosano infiltrada en parafina, a través de un estereoscopio.

El tamaño de los poros varía en un rango aproximado que va desde 5  $\mu\text{m}$  hasta 26  $\mu\text{m}$ . En la Tabla 5.5, se muestran los valores estimados del diámetro de los poros tomados de uno de los cortes micrométricos.

Tabla 5.5: Diámetro de los poros del quitosano.

PORO	DIÁMETRO
1	26 $\mu\text{m}$
2	11 $\mu\text{m}$
3	12 $\mu\text{m}$
4	09 $\mu\text{m}$
5	12 $\mu\text{m}$
6	5 $\mu\text{m}$
7	10 $\mu\text{m}$
8	10 $\mu\text{m}$

La Figura 5.66, muestra el momento en que se realizaron las mediciones de los poros de una de las perlas de quitosano, en un microscopio con el objetivo de 100X.

También se pueden observar manchas de color azul, correspondientes a las proteínas, debido a la probable presencia de microorganismos, mediante la tinción HE (Hematoxilina – Eosina).

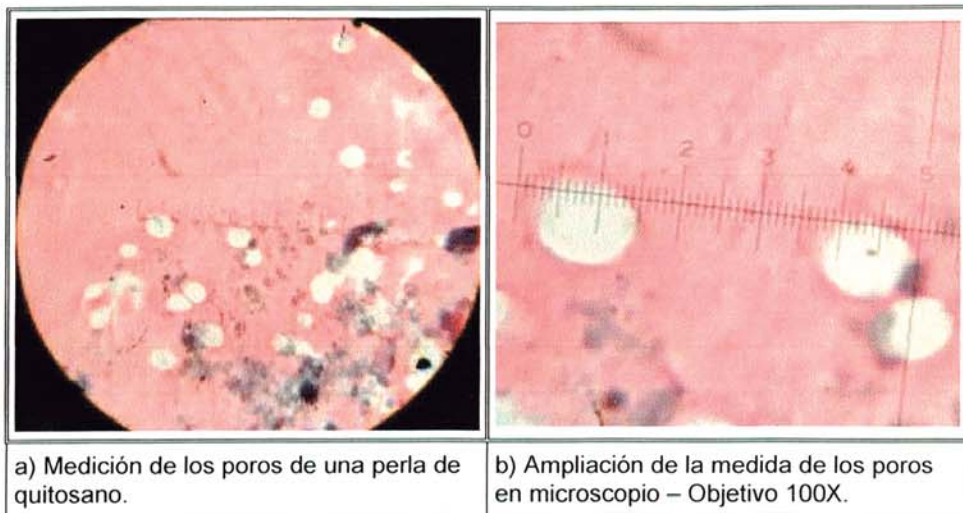


Figura 5.66: Medición en microscopio de los poros de una perla de quitosano de un corte micrométrico.

En la Figura 5.67, se evidencia la presencia de bacterias Gram negativas al interior de los poros de las perlas de quitosano.

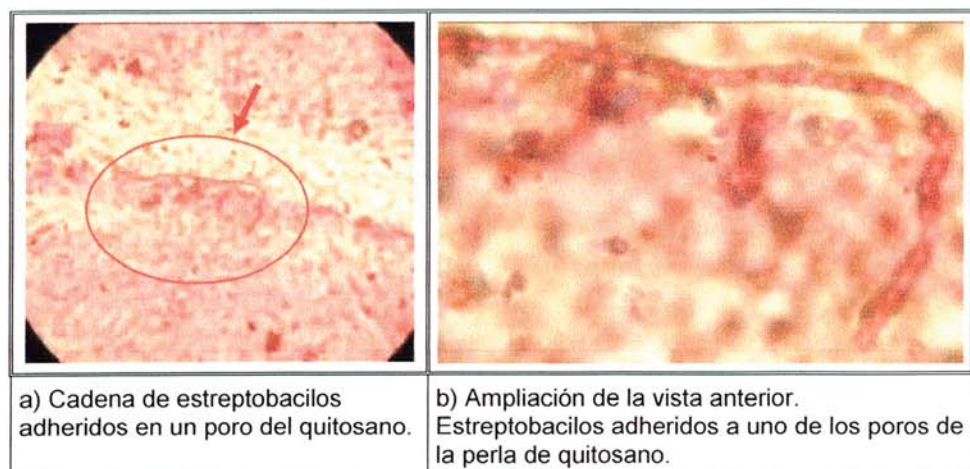


Figura 5.67: Hallazgo de bacterias Gram negativas al interior de los poros de las perlas de quitosano.

Otro hallazgo de bacterias, se presenta en la Figura 5.68, la cual muestra un consorcio microbiano adherido a la pared del poro de una perla de quitosano.

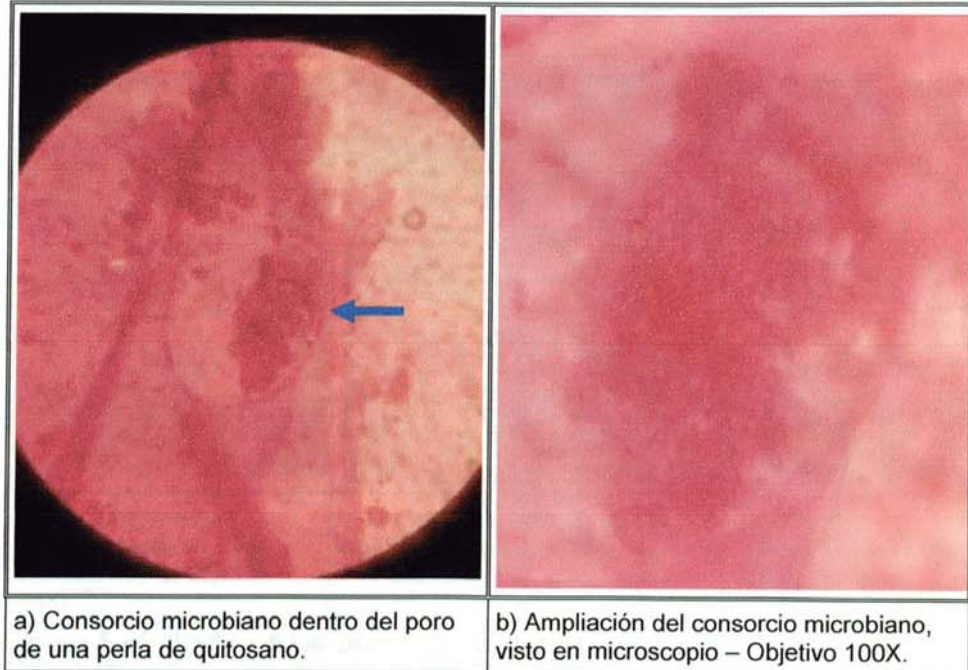


Figura 5.68: Consorcio microbiano presente en el poro de una perla de quitosano.

### V.5.3.2.- Presencia de microorganismos en carbón activado granular

La Figura 5.69, muestra la morfología de los poros del carbón activado granular, visto a través de un estereoscopio.



Figura 5.69: Vista de los poros de un grano de carbón activado infiltrado en parafina, a través de un estereoscopio.

La Figura 5.70, muestra la presencia de un consorcio bacteriano adherido a la pared de uno de los poros del carbón activado.

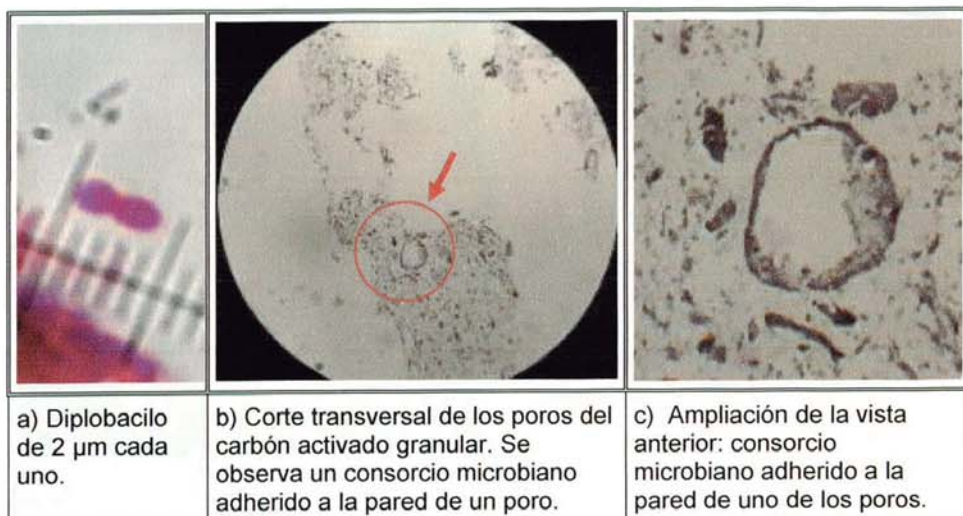


Figura 5.70: Vista del poro colonizado de un grano de carbón activado.



### V.5.3.3.- Presencia de microorganismos y tamaño de poros en zeolita

La Figura 5.71, muestra la morfología de los poros de la zeolita, visto a través de un microscopio.

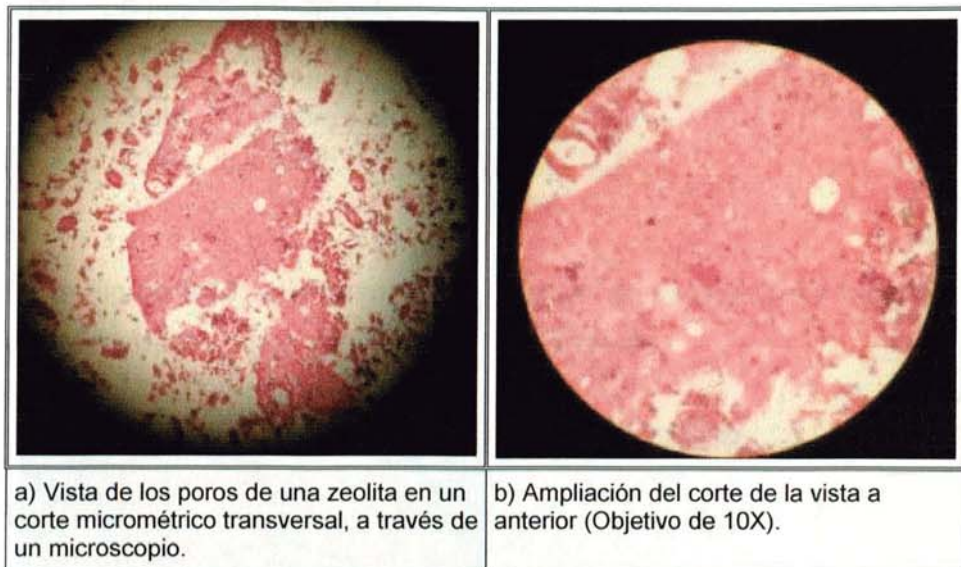


Figura 5.71: Corte micrométrico de una partícula de zeolita.

La Figura 5.72, muestra el momento en que se realizaron las mediciones de los poros de una de las partículas de zeolita, en un microscopio con el objetivo de 40X.

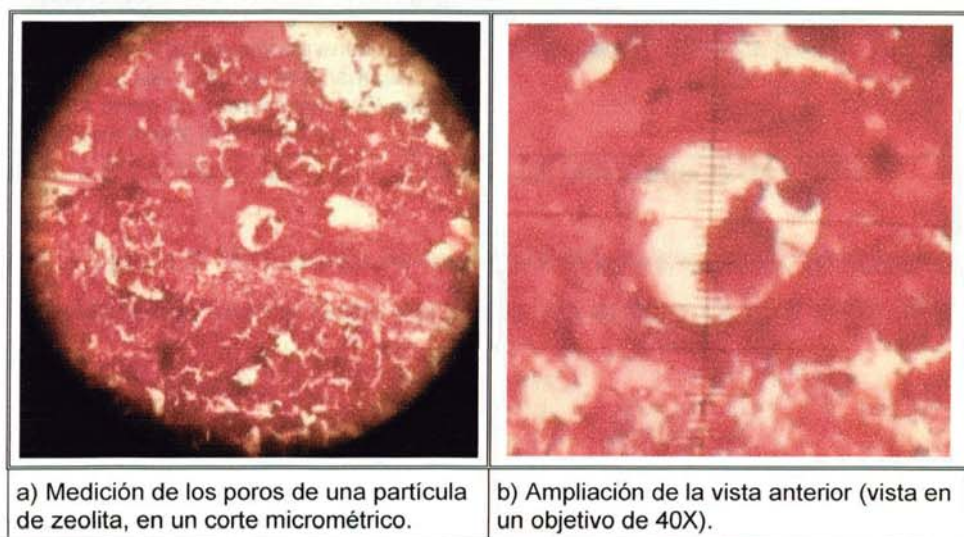


Figura 5.72: Medición en microscopio de los poros de una partícula de zeolita de un corte micrométrico.

La Tabla 5.6 contiene la medida de una muestra de 5 poros de zeolita, tomado de uno de los cortes micrométricos.

Tabla 5.6: Diámetros de los poros de la zeolita.

Poros	Diámetro	Forma
Ø1	6 µm	Esferoide
Ø2	4 µm	Esferoide
Ø3	6 µm	Esferoide
Ø4	5 µm	Esferoide
Ø5	6 µm	Esferoide

En la Figura 5.73, se evidencia la presencia de bacilos Gram negativos al interior de los poros de una partícula de zeolita.

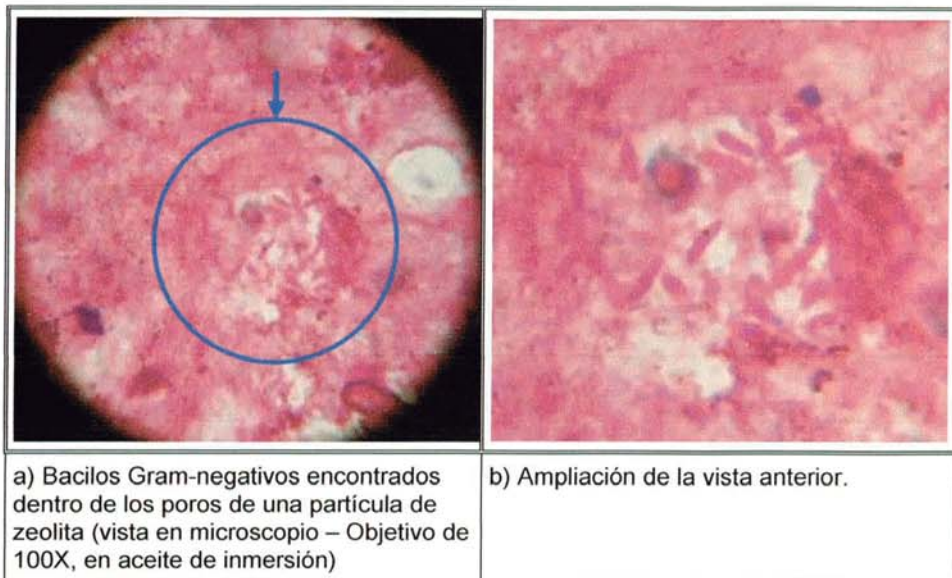


Figura 5.73: Vista del poro colonizado de una partícula de zeolita.

En la Figura 5.74, también se evidencia la presencia de otro consorcio bacteriano de bacilos Gram-negativos, en el poro de otra partícula de zeolita.

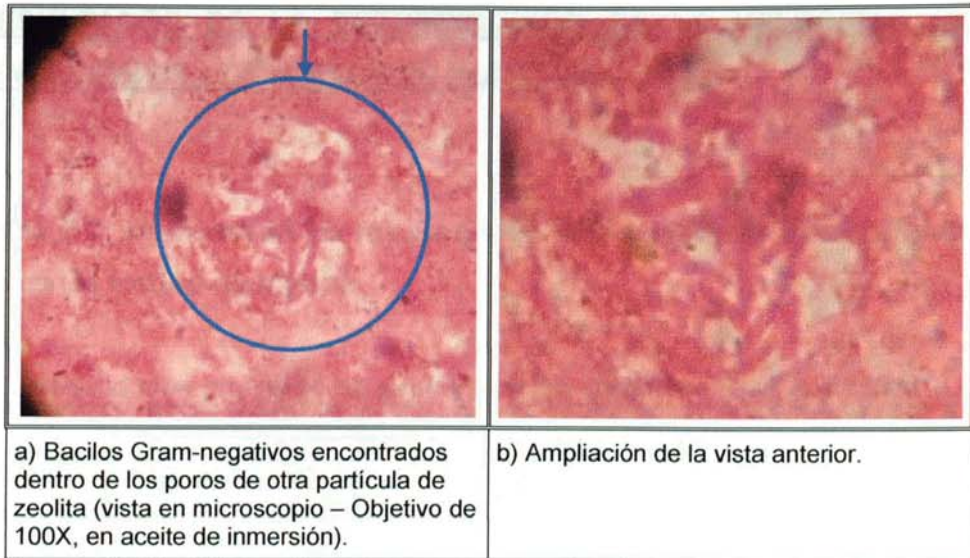


Figura 5.74: Vista de otro poro colonizado, por bacterias Gram-negativas, de otra partícula de zeolita.

**V.6.- RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN DE LOS MEDIOS DE SOPORTE**

En la Tabla 5.7, se muestran los resultados de las velocidades promedio para cada uno de los medios de soporte.

Tabla 5.7: Velocidades promedio de sedimentación de los medios de soporte.

<b>PARTÍCULA</b>	<b>Nº de prueba</b>	<b>Altura (cm)</b>	<b>Tiempo (s)</b>	<b>Velocidad (cm/s)</b>	<b>Velocidad (m/h)</b>	<b>Velocidad promedio (m/h)</b>
<b>CARBÓN ACTIVADO</b>	1	30	7.35	4.08	146.94	<b>139.74</b>
	2	30	8.91	3.37	121.21	
	3	30	7.55	3.97	143.05	
	4	30	7.31	4.10	147.74	
<b>ZEOLITA (ABSORSOL)</b>	1	30	5.89	5.09	183.36	<b>292.53</b>
	2	30	3.54	8.47	305.08	
	3	30	2.99	10.03	361.20	
	4	30	3.37	8.90	320.47	
<b>QUITOSANO</b>	1	30	14.39	2.08	75.05	<b>97.58</b>
	2	30	9.75	3.08	110.77	
	3	30	10.01	3.00	107.89	
	4	30	11.18	2.68	96.60	

## CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN

---

### RESPECTO A LA OPERACIÓN DE LOS DIGESTORES

Durante la operación, se observó un incremento gradual de la resistencia a la rotación de las paletas, debido a la oxidación de los accesorios de fierro en la contratapa del digestor; específicamente en la intersección del eje de la paleta y la bocina. Dicha área no fue impermeabilizada, para no quitarle movilidad a la rotación de paletas. Esta oxidación se produjo por los componentes del biogás generado ( $H_2S$ ,  $CO$ ,  $CO_2$ ) (ver tabla 2.4: Componentes del biogás en función del sustrato utilizado, Coombs, 1990).

Los digestores, trabajaron durante todo el periodo del estudio en un rango psicrófilico de temperatura. (de 0 a 25 °C); presentando durante la primera quincena de operación temperaturas cercanas al valor óptimo, lo que se reflejó en una buena producción de biogás durante la fase de arranque del digestor.

Se observa que la producción media de biogás está directamente relacionada con la temperatura ambiente, y que los medios de soporte no afectaron de forma significativa o nula esta producción.

El rango psicrófilico, en el cual trabajaron los digestores, tiene la ventaja que el proceso de digestión se realizó sin problemas de estabilidad (Van Lier Et al., 1993). Esto se ve reflejado en la grafica del pH, la cual indica que durante toda la fase del proyecto, este osciló entre 7.8 a 7.5 en promedio.

En general, para todos los digestores, la mayor parte del tiempo, el %SSV/SST estuvo por encima de 50%, indicando que el lodo mantenía buenas características como lodo activo (no se estabilizaba en el tiempo).

#### **RESPECTO AL ALGINATO:**

Las perlas de alginato, se deshidrataron debido a la presencia de una gran cantidad de sales dentro del digestor C-4; la causa probable para que ocurra la deshidratación sería el intercambio iónico que se produce entre las sales presentes en el digestor y la estructura polimérica del alginato, originado así la pérdida de sus propiedades mecánicas poliméricas.

Cabe recordar que una de las desventajas de los polímeros de gelificación ionotrópica, es que pueden ser destruidos por agentes quelantes, que secuestran los cationes que conforman la estructura polimérica de la red (intercambio iónico) (Suárez J.; Iñigo B.; Microbiología Enológica).

Sin embargo cabe resaltar que el parámetro DBO y SSV se mantuvieron sin variación significativa, llegando a deducir que el alginato como material, es poco biodegradable, ya que su desintegración generó un aumento de la DQO.

Finalmente, para el caso del alginato, no se interpretó la producción de biogás del digestor C-4, debido a que este se desmontó para su mantenimiento, por fallas en la hermeticidad y problemas de oxidación en el sistema de agitación.

#### **RESPECTO AL QUITOSANO:**

Se observó una disminución en los parámetros SSV y SST, de la muestra tomada a los 25 días de inoculado el quitosano, debido a que la muestra estuvo más diluida (mayor porcentaje del lixiviado presente en la muestra de lodo).

El %SSV/SST de la muestra tomada a los 25 días de inoculado, mostró una disminución de la fracción volátil, debido al mayor contenido de lixiviado en la

muestra tomada. La muestra tomada a los 40 días de inoculado el quitosano mostró un incremento del %SSV/SST, indicando un incremento de la biomasa presente en el lodo.

#### **RESPECTO A LA COMPARACIÓN DE BIOPARTÍCULAS:**

La diferencia entre las biopartículas utilizadas como medio de soporte, radica en la metodología del proceso constructivo. Las perlas de alginato, se realizan en condiciones que favorecen la inoculación de microorganismos en la perla según el procedimiento descrito por De Guillán, A.(2000). El proceso de formación de las perlas de quitosano se realiza a altos valores de pH, con lo cual se imposibilita la inoculación de microorganismos en estas (Flores .J, et al.; 2005).

Las perlas de quitosano, a diferencia del alginato, mostraron tener estabilidad química y biológica (Cárcamo C.; 2005).

#### **RESPECTO AL CARBÓN ACTIVADO GRANULAR (CAG):**

La fracción biodegradable del lodo del digester C-3, no se vio afectada por la inoculación del CAG (esto se ve reflejado en el comportamiento de la curva %DBO<sub>5</sub>/DQO).

A los 33 días de inoculado el CAG, el %SSV desciende a 50.67%, para luego mantener un comportamiento estable con un promedio de 51.2% ± 1.54%, hasta los 71 días de inoculado. Este comportamiento, se debe a una exposición del digester al aire, debido al mantenimiento realizado al sistema de agitación (lo que generó una mayor aireación de la mezcla lodo–lixiviado, inhibiendo a la biomasa presente en el lodo).

El valor del %SSV/SST, presentado a los 63 días de inoculación, se debe a que la muestra de lodo tomada en esa fecha, tenía una mayor concentración de lixiviado, lo que originó una distorsión en la lectura de los datos SSV, alterando el comportamiento de las curvas DBO<sub>5</sub>/SSV y %SSV/SST. La exposición de la biomasa, se vio reflejada en una disminución de la AME, llegando a un valor

mínimo de 2.89 gr DQO-CH<sub>4</sub> / gr SSV.d, a los 14 días de inoculado el CAG, para luego presentar una incremento sostenido hasta el final del periodo de estudio.

#### **RESPECTO A LA ZEOLITA:**

La DBO<sub>5</sub> presente en el lodo, no se ve alterada durante todo el periodo de inoculación, indicando que la Zeolita no reacciona biológicamente.

El comportamiento de la DQO, sin considerar el dato tomado a los 65 días, presenta un incremento sostenido desde el día 53 de inoculado, hasta el término del período de estudio, quedando por verificar si los aluminosilicatos presentes en la zeolita generan una alteración del valor de la DQO.

#### **RESPECTO A LOS MEDIOS DE SOPORTE EN GENERAL:**

Las densidades iniciales de los medios de soporte Alginato y quitosano, fueron de 0.53 y 0.17 gr/cm<sup>3</sup> respectivamente, y el CAG y Zeolita presentaron valores de densidad seca de 0.61 y 0.47 gr/cm<sup>3</sup>, incrementando su densidad luego de ser inoculadas. Esto se demostró debido a la sedimentación gradual de los medios de soporte en los digestores.

La velocidades promedio de sedimentación de los medios de soporte, estuvieron muy por encima de los valores promedio para los lodos granulares anaerobios (60 m/h), de acuerdo a Hulshoff Pol L, et al (2003).

El quitosano, fue el medio de soporte que tuvo una velocidad más cercana al valor promedio indicado líneas arriba, siendo de 97.58 m/h. Como contraparte, la zeolita, fue el medio que tuvo la velocidad más alta (292.53 m/h). El carbón activado también presentó una velocidad promedio elevada igual a 139.74 m/h.

Según los valores de la Tabla 5.5, los diámetros de los poros de las perlas de quitosano, se clasifican como macroporos, tal como lo referencia la clasificación



IUPAC (Unión internacional de química pura y aplicada) para el tamaño de los poros.

La gran dispersión de diámetros en los poros, observada en las perlas de quitosano, se debe a que el tamaño de poro del gel y sus propiedades mecánicas, están determinados por las cantidades relativas de monómeros y agentes de entrecruzamiento. Por lo tanto, es posible variar estas concentraciones para influir en la estructura de la red.

Según la Tabla 5.6, los diámetros de los poros de la zeolita, se clasifican como macroporos, tal como lo referencia la clasificación IUPAC (Unión internacional de química pura y aplicada) para el tamaño de los poros. Sin embargo, tal como lo referencia el documento "Características de las rocas, composición, textura y espacios vacíos y clasificaciones" (Universidad de Oviedo, Facultad de petrología y geoquímica), se clasifican como microporos.

Finalmente, se logró demostrar la adherencia de microorganismos a los medios de soporte CAG, (ver Figura 5.63 y 5.71), quitosano (ver Figura 5.62, 5.64, 5.67 y 5.68) y zeolita (ver Figura 5.73 y 5.74), tal como se indica en el Capítulo II (Imai, 1997; Teo, 2000, Aumento de la granulación por los núcleos de crecimiento).

## CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

---

Del estudio realizado, se concluye lo siguiente:

- Se logró la granulación de los medios de soporte empleados, de acuerdo con la teoría de “Mejoramiento de la granulación por los núcleos de crecimiento”.
- Se verificó la presencia de un biofilm, adherido al carbón activado granular, no pudiéndose identificar en el quitosano ni en la zeolita.
- Se determinó la presencia de microorganismos, al interior de los medios de soporte utilizados.
- Los materiales empleados, sí reúnen las condiciones necesarias para ser utilizados como medios de soporte, destacando el quitosano, por su facilidad de obtención, por el manejo en la determinación del tamaño de la perla, y por el manejo en la determinación del tamaño de los poros.
- Las velocidades promedio de sedimentación de los medios de soporte, están muy por encima de los valores promedio que presentan los lodos granulares anaerobios (60 m/h), siendo el quitosano el material como medio de soporte, el que tuvo el valor más cercano a dicho promedio (97.58 m/h).
- El tamaño y la forma de los poros de quitosano esta en función de los factores que actúan el proceso de formación del gel.

- El tamaño de los macro poros en las perlas de quitosano y zeolita favorecen su colonización.
- El quitosano, presenta una ventaja comparativa respecto a la zeolita, ya que es posible la modificar el tamaño de los poros durante la generación de la perla.
- Para el presente estudio, el quitosano presentó diámetros de poros mayores a los observados en la zeolita.

## CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES

---

Se recomienda:

- Realizar estudios sobre otros métodos para la formación de gránulos anaerobios (ya sea con ácidos orgánicos, etc) de acuerdo a las teorías expuestas, empleando lixiviado como sustrato.
- Investigar la elaboración de biopartículas, variando la concentración de los materiales empleados (como en los casos del alginato y/o quitosano).
- Investigar la elaboración de geles de encapsulamiento, utilizando materiales diferentes a los empleados en el presente estudio, por ejemplo: PVA, poliuretano, polivinilo, así como los geles naturales: agar, azarosa, carrageno y gelatina.
- Para el test de AME, emplear algún dispositivo de atrapamiento del líquido de lavado de gas (NaOH), para los casos en que se sifone por vacío, a fin de evitar el contacto con el lodo incubado.
- Para los digestores batch, impermeabilizar o aislar con mayor cuidado toda la superficie metálica de fierro, para evitar la corrosión, o en su defecto, emplear algún material inerte e inoxidable para las paletas.
- Realizar un estudio de sedimentabilidad, para diferentes tamaños de partículas empleadas como medios de soporte, para elegir el diámetro óptimo.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

---

Borzacconi L.; Lopez I.; Cardelin E.; Castagna L.; Comparación de tratamientos aerobios y anaerobios aplicados a lixiviado de relleno sanitario; Consolidación para el desarrollo AIDIS; 1996.

Campos A.; Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria; Universitat de LLEIDA; 2001.

Campos J.; Tratamiento de esgotos sanitarios por processo anaerobio e disposicao controlada no solo. Capitulo 03: Configuracoes de reatores anaerobios.; PROSAB; 1999.

Cárcamo C.; Preparación de films de complejo polielectrolito quitosano – alginato y comparación de sus propiedades mecánicas y biológicas con films de quitosano; Universidad de Chile; 2005.

Cardoso A., Torres P., Rojas O.; Addition of ferric chloride as an option to improve the start-up of anaerobic reactors; Instituto de Ingeniería de la UNAM; 2002.

Castillo E., Salcedo A., Moreno Y.; Evaluación de un sistema biológico a escala piloto laboratorio para la remoción de materia orgánica del lixiviado del relleno sanitario de Bucaramanga (Santander), Colombia; Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales, Universidad Industrial de Santander - Bucaramanga - Colombia, 2002.

Chavarro M.; Garces J.; Guerrero J.; Evaluación de la tratabilidad de los lixiviados en el relleno sanitario de Pereira mediante filtros anaerobios de flujo ascendente a escala piloto.; Revista Scienta et Technica Año XII N°30; 38838.

Chavez M.; Mejia D.; Masi M.; Evaluación de la biomasa en el lodo granular anaerobio en reactores por carga; Universidad Zulia; 2006.

Estrada C., Macarie H., Tadayuki M., Rodriguez F.; Resistencia a la exposición al oxígeno de lodos anaerobios suspendidos; INCI, vol.26, no.11; 2001.

Flores J.; Navarro A.; Ramos K.; Chang L.; Adsorción de Cu( II) por quitosano en polvo y perlas de gel; Revista sociedad Química Perú, 71 ,N° 01; 2005.

García del Moral R.; Laboratorio de anatomía patológica, capítulo 03 - 06.; Interamericana Mc GRAW-HILL; 1993.

García R.; Caracterización textural de adsorbentes; Facultad de ciencias químicas Universidad de Concepción; Chile; 2007.

Goncalves L.; Caracterização de biomassa anaerobia granular: análise qualitativa e quantitativa de imagen, hibridizacao com sondas genéticas (FISH) e tecnicas histologicas; Universidad Do Minho; 2002.

Hulshoff L.; De Castro S.; Lettinga G.; Lens P.; Anaerobic Sludge Granulation; Water Research N° 38; 2004.

Jimeno E.; Análisis de aguas y desagües; 3<sup>ra</sup> Edición; Universidad Nacional de ingeniería; 1998.

Mendez R.; Gijón A.; Quintal C.; Osorio H.; Determinación de acumulación de lodos en fosas sépticas de la ciudad de Merid, Yucatán; Universidad Autónoma de Yucatan ; 2007.

Monteigga L.; Proposta de metodologia para avaliacao do parametro "Atividade metanogenica especifica"; ABES (Asociacao brasileira de engenharia sanitaria e ambiental; 1997.

Poetsch P.; Koetz P.; Sistema de determinacao da atividade metanogenica especifica de lodos anaerobios; Revista bras. De agrociencia vol 04, n°03 161-165; 1998.

Quarmby; An examination of the estructura of UASB granules; 1995.

Ramalho R.; Tratamiento de aguas residuales; Reverté, España, 1993.

Rita F.; Desempenho de un reator UASB em escala piloto para o tratamento anaerobio de liquidos percolados de residuos solidos urbanos; Universidad Federal de Santa Catarina; 2002.

Rodríguez J.; Arranque y operación de reactores anaerobios; Universidad Del Valle; 2003.

Sandoval C.; Carreño M.; Castillo E.; Vergara M.; Caracterización microbiológica de lodos anaerobios utilizados en el tratamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos; Universidad Tecnológica de Pereira; 2007.

Sanhueza J.; León G.; Manual de arranque, operación y mantenimiento de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Nacional de Ingeniería; CEPIS; 1995.

Suarez J.; Iñigo B.; Microbiología enológica: Fundamentos de vinificación; 3era edición; Mundi-Prensa Libros; 2004.

Torres L.; Vela A.; Orta M.; Caracterización y tratabilidad del lixiviado de la etapa IV del relleno sanitario de Bordo Poniente, Ciudad de México.; Gestión ambiental del siglo XXI, APIS; 1998.

Tortora G., Berdell F., Case C.; Microbiology: an introduction; 4<sup>th</sup> ed.; The Benjamin/Cummings Publishing Company; California; 1992.

Vazoller R.; Manfio G.; Perez V.; Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX, Cap II, Domino da archaea.; Fundación FAPESP; 1997.

#### **SIN AUTORES ESPECÍFICOS:**

APHA-AWWA-WPCF; Standard Methods for the examination of water and wastewater 17 th ed; 1992.

Reglamento Nacional de Construcciones; Planta de tratamiento de aguas residuales Norma OS.090; 2006

#### **PAGINAS DE INTERNET:**

El carbón activo como adsorbente; pagina: textoscientificos.com; citado el: 25.06.2006; disponible en: [www.textoscientificos.com/quimica/carbon-activo/adsorbente](http://www.textoscientificos.com/quimica/carbon-activo/adsorbente)

Alginato ; pagina :Wikipedia, enciclopedia libre; citado el:10.12.2008; disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/alginato>

Características de las rocas, composición, textura y espacios vacíos; pagina: <http://petro.uniovi.es/Docencia/mro/13%20Guion%20CarPetro07.pdf>; citado el: 16.03.2007; disponible en: [www.geol.uniovi.es](http://www.geol.uniovi.es).

Quitina; pagina: Wikipedia, enciclopedia libre; citado el: 11.10.2008; disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/quitina>

Quitina y Quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro; pagina: revista: Avances en Química; citado el: 21.09.2006; disponible en: [www.saber.ula.ve/avancesenquimica](http://www.saber.ula.ve/avancesenquimica)

Las promesas de la quitina; pagina: Ambiente Plastico.com; citado el: 16.05.2007; disponible en: [www.ambienteplastico.com/artman/publish/article\\_769.php](http://www.ambienteplastico.com/artman/publish/article_769.php)

Zeolitas; pagina: Lenntech Agua residual & purificación del aire Holding .V.; citado en 1998; disponible en: [www.lenntech.com/espanol/zeolitas.html](http://www.lenntech.com/espanol/zeolitas.html)

¿Qué es zeolita natural?; pagina :ZeoCat Importadores de zeolita natural; disponible en: [www.zeolitanatural.com/html/queeszeolita.html](http://www.zeolitanatural.com/html/queeszeolita.html)

Tinción Gram; pagina: Wikipedia, enciclopedia libre; citado el 16.11.2008; disponible en: [http://es.wikipedia.org/wiki/tinción\\_de\\_Gram](http://es.wikipedia.org/wiki/tinción_de_Gram)



**ANEXOS**

---

**ANEXO 1: INFORMES DE ENSAYOS DE LABORATORIO PARA EL  
ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS,  
ELABORADOS POR INSPECTORATE SERVICES PERÚ S.A.C**

## INFORME DE ENSAYO No. 45608L/08-MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

**Cliente** : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
**Dirección** : Av. Pastor Sevilla s/n  
 San Juan de Miraflores  
**Producto** : Lodos y lixiviados  


---

**Cantidad de muestra** : 16  


---

**Presentación** : Frascos de plástico proporcionados por  
 Inspectorate Services Perú S.A.C.  
**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente  


---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente  
 Fecha de muestreo: 2008-04-18, Hora: 10:00  
 O/S 392-08-OPMA  


---

**Referencia del Cliente** : UNITRAR  
**Fecha Ingreso de Muestra(s)** : 2008-04-18  
**Fecha de Inicio de Análisis** : 2008-04-18  
**Fecha de Término de Análisis** : 2008-04-29  
**Solicitud de Análisis** : 12359/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras	Sólidos Totales Suspendidos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendidos (mg/L)
12359-62114	C 1	46110,0	1894,0	26178,0	23250,0
12359-62115	C 2	47550,0	1840,0	40138,7	23720,0
12359-62116	C 3	43590,0	1152,0	18662,7	17890,0
12359-62117	C 4	36060,0	1088,0	18675,9	17240,0
Límite Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

### Métodos:

**D.B.O<sub>5</sub>** EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
**Sólidos Totales Suspendidos** APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.  
**Demanda Química de Oxígeno** EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
**Sólidos Volátiles Suspendidos** EPA 160.4 :Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, con refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 29 de Abril del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

## INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 45702L/08- MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

**Cliente** : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
**Dirección** : Av. Pastor Sevilla s/n  
 San Juan de Miraflores  
**Producto** : Lodo Lixiviado  


---

**Cantidad de muestra** : 16  


---

**Presentación** : Frascos de plástico proporcionados por  
 Inspectorate Services Perú S.A.C.  
**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente  


---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente  
 Fecha de muestreo: 2008-04-21, Hora: 14:00  
 O/S 403-08-LAMA  
**Referencia del Cliente** : UNI – TRAR  
**Fecha Ingreso de Muestra(s)** : 2008-04-21  
**Fecha de Inicio de Análisis** : 2008-04-21  
**Fecha de Término de Análisis** : 2008-04-29  
**Solicitud de Análisis** : 12377/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras	Sólidos Totales Suspendidos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles (mg/L)
12377-62210	C 1	46010,0	1306,0	29955,4	19240,0
12377-62211	C 2	42190,0	1746,0	51748,4	17870,0
12377-62212	C 3	46270,0	1672,0	20630,7	23280,0
12377-62213	C 4	37375,0	1152,0	20155,2	18595,0
Limite Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

**D.B.O<sub>5</sub>** EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
**Sólidos Totales Suspendidos** APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105°C.  
**Demanda Química de Oxígeno** EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
**Sólidos Volátiles** EPA 160.4 :Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, sin refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 29 de Abril del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

## INFORME DE ENSAYO No. 45912L/08-MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

Cliente : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
 Dirección : Av. Pastor Sevilla s/n  
 San Juan de Miraflores  
**Producto** : Lodos y lixiviados  


---

**Cantidad de muestra** : 16  


---

 Presentación : Frascos de plástico proporcionados por  
 Inspectorate Services Perú S.A.C.  
**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente  


---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente  
 Fecha de muestreo: 2008-04-25, Hora: 09:00  
 O/S 428-08-LAMA  


---

 Referencia del Cliente : No indica  
 Fecha Ingreso de Muestra(s) : 2008-04-25  
 Fecha de Inicio de Análisis : 2008-04-25  
 Fecha de Término de Análisis : 2008-05-06  
 Solicitud de Análisis : 12432/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras	Sólidos Totales Suspendidos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendidos (mg/L)
12432-62581	C1	36110,0	2184,0	21096,9	18745,0
12432-62582	C2	48400,0	2924,0	28847,3	25455,0
12432-62583	C3	45780,0	2897,0	30541,9	23815,0
12432-62584	C4	21790,0	2027,0	14318,6	12940,0
Límite Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

### Métodos:

D.B.O<sub>5</sub> EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Totales Suspendidos APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.  
 Demanda Química de Oxígeno EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Volátiles Suspendidos EPA 160.4 :Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, sin refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 06 de Mayo del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.



## INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 56403L/08- MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

Cliente : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
 Dirección : Av. Pastor Sevilla s/n  
                   San Juan de Miraflores  
**Producto** : Agua y lixiviados

---

**Cantidad de muestra** : 16

---

**Presentación** : Frascos de plástico proporcionados por  
 Inspectorate Services Perú S.A.C.

**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente

---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente  
 Fecha de muestreo: 2008-05-05, Hora: 14:00  
 O/S 462-08-LAMA

---

Referencia del Cliente : Unitrar – Relima  
 Fecha Ingreso de Muestra(s) : 2008-05-05  
 Fecha de Inicio de Análisis : 2008-05-05  
 Fecha de Término de Análisis : 2008-05-15  
 Solicitud de Análisis : 12547/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras	Sólidos Totales Suspendedos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendedos (mg/L)
12547-63384	C1	52130,0	1936,7	31915,5	25805,0
12547-63385	C2	47890,0	1963,3	26331,4	24155,0
12547-63386	C3	52640,0	2001,7	23308,3	25690,0
12547-63387	C4	28745,0	953,3	23598,7	14980,0
Límite de Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

D.B.O<sub>5</sub> EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Totales Suspendedos APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.  
 Demanda Química de Oxígeno EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Volátiles Suspendedos EPA 160.4: Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, sin refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 16 de Mayo del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 56856L/08-  
MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

Cliente : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
 Dirección : Av. Pastor Sevilla s/n  
                   San Juan de Miraflores  
**Producto** : Agua y lixiviados  


---

**Cantidad de muestra** : 16  


---

 Presentación : Frascos de plástico proporcionados por  
                   Inspectorate Services Perú S.A.C.  
**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente  


---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente  
   Fecha de muestreo: 2008-05-14, Hora: 14:00  
   O/S 497-08-LAMA  
 Referencia del Cliente : Unitrar  
 Fecha Ingreso de Muestra(s) : 2008-05-14  
 Fecha de Inicio de Análisis : 2008-05-17  
 Fecha de Término de Análisis : 2008-05-27  
 Solicitud de Análisis : 12653/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras	Sólidos Totales Suspendidos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendidos (mg/L)
12653-64071	C1	43225,0	1456,7	27355,9	20970,0
12653-64072	C2	40120,0	1440,0	30119,3	20480,0
12653-64073	C3	35795,0	1350,0	33214,0	18085,0
12653-64074	C4	38945,0	1486,7	44135,2	19810,0
Límite de Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

D.B.O<sub>5</sub> EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Totales Suspendidos APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105°C.  
 Demanda Química de Oxígeno EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Volátiles Suspendidos EPA 160.4: Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, sin refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 27 de Mayo del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.



INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 57018L/08-  
MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

Cliente : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
 Dirección : Av. Pastor Sevilla s/n  
 San Juan de Miraflores  
**Producto** : Agua  


---

**Cantidad de muestra** : 16  


---

 Presentación : Frascos de plástico proporcionados por  
 Inspectorate Services Perú S.A.C.  
**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente  


---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente  
 Fecha de muestreo: 2008-05-19, Hora: 14:00  
 O/S 515-08-LAMA  
 Referencia del Cliente : Unitrar  
 Agua lixiviado  
 Fecha Ingreso de Muestra(s) : 2008-05-19  
 Fecha de Inicio de Análisis : 2008-05-19  
 Fecha de Término de Análisis : 2008-05-30  
 Solicitud de Análisis : 12710/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras	Sólidos Totales Suspendedos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendedos (mg/L)
12710-64335	C1	49405,0	1783,3	33768,0	25270,0
12710-64336	C2	49475,0	1698,3	33476,0	25280,0
12710-64337	C3	38500,0	1695,0	32400,9	18760,0
12710-64338	C4	48775,0	1791,7	79316,2	24535,0
Limite de Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

D.B.O<sub>5</sub> EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Totales Suspendedos APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.  
 Demanda Química de Oxígeno EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Volátiles Suspendedos EPA 160.4: Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, con refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 30 de Mayo del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 57367L/08-

MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

Cliente : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
 Dirección : Av. Pastor Sevilla s/n  
 San Juan de Miraflores  
**Producto** : Agua  


---

**Cantidad de muestra** : 16  


---

 Presentación : Frascos de plástico proporcionados por  
 Inspectorate Services Perú S.A.C.  
**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente  


---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente  
 Fecha de muestreo: 2008-05-23, Hora: 14:00  
 O/S 540-08-LAMA  
 Referencia del Cliente : Unitrar  
 Lixiviados  
 Fecha Ingreso de Muestra(s) : 2008-05-23  
 Fecha de Inicio de Análisis : 2008-05-24  
 Fecha de Término de Análisis : 2008-06-03  
 Solicitud de Análisis : 12783/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras	Sólidos Totales Suspendedos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendedos (mg/L)
12783-64659	C1	47585,0	1764,0	41387,6	23620,0
12783-64660	C2	48420,0	1513,0	43117,1	24705,0
12783-64661	C3	48285,0	1571,0	40905,0	23505,0
12783-64662	C4	44430,0	1509,0	45450,0	20170,0
Límite de Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

D.B.O<sub>5</sub> EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Totales Suspendedos APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.  
 Demanda Química de Oxígeno EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Volátiles Suspendedos EPA 160.4: Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, sin refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 03 de Junio del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 710347L/08-MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

Cliente : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
 Dirección : Av. Pastor Sevilla s/n  
                   San Juan de Miraflores  
**Producto** : Agua  


---

**Cantidad de muestra** : 16  


---

 Presentación : Frascos de plástico proporcionados por  
                   Inspectorate Services Perú S.A.C.  
**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente  


---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente indicando  
                   fecha de muestreo: 2008-07-17  
                   Hora: 09:00  
                   O/S 754-08-LAMA  
 Referencia del Cliente : Lixiviados  
 Fecha Ingreso de Muestra(s) : 2008-07-17  
 Fecha de Inicio de Análisis : 2008-07-17  
 Fecha de Término de Análisis : 2008-07-26  
 Solicitud de Análisis : 13539/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras Declarado por el cliente	Sólidos Totales Suspendedos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendedos (mg/L)
13539-68899	C1	40925,0	1440,0	34207,7	19680,0
13539-68900	C2	32025,0	1300,0	38278,7	15967,5
13539-68901	C3	27080,0	1035,0	32213,1	13722,5
13539-68902	C4	29427,5	1540,0	42950,8	14507,5
Límite de Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

D.B.O<sub>5</sub> EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Totales Suspendedos APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.  
 Demanda Química de Oxígeno EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
 Sólidos Volátiles Suspendedos EPA 160.4: Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, sin refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 26 de Julio del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

## INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 710120L/08- MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

**Cliente** : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
**Dirección** : Av. Pastor Sevilla s/n  
 San Juan de Miraflores  
**Producto** : Agua  


---

**Cantidad de muestra** : 16  


---

**Presentación** : Frascos de plástico proporcionados por  
 Inspectorate Services Perú S.A.C.  
**Instrucciones de Ensayo** : Enviadas por el cliente  


---

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente indicando  
 fecha de muestreo: 2008-07-24  
 Hora: 09:00  
 O/S 790-08-LAMA  


---

**Referencia del Cliente** : Lixiviados  
**Fecha Ingreso de Muestra(s)** : 2008-07-24  
**Fecha de Inicio de Análisis** : 2008-07-24  
**Fecha de Término de Análisis** : 2008-08-05  
**Solicitud de Análisis** : 13614/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras Declarado por el cliente	Sólidos Totales Suspendidos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendidos (mg/L)
13614-69502	C1	36275,0	970,0	27259,0	18455,0
13614-69503	C2	37075,0	1501,7	56860,2	18850,0
13614-69504	C3	37745,0	1320,0	30489,7	19000,0
13614-69505	C4	19925,0	578,0	16018,8	10460,0
Límite de Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

**D.B.O<sub>5</sub>** EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
**Sólidos Totales Suspendidos** APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.  
**Demanda Química de Oxígeno** EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
**Sólidos Volátiles Suspendidos** EPA 160.4: Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, sin refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 05 de Agosto del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 812096L/08-  
MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

Cliente : VEGA UPACA S.A. – RELIMA  
Dirección : Av. Pastor Sevilla s/n  
San Juan de Miraflores  
**Producto** : Agua

**Cantidad de muestra** : 16

Presentación : Frascos de plástico proporcionados por Inspectorate Services Perú S.A.C.  
Instrucciones de Ensayo : Enviadas por el cliente

**Procedencia de la Muestra** : Muestras enviadas por el cliente indicando fecha de muestreo: 2008-08-21  
Hora: 12:00  
O/S 908-08-LAMA

Referencia del Cliente : UNI - TRAR  
Lixiviados

Fecha Ingreso de Muestra(s) : 2008-08-21  
Fecha de Inicio de Análisis : 2008-08-21  
Fecha de Término de Análisis : 2008-08-29  
Solicitud de Análisis : 13973/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras Declarado por el cliente	Sólidos Totales Suspendedos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendedos (mg/L)
13973-71740	C-1	25712,0	1126,7	28360,0	13487,0
13973-71741	C-2	28304,0	830,0	32720,0	14060,0
13973-71742	C-3	27244,0	1020,0	30740,0	13912,0
13973-71743	C-4	17390,0	1108,3	31093,3	8980,0
Límite de Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

D.B.O<sub>5</sub> EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
Sólidos Totales Suspendedos APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.  
Demanda Química de Oxígeno EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"  
Sólidos Volátiles Suspendedos EPA 160.4: Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, con refrigerantes y preservadas.

Los valores de metales corresponden al análisis de metales totales.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 29 de Agosto del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

## INFORME DE ENSAYO CON VALOR OFICIAL No. 913011L/08- MA

Original 1 de 2

Pág. 01/1

Cliente	: VEGA UPACA S.A. – RELIMA
Dirección	: Av. Pastor Sevilla s/n San Juan de Miraflores
<b>Producto</b>	: Agua
<b>Cantidad de muestra</b>	: 16
Presentación	: Frascos de plástico proporcionados por Inspectorate Services Perú S.A.C.
<b>Instrucciones de Ensayo</b>	: Enviadas por el cliente
<b>Procedencia de la Muestra</b>	: Muestras enviadas por el cliente indicando fecha de muestreo: 2008-06-04 Hora: 12:00 O/S 980-08-LAMA
Referencia del Cliente	: Lixiviado – Agua no Potable
Fecha Ingreso de Muestra(s)	: 2008-09-05
Fecha de Inicio de Análisis	: 2008-09-05
Fecha de Término de Análisis	: 2008-09-15
Solicitud de Análisis	: 14168/08

Código de Laboratorio	Descripción de Muestras Declarado por el cliente	Sólidos Totales Suspendidos (mg/L)	DBO <sub>5</sub> mg/L	Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Sólidos Volátiles Suspendidos (mg/L)
14168-72907	C-1	26774,0	1090,0	34739,0	13637,0
14168-72908	C-2	29500,0	1313,3	42429,7	15694,0
14168-72909	C-3	18746,0	1200,0	29357,4	9886,0
14168-72910	C-4	27868,0	456,7	28996,0	14444,0
Límite de Cuantificación		5,0	2,0	20,0	5,0

**Métodos:**

D.B.O <sub>5</sub>	EPA 405.1 Biochemical Oxygen Demand, 5 Days, 20°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"
Sólidos Totales Suspendidos	APHA AWWA WEF 21th Edition, 2005. Pag 2-58 a 2-59. 2540-D Solids; Total Suspended Solids Dried at 103-105oC.
Demanda Química de Oxígeno	EPA 410.1 Chemical Oxygen Demand, Titrimetric, Mid-Level. "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"
Sólidos Volátiles Suspendidos	EPA 160.4: Residue, Volatile, Gravimetric, Ignition at 550°C; "Methods for Chemical Analysis of Water and Waste; Document 20460; EPA 621-C-99-004, June 1999"

Las muestras ingresaron al Laboratorio en cooler, sin refrigerantes y preservadas.

El informe de Control de Calidad les será proporcionado a su solicitud.

*Nota: Para una adecuada comparación e interpretación de los resultados analíticos se requiere que las muestras sean transportadas con preservantes y/o refrigerantes y el tiempo entre la recolección y el ensayo no exceda las 24 horas, excepto para el caso de coliformes en aguas potables que puede ser hasta un máximo de 30 horas.*

Callao, 15 de Setiembre del 2008

Este informe no podrá ser reproducido parcialmente sin autorización de Inspectorate Services Perú S.A.C.

Los resultados presentados corresponden sólo a la muestra indicada

<"valor" significa no cuantificable debajo del límite de cuantificación indicado

A excepción de los productos perecibles los tiempos de custodia dependerán del laboratorio que realice el análisis.

Este tiempo variará desde 7 días hasta 6 meses como máximo.

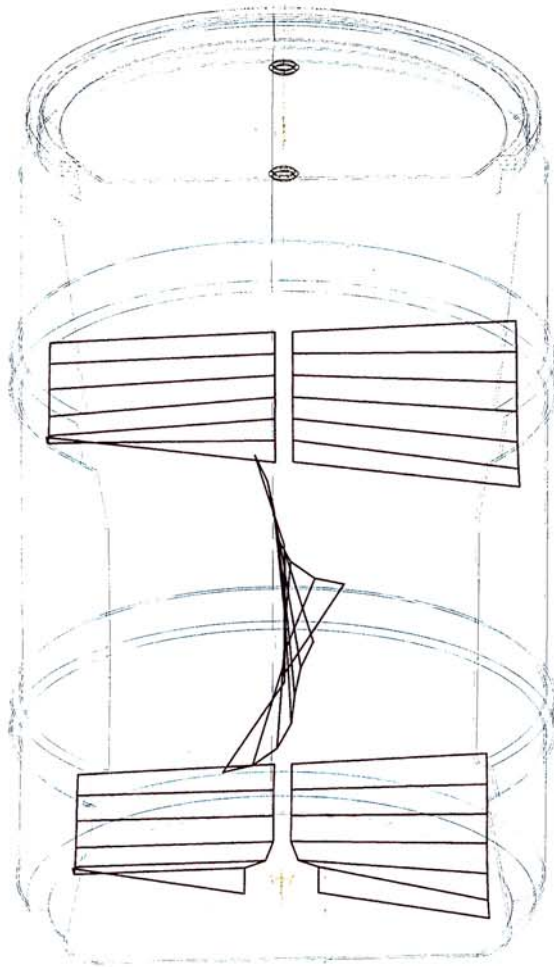
## **ANEXO 2: PLANOS DE DETALLES DE LOS DIGESTORES BATCH**

P-01: DIGESTOR BATCH CON PALETAS DE MEZCLA

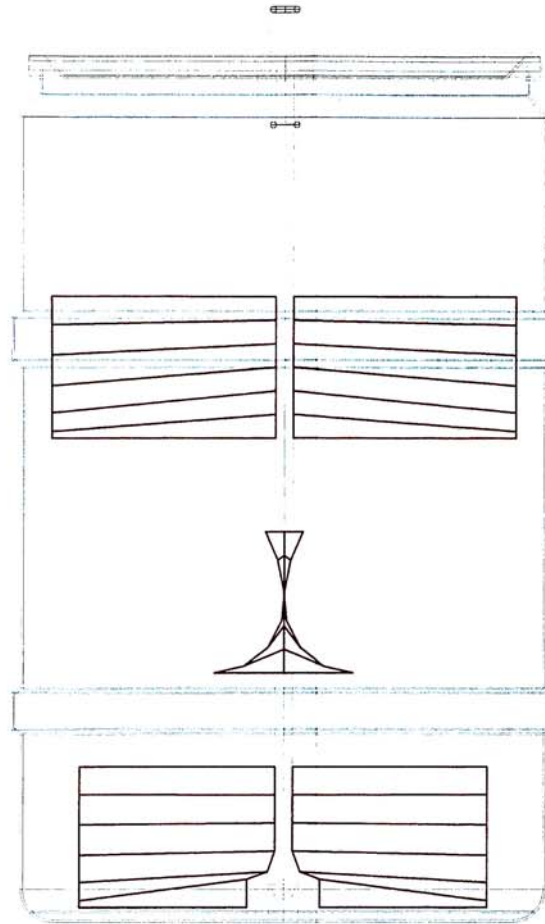
P-02: PALETAS DE AGITACIÓN DEL DIGESTOR BATCH

P-03: PALETAS DE AGITACIÓN - PIEZAS

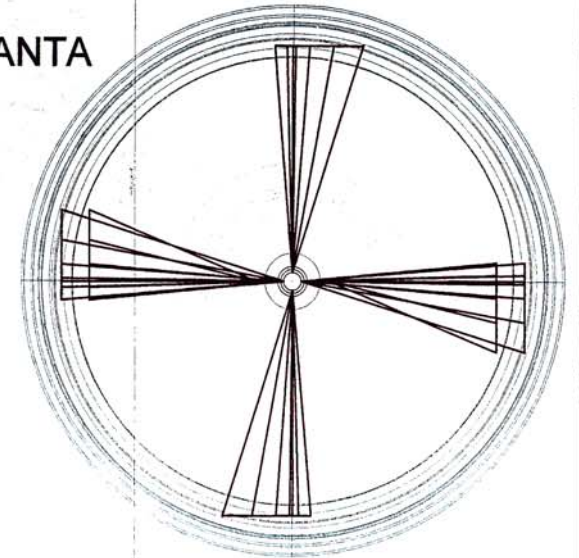
VISTA ISOMÉTRICA



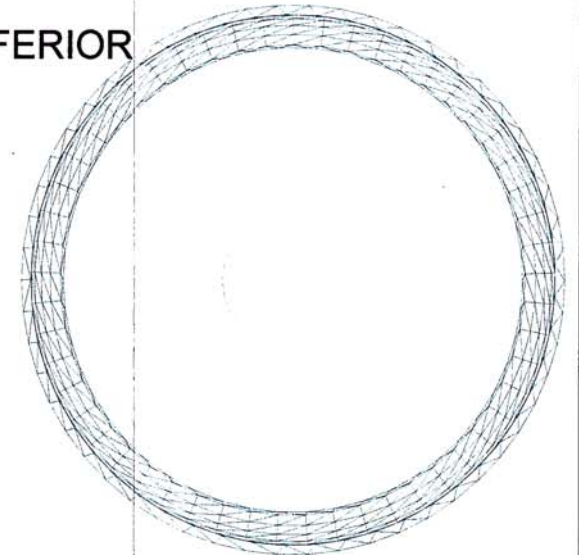
VISTA FRONTAL



VISTA DE PLANTA



VISTA INFERIOR



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

ESCUELA DE INGENIERÍA SANITARIA

TEMA DE TESIS: GRANULACIÓN DEL LODO ANAEROBIO DE UN RAFA, UTILIZANDO DIFERENTES MEDIOS DE SOPORTE, Y, LIXIVIADO COMO SUBSTRATO

INTEGRANTES: - EDGARD MARCELO CORONEL VILLARREAL  
- JOSÉ ÁNGEL MÁRQUEZ DEL ALCÁZAR

PLANO N°: P-01

PLANO: DIGESTOR BATCH CON PALETAS DE MEZCLA

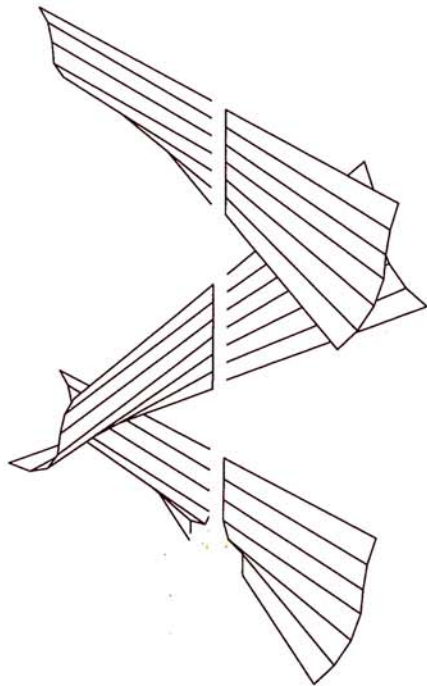
ESCALA: 1/6

FECHA: SETIEMBRE - 2007



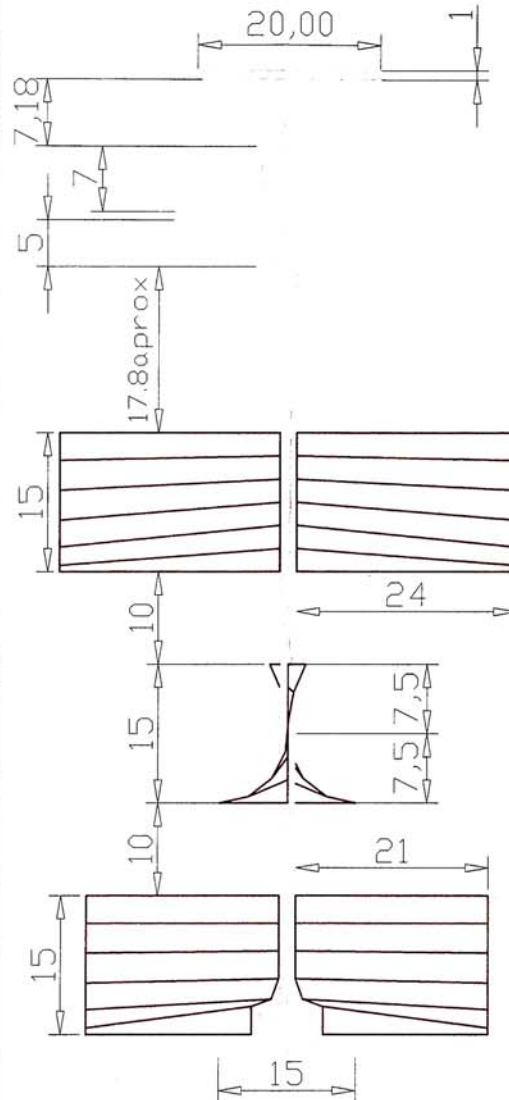
# VISTA ISOMÉTRICA

Esc: 1/6

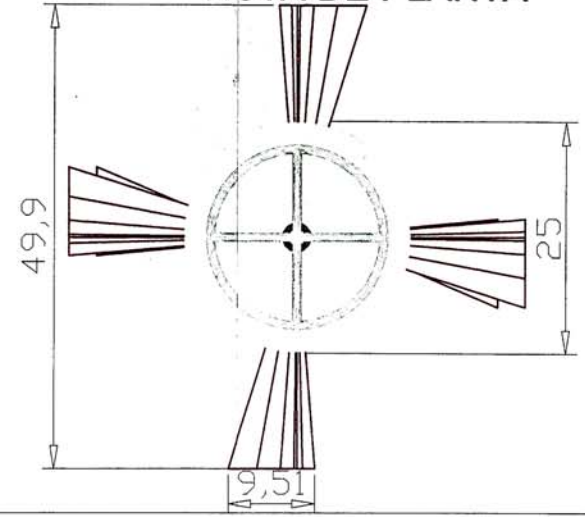


# VISTA FRONTAL

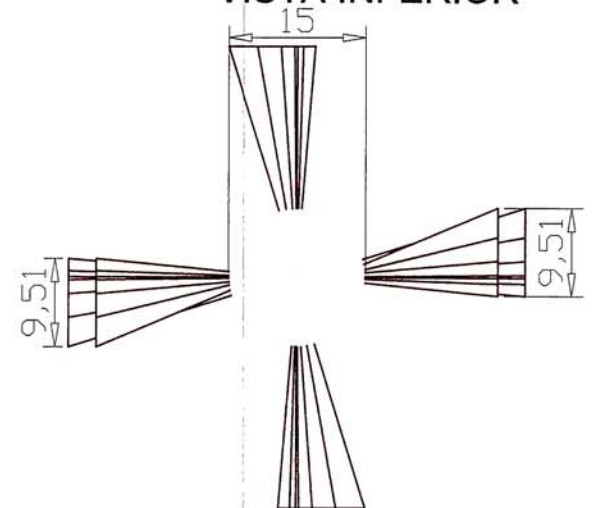
Esc: 1/6



# VISTA DE PLANTA



# VISTA INFERIOR



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA SANITARIA**

TEMA DE TESIS: GRANULACIÓN DEL LODO ANAEROBIO DE UN RAFA, UTILIZANDO DIFERENTES MEDIOS DE SOPORTE, Y, LIXIVIADO COMO SUBSTRATO

INTEGRANTES: - EDGARD MARCELO CORONEL VILLARREAL  
 - JOSÉ ÁNGEL MÁRQUEZ DEL ALCÁZAR

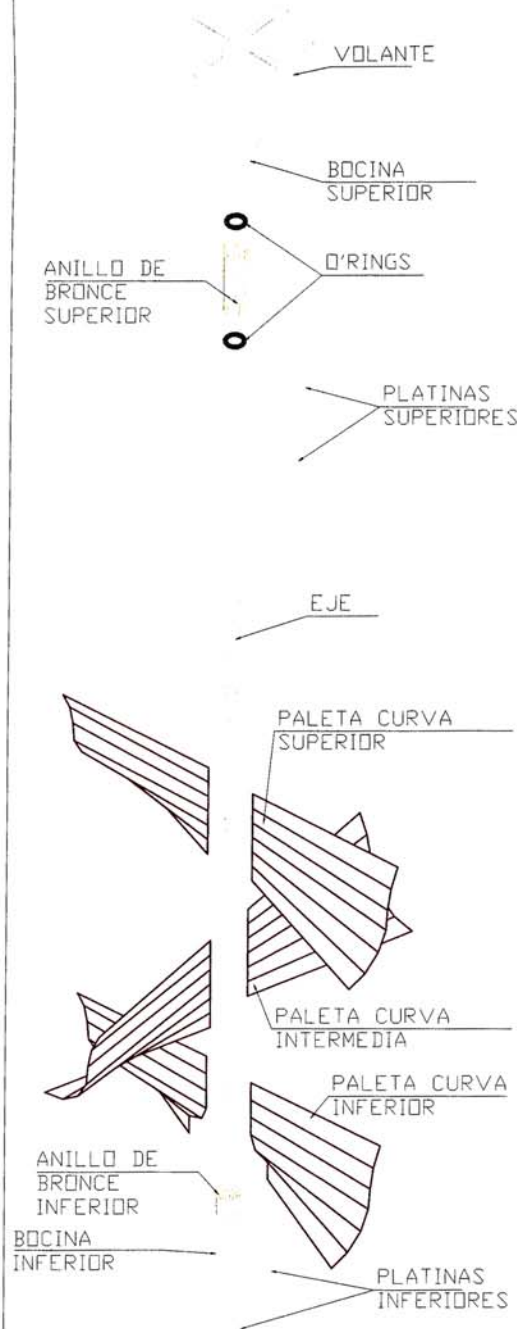
PLANO N°: **P-02**

PLANO: PALETAS DE AGITACIÓN DEL DIGESTOR BATCH

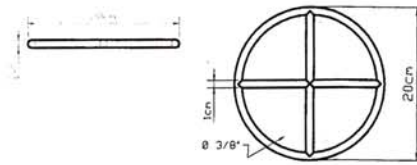
ESCALA: 1/6  
 FECHA: SETIEMBRE - 2007

# VISTA ISOMÉTRICA

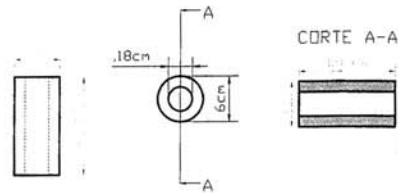
Esc: 1/7,5



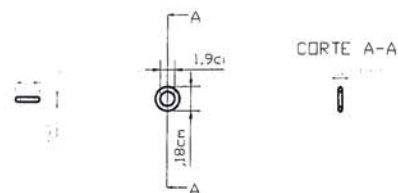
VOLANTE



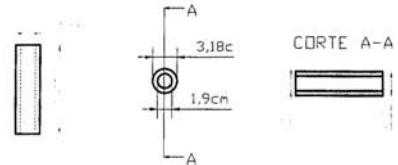
BOCINA SUPERIOR



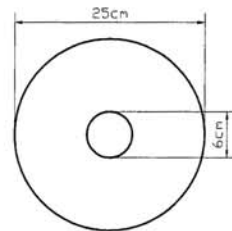
D'RING



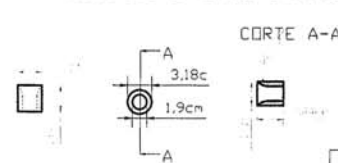
ANILLO DE BRONCE SUPERIOR



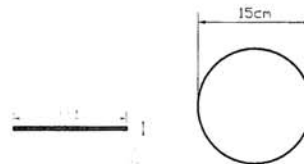
PLATINAS SUPERIORES



ANILLO DE BRONCE INFERIOR



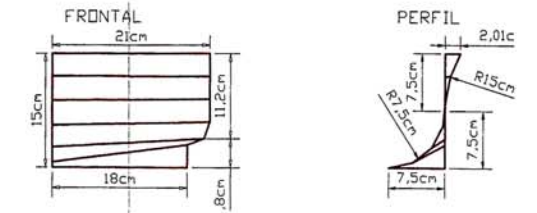
PLATINA INFERIOR



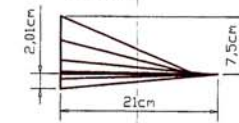
EJE



PALETA CURVA INFERIOR

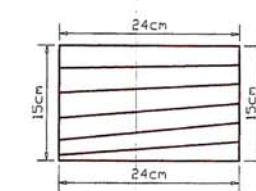


PLANTA

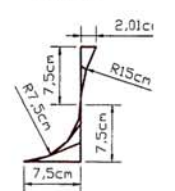


PALETA CURVA SUPERIOR E INTERMEDIA

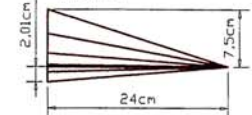
FRONTAL



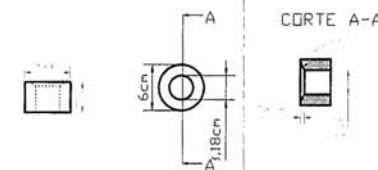
PERFIL



PLANTA



BOCINA INFERIOR



UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL

ESCUELA DE INGENIERÍA SANITARIA

TEMA DE TESIS: GRANULACIÓN DEL LODO ANAEROBIO DE UN RAFA, UTILIZANDO DIFERENTES MEDIOS DE SOPORTE, Y, LIXIVIADO COMO SUBSTRATO

INTEGRANTES: - EDGARD MARCELO CORONEL VILLARREAL  
- JOSÉ ÁNGEL MÁRQUEZ DEL ALCÁZAR

PLANO N°: P-03

PLANO: PALETAS DE AGITACIÓN - PIEZAS

ESCALA: 1/7.5  
FECHA: SETIEMBRE - 2007

**ANEXO 3: TABLA 10.1: CARACTERIZACIÓN DE LODOS DE FOSAS  
SÉPTICAS.**

Tabla 10.1: Caracterización de lodos de fosas sépticas.

No.	Tasa de acumulación de lodos (l/hab/año)	DQO (mg/l)	DBO <sub>5</sub> (mg/l)	Sólidos totales (mg/l)			Sólidos suspendidos (mg/l)			NKT (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)
				ST	STF	STV	SST	SSF	SSV		
1	17.50	29750	750	-	-	-	-	-	-	1009	376
2	9.83	45083	5225	-	-	-	-	-	-	1144	488
3	15.65	46500	1100	58500	21900	36600	36200	6100	30100	1144	462
4	13.93	16667	1535	121950	65050	56900	60200	28500	31700	694	294
5	14.57	49667	2096	69200	33800	35400	33400	7400	26000	1413	512
6	21.18	40500	6250	37810	13190	24620	32100	7700	24400	2170	420
7	13.34	48500	7916	67450	33660	33790	36300	12800	23500	2092	339
8	13.11	41333	5630	56341	21960	34381	28550	9800	18750	1761	112
9	19.71	24833	4679	17300	4320	14200	16200	1850	13600	1074	422
10	13.42	38333	5126	69960	30230	39730	31000	10600	20400	2765	344
11	10.84	19333	11605	30600	7470	23130	25400	5000	20400	2233	456
12	30.38	43167	9460	133920	77240	56680	31200	9300	21900	2281	408
13	40.06	40167	3577	24570	7300	17270	20200	4900	15300	821	302
14	13.61	38333	6236	69950	30230	39720	31000	10600	20400	2765	344
15	16.68	29500	4465	106060	58090	47970	60750	30200	30550	1999	280
16	24.84	51333	5266	65950	36460	29490	57950	31700	26250	1897	249
17	24.71	58833	11055	108920	52980	55940	91900	43400	48500	1861	291
18	15.75	56000	6093	88605	44625	43980	21885	9077	12808	2786	821
19	20.71	29500	7652	69145	28020	41125	57600	10050	47550	3058	707
20	29.48	62500	13309	47445	19980	27465	20700	8600	12100	3724	486
Media	18.97	40492	5951	69093	32584	36577	38474	13754	24678	1935	406
Desv. Est.	7.64	12606	3461	32731	20494	12746	19553	11478	10338	821	157

Fuente: Mendez R.; Gijón A.; Quintal C.; Osorio H.; Determinación de acumulación de lodos en fosas sépticas de la ciudad de Merid, Yucatán; Universidad Autónoma de Yucatan ; 2007.

**ANEXO 4: ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DEL CARBÓN ACTIVADO  
GRANULAR**



## TRATAMIENTO AGUA POTABLE Y DE PROCESO FILTRASORB 100 Y 200

### APLICACIÓN

Los FILTRASORB 100 y 200 se recomiendan para:

- Tratamiento de agua subterránea.
- Dectoración y desozonización.
- Eliminación de sabor y olor.

### Características

- Exactitud en el proceso de fabricación.
- Densidad alta.
- Estructura de poro fina.
- Producto diseñado para ser reactivado.

### CARACTERÍSTICAS Y VENTAJAS

Los FILTRASORB 100 y 200 ofrecen al usuario las siguiente características y ventajas:

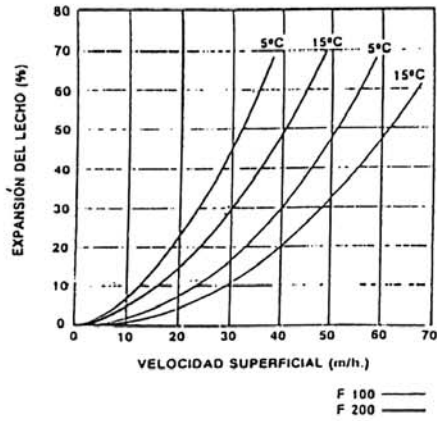
### Ventajas para el usuario

- Los FILTRASORB se fabrican de selectos grados de carbón bituminoso, asegurando el mantenimiento de una calidad constante.
- Se humedecen fácilmente, no flotan y ofrecen una máxima eficiencia.
- La estructura del poro es perfecta para la eliminación de los contaminantes presentes en el agua subterránea.
- Éstas características garantizan una larga vida de los productos y economías para el usuario.

### ESPECIFICACIONES

	F10	F20
	0	0
Índice de yodo, mínimo.....	850	850
Tipo de Malla, Serie de Tamices U.S.		
> 8 malla (2,36 mm), % máximo .....	15	—
> 14 malla (1,70 mm), % máximo .....	—	5
< 30 malla (600 mm), % máximo .....	4	—
< 40 malla (425 mm), % máximo .....	—	4
Índice de abrasión, mínimo .....	75	75
Humedad en el empacado, % máximo.....	2	2

1. Expansión del lecho del carbón activado, lavado a contracorriente y clasificado.

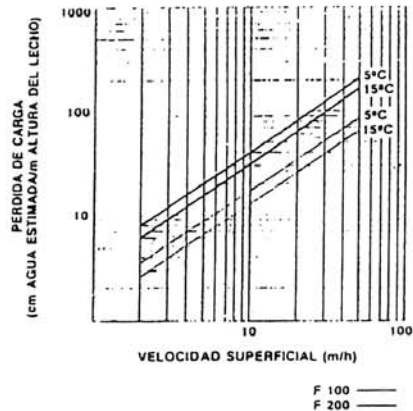


INFORMACIÓN DE DISEÑO

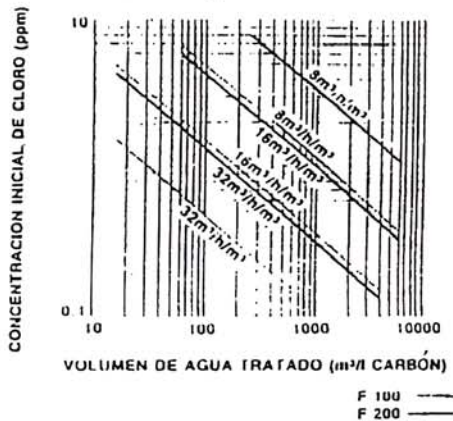
Se sugieren los siguientes parámetros de diseño para el F100 y el F200:

- Altura del lecho de carbón..... 75 cm. mínimo
- Velocidad superficial..... 5-20 m/h
- Rebosadero..... a un 20% mín. de la altura del lecho de carbón
- Contralavado y pérdida de carga..... ver gráficas 1-2
- Capacidad de decloración..... ver gráfica 3

3. Rendimiento en la decloración



2. Pérdida de carga del caudal descendente a través de un lecho lavado a contracorriente y clasificado.



REACTIVACIÓN

Los carbones Filtrasorb han sido fabricados especialmente para su reactivación térmica, con el fin de ser reutilizados. Los usuarios pueden instalar sus propios sistemas de reactivación o reactivar su carbón en uno de los centros de reactivación de Calgon Carbon.

EMBALAJE

Los F100 y F200 están disponibles en:  
 Sacos de polietileno de 4 pliegos, 25 kgs. peso neto  
 Sacos de 400 500 kgs.

PRECAUCIÓN

El carbón activado húmedo tiende a retirar el oxígeno del aire. El bajo nivel de oxígeno en recintos cerrados o parcialmente cerrados puede alcanzar niveles peligrosos. Si un trabajador va a entrar a un recinto que contiene carbón, se deben seguir los procedimientos apropiados de muestreo y de trabajo para espacios potencialmente bajos de oxígeno, incluyendo todos los requisitos federales y estatales correspondientes.

N.B.: Calgon Carbón se reserva el derecho de cambiar las especificaciones del producto sin previo aviso.

Para mayores informes sírvase comunicarse con Calgon Corporation, P.O. Box 717  
 Pittsburg, PA 15230-0717 Teléfono: (412) 787-6700 Telex: 671-1837CCC Fax: (412) 787-4523





**CALGON CARBON CORPORATION**

**DECLORINACIÓN DE AGUA –  
FILTRASORB 200**

Más Fuerte  
Más Limpia  
Más Efectivo

El carbón activado recomendado por Calgon Carbon Corporation para declorinación es el tipo FILTRASORB 200. El FILTRASORB 200 es un carbón granular de alta calidad producido de carbón de grado metalúrgico bituminoso, activado bajo condiciones rígidamente controladas que resulta en un producto con características absorbentes superiores. Así es como el FILTRASORB 200 se compara con otros productos comerciales disponibles:

<b>FILTRASORB 200</b>	<b>CARBÓN ACTIVADO BASE DE LIGNITA</b>	<b>CARBÓN ACTIVADO BASE DE MADERA</b>
510	Aprox. 375	Aprox. 380
Min. 75	Aprox. 55	Aprox. 25
80	Aprox. 60	Aprox. 43
87.5	Aprox. 600	Aprox. 700
Max. 2%	Aprox. 9%	Aprox. 12%

**MAYOR DENSIDAD = VIDA MAS LARGA**

En el proceso de declorinación el cloro es absorbido por el carbón activado y luego tiene una reacción química con éste. Durante este proceso el carbón es físicamente degradado; la declorinación resulta en pérdidas estructurales del carbón y el debilitamiento correspondiente de las partículas. Mayor densidad significa que existe más carbón disponible para servicio en un lecho de un metro cúbico; como resultado un tiempo de vida más largo del lecho.

**MAYOR DENSIDAD = MÁS LIMPIO**

Al ser atacado el granulo de carbón por el cloro, con mayor densidad significa que existe mayor masa para resistir el rompimiento del granulo a granulos más pequeños y finos.

**MAYOR DENSIDAD = MENORES PÉRDIDAS DURANTE RETROLAVADO**

Mayor densidad significa que los granulos de carbón son más pesados, y más resistentes a las fuerzas hidráulicas causantes de pérdidas de carbón durante retrolavadas.

**MAYOR DUREZA – MÁS LIMPIO**

Con mayor número de abrasión y dureza significa que el carbón es más resistente a la atrición, desgaste, desgaste, y rompimiento durante las etapas de transportación y operación.



**MAYOR DUREZA = MENOS PÉRDIDAS**

Los granulos más duros son menos susceptibles a ser desgastados, dequebrajados, y perdidos durante retrolavados.

**MAYOR ABSORCIÓN**

Mayor densidad, mayor área superficial, menor contenido de humedad significa que existe actualmente más metros cuadrados de superficie activa – mayor poder de absorción – en un metro cúbico del filtro. Aquí indicamos como:



**CALGON CARBON CORPORATION**

**P.O. Box 717**

<b>FILTRASORB 200</b>	<b>CARBON ACTIVADO BASE DE LIGNITA</b>	<b>CARBON ACTIVADO BASE DE MADERA</b>
510	375	380
500	340	335
875	600	700
500 x 1000 x 875 = 437.5 millón m <sup>2</sup>	340 x 1000 x 600 = 204 millón m <sup>2</sup>	335 x 1000 x 700 = 234.5 millón m <sup>2</sup>

La absorción es la primera etapa en el proceso de dechlorinación, por lo tanto el alto poder de absorción del FILTRASORB 200 es beneficioso para la dechlorinación (además de, por supuesto, ser efectivo para eliminar contaminantes orgánicos del agua).

**DISPONIBILIDAD = LISTO PARA USARSE**

El FILTRASORB 200 es disponible de forma inmediata y puede ser colocado inmediatamente en equipos existentes para substituir otros medios filtrantes sin ocasionar ningún problema a la planta en su proceso normal de filtración.

**EMPAQUE:** Bolsas de 25 Kg. neto; Super sacos de 400 y 500 Kg.



## TRATAMIENTO AGUA POTABLE Y DE PROCESO

### APLICACIONES TÍPICAS

El carbón activado se utiliza en la producción de agua potable y de proceso para:

- Eliminar los contaminantes orgánicos, disueltos.
- Controlar el sabor y el olor.
- Eliminar microcontaminantes.
- Servir como un medio de filtración y absorción.
- Dechlorar o desozonizar el agua.
- Proteger las resinas y/o membranas a la contaminación.

### PRODUCTOS

Ambos carbones, el granular y el pulverizado son fabricados por Calgon Carbón para su eficiente utilización en el tratamiento del agua.

Los carbones granulares incluyen los conocidos FILTRASORB, una gama muy utilizada en agua potable. Los carbones FILTRASORB son apropiados para reactivar iones múltiples.

Los productos fabricados por Calgon Carbon están adaptados a las diversas necesidades de la industria del tratamiento del agua.

#### PRODUCTOS

FILTRASORB 100  
FILTRASORB 200

FILTRASORB 300  
FILTRASORB 400  
Carbón en polvo

#### OBJETIVOS

Eliminación del saber y olor  
Dechloración Tratamiento de agua subterránea  
Eliminación de componentes orgánicos  
Tratamiento en general

### MÉTODO DE UTILIZACIÓN

Los carbones FILTRASORB son utilizados en todo tipo de filtros de carbón activado. El causal del agua pasa a través del lecho de carbón y las impurezas son retenidas en el interior de los poros del absorbente. Si hay presentes también sólidos en suspensión, éstos son retenidos en el lecho filtrante de carbón y pueden ser eliminados por contralavado a intervalos regulares.

El carbón FILTRASORB puede reemplazar también a la arena o cualquier otro filtro utilizado en la filtración de agua potable. El carbón proporciona por tanto, ambas cosas. Filtración y absorción. La conversión al carbón FILTRASORB ocasiona solamente un mínimo de cambios en la planta en funcionamiento, con el beneficio de eliminar los contaminantes disueltos.

La utilización del carbón en polvo para el tratamiento de agua es totalmente diferente. El carbón se dosifica en el agua y se mezcla minuciosamente en la misma. Después debe ser eliminado del agua mediante sedimentación o filtración.

### VENTAJAS

La utilización del FILTRASORB proporciona diversos beneficios al usuario:

#### • **Confianza**

Más de 100 plantas de tratamiento de agua han seleccionado el carbón FILTRASORB para la purificación de la misma. Es un proceso y un producto comprobado.

#### • **Efectividad**

Con el FILTRASORB, los niveles de contaminación se mantienen de acuerdo con las normas standard de las generales de la AWWA. Comparado con el carbón en polvo, se obtiene una mejor calidad del agua a más bajo precio.

#### • **Seguridad**

El FILTRASORB puede controlar repentinas fluctuaciones e incrementos de los contaminantes del agua, debido a derramamientos, cargas máximas o alteraciones de los pretratamientos. También protege a los equipos (resinas, osmosis inversa, etc.) contra impurezas orgánicas.

#### • **Fácil conversión de los filtros de arena en filtros de carbón.**

Sólo se necesitan unos pequeños cambios para sustituir la arena por los carbones FILTRASORB. Los filtros existentes que elimina solamente las partículas en suspensión pueden ser convertidos, con un costo mínimo, para que eliminen los contaminantes en suspensión y disueltos en el agua.

### **REACTIVACIÓN**

A diferencia de los carbones en polvo que son utilizados y desechados, los carbones FILTRASORB pueden ser reactivados y reutilizados una y otra vez. Las materias orgánicas absorbidas son destruidas térmicamente y el usuario del carbón no necesita botar el carbón saturado.

La reactivación mejora la economía del proceso de absorción.

El carbón activado saturado puede ser reactivado en el lugar ó directamente por Calgon Carbon en uno de sus centros de reactivación.

### **FABRICACIÓN**

Los gránulos de carbón FFILTRASORB están fabricados de selectos grados de carbón bituminoso.

Son carbones densos con una elevada superficie interna producida bajo condiciones estrictamente controladas por activación por vapor a temperatura alta. La estructura del poro ha sido diseñada cuidadosamente para la eficiente eliminación de impurezas.

Los carbones activados en polvo Calgon también son activados por vapor y son producidos de carbón bituminoso.

### **PRECAUCIÓN**

El carbón activado húmedo tiende a retirar el oxígeno del aire. El bajo nivel de oxígeno en recintos cerrados o parcialmente cerrados puede alcanzar niveles peligrosos. Si un trabajador va a entrar a un recinto que contiene carbón, se deben seguir los procedimientos apropiados de muestreo y de trabajo para espacios potencialmente bajos de oxígeno, incluyendo todos los requisitos federales y estatales correspondientes.

**N.B.:** Calgon Carbon se reserva el derecho de cambiar las especificaciones del producto sin previo aviso.



CALGON CARBON CORPORATION  
P.O. Box 717

**ANEXO 5: ESPECIFICACIONES TÉCNICAS DE LA ZEOLITA (ABSORSOL)**

## ESPECIFICACIÓN DEL PRODUCTO

**PRODUCTO** - Absorsol Industrial

**DESCRIPCIÓN** - Sílico Aluminato de Ca y Mg

**APLICACION**-Tratamiento de inertización y estabilización de líquidos, barros sólidos y suelos

<b>GRANULOMETRIA:</b>	
PASANTE en # 7 :	95% mínimo
RETENIDO EN # 50:	40% máximo

<b>PROPIEDADES FÍSICAS DE ABSORSOL</b>	
CEC (Capacidad de intercambio)	48.7 ± 5 meq/100 gr.
Absorción de agua	90% (±10%) - 70 % p/p mínimo
Absorción de aceite	65% (±10%)
Punto de fusión	1.385 °C ±10 °C
Resistencia en húmedo	92%.
Conductividad Térmica	Nula.
Combustibilidad	Nula
Abrasividad	Nula
Toxicidad	Nula
Densidad aparente (real)	0,45 / 0,5 gr./cm <sup>3</sup> (2,3 gr./cm <sup>3</sup> ).
Solubilidad en agua <	Insoluble
Solubilidad en Ácido	Insoluble
pH	7,5 ± 0.5
Superficie Específica	400 cm <sup>2</sup> /gr.

<b>COMPOSICIÓN QUÍMICA</b>	
<b>TIPO DE ABSORSOL</b>	
Si O <sub>2</sub>	67,92%
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	12,27%
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	3,68%
Ca O	1,62%
Mg O	2,17%
TiO <sub>2</sub>	0,45%
Na <sub>2</sub> O	0,80%
K <sub>2</sub> O	0,42%
P.P.C.	10,47%

<b>TRANSPORTE Y SEGURIDAD</b>	
Nombre Comercial	Tepys Absosrb
Caracterización química	SILICO ALUMINATO DE CALCIO y MAGNESIO
Estado	sólido
Color	Blanco
Olor	Inodoro

<b>Datos físicos y de seguridad</b>	
Punto de Inflamación	No posee (Material ignífugo)
Temperatura de ignición	No posee (Material ignífugo)
Límite de explosión	No posee
Descomposición térmica	Estable hasta 1100 0C.
Productos de descomposición	Ninguno peligroso
Reacciones peligrosas	Ninguna

<b>Datos de transporte</b>	
Transporte	Normales de materiales en bolsas
Reglamentación de peligrosidad	Ninguna
Medidas técnicas de protección	No requiere ninguna medida especial, ya que el producto no daña la salud, ni produce irritaciones cutáneas

<b>Datos de protección</b>	
Protección :	Mascara antipolvo para operadores alérgicos.
Higiene laboral :	Lavar con agua
Protección contra incendio y explosiones :	Ninguna
Deshechos :	Puede arrojarse como relleno - Es un excelente mejorador del suelo.
Medidas recomendadas en caso de accidentes:	Ninguna ya que es ignífugo y la ingestión del producto no utilizado no es perjudicial para la salud

Fuente: Especificaciones de Absorsol, IQF S.A (<http://www.iqfsa.com.ar>)